

## GİRİŞ

MS (multiple skleroz) genetik ve çevresel faktörlerin oluşturduğu zeminde ortaya çıkan otoimmün karakterde inflamatuvar demiyelinizan bir hastalıktır (1). Günümüzde MS'de SSS (santral sinir sistemi)'de patolojinin ortaya çıkmasıyla sonuçlanan otoimmün olaylar dizisi ve sonuçta klinik tablonun görülmesine neden olan bu sürecin periferik immün sistemden başladığı kabul edilmektedir. Son yıllarda otoimmün hastalıkların patogenezinine yönelik yapılan birçok çalışmadaki bulgular bozukluğun ortaya çıkış sürecinde ilk adımın periferik immün self toleransın kırılması olduğunu göstermektedir (2). MS' teki immün anormallik kanda ve BOS (beyin omurilik sıvısı)'ta miyeline karşı aktive olmuş T hücreleri ve ürünleri olan kemokinlerin ekspresyonuyla tespit edilmiştir (3).

MS hastalarında SSS'de izlenen T hücreleri arasında CD4(+) hücreler, CD8(+) hücreler ve B lenfositleri de bulunmaktadır. Bu hücreler aracılığıyla ortaya çıkan IL (interlökin)-1, IL-2, TNF (tümör nekroz faktör)- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler immün hücreleri aktive ederek, adezyon kuvvet moleküllerinin ekspresyonunun artırarak, lökositlerdeki kemokinler ve vasküler adressinler de etkileyerek kan beyin bariyerinin bozulmasına böylece aktive immün hücrelerin SSS'ne geçmesine ve inflamasyona yol açmaktadırlar. Olaya monosit ve makrofajlardan salınan nitrikoksit gibi aracı maddeler, kompleman, B lenfosit hücre kaynaklı özelleşmiş antikolar katılmakta ve sonuçta oluşan inflamasyon aksonal hasar ve demiyelinizasyona neden olmaktadır (4,5).

Bahsedilen tüm immunopatolojik olayların oluşumunu, periferik self toleransın kırılmasıyla otoreaktif hale gelen T hücrelerin başlattığı bilinmektedir. Söz konusu aktivasyonu önlemede ve dolayısıyla otoimmün olayların bu ilk basamağını kontrol etmede regülatuar hücreler önemli rol oynamaktadır. Majör tipini CD4(+) hücrelerin oluşturduğu bu hücrelerin pek çok alt tipleri tespit edilmiştir (6). Regülatuar CD4(+) T hücrelerinin CD4(+) CD25(+) Tr ve tip 1 regülatuar T hücre (Tr1) olmak üzere iki ana alt tipi vardır. Her iki alt tip periferik toleransın sürdürülmesinde esansiyel olmasına

karşın, CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücreleri hücre kontak bağımlı etkileşimde de görev almakta ve CD4(+) hücre artışı ile sitokin salımını engelleyebilmektedirler (7).

CD4(+) CD25(+) hücreler otoimmüneyi foxP3 (forkhead box protein-3) transkripsiyon faktörü üzerinden engellemektedirler. Yapılan bazı çalışmalarda erken dönem ve ataklarla gidiş gösteren hastalarda foxP3 ekspresyonunda azalma olduğu tespit edilmiştir (8).

Biz bu çalışmamızla MS hastalarındaki klinik durum ile bu hücrelerin sayısı ile transkripsiyon faktörü foxP3 ekspresyonunun ilişkisini göstermeyi ve sonuçta bu hastaların potansiyel tedavi yöntemlerine katkıda bulunmayı amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

Multiple Skleroz; halen tüm dünyada yaklaşık 2,5 milyondan fazla kişide tanı konan uluslararası Multiple Skleroz derneğinin verilerine göre tanı konan ve genç erişkinlerde en sık özür lülük yapan hastalıkların başında gelir (9). MS genetik, çevresel ve otoimmün zeminde ortaya çıkan SSS'nin inflamatuvar demiyelizan bir hastalığıdır. Patolojik olarak aksonların görece korunduğu multifokal demiyelinizasyon alanları, oligodentrosit kaybı ve astrositlerde hasar görünümü ile karakteristiktir (10).

MS'in görülme sıklığı kuzey ve güney kutuplarına doğru gidildikçe artmaktadır. Bu bağlamda kuzey yarımkürede İskandinav ülkeleri, Kuzey Amerika, Kanada, İsrail ülkeleri, güneyde Yeni Zelanda, Güney Avustralya gibi bölgelerde daha sık görülürken Asya, Afrika ve Güney Amerika kıtalarının tropikal bölgelerde daha düşük prevalansa sahiptir (11, 12). Bazı bölgelerde MS daha sık rastlanması yalnız iklim ile açıklanamaz, çünkü iyi belirlenmiş etnik farklılıklar da vardır. Örneğin MS belirgin olarak Kuzey Avrupa populasyonunu etkilemektedir. ABD'ye göç etmiş İskandinav kökenli Amerikalılarda daha yüksek prevalansa sahipken bu ülkeye göç etmiş Asya kökenli kuşaklarda daha az oranda görülmektedir (12).

MS hastalarının yaklaşık %20'sinde ailesel etkilenme bildirilmiştir. En yüksek risk hastanın kardeşlerinde görülmektedir. Monozigot ikizlerde %20–30, dizigotik ikizlerde %3–5 oranında MS görüldüğü bildirilmiştir(13). Sadovnick ve ark. tarafından British Columbia bölgesinde gerçekleştirilen toplum temelli geniş bir çalışmada MS'li hastaların yaklaşık %20'sinde başka bir akrabasında hastalık görülmüştür (14).

MS hastalarının genetik yatkınlıkla ilişkili olduğunu düşündüren bir bulgu da bu hastaların bazı HLA (histokompatibilite antijeni) tipi ile olan birlikteliğidir. Bu konuda yapılan araştırmalarda ortaya konan en güçlü ilişki 6. kromozomdaki DR bölgesinde gösterilmiştir. MS ile ilişkili riski artıran diğer HLA haplotiplerinin HLA DR2, DR3, B7 ve A3 olduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur. Bu sayılan HLA haplotiplerinin muhtemelen bir immun cevap geni olan bir MS yatkınlık geni'nin belirteçleri olduğuna inanılmaktadır. Bu belirteçlerin birinin bulunması hastalık riskini 3–5 kat artırır. Net

olmamakla birlikte bu genlerin çoğunun T hücre repertuarının gelişme, olgunlaşma ve bileşimi gibi çeşitli immunolojik olayların düzenlenmesinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (15,16).

Bugüne kadar yapılan araştırma ve çalışmalarda yukarıda sözü edilen genetik yatkınlığa ek olarak çevresel faktörlerin hastalığın ortaya çıkışında etkisi kabul edilmektedir. Bu konuda bakteriyel ve en sık olarak virütik enfeksiyonlar dikkati çekmiştir. En çok araştırılan ve MS ile ilişkisi üzerinde durulan virüsler retrovirüs, Herpes Simplex, HTLV (human lenfotropik virüs) 1, HHV (human herpes virüs) 6, Epstein- Barr virüs, paramiksovirus, parainfluenza, kızamık, korona virüs gibi virüslerdir. Bu ajanların MS atağının başlamasında tetikleyici olduğu ve atakları presipite ettiği düşünülmektedir (17–20). Ancak hastalığın ortaya çıkışında çevresel etkiye (enfeksiyon, aşı vb) maruz kalmanın erken yaşta olması gerektiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda yaş sınırı 15 olarak tespit edilmiştir. Onbeş yaşından sonra coğrafi olarak yüksek riskli bölgelere göçün MS görülme sıklığında bu bölgede yaşayanlara göre daha düşük oranda olduğu gösterilmiştir (21).

Sözü edilen enfeksiyonlar haricinde pek çok çevresel faktörün MS ile ilişkisi araştırılmış ancak tatmin edici bir sonuca ulaşılamamıştır.

### **Multiple Skleroz'un İmmunopatogenezi**

MS santral sinir sisteminin (SSS) immün aracılı demiyelinizan ve nörodejeneratif hastalığıdır. Başlangıç olarak MS hastalarının %85'den fazlası nörolojik defisitlerin alevlenmesi ve bunu remisyon döneminin izlediği Relapsing Remitting tipi oluşturur. Hastalar zamanla irreversible nörolojik defisit ve nörodejenerasyonun görüldüğü sekonder progressif döneme girerler. Hastaların %10'u ise başlangıçtan itibaren primer progresiftir (22).

MS'in in hastalık sürecinde immün disregülasyon önemli rol oynar. Günümüzde uygulanmakta olan immün modulator tedaviler relapsları büyük oranda azaltırken, hastalığın progresyonuna sınırlı etkileri olmaktadır. Patolojik olarak, MS hastalarının lezyonlarında aksonal ve nöronal kayıpla birlikte demiyelinizasyon görülür. Bu olaylar MS in progresyonuna neden olmaktadır (23).

Günümüzde geçerli MS patogenezi modelinde otoreaktif T hücreler, B lenfositler, miyelin spesifik otoantikorlar ve makrofajların SSS' ne girişiyle birlikte demiyelinizasyon başlamakta, geri dönüşümsüz aksonal kayıpla birlikte kronik lezyonların birikimi sonucunda ak maddede direkt hasar verici etki ve Walleriyen dejenerasyon ortaya çıkmaktadır (24). Bununla birlikte SSS' deki karmaşık immun- nöronal etkileşim, MS hastalarındaki patolojik anomalilerin heterojenitesi göz önüne alındığında bu model yalnız başına hastalık sürecindeki progresyonu açıklamamaktadır. Bu nedenle patogenezi SSS' deki immun ve nöronal disfonksiyonda periferik immun yanıtın hastalığın ortaya çıkışı ve progresyonunda çok önemli yeri olduğu üzerinde durulmaktadır (25).

MS'deki demiyelinizasyon lezyonlarında nöronal hücre kaybı ve az sayıdaki nöronlarda apoptoz gösterilmiştir. İnvitro koşullarda T hücrelerin fetal nöronlarda apoptozu indüklediği gösterilmiştir (26).

MS'te otoimmün yanıtta miyelinin komponentlerine karşı antikor oluşur. Bunların başlıcaları şunlardır; miyelin bazik protein (MBP), proteolipid protein (PLP), miyelin oligodendrosit protein (MOG). Bunlardan örneğin; anti-MOG antikorları MS'li hastaların otopsilerinde beyin doku örneklerinde, hastanın serum ve BOS'larından daha fazla miktarda olduğu tespit edilmiştir. Anti-MOG antikorlarında bölgesel üretim veya yoğunlaşmanın olmasının, demiyelinizasyon sürecinin devam etmesine neden olabileceği ileri sürülmektedir (27).

Multiple Skleroz hastalarının patolojisinde demiyelinizasyonu önleyen anti- AN2 antikorların önemli rol oynadığı yapılan hayvan deneylerinde gösterilmiştir. AN2 normalde erişkin SSS' de oligodendrosit progenitor hücrelerin yüzeyinde eksprese edilen yüzey glikoproteinidir. Bu yapıya karşı oluşan antikorlar, aktif relapslı MS hastaların BOS'larında tespit edilirler (28, 29). Yine MS'li hastaların BOS'unda aksonun kendisine karşı antikor oluşumu tespit edilir (30).

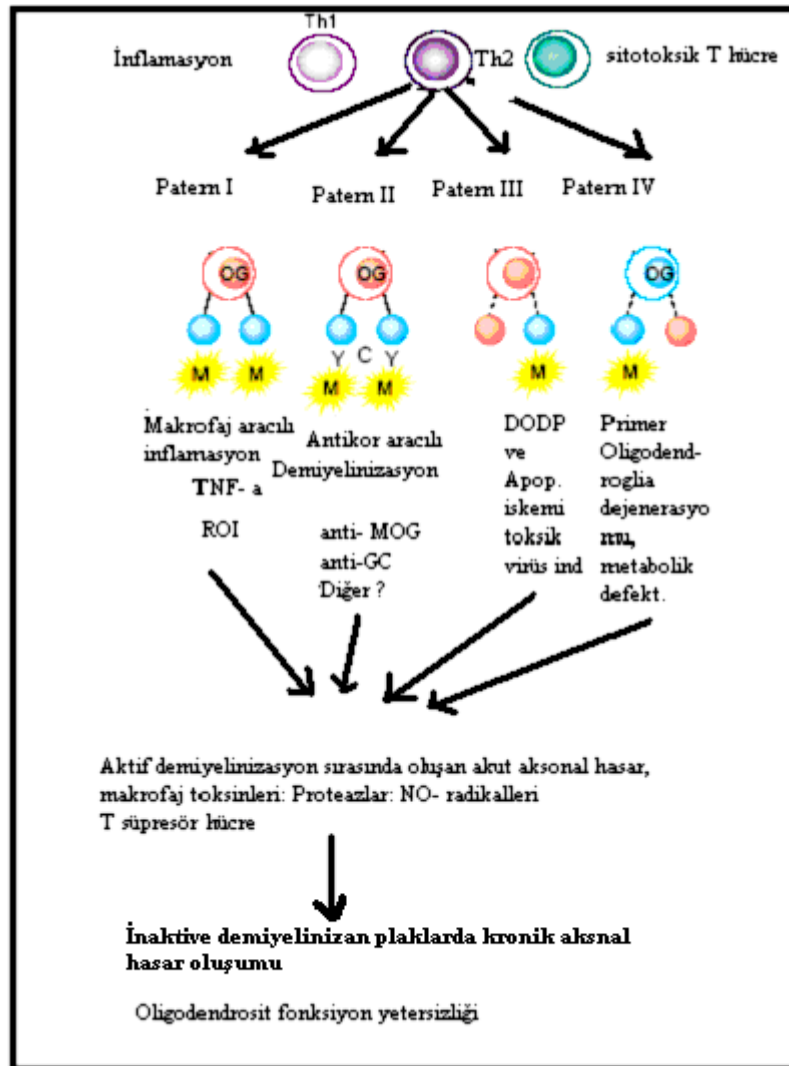
Yapılan çalışmalarda ilk yaygın nörolojik semptomların görüldüğü MS hastalarının başlangıç döneminde alınan biyopsi örneklerinde demiyelinizasyonun eşlik etmediği inflamasyonun olduğu tespit edilmiştir. Bu

lezyonların görüldüğü ak maddede küçük damar duvarlarında yaygın makrofaj ve T lenfosit infiltrasyonu gözlenir. Ayrıca bu bölgelerde biyokimyasal olarak TNF- $\alpha$ , NOS (Nitrik Oksit Sentaz) gibi lokal inflamatuvar ürünler salgılanır. Hastalığın erken döneminde akut inflamatuvar atak, T hücre/makrofaj infiltrasyonu, aktif demiyelinizasyona gidiş ve reaktif astrositoz görülür (31, 32).

