

763547

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA BEYİN
OMURİLİK SIVISI TOTAL TAU PROTEİN
DÜZEYİ VE DİFFÜZYON AĞIRLIKLI BEYİN
MAGNETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEME İLE
OLAN İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. MURAT TERZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. MUSA K. ONAR

SAMSUN 2005

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Musa K. Onar'a, Prof. Dr. Gülten Tunalı'ya, Prof. Dr. Taner Özbenli'ye, Yrd. Doç. Dr. Nilgün Cengiz'e, Yrd. Doç. Dr. Hacer E. Tilki'ye, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin A. Şahin'e ve Yrd. Doç. Dr. Hande Türker'e, tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Asuman Birinci ve Dr. Ebru Çetinkaya'ya, Radyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Lütfi İncesu, Prof. Dr. Barış Diren ve Dr. Köksal Atalay'a, Halk sağlığı Anabilim Dalı'ndan Dr. Servet Aker'e, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve kliniğimizde çalışan tüm personelimize, her zaman yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Dr. Tülay Terzi ve sevgili aileme teşekkür ederim.

Dr. Murat TERZİ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TABLO LİSTESİ	II
ŞEKİL LİSTESİ	III
ÖZET	IV,V
ABSTRACT	VI,VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım ve Tarihçe	3
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Etiyoloji ve Patogenez	4
2.4. Histopatoloji	6
2.5. Klinik Özellikler	7
2.6. Klinik Semptom ve Bulgular	8
2.7. Prognoz ve özürlülük	10
2.8. Multipl Skleroz'da Tanı ve Ayırıcı Tanı	11
2.8.1. Uyandırılmış Potansiyeller	13
2.8.2. BOS Bulguları	13
2.8.3. MRG	14
2.9. Nöral Sitoiskelet	20
2.10. Tau proteini ve Sinir Sistemi	21
2.11. Enzime Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	25
3. HASTALAR VE METOD	27
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	49
7. KAYNAKLAR	50
8. EK TABLO	58

TABLO LİSTESİ

- Tablo I** : MRG Tanı Kriterleri
- Tablo II** : Zamana Yayılımı Kanıtlamak İçin MRG Kriterleri
- Tablo III** : MS ve Kontrol Grubunun Yaş Dağılımı
- Tablo IV** : MS ve Kontrol Grubunun Cinsiyete Göre Karşılaştırılması
- Tablo V** : MS Olgularının Kranial MRG'lerindeki Ortalama Lezyon Sayısı ve Diffüzyon MRG'deki Ortalama ADC Değerleri
- Tablo VI** : MS Klinik Alt Gruplarında Ortalama ADC Değerleri
- Tablo VII** : MS ve Kontrol Grubunda Ortalama BOS Total Tau Protein Düzeyi
- Tablo VIII** : MS Klinik Alt Tiplerinde BOS Total Tau Düzeyi
- Tablo IX** : BOS OKB Pozitifliği İle BOS Total Tau Protein Arasındaki İlişki
- Tablo X** : İmmunmodülatör Tedavi İle BOS Total Tau Protein Arasındaki İlişki

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1** : MS Grubunda BOS Total Tau Protein Düzeyi Dağılımı
- Şekil 2** : Kontrol Grubunda BOS Total Tau Protein Düzeyi Dağılımı
- Şekil 3** : Hastalık Süresi İle BOS Total Tau Protein Düzeyi Arasındaki İlişki
- Şekil 4** : Atak Sayısı İle BOS Total Tau Protein Düzeyi Arasındaki İlişki
- Şekil 5** : MRG'deki Toplam Lezyon Sayısı İle BOS Total Tau Düzeyi Arasındaki İlişki
- Şekil 6** : T1 Ağırlıklı MRG'deki Toplam Hipointens Lezyon Sayısı İle BOS Total Tau Protein Düzeyi Arasındaki İlişki