MS lezyonları bireysel olarak ve hastalığın seyrine göre farklı histopatolojik evre gösterir. Bu evreleme demiyelinizasyon, oligodendroglia hasarı, yayılım ve plak büyüklüğü, miyelin protein ekspresyonu ve aktif kompleman depolanmasına göre yapılmaktadır (33). Aşağıda **Tablo 2.1**'de demiyelinizasyon patenleri ve **şekil 2.1**'de ise patojenik mekanizmanın özeti görülmektedir (34).

**Tablo 2.1:** Primer patolojik mekanizma ve histopatolojisine göre multiple skleroz paternleri- Luchinetti ve ark. (33)'den alınmıştır

Patern	Primer mekanizma	Histopatoloji
I	Makrofaj aracılı otoimmünite	T hücre/makrofaj aracılı lezyon, Miyelin dejenerasyonu
II	Antikor aracılı otoimmünite	Patern I'e ek olarak; Ig depozitleri, miyelin yıkım bölgesinde kompleman aktivasyonu
III	Distal oligodendroglipati	Küçük damar vaskülit Distal oligodendrosit Dejenerasyonu Apoptoz Demiyelinizasyon
IV	Primer oligodendrosit hasarına sekonder demiyelinizasyon	Yaygın demiyelinizasyon



Şekil 2.1: Multiple skleroz'daki karmaşık patojenik mekanizmaların özeti. **Th1**: T helper (yardımcı) 1, **Th2**: T helper 2, **DODP**: Distal oligodendroglia patisi, **OG**: Oligodendrosit **M**: Makrofaj, **C**: Kompleman, **ROI**: Reaktif oksijen radikalleri, **anti-GC**: Miyelin galaktoserozid antikorunu Lansmann ve ark.(34)'dan uyarlanmıştır.

MS kliniğinin ortaya çıkışı ve klinik tablonun ağırlığı kronik lezyonların remiyelinizasyon derecesi ile yakından ilişkilidir. Hastaların plak lezyonlarında yaklaşık %40 oranında remiyelinizasyon olduğu görülmüştür ancak tüm hastalarda bu özellik görülmemektedir (35). Demiyelinizasyon-

remiyelinizasyon dengesinde rol oynayan etmenlerin tespiti gelecekte yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir. Bu bağlamda oligodentrosit plastisitesi ileri evreye gelmiş hastalarda bile miyelin tamirinin sağlanmasında bir tedavi seçeneği olabilir (36).

### **Multiple Skleroz ve İmmun Tolerans**

İmmun sistemdeki tolerans sayesinde organizmanın self (kendi) ve nonself (kendine yabancı) antijenleri ayırt etme yeteneğine sahiptir. Self antijenlere karşı antikor geliştirmeme immün tolerans olarak tanımlanır. MS patogeneziindeki ilk adım immün dengenin (homoestasis) ve periferik toleransın bozulmasıdır. Yani anerjik, süprese T hücrelerinin SSS dışında aktive olmalarıdır. Bu self reaktif T (aktive T) hücrelerinin ana kontrol mekanizmalarını klonal delesyon ve anerji ile olan negatif seleksiyon olduğu kabul edilmektedir. Buradaki immün dengenin sağlanmasında ve otoreaktivitenin önlenmesinde esas olarak regülatuar T hücreleri görev alır (37).

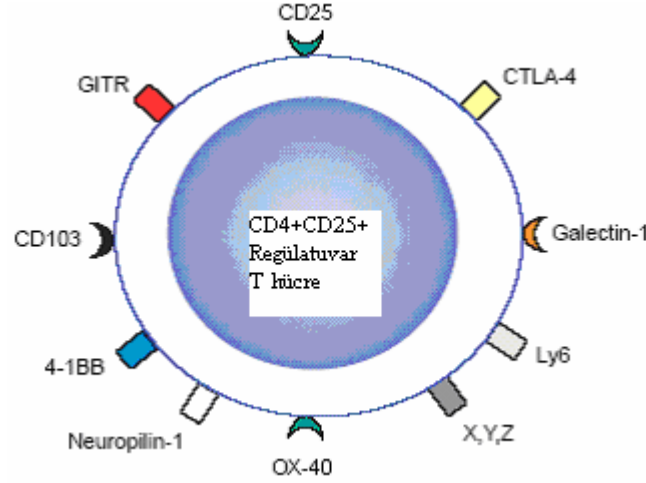
İmmün sistem esas olarak Th1 ve Th2 gibi efektör hücrelerin organizmanın zararına otoreaktif hale gelmesi ile savunmada yararlı inflamatuvar yanıt arasında hassas bir dengededir. Bu denge regülatuar T hücreleri tarafından sağlanır. Multipl skleroz gibi otoimmün hastalıklarda ortaya çıkan inflamatuvar yanıt güçlü proinflamatuvar zeminde efektör hücrelerin sitimülasyonu (normal dışı aktivasyonu) sonucu ve/veya regülatuar T hücrelerin immün toleransın kontrol edilmesindeki yetersizliği sonucu ortaya çıkar. Otoimmün hastalığın önlenmesi ve toleransın sürdürülmesi otoreaktif T hücrelerinin inaktivitesine (baskılayıcı) veya anerjisine bağlıdır (38).

Th1 hücreler IFN- $\gamma$ , IL-12 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinler üretmektedirler. Oysa Th2 hücreler antiinflamatuvar etki gösterirler. TNF- $\gamma$  ve Th1 hücreler tarafından güçlü şekilde indüklenen IL-12'nin nötralizasyonu deneysel olarak otoimmün ensefalomyelit (EAE) oluşumunun engellendiği görülmüştür. Buna karşın humoral immün yanıtta üretilen IL-4, IL-5, IL-13 EAE'nin oluşumunda koruyucu rol oynadığı görülmüştür (39).



İmmün toleransta rol oynayan regülatuar hücrelerin CD4(+) CD25(+), CD4(+) CD25(-) ve tip 1 regülatuar T hücreler gibi alt ipleri tanımlanmıştır. Periferik toleransın sürdürülmesinde görev alan CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücreler (nTreg) ve Tip 1 Reg T hücreler iyi tanımlanmıştır. CD4(+) CD25(+) regülatuar hücreler fonksiyonel matüritelerini timusta kazanmaktadır. Farelerde yapılan deneylerde bu hücrelerin delesyonu sonucunda insanlardakine benzer şekilde otoimmün hastalıklar geliştiği gözlenmiştir. Bu hücrelerin regülasyon mekanizması hücre- hücre kontak bağımlı baskılayıcı fonksiyonları ile açıklanmaktadır. CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücreler hem doğal (innate) ve hem de adaptif immunitede çok yaygın ve değişik birçok immün hücreyi süprese edebilme yeteneği göstermektedirler. Regülatuar hücrelerin gelişim ve fonksiyonlarında foxP3 hayati öneme sahiptir. Denek farelerde foxP3 üretiminin kesintiye uğratılması ile multipl organlarda otoimmün bozukluklar ortaya çıkar ve bu hücrelerin konsol dışı lenfoproliferasyonu görülür. Regülatuar T hücrelerin gelişimi ve canlılıkları için kritik rol oynayan diğer faktörler CD28, CD40 ve IL-2'dir (40, 41).

CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücrelerin yapısında IL-2'ye yüksek afiniteli  $\alpha 2$  reseptör bölgesi (CD25) yer alır. Bu yapı aktive T hücrelerin ayırt edilmesinde bir marker gibi işlev görür. Diğer yüzey reseptör molekülleri glukokortikoid indükleyici tümör nekrozis faktör (GITR), CTLA-4 (CD52), galaksin, CD38, CD62L, OX40L, CD103, TNFR2, TGF-BR1'dir. Baskılayıcı mekanizmasında yüksek seviyede CTLA4 ve GITR'in ekspresyonuna ihtiyaç duyulduğu gösterilmiştir. Yüzeyde bulunan reseptör olmayan moleküller ise Ly6, 4-4-1BB ve programlanmış hücre ölüm molekülü 1 (PD1)'dir. Regülatuar T hücreler yüksek seviyede CD25, L-selektin, CD45RO ve düşük seviyede CD45RC eksprese eder. Bu moleküllerin birçoğu aktivasyon markerleri olarak fonksiyon görür (39, 42, 43) (**Şekil 2.2**).



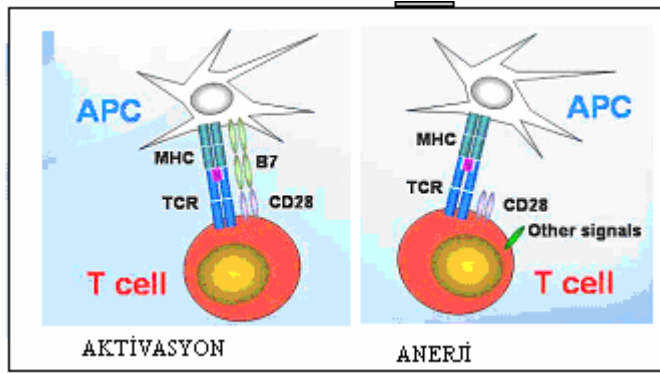
**Şekil 2.2:** CD4(+) CD25(+) Regülatuar T hücre yüzey moleküllerinin ekspresyon modeli- Pichirillo ve ark. (38)'den uyarlanmıştır.

Bu hücreler tüm CD4(+) T hücreler arasında farelerde %8–12, insanlarda yaklaşık %5–10 oranında tespit edilmişlerdir. Regülatuar hücrelerin bu alt tipi baskılayıcı fonksiyonlarını sitokin aracılı yol ile gerçekleştirir. Bu hücreler TCR (T hücre reseptörü) ilişkili aktivasyonda IL–2 veya IL–15 ile sunulmadıkça anerjiktirler ve proliferasyon göstermezler. IL–2 T hücre proliferasyonunda temel aracı olup nTreg (regülatuar T hücre) hücrelerinin baskılayıcıunda tetikleyici rol oynar. Aktive T hücrelerinin klonsal çoğalması IL-2'nin otokrin şekilde salınmasıyla gerçekleşir. Regülatuar T hücrelerinin immun süpresif fonksiyonlarında IL–10 ve TGF (Transforming Growth Faktör)- $\beta$  önemli rol oynamaktadır (44). Ayrıca nTreg hücreleri; makrofaj aktivasyonu, Th2 hücrelerin baskılayıcı, MHC moleküllerinin ekspresyonu ve immun regülasyonda antiproliferatif görevi olan INF (interferon)- $\gamma$ 'nın CD4(+) ve CD8(+) tarafından üretimini güçlü şekilde baskılar (45).

İmmun hücrelerin baskılayıcıunda; CD4(+), CD8(+) hücrelerin hem proliferasyonu ve hem de sitokin ürünlerinin üretiminin yanı sıra dentritik hücreler ve monositler gibi diğer immun hücreler de potansiyel hedef konumundadırlar. Bir kez uyarıldıktan sonra ortaya çıkan regülasyon hedef hücrelerin antijen özgünlüğünden bağımsız olarak yürür. Baskılayıcı fonksiyonu için regülatuar T hücreleri ile diğer hedef hücreleri arasındaki

histokompatibiliteye gerek yoktur. Baskılayıcı fonksiyonunun başarılması için TCR ve IL-2 stimülasyonu ise zorunludur ve direkt hücre-hücre etkileşimi aracılığıyla gerçekleşir (46).

Regülatuar T hücre aracılı hedef T hücreleri baskılayıcı üzerindeki en etkin blok stimülasyon yolağı, CD28 reseptörüne başlatılır. Bu reseptöre bağlanan moleküller B7 molekül ailesinin (CD80 ve daha az oranda CD86) üyesidirler. Bu moleküllerin APC (antijen sunucu hücre varlığında) reseptöre bağlanması, tolerans için negatif sinyalizasyon demektir ve bunun sonucunda bu da tolerans/enerji gelişimini önlenerek T hücrelerinin aktivasyonu ortaya çıkar. Deneysel olarak anti CD28 antikorlarının verilmesiyle otoimmün reaksiyonların engellendiği görülmüştür (47, 48) (Şekil 2.3).

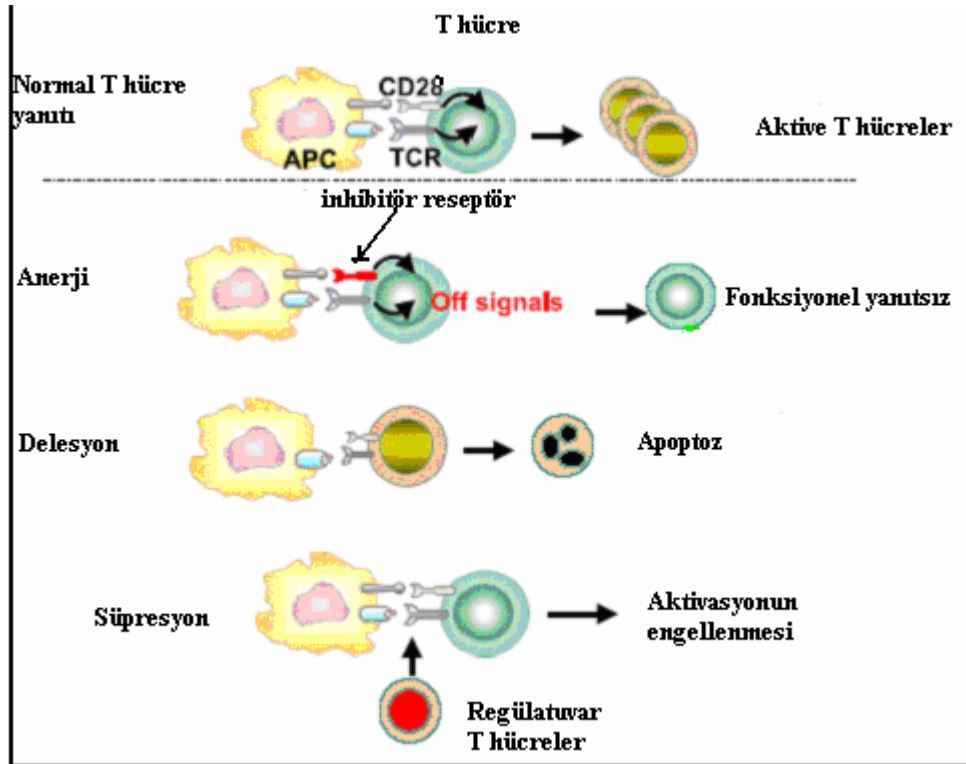


**Şekil 2.3:** T hücrelerinin aktivasyon ve anerji modeli- Nunes ve ark.(48)'dan uyarlanmıştır.

### **FoxP3:**

Forkhead box protein (FoxP3) geni Xp11.23 kromozom bölgesinde sınırlandırılmış olup 431 aminoasitten oluşan transkripsiyon faktör forkhead ailesine mensup bir proteindir ve CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücre alt tipine farklılaşma için gereklidir. FoxP3 genindeki defisit X geçişli ölümcül immün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati (İPEX) ile karakterize otoimmün sendroma neden olduğu farelerde yapılan deneylerde gösterilmiştir (49).

Farelerde yapılan deneylerde foxP3 gen transferiyle naif T hücrelerin CD25'in yüzey ekspresyonunu indüklediği ve sonuçta bu hücrelerin in vivo ve in vitro ortamlarda regülatuar fonksiyon kazandıkları görülmüştür. İnsanda hem ortamdaki T hücrelerin ve hem de klonal T hücrelerin TCR-ilişkili aktivasyon veya TGF- $\beta$  üzerinden foxP3 ekspresyonunu indükleyebilmektedir (50, 51) (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4:** Normal immün yanıt ve periferik tolerans mekanizması. Burada en önemli ana yol Regülatuar T hücrelerinin süpresif fonksiyonudur. Regülatuar hücrelerin transkripsiyon faktörü foxP3'ü kodlayan gendeki delesyon (mutasyon) veya bu hücrelerin growth (büyüme) faktörü olarak işlev gören IL-2'nin yokluğuna yol açan etmenler multipl otoimmün bozuklukların ve lenfoproliferasyonun ortaya çıkmasına neden olur- Abbas ve ark.(50)'dan uyarlanmıştır.

### **Multiple Skleroz'da Klinik:**

#### **Demiyelinizasyonun fizyolojik etkileri:**

Demiyelinizasyonun başlıca olumsuz fizyolojik etkisi, sodyum kanallarının yoğunlaştığı bir Ranvier nodundan diğerine sıçrayıcı elektriksel iletiyi engellemektir. Gerek santral, gerekse periferik demiyelinizan hastalıklarda gözlenen klinik bozulukların çoğunun altında, sonuçta ortaya çıkan elektriksel transmisyon bozukluğunun yattığı düşünülmektedir. Örnek olarak, optik sinirdeki elektriksel iletide gecikme, demiyelinizasyonun patofizyolojisine dair birçok noktayı ortaya çıkarır. Demiyelinizasyon süreci akut ve birkaç gün içinde reversible iken, sinir lifindeki ileti bloğu patolojik olmaktan çok fizyolojik bir bloktur; yoksa bu kadar bir süre içerisinde demiyelinizasyonun gerçekleşmesi beklenmez. İyileşmede muhtemelen lezyon ve çevresindeki ödemin ve akut inflamatuvar değişikliklerin gerilemesi ile olmaktadır. Demiyelinizasyon ise yavaş ve en iyi ihtimalle kısmen gerçekleşir. Bu durumun SSS'deki işlevsel etkileri de sinir iletisinin yavaşlaması şeklindedir. MS' in klasik özelliği olan ısı artışı ve egzersizle bazı belirtilerin artması, demiyelinize sinir lifinde iletinin ısı artışı sonucu geliştiği deneysel olarak da gösterilmiştir. Vücut ısısında sadece 0,5°C artış, demiyelinize veya ince miyelinli liflerde ileti bloğuna yol açar. Aynı şekilde, hiperventilasyonda görsel uyarılmış cevabın iletimini yavaşlatır.

Demiyelinize ve demiyelinize bölgelerin çok hafif metabolik ve çevresel değişikliklere aşırı duyarlı olması, bazı hastalarda bulguların aniden ortaya çıkışını veya SSS'aktif inflamatuvar değişikliklerin bulunduğu dair herhangi bir laboratuvar bulgusu olmaksızın gözlenen belirgin klinik dalgalanmaları açıklayabilir. Sigara içmek, yorgunluk, hiperventilasyon ve çevre ısısındaki artış gibi olayların tamamı nörolojik işlevlerde kısa süreli bozulmalara yol açabilir ve hastalığın atakları ile karıştırılabilir.

*“Adam's and Victor' s . Principles of Neurology Ropper H. Allan, Brown R. H. 8. Baskı Türkçe çeviri editörü; Murat Emre. 36. Böl. Multipl skleroz ve ilişkili demiyelinizan hastalıklar. Sf. 772-789”*

### **Klinik semptom ve bulgular:**

MS, daha önce hiçbir sağlık problemi olmayan tamamen sağlam kişilerde görülebileceği gibi bazı hastalarda öyküde nörolojik bulgular ortaya çıkmadan birkaç hafta ile birkaç ay öncesinde aşırı yorgunluk, enerji kaybı, kilo kaybı ve müphem kas ve eklem ağrıları bulunabilir. Klinik başlangıç akut, hiperakut başlayabileceği gibi klinik tablo günler ve haftalar hatta aylar içinde yerleşebilir.

### **Erken belirti ve bulgular:**

Hastaların yarısında ilk belirti, bir veya daha fazla ekstremitede güçsüzlük, parestetik şikâyetler veya ikisinin birlikteliği şeklinde olabilir. Belirtiler genellikle birkaç saat veya birkaç gün içinde ortaya çıkar ve önemsenmeyecek kadar hafif olabilir. Nadiren akut ve belirgin şekilde ortaya çıkabilir ve hastayı doktora gitmek zorunda bırakır. Sonuçta klinik SSS'nin tutulum yerine göre değişik klinik semptomlarla ortaya çıkabilir.

MS klasik olarak genelde genç erişkinleri (40 yaş altı) etkiler ve genellikle relapsing remitting ataklarla seyreder (%85), SSS'de ak maddedeki traktusların etkileniminin ön planda olduğu değişik klinik heterojenice gösteren nörolojik bir bozukluktur.

**1.Kognitif bozukluk;** ileri demans MS kliniğinde yaygın değildir. Belirgin şekilde ancak %5 hastadan daha azında ortaya çıkar. Bununla birlikte hastalar sıklıkla hafıza zayıflığından yakınır. Nöropsikolojik testlerde %34-%65 arasında değişen oranda Kognitif bozukluk görülebilmektedir.

### **2. Kraniyal sinir bozuklukları;**

**a. Vizüel bozukluk;** optik nörit sıklıkla görülen vizüel yollarda en sık görülen bozukluk şeklidir. Çoğunlukla santral olmak üzere değişik derecede görüş kaybı (skotom) görülür. MS bilateral optik nörit nadir değildir. Akut atak sonrası hastaların yaklaşık %90'ında 2-6 ayda normal vizyona kavuşurlar.

**b. Oküler motor yollarda bozukluk;** MS'de Oküler motor bozukluk nadir olmakla birlikte azalan oranda VI, III ve nadiren IV. Kafa çiftleri tutulur. Nistagmus ise sık görülen bir bulgu olup özellikle pandüler nistagmus MS'de karakteristiktir. İnternükleer oftalmopleji MS tanısını destekler.

**c. Diğer Kraniyal sinir bozuklukları;** fasiyal duyuadaki objektif veya sübjektif bozukluk MS'de nispeten yaygındır. Genç erişkinde ortaya çıkan trigeminal nevralji sık olarak görülen erken bir klinik bulgudur. MS' de görülebilecek diğer nadir fasiyal bulgular arasında; fasiyal miyokimi, yüzde fasikülasyon ve hemifasiyal spazm sayılabilir Hastaların %30-50'sinde Kraniyal sinir kaynaklı vertigo görülür.

**3. Duyusal bozukluklar;** MS hastalığının hem başlangıç ve hem de seyrinde duyuusal objektif- sübjektif bozukluklar sık olarak görülür. Duyusal yakınmalar spinotalamik traktus, posterior spinal kord, dorsal spinal kök bölgelerindeki lezyonları yansıtır. Duyusal muayenede vibrasyon, pozisyon, dokunma ve ağrı duyuularında bozukluk saptanabilmektedir.

**4. Motor yollarda bozukluklar;** kortikospinal yolun tutulumuna bağlı motor disfonksiyon sık görülür. Paraparezi veya parapleji spinal kord inen motor yolların tutulumuna bağlı olarak üst ekstremitelerde güçsüzlüğüne göre anlamlı derecede daha sık görülür. Hastalarda motor yolların tutulumuyla birlikte fleksör veya ekstansör kaslarda şiddetli spastite mevcuttur. Hastaların nörolojik muayenesinde spastisite, derin tendon reflekslerinde artma, ekstansör plantar yanıt, bazen de klonus tespit edilir. Tüm bu bulgular genellikle asimetriktir.

**5. Serebellar yollarda bozukluklar;** serebellar yolların tutulumu sonucunda dengesizlik, ekstremitelerin koordine hareketlerinin bozukluğu ve dizartrik konuşma ortaya çıkabilmektedir. Nörolojik muayenede dismetri, disdiadokokinezi, ataksi gibi serebellar bulgular tespit edilir. Oküler bulgular olarak nistagmus, oküler dismetri gibi bulgular serebellar veya serebellovestibuler bağlantıların fonksiyon bozukluklarını göstermektedir. Konuşma patlayıcı özelliktedir. Bazı olgularda ekstremitelerde şiddetli

intansiyonel tremor görülür. Serebellar bulgulara genellikle piramidal bulgular eşlik eder. Sifinkter ve seksüel disfonksiyonlar alt ekstremitelerin motor bozukluğuna paralel seyrederek. Yakınmalarının çoğunu oluşturan üriner inkontinans, mesane detrussor kasının inhibisyon kaybı sonucunda ortaya çıkar ve suprasegmental spinal lezyonu yansıtır ve hastalığın progresyon sürecinde sık görülür. Spinal kordun sakral segmentinin tutulumu ile azalmış üriner akım, miksiyon durması gibi bulgular veren mesane hipoaktivitesi gelişebilir. Özellikle bayanlarda daha fazla olmak üzere idrar yolu enfeksiyonu genellikle sık izlenir.

MS hastalarında, konstipasyon fekal inkontinanstaki daha siktir. Alt ve üst motor nöron tutulumunda görülebileceği gibi, hareketsizlik nedeniyle sık olarak karşımıza çıkar. Seksüel disfonksiyon progresyona bağlı olarak hem erkek ve hem de kadın olguların çoğunda görülür.

### **Multiple Skleroz'da Klinik Gidiş:**

Hastalığın seyirinde klinik başlama şekli ve seyir açısından 4 kategori tanımlanmıştır;

**1. Relapsing remitting MS;** hastaların %85'i bu tipte başlar. İlk bulgular tamamen iyileşir veya hafif bulgular kalır. Sonraki beş yıl içerisinde ikinci bir atak geçirme olasılığı fazladır. Tekrarlayan ataklarda nörolojik sekeller kalabilir. Bu hastaların uzun süreli takiplerinde yarından fazlası sekonder faza geçerler.

**2. Sekonder progressif MS;** hastalık RRMS tipinde başlar. İki, üç veya daha fazla atak sonrası sürekli bir progresyon söz konusudur.

**3. Relapsing progressif MS;** ataklar halinde seyrederek ve temelde sürekli bir progresyon görülür.

**4. Primer progressif MS;** hastaların yaklaşık %15'i başlangıçta atak olmadan sürekli progressif olarak ilerler. Görülme yaşı 40'ın üzerindedir. Kadın erkek oranı eşittir. Klinik bulgular daha çok miyelopati şeklindedir. Kognitif yıkım



daha azdır. İmmunolojik yönü SPMS'ye göre daha azdır. MR' da hastalık aktivitesi daha az görülür. HLA tiplerinde DQB1, DR4 sıklığı fazladır.

MS, ayrıca klinik hastalığının şiddetine göre 2 şekilde tanımlanmıştır;

1. **Bening MS;** hastalığın başlangıcından itibaren 15 yıl sonra hala tüm nörolojik sistemler tam olarak fonksiyoneldir.
2. **Malingn MS;** hastalıkta başlangıçtan itibaren hızlı bir progressif gidiş vardır ve Multipl nörolojik sistemlerde anlamlı özürüllüğe yol açar veya başlangıç zamanına göre kısa sayılabilecek zaman da ölümle sonuçlanır.

#### **Tanı Kriterleri:**

Multiple sklerozun tanısının temelini öykü ve nörolojik muayene oluşturur. MS hasta gruplarında ilk kayda değer kriterler 1965 yılında Schumacher ve arkadaşları tarafından yapıldı. Burada 6 tanı koydurucu klinik özellik tanımlanmıştır. Bunlar; objektif SSS muayene bulgusu, SSS'de ak madde tutulumu, SSS'de iki veya daha fazla bölge tutulumuna ait kanıt, relapsing remitting veya progresif (6 aydan fazla) klinik seyir, 10-50 yaş arası başlangıç olarak tespit edilmiştir (**Tablo 2.2**). Daha sonra bu kriterler BOS analizi, uyarılmış potansiyeller ve nörogörüntüleme gibi laboratuvar tanılarıyla desreklenir. Tüm bu özelliklere dayanarak önce Poser (**Tablo 2.3**) ve daha sonra da McDonald tanı kriterleri geliştirilmiştir.

**Tablo 2.2:** MS kliniğinde sık görülen bulgular

<b>MS'i destekleyen Klinik</b>	<b>MS'i desteklemeyen klinik</b>
15-50 yaşta başlama	10 y önce veya 60 y sonrası
Relaps ve remisyon	Sabit progresyon
Optik nörit	Erken demans
Lhermitte bulgusu	Rijidite, devam eden distoni
Halsizlik	Apraksi, aleksi, neglet
Isı artışıyla bulguların artması	Dakikalar içinde gelişme

**Tablo 2.3:** Poser kriterleri. KKMS; klinik olarak kesin MS, LKMS; laboratuvar destekli kesin MS, KOMS; klinik olası MS, LDOMS; laboratuvar destekli olası MS.

<b>Sınıflama</b>	<b>Atak</b>	<b>Klinik bulgu</b>	<b>Paraklinik bulgu</b>	<b>BOS GB/IgG</b>
KKMS A1	2	2	-	-
KKMS A2	2 ve	1	1	-
LKMS B1	1	2	-	+
LKMS B2	1	1 ve	1	-
KOMS K1				
K2	2	1	-	-
K3	1	2	-	-
	1	1 ve	1	-
LDOMS	2	-	-	+

**Ayırıcı Tanı:**

MS hastalığı ayırıcı genç erişkin popülasyonu etkileyen ve hem klinik hem de laboratuvar olarak benzer bulgularla seyreden SSS'nin pek çok hastalığıyla karışabilmektedir. MS tanısını zorlaştıran durumlar özellikle özgün olmayan şikâyetler, monofazik veya progresif hastalık seyridir. Aşağıda ayırıcı tanıda MS ile karışabilecek hastalıklar görülmektedir.