ÖZET

Tau proteini, aksonların mikrotübül yapısında bulunur ve santral sinir sisteminin dejeneratif hastalıklarında BOS'a salınır. Bu nedenle BOS tau düzeyinin, bazı hastalıkların tanısı ve aksonal hasarın şiddetinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, MS hastalarının BOS tau protein konsantrasyonundaki artışın, SSS'deki lezyonların yapısal özellikleri ile olan ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya Mc Donald's kriterlerine göre MS tanısı alan 45 hasta alındı. Primer SSS lezyonuna ait bulgu ve belirtisi olmayan yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuyla uyumlu, 38 kişilik kontrol grubu oluşturuldu. Hasta grubu BOS total tau protein miktarı bakımından kontrollerle karşılaştırıldı. BOS total tau protein miktarı Innogenetics Innotest hTau Antijen kiti ile sandviç yöntemine dayanan ELISA yöntemi kullanılarak pg/ml cinsinden ölçüldü. Tüm hastalara difüzyon MRG yapıldı. Kranial MR incelemede PD-T2 transvers, T2 sagittal, T2 flair transvers, difüzyon ağırlıklı MRG ve ADC haritası, T1 transvers, postkontrast T1 transvers görüntülemelerdeki lezyon sayısı, tüm sekanslarda görülme oranları, kontrastlanma özellikleri değerlendirildi. Difüzyon ağırlıklı MRG ve ADC haritasında lezyonların görünüm özellikleri belirlendi ve bunların BOS total tau konsantrasyonu ile korelasyonu yapıldı. Çalışma sonunda elde edilen veriler "SPSS for Windows 10.0" istatistik programına aktarılarak analiz edildi.

Hastaların hastalık süreleri bir yıl ile 20 yıl arasında değişkenlik göstermekte olup ortalama hastalık süresi 5.16 ± 4.45 yıldır. Hastaların 30'u RRMS, 9'u SPMS, 6'sı PPMS'ydı. Hastaların 14'ü atak dönemindeydi. Kranial MRG'deki ortalama toplam lezyon sayısı 17.07 ± 7.94 , periventriküler beyaz cevher ortalama lezyon sayısı 10.07 ± 4.43 , hipointens lezyon sayısı 11.53 ± 6.34 , akut lezyon sayısı 0.73 ± 1.62 'ydi. Klinik formlar arasında ortalama lezyon sayısı PPMS'de daha az olmakla birlikte gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

T1 hipointens lezyonların ortalama ADC değeri $1.118 \pm 0.15 \times 10^{-3}$ mm²/sn, T1 izointens lezyonların ise $0.985 \pm 0.15 \times 10^{-3}$ mm²/sn olarak hesaplandı. Akut lezyonlardan ölçülen ortalama ADC değeri $1.062 \pm 0.15 \times 10^{-3}$ mm²/sn, normal görünümlü beyaz cevherden ölçülen ortalama ADC değeri ise $0.801 \pm 0.15 \times 10^{-3}$

mm²/sn'ydi. Hasta grubunda ortalama BOS total tau protein düzeyi 238.66±237.44 pg/ml, kontrol grubunda 93.65±82.14 pg/ml'ydi.

Her üç klinik formdaki ortalama BOS total tau protein miktarı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı oranda yükseklik gösteriyordu (p<0.05). Bununla birlikte klinik formlar arasındaki ortalama BOS total tau protein miktarı farklılığı istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). BOS total tau protein düzeyi ile hastalık süresi arasında olumlu yönde, güçlü, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardı (p<0.001). Hastaların kranial MRG'lerindeki toplam lezyon sayısı, periventriküler lezyon sayısı, toplam hipointens lezyon sayısı, akut lezyon sayısı, T1 hipointens lezyon ortalama ADC değeri ve akut lezyon ortalama ADC değeri ile BOS total tau protein düzeyleri arasında olumlu yönde, orta derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardı (p<0.05).

Çalışmamız MS hastalarının BOS tau proteini miktarıyla kranial DA-MRG görüntülemesi arasındaki ilişkiyi inceleyen literatürdeki ilk çalışmadır. T1 hipointens lezyonlar ve akut lezyonlardaki ortalama ADC değerleri ile BOS total tau protein düzeyi arasında anlamlı bir korelasyonun görülmüş olması, BOS total tau proteinin SSS'deki destrüktif tabloyu yansıtabilen bir belirleyici olarak kullanılabileceği düşüncesini desteklemektedir. Yüksek BOS tau düzeyleri aksonal hasarın erkenden gösterilebilmesi için kullanılacak bir markır olabilir ve bu markır akson koruyucu tedavilerin etkinliğinin izlenmesinde kullanılabilir.

Anahtar sözcükler: Multipl skleroz, tau, akson, beyin omurilik sıvısı, diffüzyon MRG

ABSTRACT

Tau protein is present in microtubules of axons and released to CSF in central nervous system's (CNS) degenerative diseases. Thus, the level of the tau may be a marker of some diseases and may determine the severity of axonal damage. In the present study, we aimed to determine the association between the increase of CSF tau level and the properties of the structural lesions in the CNS.