**1. İnflamatuvar hastalıklar**

Granülomatöz anjit  
SLE  
Sjögren sendromu  
Behçet hastalığı  
PAN  
Paraneoplastik ensefalomyelopati

**2. Miyelin bozuklukları**

Metakromatik lökodistrofi  
Adrenolökomyelodistrofi  
Wegener granülomatozisi

**3. Granülomatöz hastalıklar**

Sarkoidoz  
Wegener granülomatozisi  
Lenfomatoid granülomatozis  
Postinfeksiyöz ensefalomyelit  
Akut dissemine ensefalomyelit

**4. Enfeksiyon hastalıkları**

Lyme  
HTLV- 1  
Nörobrusellözis  
HIV  
Nörosifiliz ve Nörobruselloz  
PMLE

**5. Diğer**

Spinocerebellar bozukluklar  
Arnold Chiari malformasyonu  
Vitamin B 12 eksikliği

*“ Olek M.J, Dawson D.M. Multipl Sclerosis and Other Demyelinating Disease of the Central Nervous System. Chapter 60. Bradley Third edition. 1431–1465”*

MR görüntülemenin rutin olarak kullanılmasıyla sık olarak multiple sklerozla karışabilecek ak madde lezyonlarının ayırt edilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır. MS lehine değerlendirilebilecek MR bulguları periventriküler ışınal dağılım, lezyon sayısının 3'den fazla olması, lezyon büyüklüğünün 6 mm'den büyük olması, uzun eksenleri lateral ventriküllere dik olarak uzanan oval şekilli lezyonların bulunması, periventriküler, korpus kallozum ve arka çukurda yerleşmeleri olarak özetlenebilir (52).

### **Tedavi**

Kontrollü klinik çalışmalar temel alındığında, sadece metilprednisolon, ACTH (adrenokortikotropik hormon), prednison, metotreksat, mitoksantron, azotiopürin, siklosporin, siklofosamid, kopolimer, interferon beta, mitoksantron ve son yıllarda kullanılmaya başlaaann natalizumab gibi integrin antagonistlerinin gerek hastalık, gerekse MR lezyonları üzerine yararlı etki gösterdikleri tespit edilmiştir.

### **Kortikosteroidler:**

Akut atak tedavisinde halen kullanılan ve klinik düzelme üzerinde olumlu etkisi olan tedavi seçeneğidir. Hastalığın genel seyri üzerinde ve daha sonraki atakları önlemede etkisinin olmadığı kabul edilmektedir. Kortikosteroidler, T hücre fonksiyonlarını modüle ederek, makrofajlar üzerinde sınıf II antijen ekspresyonunu azaltarak, proinflamatuvar sitokinlerin yapımını ve aktivitesini inhibe ederek IL-1, IL-2, IL-6 yapımını azaltarak, lökotrien ve prostoglandinleri suprese, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibe ederek immun sistem üzerine etki etmektedir (53). Multiple skleroz hastalarının SSS'de artmış IgG sentezi ve BOS'daki yüksek IgG seviyesi, anti-MBP gibi miyelin komponentlerine karşı oluşan antikorların oluşumunu da baskılamaktadır. Atak sırasında ki nöroinflamasyonda primer rol oynayan sitokin ve kemokinlerin düzeylerinde IV metil prednisolon tedavisinden sonra düzeylerinde düşüş görülmektedir. Steroidlerin sitokin ve kemokin reseptör ekspresyonunu inhibe ederek etkilerini gösterdikleri düşünülmektedir (54).

**Glatiramer asetat:**

Diğer adıyla kopolimer, MBP'de bulunan 4 aminoasidin rasgele şekilde dizilimiyle sentezlenmiştir. Bu aminoasitler glutamik asit, lizin, alanin ve tirozindir. İlk olarak yapılan EAE modellerinde etkili olduğu görülmüş ve buradan hareketle RRMS hastalarında kullanımıyla yeni atak geçirmeyi önemli oranda azalttığı gösterilmiştir (55).

**İnterferon Beta:**

İnterferon-1a ve interferon-1b glatitramer asetat gibi hem atak sıklığını ve hem de MR'daki lezyonları azalttığına dair yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bu ajanların MS'teki etki mekanizması tümüyle tam olarak tespit edilmemiş olup MHC sınıf II antijenlerinin hücrelerde görünme şeklini, hücre trafiğini ve kan beyin bariyerinin geçirgenliğinin dengesini, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin dengesini değiştirmektedirler ( 56).

**Mitoksantron:**

Hızlı progresyon gösteren ve MS'de diğer tedavi seçeneklerine yanıt vermeyen olgularda tercih edilebilir. Etki mekanizması tam anlaşılamamakla birlikte T ve B lenfositler üzerinde güçlü immunosupresif etki gösterdiği tahmin edilmektedir. Atak sıklığı ve hastalık progresyonu üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. MRG'da yeni lezyon gelişimini önlediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Çeşitli kullanım protokolleri mevcuttur. En önemli yan etkileri, kemik iliği inhibisyonuna sekonder sepsis ve kardiyotoksisitedir. Geri dönüşümsüz kardiyomyopatiye yol açabilir. Bu nedenle hastalar ekokardiografi ile izlenmeli, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu normalin %50 altına düştüğü durumda ilaç kullanımına son verilmelidir (57).

**Metotreksat:**

Dihidrofolat redüktaz inhibitörüdür. Kronik progresif MS hastalarında yapılan çalışmalarda hastalığın progresyonu üzerinde olumlu etkisinin olduğu gözlenmiştir. MS'in progresif formunda önerilmektedir (58).

**Azotiopürin:**

Pürin antimetabolitidir. Hem hücrenel, hem de humoral immunitiyi baskılar. Bazı çalışmalarda 2-3 mg/kg uygulanmasıyla relaps hızının azaldığı gösterilmiştir. Hastalık progresyonu üzerine olan etkisi konusunda çelişkili sonuçlar elde edilmektedir. SPMS olgularında plazmaferezle birlikte kombine edildiğinde hastalık aktivitesini inhibe ettiği, bunun da MR lezyon yükünün azalması ile gösterildiği iddia edilmektedir. Azotiopürin ayrıca RRMS'de interferon- $\beta$  ve Glatiramer Asetat'a yanıt vermeyen olgularda da kullanılabilir (59).

**Siklosporin:**

Potent bir immunosüpresiftir. T hücrelerinin aktivasyonunu çeşitli basamaklarda inhibe eder. Kronik progresif MS olgularında uygulandığında hastalarda tekerlekli sandalyeye bağımlı olma sürecini uzattığı gösterilmiştir. Nefrotoksik olduğundan kullanım alanı sınırlıdır (60).

**Siklofosfamid:**

Alkileyici bir ajandır. Potent sitotoksiktir. Yüksek doz IV siklofosfamid, hızlı progresyon gösteren kronik olgularda yararlıdır. Yan etki olarak bulantı, kusma, hemorajik sistit, lökopeni, miyokardit, infertilite, pulmoner interstisyel fibrozis yapar. Bazı çalışmalarda mesane kanserine de yol açtığı gösterilmiştir. Ancak etkinliği konusunda çelişkili sonuç veren çalışmalar nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Metotreksat gibi toksisitesi daha az olan ajanlara yanıt alınamayan durumlarda kullanımı önerilir (61).

**Natalizumab;**

Alfa-4 integrin antagonisti olan insan monoklonal antikorudur. Bu ajanla yapılan bir kohort çalışmasında 6 ay boyunca aylık serebral MR ile hastalar takip edilmiş ve bu takipte hastaların serebral kontrast tutan lezyonlarında dikkat çekici bir azalma gözlenmiştir. En ciddi yan etkisi progresif multifokal lökoensefalopatidir (62).

**Multiple Sklerozda Yaşam Kalitesini Değerlendirme:**

Multiple skleroz'un progresyonunun yaşam kalitesi üzerindeki etkisini

değerlendirmede halen en yaygın kullanılan yaşam kalite ölçeği EDSS (Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği), merkezi sinir sisteminin fonksiyonel sistem olarak bilinen sekiz bölgesinin ölçümlerine dayanır. Ölçek önce bu fonksiyonel sistemlerdeki bozukluk derecesini ölçer. Sonra da yürüme mesafesini kullanarak hareket açısından özürlülük derecelendirilir (**EK-1**).

1955 yılında John Kurtzke tarafından geliştirilmiş Özürlülük Durum Ölçeği ya da DSS 10 adıma bölünmüştür. Sıfır normal sağlık durumunu gösterirken, 10 sık görülmeyen ve MS nedeniyle olan ölümü gösterir. Bu ölçek hastalığın şiddetindeki bazı ayrıntılar açısından yetersiz bulundu ve 1983 yılında 20 adıma yükseltildi. Eski ölçeğin aralarına 10 adım daha eklenerek Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği oluşturuldu (63) (**EK- 2**).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 8.02.2007 tarih ve 24 sayılı kararıyla çalışma başlatıldı.

Çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim dalında takip edilmekte olan veya atak ile başvuran 31 multiple skleroz hastası ve karşılaştırma için 12 sağlıklı kontrol grubu alındı. Hastaların 12'si ataksız dönemdeki RRMS (Relapsing Remitting MS), 11'i ataksız dönemdeki SRMS (Sekonder Relapsing MS) ve 8'i RRMS atak hastası olarak gruplandı. Hastaların tümü Poser kriterlerine (**bkz. Tablo 2.3**) göre kesin MS tanısı almış hastalar arasından seçildi. Tüm hasta grupları sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Atak hasta grubundan bir hasta erken taburcu olması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı. Kalan 7 atak hastasının ise 5, 7 veya 10 günlük 1000 mg/gün İVMP (intravenöz metil prednisolon) tedavi öncesi 1. gün ve tedavi bittikten sonraki ilk gün regülatuar T hücre profilleri ve foxP3 ekspresyonu karşılaştırıldı.

### Hasta kabul kriterleri:

1. Poser kriterlerine göre klinik olarak kesin MS veya laboratuvar destekli kesin MS tanısı almış olma,
2. EDSS skoru 0- 6,5 arasında olan hastalar,
3. RRMS atak hastaları için en son aldığı İVMP (intravenöz metilprednisolon) tedavisi ile arasında bir aylık süre olması olarak tespit edildi.

### Hasta çıkarılma kriterleri:

1. Poser kriterlerine göre klinik olarak kesin MS veya laboratuvar destekli kesin MS tanı kriterlerini taşımayan ,
2. Herhangi bir inflamasyon odağı olan,
3. Gebelik ve emzirme döneminde olan ,
4. Tespit edilmiş hematolojik herhangi bir malign hastalığı olan,
5. Ciddi karaciğer hastalığı olan,



6. Kortikosteroid tedavisi için kontrendikasyon olabilecek medikal durumları bulunan (kontrol edilemeyen kan şekeri, ileri derecede osteoporoz, ilaç alerjisi vb.) hastalar.

**Çalışma protokolü:**

Ataksız dönemdeki hastalardan bir defa, atak geçirmekte olan hastalardan ise İVMP tedavisinden önce ve sonra olmak üzere iki defa CBC tüpüne 2'şer ml venöz kan örneği alındı. Aynı günlerde hastaların klinik muayene ve bulgularına göre EDSS skoru hesaplandı. Toplanan kan örneklerinin günlük akım sitometri cihazıyla analizleri yapıldı.

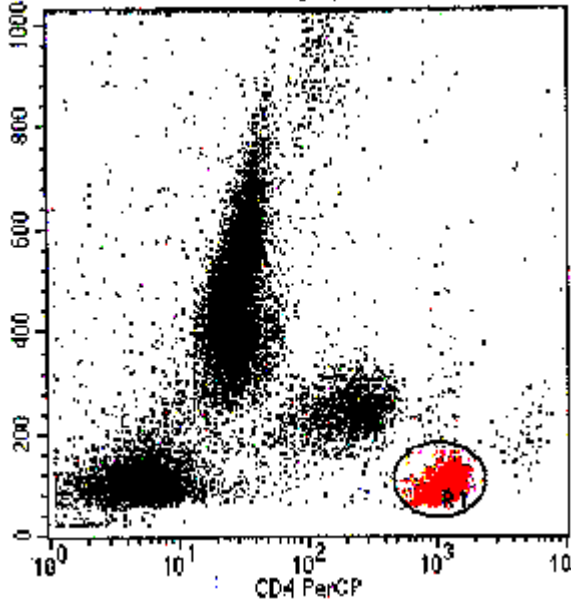
Çalışmada eBioscience firmasından temin edilen anti-human CD4 PerCP monoklonal antikor işaretleyici, CD25 FITC işaretleyici, anti-human foxP3 PE işaretleyici ve foxP3 Staining Buffer set kullanıldı.

**Laboratuvar çalışma prosedürü:**

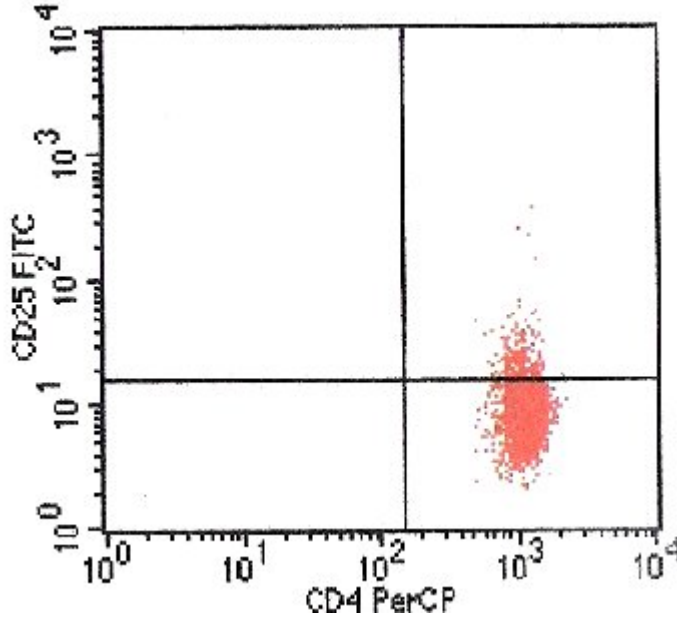
Her bir kan örneğinin çalışmasında sırasıyla aşağıdaki adımlar takip edildi:

1. Çalışılacak tüplere 100 µl'de  $2 \times 10^3$  hücre olacak şekilde ayarlandı.
2. Yüzey antijenleri CD4 perCP, CD25 FITC işaretli antikorlar eklendi ve 15-20 dakika karanlıkta oda ısısında bekletildi.
3. Eritrositler içeren karışıma 2 cc lysing solüsyonu koyuldu, solüsyon 10 dakika oda ısısında bekletildi ve böylece eritrositler lize edilerek atıldı, ardından 15 dakika 100 rpm'de santrifüje edilerek lökositler yıkandı.
4. Soğuk 2 cc PBS (yıkama solüsyonu fosfat buffer salin) ile santrifüje edildi.
5. Pellet (tortu) ve 1 ml hazırlanmış F/Pr çalışma solüsyonu ilave edildi.
6. Buzdolabında  $+4\text{ C}^\circ$  de 30-60 dakika karanlıkta bekletildi.
7. 2 ml 1x permiabilizasyon buffer ile yıkandı supernatani (kalıntı) atıldı.
8. İkinci kez 2 ml 1x permiabilizasyon buffer ile yıkandı supernatani atıldı.
9. Pelletin üzerine 20 µl foxP3 PE human antikorunu kondu,  $4\text{ C}^\circ$  de en az 30 dakika karanlıkta bekletildi.
10. 2 ml 1x permiabilizasyon buffer ile 2 kere yıkandı ve supernatani atıldı.
11. Tekrar 2ml 1x permiabilizasyon buffer ile yıkılarak supernatani atıldı.
12. PBS ile resüspanse edilerek flow cytometride analiz edildi.