We included 45 patients that were diagnosed according to the McDonald's criteria. The control group was made up of 38 patients who have no signs or symptoms related to the primer CNS lesion correlated with the patient group. Patient group were compared with the control group in relation with the amount of the CSF total tau protein. CSF total tau protein was measured using ELISA method based on the sandwich method with Innogenetics Innostest hTau antigen kit in pg/ml type. Diffusion MRI was performed to all patients. The number of the lesions, the ratios of the lesions in all sequences, contrast enhancement properties was examined in cranial MR images in PD-T2 transvers, T2 sagittal, T2 FLAIR transvers, diffusion weighted MR and ADC map, heavy IR-T1 Transvers, T1 transvers, postcontrast T1 transvers planes. In diffusion weighted and ADC map, we determined the properties of the lesions and correlated with CSF total tau concentration. We analyzed the data using "SPSS for Windows 10.0" statistical programme.

The duration of the disease was ranging between 1 and 20 years and the mean time was 5.16 ± 4.45 . The number of the patient was 30 in RRMS group, 9 in SPMS group and 6 in PPMS group. Fourteen patients were in the attack period.

Number of the mean total lesion was 17.07 ± 7.94 , number of mean total periventricular white matter lesion was 10.07 ± 4.43 , number of hypointense lesion was 11.53 ± 6.34 , number of acute lesion was 0.73 ± 1.62 in cranial MRI. Although the number of the lesions was lesser in the PPMS form it wasn't statistically significant between the clinical forms ($p > 0.05$). The mean ADC value of hypointense lesions in T1 was $1.118 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, isointense lesions in T1 was $0.985 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$. In the acute lesions mean ADC was $1.062 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, in the normal appearance white matter was $0.801 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$.

In the patient group mean CSF total tau protein level was 238.66 ± 237.44 , whereas it was 93.65 ± 82.14 in the control group. The mean total tau protein was higher in the three clinical forms when compared with the control group and it was statistically significant ($p < 0.05$). Nevertheless mean total tau protein was statistically significant between the clinical forms ($p > 0.05$). There was a moderate degree statistically significant correlation between the total tau CSF level and total number of lesions, number of periventricular lesions, total number of hypointense lesions, number of acute lesions, mean value of ADC in T1 hypointense lesions and mean ADC value of acute lesions in cranial MRI.

Our study is the first in the literature that investigates the relation of total CSF tau protein and cranial DA-MRI. A positive correlation of T1 hypointense lesions, mean ADC value of acute lesions and total CSF tau protein level suggests that CSF tau protein may be a marker of destructive event in CNS. High tau protein level may be an early marker of axonal damage and this marker may be used for monitoring axon preventing therapies in the follow up.

Key words: multiple sclerosis, tau, axon, cerebrospinal fluid, diffusion MRI

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS), Santral Sinir Sistemi (SSS)'nin kronik, inflamatuvar, demyelinizan bir hastalığıdır. Multifaktöryel etyopatogenezi vardır. Genetik yatkınlık (muhtemelen poligenik), otoimmünite, infeksiyöz ajanlar, bazı ağır metaller ve diyet MS ile ilişkili risk faktörleridir (29). Son yıllardaki veriler oksidatif stres ve serbest radikallerin MS patogenezinde rol oynadığını desteklemektedir (58, 85). Myelini oluşturan myelin basic protein (MBP), proteolipid protein (PLP), myeline eşlik eden glukoprotein (MAG) ve siklik nukleotid fosfodiesteraz otoimmün atağın nedeni olabilir (58).

Multipl skleroz'da kesin tanı koyduracak bir laboratuvar yöntemi geliştirilememiştir. Tanı, başka hastalıkların olmadığına gösterildiği durumlarda, klinisyenin bilgi ve deneyimlerine dayanmaktadır. MS'de kalıcı özürüllük oluşmadan erken tanı konulup tedavi başlanması önemlidir. Relapsing Remitting başlayan olguların % 40'ının 10 yılda, % 80'inin 25 yıl sonra önemli oranda bir özürüllüğe ulaşacağı bilinince bu durum daha da önem kazanmaktadır (85). MS hastalarının tanısının konulması aşamasında ve hastalığın progresyonunun izlenmesinde beyin magnetik rezonans görüntüleme (MRG), görsel uyandırılmış potansiyel (GUP) ve beyin omurilik sıvısı (BOS) incelenmesi önemli katkılar sağlamıştır.

Multipl skleroz demiyelinizan hastalıkların prototipidir. Son yıllarda, irreversibl SSS hasarını yansıtan aksonal lezyonların da bu hastalıkta görülebildiği bildirilmiştir (48, 60). MS hastalığının aktivitesi ve hastalığıdaki aksonal hasarı göstermek için çeşitli belirteçler kullanılmıştır. Lycke ve arkadaşları nörofilament proteinin hafif subünitinin Relapsing remitting MS'li hastaların BOS'unda arttığını ve bu artıştaki yüksekliğin klinik dizabilite ile ilişkili olduğunu göstermiştir (51). Semra ve arkadaşları nörofilament hafif zincir (NFL), tubulin ve aktin konsantrasyonlarının primer ve sekonder progresif MS'li hastaların BOS'unda arttığını bildirmiştir (73). Martinez-Yelamos ve arkadaşları BOS'da 14-3-3 protein varlığını tesbit etmişler ve bunun MS hastalarındaki aksonal hasarın erken göstergesi olan bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermiştir (54). Chromograninler, secretogranin ve neuronal thread protein gibi bazı nöronal proteinler benzer şekilde MS hastalarında araştırılmıştır (81).

Aksonal hasar irreversibl klinik defisit ile ilişkili olup erken dönemde belirlenebilmesi, tedavi planı ve klinik seyirin önceden tahmini açısından önemlidir (48). Tau proteini (Tau) primer olarak nöronal yapının içinde yer alan bir fosforile mikrotübül proteindir (9). Tau hücresel mikrotübüllerin normal içeriği olup, aksonal mikrotübüllerin stabilitesinin devamlılığı ve hızlı aksonal transport için önemlidir (74). BOS'daki tau düzeyi aksonal hasarın derecesini gösterebilir.

Nöronal hasarı takiben tau ekstraselüler boşluklara salınmaktadır ve bu hasar arttıkça BOS tau konsantrasyonunda artış görülebilmektedir (12). Daha önce yapılan çalışmalarda MS hastalarında BOS tau protein düzeylerinde yükseklik olabileceği gösterilmiştir. BOS tau düzeyi klinik aktif MS'de klinik inaktif MS'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan yükseklik göstermiştir (40). BOS tau yüksekliği ile kranial MRG'deki kontrast tutan lezyonlar arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur (53). BOS tau düzeyi ile hastalık süresi arasında da orta düzeyde anlamlı korelasyonun olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (40, 53, 81). Yüksek BOS tau düzeyleri aksonal hasarın göstergesi olup, aksonal hasara bağlı olarak MS hastalarında gelişen kalıcı klinik defisitlerden önce saptanabilmektedir (73) .

Bu çalışmada, MS hastalarında BOS tau protein konsantrasyonundaki artışın aksonal hasarı gösteren bir markır olarak kullanılabilceği ve bu markırın, difüzyon ağırlıklı kranial MRG ile olan ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve Tarihçe

Multipl skleroz, genellikle genç erişkin yaşlarda başlayan, SSS'de genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıktığı düşünülen, yineleyen nörolojik fonksiyon bozukluklarıyla seyreden, otoimmün karakterde inflamatuvar demyelinizan ve/veya nörodejeneratif hastalıktır (29). MS'de morbidite oldukça yüksektir ve gelişmiş ülkelerde genç yaş grubunda en sık görülen nörolojik bozukluk nedenidir.

MS'nin klinik görünümünü ve semptomatolojisi ile patolojik değişiklikler arasındaki bağlantıyı, ilk kez 1868'de Charcot tanımlamıştır (58). Charcot, MS'yi spastik parapleji, ataksi, intansiyonel tremor, konuşma bozukluğu, oküler anormallikler ve nistagmus ile giden bir hastalık olarak tanımlamıştır. MS'de etiyolojiye ilişkin yaklaşımlar zaman içerisinde çeşitlilik göstermiştir. Hastalığın dejeneratif, inflamatuvar, allerjik, toksik ve enfektif kökenli olduğunun düşünüldüğü dönemler olmuştur. Ailesel MS ile ilgili bilgiler 1896 ve 1913'de Eichorst tarafından yayınlanmıştır (58). 1933'de Curtius hastalığın yapısal bir nedene bağlı olabileceğini öne sürmüştü, 1950'de de Mackay'in ailesel olgularda yaptığı çalışması genetik faktörlerin muhtemelen olaya katıldığını ortaya koymuştur (19).