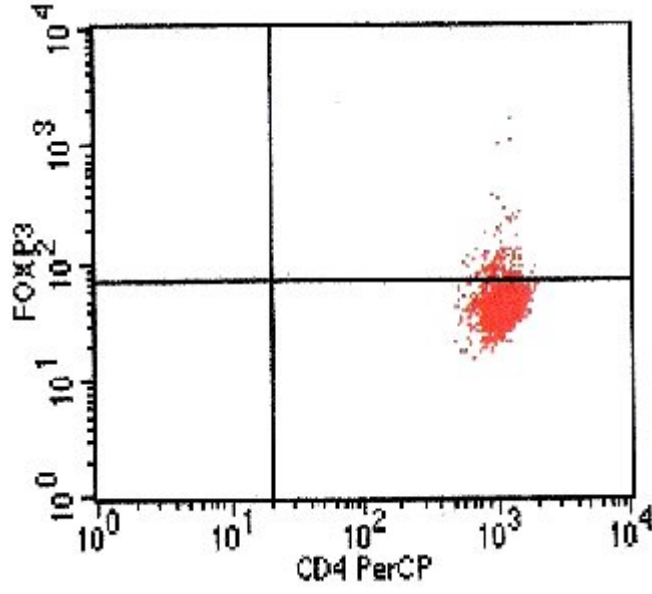
Akım sitometri (flow cytometri) analizinde toplam kan şekilli elemanları içindeki regülatuar T hücre oranları (**şekil 3.1**), regülatuar hücre alt tipleri ve foxp3 ekspresyonu şu şekilde gruplandı;



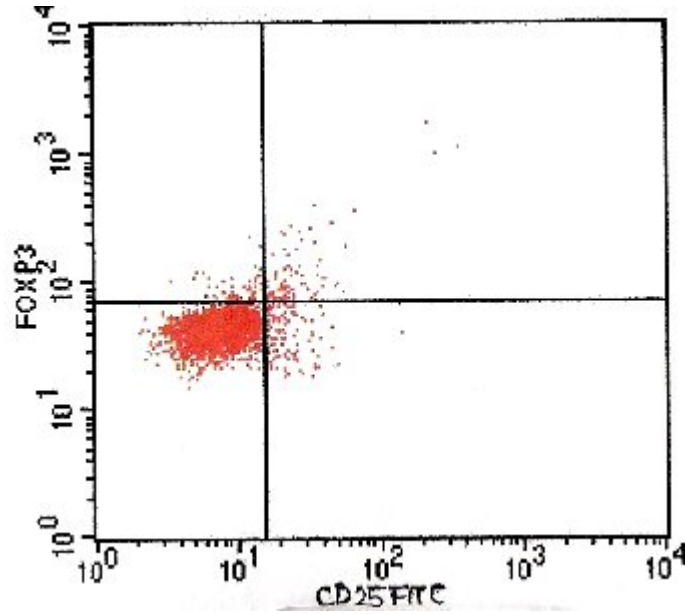
**Şekil 3.1:** İşaretli alan total kan şekilli elemanlarının içindeki CD4(+) T lenfositlerin yüzdesini göstermektedir (örnekte; %14.79).



**Şekil 3.2:** Total T lenfositler içindeki CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücrelerin yüzdesi (% 7.58-sağ üst alan-).



Şekil 3.3: Total T lenfositler içindeki CD4(+) Foxp3 (+) regülatuar T hücrelerin oranı (4.73-sağ üst alan).



Şekil 3.4: *Sağ üst*; CD4(+) CD25(+) foxP3(+), *sağ alt*; CD4(+) CD25(+) foxP3(-), *sol üst*; CD4(+) CD25(-) FOXp3(+)  
T regülatuar hücrelerinin yüzdelerini göstermektedir.  
(Sırasıyla % 2.87, %4,7, %2.20)

Elde edilen bulgular Biyoistatistik Anabilim dalında aşağıdaki biçimde değerlendirildi;

1. Analizlerde SPSS for Windows 15.0 ve Sigmastat 3.1 kullanıldı.
2. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (mean  $\pm$  SD) ile gösterildi.
3. Verilerin normallik varsayımları Shapira- Wilk testi ile test edildi.
4. Normal dağılım gösteren verilere Paired Sample “t” test (eşleştirilmiş t testi) ve tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) kullanıldı.
5. Normal dağılım göstermeyen verilere Wilcoxon “t” testi ve Kruskal Wallis kullanıldı.
6.  $P < 0,05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan sağlıklı 12 kontrol grubunun yaş sınırları; 22-41 (28,5±2.06), cinsiyetleri de 8 kadın, 4 erkektir. Oniki RRMS hastasının yaş sınırları; 21-42 (31.75±2.22), tümü kadın, EDSS'leri 0-2 (0.59±0.17), hastalık süresi; 6 ay- 9 yıldadır (2,45±0.73). Onbir SRMS hastasının yaş sınırları; 23-53 (37.6±2.7), 4 erkek, 7 kadın, hastalık süreleri 2-14 (6,8±1.13), EDSS'leri 2-6.5 (3.5±0.35)'tur (**tablo 4.1**).

**Tablo 4.1:** Çalışılan grupların özellikleri (ort.; ortalama, sh; standart hata)

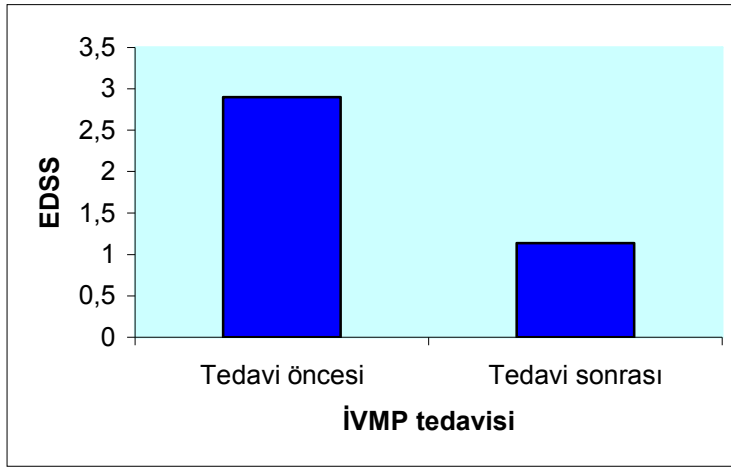
Grup	Sayı	Yaş (ort±sh.)	Cinsiyet	Hastalık süresi (Yıl ort±sh)	EDSS
Kontrol	12	28,5±2.06	8 K, 4 E	*	*
RRMS	12	31.75±2.2	K	2.45±0.73	0.59±0.17
SRMS	11	37.6±2.7	7 K, 4 E	6,8±1.13	3.5±0.35

Atak RRMS hastalarının yaş sınırları; 23-46 (36.2±2.8), 1 erkek 7 kadın, hastalık süreleri; 6 ay- 10 yıl (5.2±1.3), atak öncesi; EDSS; 2- 3.5 (2.9±0.22), 7 hastanın atak sonrası EDSS; 0.5- 2 (1.14±0.8). Atak RRMS hastasının EDSS değerlerinde 1000 mg/gün İVMP tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede düşme bulundu (P<0.05) (**tablo 4.2**). Aynı hastaların EDSS skorlarının grafiksel dağılımı **şekil 4.1**'de görülmektedir.

**Tablo 4.2:** Atak hastalarının İVMP tedavi öncesi ve sonrası EDSS skoru.

Grup	N	Yaş (ort±sh.)	Cins	Hastalık süresi (Yıl ort±sh)	EDSS (atak Ö)	EDSS (atak S)	P*
Atak	8	36.2±2.8	7 K, 4 7	5.2±1.3	2.9±0.22	1.14±0.8	*

\* p=0.017 ( p< 0.05, anlamlı)

**Şekil 4.1:** İVMP tedavisinin EDSS skoruna etkisi (p= 0.17, anlamlı).

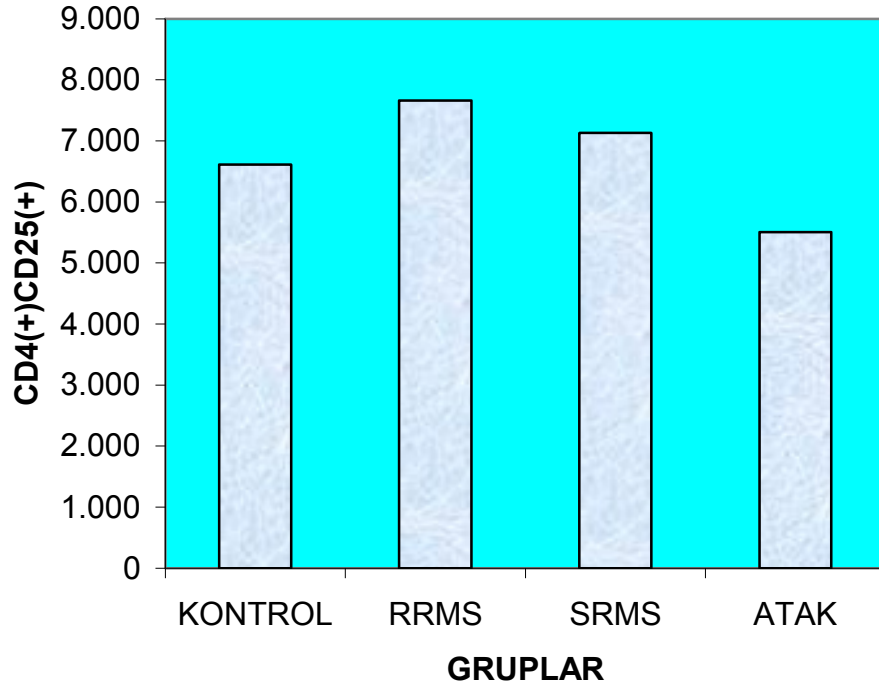
Tüm hasta gruplarının CD4(+)CD25(+), CD4(+)FoxP3(+), CD4(+)CD25(+)FoxP3(+), CD4(+)CD25(+) foxP3(-) ve CD4(+)CD25(-) FoxP3(+) regülatuar T hücre profilleri sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (P>0.05) (**tablo 4.3**).

**Tablo 4.3:** Hasta gruplarının kontrol grubuyla karşılaştırmaları (O: Aritmetik ortalama, S: Sandart Hata).

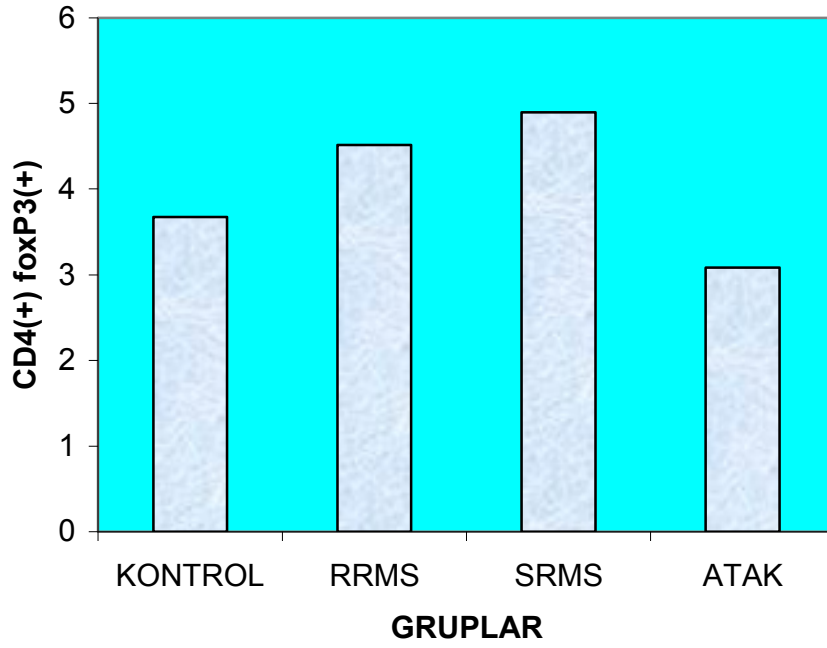
Regülatuar hücre profili	Kontrol (O±SH)	RRMS (O±SH)	SRMS (O±SD)	Atak (M±SH)	P değeri *
CD4(+)CD25(+)	6.61±1.7	7.65±2.4	7.13±3.5	5.50±2.5	0.344*
CD4(+)FoxP3(+)	3.67±1.6	4.51±1.5	4.89±2.3	3.08±2.7	0.107*
CD4(+)CD25(+) FoxP3(+)	1.82±0.9	1.86±0.9	1.74±0.8	1.27±1.3	0.590*
CD4(+)CD25(+) FoxP3(-)	5.85±1.9	5.59±1.9	6.25±3.8	4.90±2.5	0.739*
CD4(+)CD25(-) FoxP3(+)	1.79±0.8	1.95±0.6	2.69±1.2	1.64±1.4	0.117*

\*P>0.05 (anlamli değil) (varyans analizi ve Kruskal Wallis'e göre)

Aşağıdaki şekillerde ise regülatuar T hücre alt grup değerlerin grafiksel karşılaştırmaları görülmektedir(Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6).