Hastalıklı beyin dokusunun hayvanlara enjeksiyonuyla, SSS'de klinik ve patolojik özellikleri MS'ye benzeyen, inflamatuvar bir hastalık olan deneysel allerjik ensefalomyelit'in (EAE) ortaya çıktığı bulunmuştur. MS'de laboratuvar yöntemlerine ilişkin ilk çalışmalar 1920'lerde yapılmıştır. Guillain, Ayer, Foster, Marquezy, Souques ve arkadaşları, MS'de BOS gama globulinlerin arttığını gösteren ilk araştırmacılarıdır (19). Nörofizyoloji'deki gelişmeler ve uyandırılmış potansiyellerin tek tek ya da multimodal kullanımları MS tanısına büyük katkılarda bulunmuş, ardından MRG'nin kullanıma girmesi tanısallık yaklaşımın ivme kazanmasını sağlamıştır. Beyin MRG'si, MS lezyonlarını ve MS'ye benzer klinik görünüme neden olan diğer durumları ayırmada çok duyarlıdır. Ayrıca yeni MRG tekniklerinin geliştirilmesi lezyonların ortaya konulmasında yeni ufuklar açmıştır.

2.2. Epidemiyoloji

Multipl skleroz beyaz ırkta, ılıman ve soğuk iklim kuşağında yaşayanlarda, ailesinde MS'li birey bulunanlarda ve sosyoekonomik düzeyi gelişmiş toplumlarda daha sık görülmektedir (29). Hastalığın başlangıcı genellikle 20-30 yaşları arasında pik yapmaktadır. Olguların % 15'i 20 yaş

altında ve % 10'u 50 yaş üzerindeki gruplarda yer almaktadır (21). MS kadınlarda erkeklerden daha sık görülmekle birlikte (E/K: 1.4/3.1) ileri yaşlardaki olgularda kadın erkek oranı hemen hemen eşittir (21). Genç erişkinlerde, travma dışında özür lülüğün en sık nedeni olarak kabul edilen MS, dünyada bir milyondan fazla insanı etkilemektedir. MS insidansına ilişkin son çalışmalar, genel olarak MS sıklığının arttığını göstermektedir. Ancak bunun gerçek bir artış mı yoksa hastalığın daha iyi tanınmasıyla ilişkili bir yansıma mı olduğu konusu kesin değildir. Çeşitli prevalans çalışmaları ile MS'nin en sık görüldüğü yerler olarak kuzeyde 44'üncü-64'üncü enlemler arası belirtilmiştir (21). Her iki yarımkürede de 65'in üzerindeki enlemlerde görülme sıklığı düşme eğilimindedir. Ülkemizde 30 bin civarında MS'li olduğu tahmin edilmektedir (42).

Sıklığın yüksek olduğu bölgeler (30-200/100.000 olgu): Kuzey Avrupa, İtalya, ABD, Kanada, Güney-Doğu Avustralya ve Yeni Zelanda.

Sıklığın orta düzeyde olduğu bölgeler (5-29/100.000 olgu): Güney Avrupa, Güney ABD, Kuzey Avustralya, Akdeniz Bölgesi, Kuzey Afrika (Beyazlar) ve Orta-Güney Amerika.

Sıklığın düşük olduğu bölgeler (<5/100.000 olgu): Japonya, Çin, Afrika, Karaibler ve Güney Amerika'nın kuzeyi (21).

MS'nin coğrafi dağılımı ve göç çalışmaları bu hastalığın aynı zamanda çevresel faktörlerin de etkisinde kaldığını göstermiştir. Birçok çalışmada yüksek riskli bölgelerden düşük riskli bölgelere göç eden kişilerin hastalık riskini taşıdıkları ancak göçten sonraki ilk 20 yıl içinde hastalığın ortaya çıkmadığı rapor edilmiştir (19). Hastalığın ortaya çıkma riski kişinin göç sırasındaki yaşına bağlı değişiklik göstermektedir. MS'de, 15 yaşına kadar olan dönemde ortaya çıkan çevresel etmenlerin hastalığın gelişiminde önemli olduğuna inanılır. Bir başka epidemiyolojik veri ise MS'nin yüksek sosyoekonomik düzeyli kişilerde ve kentlilerde daha sık gözleniyor olmasıdır (19).