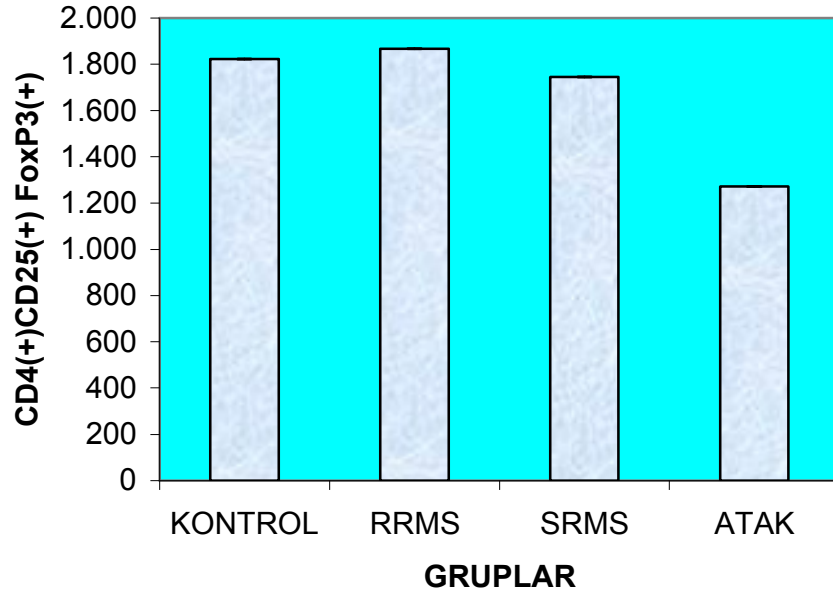


**Şekil 4.2:** CD4(+)CD25(+) regülatuar T hücre profili gruplara göre dağılımı (p=0.344)

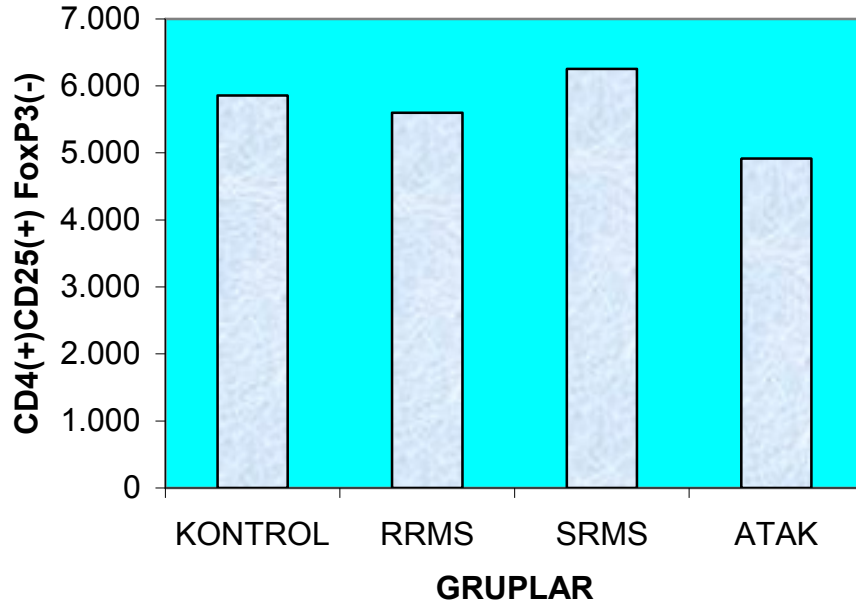


**Şekil 4.3:** CD4(+)FoxP3(+) regülatuar T hücrelerin gruplara göre dağılımı (p=0.107)

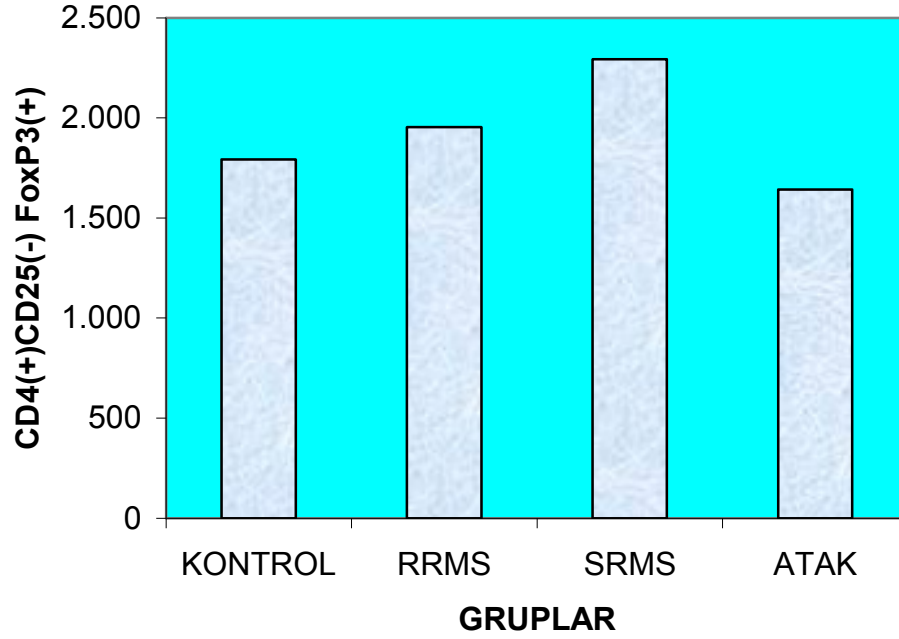




**Şekil 4.4:** CD4(+)CD25(+) FoxP3(+) regülatuar T hücrelerin gruplara göre dağılımı (p= 0.590).



**Şekil 4.5:** CD4(+)CD25(+) FoxP3(-) regülatuar T hücrelerin gruplara göre dağılımı (p=0.790).



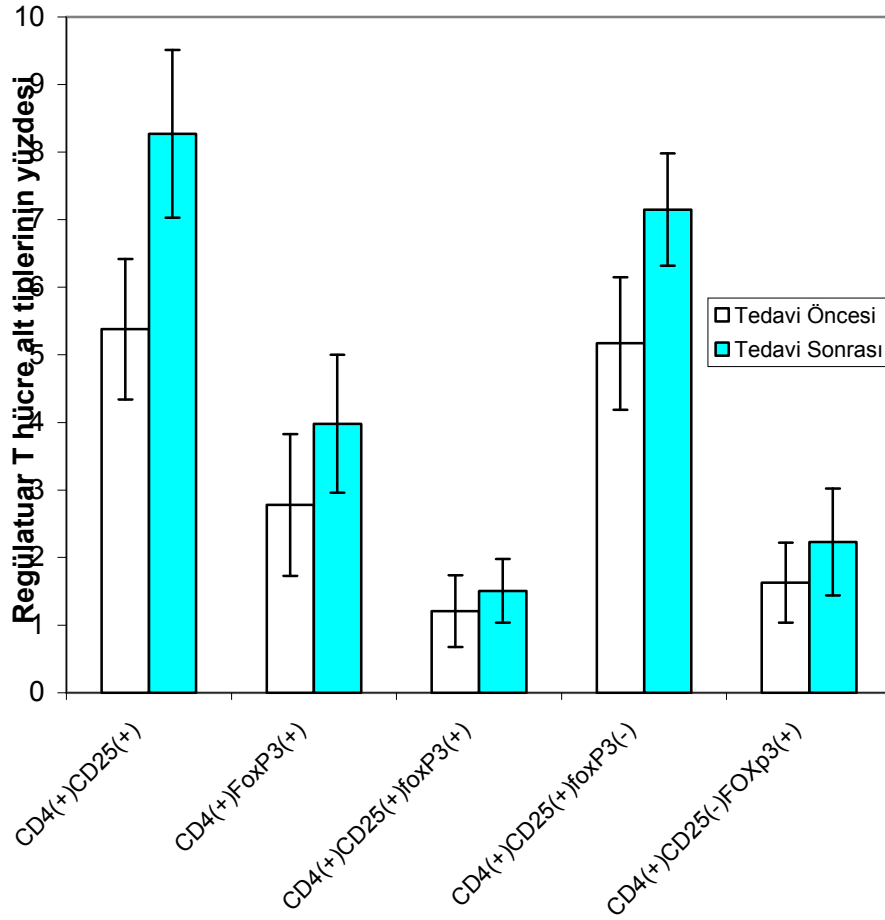
**Şekil 4.6:** CD4(+)CD25(-) FoxP3(+) regülatuar T hücrelerin gruplara göre dağılımı(p=0.117).

İVMP ile tedavi öncesi ve tedavisi sonrası ataklı 7 hastanın regülatuar hücre profili ve foxP3 ekspresyonu sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (P>0.05). Ancak İVMP tedavisinin regülatuar hücre alt tiplerinde sayısal olarak çok az bir düzeyde artma şeklinde bir etki gösterdiği görüldü (Tablo 4.4 ve Şekil 4.7).

**Tablo 4.4:** Ataklı hastalarda tedavi öncesi (T.Ö) ve tedavi sonrası (T.S) regülatuar T hücrelerinin gruplara göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı değildi (P= 0.064, P= 0.118) ( M: Mean değer, SH: Standart Hata).

RRMS atak sırası	CD4(+) CD25(+) (M±SH)	CD4(+) FoxP3(+) (M±SH)	CD4(+) CD25(+) FoxP3(+) (M±SH)	CD4(+) CD25(+) FoxP3(-) (M±SH)	CD4(+) CD25(-) FoxP3(+)	P*
T.Ö	5.38±1.04	2.78±1.05	1.21±0.53	5.17±0.98	1.63±0.59	0.06
T.S	8.27±1.24	3.98±1.02	1.51±0.47	7.15±0.83	2.23±0.79	0.11

\*P>0.05(anlamlı değil)



**Şekil 4.7:** Regülatuar T hücre profiline İVMP tedavisinin etkisi.

## TARTIŞMA

Bugüne kadar yapılan araştırmalarda MS'te periferik kan ve BOS'ta regülatuar T hücrelerinin sayısal bir farklılığı bulunmamışsa da bu hücrelerin otoreaktif T lenfositlerin baskılanması ve dolayısıyla da otoimmunitenin ortaya çıkışını engelleme fonksiyonlarında sorun olduğunu düşündüren önemli kanıtlar olmuştur. Örneğin Viglietta ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada yaşları 15- 57 arasında değişen 15 MS hastası, herhangi bir otoimmun hastalığı olmayan 21 sağlıklı kontrol grubunun regülatuar CD4(+) CD25(+) T hücre popülasyonunun karşılaştırılmasında, hastalar ve sağlıklı kontrol guruplarında hücrelerde sayısal olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen bu hastaların regülatuar T hücrelerinin hem otolog ve hem de efektör T hücreleriyle karşılaştırıldığında baskılayıcı özelliklerinin sağlıklı kontrol grubuna göre oldukça düşük kapasitede olduğunu görmüşlerdir. Buradan da MS patogenezinde olasılıkla defektif fonksiyona sahip regülatuar hücrelerin rol oynadığı şeklinde bir sonuç çıkardılar. Araştırmacılar bu hastaların regülatuar T hücrelerinde Th1 sitokin üretiminin baskılayıcı yeteneğinde farklılık olduğunu belirlediler. Bu bağlamda sağlıklı kontrol grubunda regülatuar T hücreleri INF- $\gamma$  üretimini baskılayabiliyorken, MS grubundaki regülatuar T hücrelerinde bu özellik görülmemiştir. Yine aynı çalışmalarda MS hastalarındaki diğer defektif fonksiyonel regülatuar hücre göstergesi olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IL-2'nin ekspresyonu anlamlı derecede düşük çıkmıştı (64).

Bunun yanı sıra regülatuar T hücrelerinde fonksiyonel yetersizliğin bir diğer nedeni olarak özgül antijen tanıma yeteneklerinde ve aktivasyonlarının genetik modülasyonunda defisit olması neden olarak gösterilmiştir. Sonuçta bu hücrelerin neden olduğu immun regülasyon bozukluğunun ortaya çıkışında bu hücrelerin inhibisyon yeteneklerinin kaybı yol açar. Son yıllarda Seddon ve ark.ları yaptıkları deneysel bir çalışmada şiddetli otoimmun bozukluğa neden olan afonksiyone regülatuar T hücrelerinin olduğu denek ratlara fonksiyonel CD4(+) CD25(+) regülatuar hücre verilmesiyle otoimmunitelerinin 4 haftada

gerilediğini gözlemlemişlerdir (65). Üzerinde durulan diğer bir konu kemik iliği transplantasyonu ile fonksiyonel regülatuar hücrelerin indüklenmesi ve böylece MS ataklarının engellenmesidir. Bu konuda bir çalışmayı Martin M. Herman ve ark.ları deneysel EAE modelinde yapmışlar ve otoimmün ratlara yaptıkları kemik iliği nakli ile hastalığın kliniğinde görülen relapsların azaldığını fark etmişlerdir. Ratların periferik kan örneklerinin incelemesinde ise fonksiyonel CD4(+)CD25(+) foxP3(+) ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (66).

CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücreler fonksiyonel olarak heterojenite gösterirler. Fonksiyonel heterojenitenin nedeni HLA-DR ve intraselüler CTLA4 gibi değişik molekülleri eksprese etme işlevleriyle ilişkilidir. Bu moleküller tüm regülatuar hücrelerde aynı seviyede eksprese olmazlar ve bazı hücrelerde ekspresyonlar artmışken bazılarında hiç eksprese olmayabilirler. Bu sonuç tüm hasta veya sağlıklı bireylerde sayı olarak aynı miktarda regülatuar hücre bulunduğu halde otoimmün yemelikli hastalarda hastalığın ortaya çıkışına neden olurken bazılarında otoimmunitenin görülmemesini açıklayabilir. Regülatuar T hücrelerin TGF- $\gamma$  ve IL -10'un yetersiz ekspresyonu bu hücreler sayısal ve/veya yüzdesel olarak yeterli olsa bile, baskılayıcı yeteneklerini ve dolayısıyla da hücrelerin regülatuar fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir (67).

Son yıllarda Graves hastalığı ve multiple skleroz gibi hastalıklardaki otoimmünite ile ilişkili bulunan INF- $\gamma$  bağımlı kemokin reseptör ligand molekülü CXCR-3, regülatuar hücrelerin dokulara infiltrasyonunu engellemekte adeta ablukaya alınmış regülatuar profili ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda da regülatuar hücreler fonksiyonlarını yerine getirecekleri yere göç edememekte ve dolayısıyla etkisiz hale gelmektedirler. MS relapslarında bu molekülün yüksek seviyede upregüle olduğu tespit edilmiştir (68).