2.3. Etiyoloji ve Patogenez

Günümüzde MS'nin etyopatogenezini açıklayacak tek bir etken saptanamamıştır. MS'de genetik yatkınlığın, çevresel faktörlerin, otoimmün mekanizmaların ve viral enfeksiyonların demyelinizasyon sürecinin açıklanmasındaki rolüne ilişkin çok sayıda çalışma vardır (19, 21). Genetik ve immünolojik olarak MS'ye yatkınlığı olan kişilerde, çocukluk çağında geçirilen viral bir enfeksiyonun ileriki yıllarda bu kişilerde MS'nin ortaya çıkmasına neden olabileceği ileri sürülmektedir. Birçok çalışmada MS'li hastaların otopsilerinden elde edilen beyin dokusunda virüs

izole edilmeye çalışılmış, ancak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Olguların serum ve BOS'unda kızamık, kızamıkçık, kabakulak, sitomegalovirüs, herpes simpleks tip I, tip II ve tip VI, Epstein-Barr Virüs, retrovirüsler ve daha pek çok virüs antikorları saptanmış, ancak kontrol gruplarından önemli bir ayrıcalığı olmadığı görülmüştür (19). Son yıllarda yapılan araştırmalarda ise MS'li hastalarda kontrol gruplarına göre daha yüksek oranda human herpes virüs-6'ya karşı antikor saptanmış olup bu hastaların beyin dokularında HHV-6 kültüre edilmiştir (56). Sonuç olarak MS olgularında spesifik bir virüs izole edilememiştir ve viral etiyoloji kesin olarak kanıtlanamamıştır.

Genellikle sporadik olarak görülen MS, klasik olarak genetik bir hastalık olarak kabul edilmemekle birlikte elde edilen veriler, MS'ye yatkınlığın kalıtıldığını göstermektedir (19). Örneğin, Japonya MS sıklığı yüksek olan pek çok Batı Avrupa ülkesi ile aynı enlemlerde olmasına karşın düşük risk alanıdır. MS'nin aile içinde tekrarlama oranı % 3-23 arasında bildirilmiştir. Monozigot ikizlerde MS'nin birlikteliği %30 iken, dizigot ikizlerde % 4'dür (21). MS'de eşler arasında geçişe ilişkin herhangi bir kanıt yoktur.

Yapılan çalışmalar üç sınıf olan HLA genleri içerisinde MS ile en güçlü birlikteliğin sınıf II alellerle, özellikle de DR ve DQ bölgeleriyle olduğunu göstermektedir (65). Bugün için kabul edilen MS'ye yatkınlığın poligenik kontrol altında olduğudur. Bunu etkileyen genetik lokusu açıklamak için yapılan çalışmalar MHC, immünglobulin sabit ve değişken bölge genleri ve kompleman lokuslarına yönelik olarak devam etmektedir (19).

SSS içinde makrofajlar ve az sayıda lenfositlerin bulunmasının yanında mikroglia, astrosit ve endotel hücrelerinin immün fonksiyon görme yeteneğinin varlığı, SSS'nin sanılanın aksine immün açıdan çok aktif olduğunu ve SSS'nin yapısal elemanlarının inflamatuvar koşullara önemli ölçüde katıldıklarını göstermektedir. T hücre reaktivitesi temelinde ele alınan SSS myelin proteinleri; PLP, oligodendrosit glikoprotein (MOG), MBP ve MAG'dır (19). PLP ve MOG yalnızca SSS'de bulunduğu, periferik sinir sisteminde (PSS) yer almadığı için MS'de potansiyel otoantijenler olarak kabul edilmektedir. MBP ve MAG ise hem SSS'de hem de PSS'de bulunur. PLP, MOG, MBP ve MAG'ye karşı otoantikorlar, MS'li hastaların BOS'larında yüksek düzeylerde saptanmıştır (56).

Aktive T lenfositler ve makrofajlardan salınan sitokinler immün yanıtı ve inflamatuvar reaksiyonları düzenleyen düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdir. Hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Aktive T lenfositlerden proteolitik

enzimler, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, TNF- α , INF- γ , B hücresi farklılaştırıcı faktör ve granülosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör sekrete edilir. Sitokinler; makrofajları aktive ederler, B lenfositler için büyüme faktörüdürler ve B hücre aktivasyonu ile immünglobulin oluşumunu artırırlar, T lenfositlerin büyüme ve farklılaşmasından sorumludurlar, NK hücrelerinin büyümesini uyarır ve sitolitik etkilerini artırırlar, lenfositlere karşı endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri aracılığıyla daha yapışkan hale getirirler. Bu mekanizmalar sonucunda, makrofajlardan salınan litik enzimler ve B hücre aktivasyonu ile oluşan antikörlerin, aktive olan komplemanlarla birleşmesiyle oluşturduğu immün kompleksler hedef dokuda hasar oluşumuna neden olur (25).

Remisyon sırasında inflamatuvar olayların down-regülasyonunda değişik mekanizmalar yer alır. MS'nin deneysel hayvan modellerinde T lenfositlerinin beyin parankiminden apoptoz yoluyla uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. MS'li beyinlerde, özellikle aktif lezyonlarda T hücrelerinin apoptoza gittiği bildirilmiştir (19). Deneysel hayvan modellerinde remisyon döneminde primer ensefalitojenik T helper-1 yanıtının, IL-4 ve IL-10 varlığında T helper-2 yanıtına değiştiği bulunmuştur (30). Relaps ve remisyonadaki hücrelere, ürünlerine ve birbirleriyle etkileşimlerine bakarak MS'nin patogeneğinde temel olarak T helper-1 ve T helper-2 dengesinin bozulduğu söylenebilir.

2.4. Histopatoloji

Beyin veya omurilikteki beyaz cevherde yerleşen MS plakları, hastalığın histopatolojik olarak karakteristik özelliğini oluşturur. Lezyonlara bakıldığında, plakların genellikle periventriküler bölgede yerleşim gösterdiği gözlenir. Bunun yanında plaklar optik kiyazma, beyin sapı, medulla spinalis, serebellar pediküller, gri cevher ve kortekste de görülebilmektedir (24). Beyaz cevherde oluşmuş bir MS plağı ventüller civarında gelişir. Perivenöz olarak lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri birikimi, ödem ve immünglobülin toplanması dikkati çeker (48). Oligodendroglial hücre yitimi ile beraber myelinin lokal olarak lameller yapısında yıkım ve astroglial hücre süreçlerinde aktivasyon olur. Son kanıtlar MS'deki inflamatuvar lezyonların şüphelenildiğinden daha yaygın ve daha erken dönemde akson hasarı ve kaybı oluşturduğunu, bu bulgunun önemli klinik ve terapötik sonuçları olduğunu doğrulamıştır (48).

Hastalığın histopatolojisinde diğer önemli durum remyelinizasyondur. Bu durumu etkileyen nedenler tam olarak bilinmemektedir. Ancak 2 mekanizma öne sürülmektedir; 1) mevcut myelin kılıfı uzama yapar ve aksonları kaplamaya çalışır veya 2) lezyon alanındaki yeni oligodendroglialar

remiyelinizasyonu sağlar (60). Remyelinizasyon derecesi, oligodendrositlerin ya da öncü hücrelerin yeterliliğine bağlıdır. Kronik MS plaklarının merkezinde oligodendrosit proliferasyonu ve remiyelinizasyon minimal iken, demiyelinize plakların kenarlarında daha belirgindir (25). Bu bulgu inflamatuvar demiyelinizan MS lezyonlarında myelin onarım potansiyeli olduğunu göstermektedir.

2.5. Klinik Özellikler

MS'nin en önemli özelliklerinden biri ataklarla seyretmesi diğeri de SSS'yi değişik zamanda ve değişik lokalizasyonlarda etkilenmesidir (55).

Multipl Skleroz'un klinik formları 5 tipe ayrılmaktadır (85):

1. Ataklarla-Düzelmelerle Seyreden MS (Relapsing Remitting, RRMS): Hastaların 2/3'ü bu grupta yer alır. Bu tipinde akut veya subakut başlangıçlı klinik disfonksiyon, günler veya haftalar içinde artar. Bu evreyi düzelmeye dönemi takip eder. Ataklar en az 24 saat, en çok 4-8 hafta sürmektedir. İyileşme göstermeyen bulgular sekel olarak kalır. Aylar veya yıllar içinde bu ataklar tekrardan görülebilir. Her atakta genellikle farklı fonksiyonel sistemler etkilenir, bazen aynı semptomların tekrarlanması şeklinde de ataklar görülebilir. Ataklar arasında hastalık ilerlemez. Hastalık başlangıcında ataklar daha siktir, atak sıklığı hastalığın kendi seyri içinde bir süre sonra azalma göstermektedir.

2. İkincil İlerleyici MS (Sekonder Progresif, SPMS): RRMS olarak başlayıp ataklarla ya da ataksız, minör iyileşme ya da platolarla giderek ilerleyen bir hastalık seyri ifade eder. RRMS'li hastaların % 40'ı 7-10 yılda SPMS halini alabilmektedir. Sekonder progresif faz nörolojik bozuklukların gittikçe arttığı ve akut iyileşme dönemi olan ya da olmayan bir dönemdir. Hastalığın birinci fazdan ikinci faza ilerlemesiyle birlikte tedaviye daha az cevap alınabilen ve sekonder progresif olarak tanımlanan bu hastaların prognozu daha kötüdür.