MS patogeneğinde bu hücrelerin rolü olarak ileri sürülen bir diğer görüş bu hücrelerin hastalığın başlangıç döneminde sayı olarak azaldıkları ve fonksiyonlarının bozulduğu şeklindedir. Bunu destekleyen Jensen ve

arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, MS'in başlangıç atağı olarak değerlendirilen klinik izole sendromlu 44 hastada otoreaktif T hücrelerinin sayısının MR görüntüleme ve klinikle körele olarak yüzdelerinin arttığını ve buna karşın CD4(+) CD25(+) regülatuar T hücre sayısının hem kanda, hem de BOS'ta düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada ilginç olarak BOS'taki regülatuar T hücre yüzdesi oligoklonal bant, MBP (miyelin bazik protein) konsantrasyonları ve MR'daki demiyelinizan lezyonları gösteren plaklar lezyonlar ile negatif korelasyon göstermesini tespit etmişlerdir (69).

Yüksek doz İVMP tedavisinin RRMS atak hastalarında klinik olarak belirgin düzelme sağladığı kanıtlanmıştır ve bugün pek çok klinikte atak tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroidlerin yararlı etkilerini, otoreaktif T hücrelerini ve antijen sunan hücrelerin (APC), inflamatuvar sitokinlerin salınımlarının inhibisyonunu sağladıkları ve böylece kan beyin bariyerinin geçirgenliğini düzelttikleri ve kontrast tutulumu gösteren MR lezyonlarının sayısını azalttıkları tespit edilmiştir (70). Wang ve arkadaşlarının 16 RRMS atak hastasına 3-5 gün 1g/gün İVMP uygulamasının ardından oral 60mg (2 haftada kesilerek) yaptıkları tedavide, tedavi öncesine göre tüm grupta EDSS'de istatistiksel olarak anlamlı derecede düşme ( $p=0.028$ ) tespit etmişlerdir (71).

Bizim çalışmamızda da hastaların EDSS skorunda istatistiksel olarak anlamlı düşme tespit ettik. Hastalarımızın regülatuar hücre yüzdelerinde ise istatistiksel anlamlılığı olmayan regülatuar hücre alt tiplerinde artma belirledik. Literatürde çalışmamıza benzeyen bir çalışmayı Navarro ve ark. yapmışlar ve 20 relaps MS hastasına 3-5 gün 1g/gün İVMP verdikleri, hasta gurubunu 18 sağlıklı birey gurubuyla karşılaştırmışlardır. Sonuçta tedavi gurubunda anlamlı derece otoreaktif CD8 (+) T lenfositlerindeki azalmanın aksine; CD8(+)CD25(+), CD4(+)CD25(+) ve regülatuar hücre profilinin arttığını görmüşlerdir (72).

Bütün bu araştırmalardan hareketle çıkardığımız sonuç, bu hücrelerin sayısal bakımdan normal veya normale yakın olsalar bile daha çok nitelik ve/veya işlevsellik özelliklerinin bir nedenle bozulduğu ve bunun da MS patogenezinde anahtar rol oynadığı oldu. Çalışmamızda bulduğumuz

sonuç olan sağlıklı kontrol gurubuyla hasta gruplarının ile atak gurubunun kendi arasında yüzdesel olarak fark olmayışı yanında normal foxP3 ekspresyonu bu düşünceyle uyumludur. Literatürde varolan az sayıda çalışmada MS hastalarındaki regülatuar hücre sayılarındaki azalmaya ilişkin olan sonuç ise muhtemelen immun regülasyonun bozulmaya başladığı başlangıç dönemindeki hastalar için geçerlidir. Oysa bizim çalışmamızdaki MS hastaları başlangıç dönemini geçirmiş takip hastalarından oluşuyordu. Bu da hastalarımızda regülatuar T hücre profilinin sağlıklı kontrol grubuyla büyük ölçüde sayısal olarak fark olmasa bile bu hücrelerin fonksiyon bakımından yetersiz hale gelmiş olduklarını düşündürmektedir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Sağlıklı kontrol grubuyla ataksız RRMS hastaları, ataksız dönemdeki SRMS hastaları ve atak ile gelen RRMS hastalarının (+)CD25(+), CD4(+)FoxP3(+), CD4(+)CD25(+)FoxP3(+), CD4(+)CD25(+) foxP3(-) ve CD4(+)CD25(-) FoxP3(+) regülatuar hücre profili karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ( $P>0.05$ ). Atak ile gelen RRMS hastalarının İVMP tedavisi öncesi ve sonrası EDSS skorlarında anlamlı bir düşme saptandı ( $p=0.017$ ,  $p<0.05$  anlamlı).
2. Atak RRMS hasta gurubunun kendi içinde İVMP tedavi öncesi ve sonrası regülatuar hücre profilinde istatistiksel olarak anlamlı sayılabilecek bir artış sağlanmadı ( $p>0.05$ ).

Bu hücrelerle ilgili yanıtlanması gereken çok önemli sorular önümüzde durmaktadır. Bunlar; bu hücrelerin alt tiplerine özgü antijenlerin neler olduğu ve aktivasyonları için tam olarak neye gereksinim duydukları, immun yanıt boyunca yapısal ve fonksiyonel dinamiklerini etkileyen mikroçevrenin tam olarak aydınlatılması şeklinde sıralanabilir. Bu problemleri çözmeye yarayacak araştırmalar, başta multiple skleroz olmak üzere diğer otoimmün hastalıkların tedavisinde çok önemli adımların atılmasını sağlayabilecektir.



## KAYNAKLAR

1. Weiner LH. Multiple sclerosis is an inflammatory T-Cell-mediated autoimmune disease. *Archives Neurology*. 2004;61: 613-1616.
2. Piccirillo AC, Shevach ME. Naturally occurring CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: central players in the arena of peripheral tolerance. *Sem in Immunol*. 2004;16;81-88.
3. Winquist RJ, Kwong A, Ramachandran A, Jain J. The complex etiology of multiple sclerosis. *Biochemical Pharmacology*. 2007; 94;1-9.
4. O'Connor CK, Bar-on A, Hafler DA. The Neuroimmunology of Multiple Sclerosis: Possible Roles of T and B Lymphocytes in Immunopathogenesis. *Journal of Clinical Immunology*. 2001;21; 81-87.
5. Imitola J, Chitnis T, Khoury. Insights into the molecular pathogenesis of progression in multiple sclerosis. *Archives Neurology*. 2006; 63;025-33.
6. Lan Ruth Y, Ansari Aftab A, Lian Z, Gershwin M. Regulatory T cell: Development, function and role in autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 4. 2005;351-363.
7. Bachetta R, Gregori S, Roncarolo MG. CD4(+) regulatory T cells: Mechanisms of induction and effector function. *Autoimmunity Reviews* 4. 2005; 491-496.

8. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. FoxP3 programs development and function of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *Nature immunology*. 2003;4:330-335.
9. Multiple Sclerosis International Federation. <http://www.msif.org/ms-the-disease/quick-fact.html>. 2007/08/21.
10. Baumann N, Pham-dinh D. Biology of Oligodendrocyte and Myelin in the Mammalian Central Nervous System. *Physiological Reviews*. 2001;81:871-927.
11. Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G. The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2002;104:182-191.
12. Mayer JD. Geographical Clues About Multiple Sclerosis. *Annals of The Association of American Geographers*. 1981;71:29-39.
13. Tienari P, Bonetti A, Pihlaja H, Saastamoinen KP, Rantamaki T. Multiple Sclerosis in Genes And Geography. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2006;108: 223–226.
14. Sotgiu S, Pugliatti M, Laura Fois M, Arru G, Sana A, Sotgiu Maria A, Rosati G. Genes, environment, and susceptibility to multiple sclerosis. *Neurobiology of Disease*. 2004;17:131–143.
15. Dyment, DA, Ebers GC, Sadovnick AD. Genetics of multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2004;3:104-110.

16. Sotgiu S, Pugliatti M., Sanna A, Sotgiu A, Castiglia P, Solinas G, Dolei A, Sera C, Bonetti B, Rosati G. Multiple sclerosis complexity in selected populations: the challenge of Sardinia, insular Italy. *European Journal of Neurology*. 2002;9:329–341
17. Perron H, Garson J, Bedin F, Beseme F, Paranhos-Baccala G, Komurian-Pradel F, Mallet F, Tuke Pw , Voisset C.V, Blondj.L, Lalandes B, Seigneurin J.M, Mandrand B, And The Collaborative Research Group On Multiple Sclerosis. Molecular Identification of A Novel Retrovirus Repeatedly Isolated From Patients With Multiple Sclerosis. *The National Academy of Sciences*. 1997;94:7583-7588.
18. Cook SD. ( Editor).Evidence for an infectious etiology of Multiple Sclerosis. *Handbook of multiple sclerosis*. Taylor&Francis yayinevi. 2006: 68-68.
19. Lerner A. Aetiological role of viruses in multiple sclerosis: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1986;79:412-417
20. Gay F. Bacterial toxins and Multiple Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2007;262;105–112.
21. Marrie A. Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. *Lancet Neurol*. 2004;3:709–18

22. Zamvil S, Steinman L. Diverse Targets For Intervention During Inflammatory And Neurodegenerative Phases of Multiple Sclerosis. *Neuron*. 2003;38:685–688.
23. Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W. Acute Axonal Injury In Multiple Sclerosis with Demyelination And Inflammation. *Brain*. 2000;123:1174-1183.
24. Giulian F, Goodyer CG, Antel JP, Yong VW, Vulnerability of Human Neurons to T Cell-Mediated Cytotoxicity. *The Journal of Immunology*. 2003; 171:368–379.
25. Irani DN. Immunological mechanisms in multiple sclerosis Review. *Clinical and Applied Immunology Reviews*. 2005;5:257-269.
26. Aktas O, Smorodchenko A, Brocke S, Infante-Duarte C, Topphoff U, Vogt J, Prozorovski T, Meier S, Osmanova V, Bechmann PE, Nitsch R, Zipp F. Neuronal Damage in Autoimmune Neuroinflammation Mediated by the Death Ligand TRAIL. *Neuron*. 2005;46: 421–432.
27. Libbey JE, Peterson LK, Tsunoda I, Fujinami RS. Monoclonal MOG-reactive autoantibody from progressive EAE has the characteristics of a natural antibody. *Journal of Neuroimmunology* 2006;173:135 – 145.

28. Niehaus A, Shi J, Grzenkowski M, Diers-Fenger M, Archelos J, Hartung HP, Toyka K, Brück W, Trotter J, Patients with Active Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Synthesize Antibodies Recognizing Oligodendrocyte Progenitor Cell surface Protein: Implications for Remyelination. *Annals of Neurology*. 2000; 48 :362-371.
29. Tiwari-Woodruff SK, Myers LW, Bronstein JM. Cerebrospinal Fluid Immunoglobulin G Promotes Oligodendrocyte Progenitor Cell Migration. *Journal of Neuroscience Research*. 2004;77:363–366
30. Zhang Y, Reng-Rong D, Hilgenberg LG , Wallace WT, Sobel RA, Smith AM, Olek M , Nagrac R, Sudhir G, van den Noort S, Qin Y. Clonal expansion of IgA-positive plasma cells and axon-reactive antibodies in MS lesions. *Journal of Neuroimmunology*. 2005;167:120 – 130.
31. Anthony DC, Perry VH. Axon damage and repair in multiple sclerosis. *The Royal Society*. 1999;354:1641-1647.
32. Redford EJ, Kapoor R, Smith KJ. Nitric oxide donors reversibly block axonal conduction: demyelinated axons are especially susceptible. *Brain*. 1997;120:2149–2157.
33. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of Multiple Sclerosis Lesions: Implications for the Pathogenesis of Demyelination. *Ann Neurol*. 2000;47:707–717.

34. Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: Implications for diagnosis and therapy. *TRENDS in Molecular Medicine*. 2001;7:115-121.
35. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer, Laursen MH, Sorensen S, Brück W, Lucchinetti C, Lassmann H. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain*. 2006;129:3165–3172.
36. Baumann N, Pham-Dinh D. Biology of Oligodendrocyte and Myelin in the Mammalian Central Nervous System. *Physiol Rev*. 2001. 81;871-927
37. Sakaguchi S. Regulatory T Cells: Key Controllers of Immunologic Self-Tolerance. Minireview. *Cell*. 2000;101:455–458.
38. Piccirillo CA, Thornton AM. Cornerstone of peripheral naturally occurring regulatory T cells. *TRENDS in Immunology*. 2004;25:374-377.
39. Taams LS, Akbar AN, Wauben MHM. Regulatuar T cell in inflammmation.2005:135.
40. Zoltan F, Sakaguchi S. Development and function of CD25RCD4R regulatory T cells. *Current Opinion in Immunology*. 2004;16:203–208.
41. Song F, Gienapp IE, Shawler T, Guan Z, Whitacre CC. The Thymus Plays A Role in Oral Tolerance Induction in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Annals New York Academy of Sciences*. 2004;1029:402–404 .

42. Kosmaczewska A, Bilinska M, Ciszak L, Noga L, Pawlak E, Szteblich A, Podemski R, Frydecka I. Different patterns of activation markers expression and CD4<sup>+</sup> T-cell responses to ex vivo stimulation in patients with clinically quiescent multiple sclerosis (MS). *Journal of Neuroimmunology*. 2007;189:137–146.
43. Maier CC, Bhandoola A, Borden W, Yui K, Hayakawa K, Greene MI. Unique molecular surface features of in vivo tolerized T cells. *Immunology*. 1998;95:4499–4503.
44. McHugh RS, Shevach EM. Series editor: Rosenwasser LJ, The role of suppressor T cells in regulation of immune responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110: 693-701.
45. Sawitzki B, Kingsley CI, Oliveira V, Karim M, Herber M, Wood KJ. IFN- $\gamma$  production by alloantigen-reactive regulatory T cells is important for their regulatory function in vivo. *The journal of Experimental Medicine*. 2005;201:1925-1935.
46. Verhagen J, Blaser K, Akdic AC, Akdis M. Mechanisms of Allergen-Specific Immunotherapy: Regulatory Cells add More. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2006;26:207-231.
47. Beyersdorf N, Hanke T, Kerkau T, Hunig T. CD28 superagonists put a break on autoimmunity by preferentially activating CD4<sup>(+)</sup>CD25<sup>(+)</sup>regulatory T cells. *Autoimmunity Reviews*. 2006;5;40–45.

48. Nune JA, Truneh A, Olivei D, Cantrell DA. Signal transduction by CD28 Costimulatory Receptor on T Cells. B7-1 And B7-2 Regulation of Tyrosine Kinase Adaptor Molecules. *The Journal of Biological Chemistry*. 1996;271:1591-1598.
49. Bacchetta R, Passerini Laura, Gambineri E, Dai M, Allan SE, Perroni, Dagna-Bricarelli LF, Sartirana C, Matthes-Martin S, Lawitschka A, Azzari C, Ziegler SF, Levings MK, Roncarolo MG. Defective regulatory and effector T cell functions in patients with FOXP3 mutations. *The Journal of Clinical investigation*. 2006;116:1713-1722.
50. Abbas AK, Jens Lohr, Birgit Knoechel, Vijaya Nagabhushanam. T cell tolerance and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* . 2004; 3:471– 475.
51. Samanta BLA, Song X, Furuuchi K, Iacono KT, Kennedy S, Katsumata M, Saouaf SJ, Grene MI. FOXP3 ensembles in T-cell regulation. *Immunological Reviews*. 2006;212:103-113.
52. Eraksoy M, Akman Demir G, Öge AE (editör). MSS demiyelinizan hastalıkları. İ.Ü Nöroloji ders kitabı. Nobel Tıp Kitabevi. 2004; syf:505-535.
53. Pitzalis C , Sharrack B , Gray IA , Lee A, Hughes RAC . Comparison of the effects of oral versus intravenous methylprednisolone regimens on peripheral blood T lymphocyte adhesion molecule expression, T cell subsets distribution and TNF alpha concentrations in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 1997;74:62–68.



54. Zhang GX, Baker CM, Kolson DL, Rostami AR. Chemokines and chemokine receptors in the pathogenesis in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis* 2000;6:3-13.
55. Ruth A, Polman CH, Montalban X. Does glatiramer acetate induce neurogenesis in experimental autoimmune encephalomyelitis?. *J Neurol*. 2007;254 [suppl 1].
56. Koch-Henriksen N, Sorensen PS, Christensen T, Frederiksen J, Ravnborg M, Jensen K, Heltberg A, Kristensen O, Stenager E, Petersen T, Hansen T for the Danish Multiple Sclerosis Group. A randomized study of two interferon-beta treatments in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology*. 2006;66:1056-1060.
57. Krapf H, Morrissey SP, Zenker O, Zwingers T, Gonsette K, Hartung HP; and the MIMS Study Group. Effect of mitoxantrone on MRI in progressive MS. Results of the MIMS trial. *Neurology*. 2005;65:690-695.
58. Lugeschi A, Caporale C, Farina D, Marzoli F, Bonanni L, Muraro PA, De Luca G, Iarlori C, Gambi D. Low-dose oral methotrexate treatment in chronic progressive multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2001; 22:209-210.
59. Polman CH, Uitdehaag. Drug treatment of multiple sclerosis. Regular review. *BMJ* 2000;321: 490-494.
60. Bashir K, Whitaker JN. Current immunotherapy in MS. *Immunology Cell and Biology*. 1998;76:55-64.

61. Gauthier SA, Buckle GJ, Weiner HL. Immunosuppressive Therapy for Multiple Sclerosis. *Neurol Clin* 2002; 23: 47–272.
62. Hohlfeld R, Wekerle H. Autoimmune concepts of multiple sclerosis as a basis for selective immunotherapy: From pipe dreams to (therapeutic) pipelines. *PNAS*. 2004; 101 suppl. 2: 14599–14606.
63. Sharrack B, Hughes RAC, Soudain S, Dunn G. The psychometric properties of clinical rating scales used in multiple sclerosis. *Brain*. 1999;122:141–159.
64. Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, Hafler DA. Loss of Functional Suppression by CD4(+) CD25(+) Regulatory T Cells in Patients with Multiple Sclerosis. *J. Exp. Med.* 2004;199:971–979.
65. Seddon B, Mason D. Peripheral autoantigen induces regulatory T cells that prevent autoimmunity. *J Exp Med.* 1999;189:877–82.
66. Herrmann MM, Gaertner S, Stadelmann C, van den Brandt J, Bochscke R, Budach W, Reichardt HM, Weissert R. Tolerance induction by bone marrow transplantation in a multiple sclerosis model. *Blood*. 2005;106:1875-1883.

67. Serra P, Amrani A, Yamanouchi J, Han B, Thiessen S, Utsugi T, CD40 ligation releases immature dendritic cells from the control of regulatory CD4+CD25+ T cells. *Immunity*. 2003;19:877–89.
68. Sarween N, Chodos A, Raykundalia C, Khan M, Abbas AK, Walker LSK. CD4(+) CD25(+) Cells Controlling a Pathogenic CD4(+) Response Inhibit Cytokine Differentiation, CXCR-3 Expression. *The Journal of Immunology*. 2004;173:2942–2951.
69. Jensen J, Langkild AR, Fenster C, Nicolaisen MS, Roed HG, Christiansen M, Sellebjerg F. CD4 T cell activation and disease activity at onset of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2004;14:202–209.
70. Gogovska L, Ljapcev R. Prolonged versus short-term treatment with high dose methylprednisolone for acute relapses in patients with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis.ECTRIMS*. 2001;7(Suppl-1):s50.
71. Wanga HY, Matsui M, Araya S, Onaib, Matsushima K, S Takahiko. Immune parameters associated with early treatment effects of high-dose intravenous methylprednisolone in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2003;216:61–66.
72. Navarro J, Aristimuño C, Sánchez-Ramón S, Vigil D, Luisa Martínez-Ginés Ma, Andrés EFC. Circulating dendritic cells subsets and regulatory T-cells at multiple sclerosis relapse: Differential short-term changes on corticosteroids therapy. *J Neuroimmunol*. 2006;176:153-61.

**EK - 1****Fonksiyonel Skala****A . Piramidal fonksiyonlar**

0- Normal

1- Disabilite olmadan anormal belirtiler

2- Minimal disabilite

3- Hafif veya orta derecede paraparezi veya hemiparezi veya ciddi monoparezi.

4- Belirgin paraparezi veya hemiparezi, orta derecede kuadriparezi veya monopleji.

5- Parapleji, hemipleji veya belirgin kuadriparezi.

6- Kuadripleji

**B. Serebellar Fonksiyonlar**

0- Normal

1- Disabilite olmadan anormal belirtiler

2- Hafif ataksi

3- Orta derecede ekstremiteler veya gövde ataksisi

4- Ciddi ataksi (bütün ekstremitelerde)

5- Koordine hareketlerin ataksi nedeniyle yapılamaması

**C. Beyin Sapı Fonksiyonları**

0- Normal

1- Sadece belirtiler var

2- Orta derecede nistagmus veya diğer hafif disabilite

3- Ciddi nistagmus, belirgin ekstraoküler güçsüzlük veya orta derecede diğer kraniyal sinir disabilitesi

4- Belirgin dizartri veya diğer belirgin bozukluklar

5- Çiğneme ve yutmanın yapılamaması.

**D. Duyusal Fonksiyonlar**

0- Normal

1- Bir veya iki ekstremitede vibrasyon duyusunda azalma veya figür çizme testinin bozulması

2- Dokunma, ağrı veya pozisyon duyusunda azalma ve/veya, bir yada her iki ekstremitede sadece vibrasyon duyusunda azalma

3- Dokunma, ağrı veya pozisyon duyusunda orta derecede azalma ve/veya bir veya iki ekstremitede vibrasyon kaybı veya ağrı veya dokunma \_duyusunda hafif azalma ve/veya bütün proprioseptif testlerin üç veya dört ekstremitede orta derecede bozulması

4- Belirgin ağrı, dokunma veya proprioepsiyon kaybı, yalnız veya kombine, bir veya iki ekstremitede veya ağrı ve dokunmadaki orta derecede azalma ve/veya ikiden fazla ekstremitede ciddi proprioseptif duyu kaybı

5- Bir yada iki ekstremitede duyu kaybı veya ağrı veya dokunmanın orta derecede kaybı ve/veya başın altındaki vücut bölümlerinde proprioseptif duyu kaybı

6- Başın altındaki vücut bölümünde tam duyu kaybı

#### **E. Barsak ve Mesane Fonksiyonu**

0- Normal

1- Hafif üriner tutukluk, urgensi veya retansiyon

2- Orta derecede tutukluk, urgensi veya retansiyon

3- Sık üriner inkontinans

4- Hemen hemen sabit kateter ihtiyacı

5- Mesane fonksiyonunun kaybı.

6- Barsak ve mesane fonksiyonunun kaybı

#### **F. Görme Fonksiyonu**

0- Normal

1- 20/30 dan fazla iyi görme keskinliği ile skotom

2- Maksimal görme keskinliği 20/30- 20/59 olan skotomlu göz

3- Geniş skotom veya görme alanında orta derecede azalma, fakat maksimal görme keskinliği 20/60- 20/99 olan göz

- 4- Görme alanında bariz azalma ve maksimal görme keskinliği  
20/100- 20/200 evre 3+, maksimal görme keskinliği 20/60 veya daha az olan göz
- 5- Maksimal görme keskinliği 20/200 den az olan göz evre 4+, maksimal görme keskinliği 20/60 veya daha az evre 5+ maksimal görme keskinliği 20/60 dan az. Grade 0-6+ temporal solukluk

### **G-Mental Fonksiyonlar**

0- Normal

- 1- Sadece duygu-durum deđişimi
- 2- Kognisyonda hafif azalma
- 3- Kognisyonda orta derecede azalma
- 4- Kognisyonda belirgin azalma (kronik beyin sendromu- orta derecede)
- 5- Demans veya kronik beyin sendromu ( ciddi yetersizlik)

### **H- Diğer fonksiyonlar**

0- Normal

- 1- MS işareti olan her nörolojik bulgu.

**EK-2****Tam EDSS ölçeği****0**

Normal nörolojik bulgular (işlevsel sistemlerde tüm dereceler 0).

**1.0**

Özürlülük yok ve minimal anormal muayene bulgusu.

**1.5**

Özürlülük yok; bir işlevsel sistemden daha fazlasında minimal bulgu .

**2.0**

Bir işlevsel sistemde minimal özürlülük.

**2.5**

İki işlevsel sistemde minimal özürlülük.

**3.0**

Bir işlevsel sistemde orta derecede özürlülük yada üç yada dört işlevsel sistemde özürlülük, tamamen yardımsız yürüyebiliyor.

**3.5**

Tamamen yardımsız yürüyebiliyor fakat bir işlevsel sistemde orta derecede özürlülük ve bir yada iki işlevsel sistemde 2. derece ; yada iki işlevsel sistemde 3. derece; yada beş işlevsel sistemde 2. derece (diğerleri 0 yada 1).

**4.0**

Tamamen yardımsız yürüyebiliyor; bir işlevsel sistemde 4. derece özürlülük olmasına rağmen, kendine yeterli ve günde 12 saat yatak dışında geçiriyor, (diğerleri 0 ve 1) yada önceki adımlarda sınırları geçmeyen kombinasyonlar ; yardımsız ya da dinlenmeden 500 metre yürüyebiliyor.

**4.5**

Tamamen yardımsız yürüyebiliyor; günün büyük bir bölümünde ayakta; tüm gün çalışabiliyor; tüm aktiviteler açısından bazı sınırlamaları olabilir ya da minimal yardım gerekebilir; bir işlevsel sistemde 4. derece özürlülükle karakterize (diğerleri 0 ve 1) yada önceki adımlarda sınırları geçmeyen kombinasyonlar; yardımsız yada dinlenmeden 300 metre yürüyebiliyor.

**5.0**

Tam gün çalışmasını da içererek tam günlük aktiviteyi engelleyecek derecede özürlülük; yardımsız ya da dinlenmeden 200 metre yürüyebilir; genel işlevsel sistemlerden birinde 5. derece (diğerleri 0 yada 1) yada 4. adımı geçecek biçimde daha düşük derecede bir kombinasyon.

**5.5**

Yardımsız yada dinlenmeden 100 metre yürüyebilir; tam günlük aktiviteyi engelleyecek derecede özürlülük; genel işlevsel sistemlerden birinde 5. derece (diğerleri 0 yada 1) yada 4. adımı geçecek biçimde daha düşük derecede bir kombinasyon.

**6.0**

Dinlenmeli ya da dinlenmeden aralıklı ya da tek taraflı sürekli yardım ile 100 metre yürüyebilir; genel işlevsel sistemlerde iki işlevsel sistemden fazlasında 3. derecenin üzerinde özürlülük.

**6.5**

Dinlenmeden 20 metre yürümek için sürekli ve iki taraflı yardım gerekir; genel işlevsel sistemlerde iki işlevsel sistemden fazlasında 3. derecenin üzerinde özürlülük.

**7.0**

Yardımla bile yaklaşık 5 metre yürüyemez; tekerlekli sandalye ile sınırlıdır; standard tekerlekli sandalyeyi kendi yürütebilir; günde 12 saate yakın tekerlekli sandalyededir; genel işlevsel sistemlerde bir işlevsel sistemden fazlasında 4. derecenin üzerinde özürlülük; seyrek olarak yalnızca piramidal sistemde 5. derece.

**7.5**

Birkaç adım atamaz; tekerlekli sandalye ile sınırlıdır; ulaşım için yardıma gereksinim duyabilir; tekerlekli sandalyeyi götürebilir fakat standart bir tekerlekli sandalyede tam gün kalamaz; motorlu tekerlekli sandalye gerekebilir; genel işlevsel sistemlerde bir işlevsel sistemden fazlasında 4. derecenin üzerinde özürlülük.

**8.0**



Temel olarak yatağa, bir sandalyeye yada tekerlekli sandalyeye bağlıdır fakat günün çoğunu yatağın dışında geçirebilir; kişisel bakım işlevlerinin birçoğunu yapabilir; kollarını etkin kullanabilir; genel işlevsel sistemlerde birkaç işlevsel sistemden fazlasında 4. derecenin üzerinde özürllük.

### **8.5**

Temel olarak günün büyük bir bölümünde yatağa bağlıdır; kişisel bakım işlevlerinin bazılarını yapabilir; kollarını bir miktar etkin kullanabilir; genel işlevsel sistemlerde birkaç işlevsel sistemden fazlasında 4. derecenin üzerinde özürllük.

### **9.0**

Çaresiz ve yatağa bağımlı; iletişim kurabilir ve yemek yiyebilir; genel işlevsel sistemlerin çoğunda en az 4. derecede özürllük.

### **9.5**

Tamamen çaresiz ve yatağa bağımlı; etkin biçimde iletişim kuramaz yada yemek yiyemez/yutamaz; genel işlevsel sistemlerin hemen hepsinde en az 4. derecede özürllük.

### **10.0**

Solunum paralizisi, bilinmeyen nedenli koma yada tekrarlayan epileptik nöbetler sonucu MS nedenli ölüm.