3. İlerleyici ve Ataklarla Seyreden MS (Progresif Relapsing, PRMS): Başlangıçta ilerleyici olup sonradan iyileşme gösteren ya da göstermeyen ataklarla seyreden hastalık tipidir. Ataklar arasındaki dönemde hastalık ilerlemeye devam eder.

4. Birincil İlerleyici MS (Primer Progresif, PPMS): Başlangıçtan itibaren atakların eşlik etmediği progresif bir durumdur. Seyrek platolar ya da minör iyileşmeler görülebilir. Bu form 40 yaş sonrası başlayan olgularda sık olup beklenen kadın baskınlığı izlenmez. Tüm hastaların % 10-15'ini

oluşturmaktadır. Belirti ve bulgular genellikle spinaldir, kötüleşmeler sinsi ilerleyiş zemininde güçlkle fark edilir.

5. Benign MS: Bu tipin açık bir tanımı yoktur. Genellikle 15 yılın sonunda özürllüğün hiç olmadığı ya da çok az olduğu form olarak tanımlanır. İki atak arasında yıllarca süre geçebilir. Ancak bu grupta sınıflandırılan hastaların çoğunda daha sonra ilerleyici özürllük gelişmektedir. 16-20 yıllık izlemde % 32 olan çok az özürllüğe sahip hasta oranı, 25 yılın sonunda % 14'e düşmektedir.

2.6. Klinik semptom ve Bulgular

MS'de sıklıkla karşılaşılan başlangıç semptomlarından biri görme bozukluğudur. Unilateral retrobulber nevrit pek çok yazar tarafından % 40-60 oranında bildirilmiştir (19). Çok sık olmamakla beraber bilateral olarak da görülebilir. Diplopi sık görülen bir diğer semptomdur. Sıklıkla medial longitudinal fasikülüs tutulumuna bağlı olarak internükleer oftalmopleji (INO) gelişmesi ile ortaya çıkar. Bilateral INO MS'nin tanısında patognomonik olmasa da oldukça anlamlıdır. Ancak beyin sapının başka patolojilerinde de görülebilir. MS'de INO dışında diplopi sırasıyla altıncı, üçüncü ve dördüncü kranial sinirlerin tutulumuna bağlı olarak da oluşabilir (19). MS'de çeşitli tiplerde nistagmus da sık görülen bir bulgudur. Diğer kranial sinirler daha nadir tutulurlar. Genç bir erişkinde trigeminal nevralji ortaya çıkması MS'yi etiyolojik nedenler arasında düşündürmelidir. Bell paralizisi ve fasiyal miyokimi de görülebilir. Vertigo % 30-50 oranında görülür. İşitme azlığı nadiren de olsa bildirilmiştir. Alt kranial sinir tutulumu oldukça enderdir (19).

MS'de spinotalamik traktus ve arka kordondaki plaklara bağlı hissizlik, karıncalanma, soğukluk hissi sıkça görülür. Klinik bulgu olarak vibrasyon, pozisyon, dokunma, ağrı duyularında azalma veya kaybolma, seviye veren duyu kusuru veya hemihipoestezi saptanabilir. Diğer bir bulgu da Lhermitte belirtisidir. Boynun fleksiyonu ile daha belirgin olan elektriklenme hissi omurilik boyunca ilerleyip bazen ekstremitelere kadar yayılır. MS'de görülmesine karşın özgün bir bulgu değildir, servikal bölgenin diğer lezyonlarında da görülebilir (58).

Kortikospinal traktusun tutulumu da oldukça sık görülür. Paraparezi üst ekstremitate parezilerinden daha sıktır. Kas tonusu artar, derin tendon refleksi hiperaktif olur, klonus ve patolojik refleksi ortaya çıkar. Bazen hemiparezi şeklinde klinik tablo oluşabilir (58).

Serebellar yol tutulumuna bağlı olmak üzere yürüme, konuşma ve koordinasyon bozuklukları görülebilir. Muayenede ataksi, patlayıcı tarzda konuşma ile karakterize serebellar dizartri, dismetri, disdiadokokinezi ve hipotoni saptanabilir. Postural ve kinetik tremora rastlanabilir (58).

Sfinkter bozuklukları ve cinsel işlevlerde bozulma, alt ekstremitte tutulumu ile paraleldir. En sık mesane disfonksiyonuna bağlı idrar kaçırma, idrarı başlatmada zorluk, inkontinans veya idrar yapamama görülür. Konstipasyon fekal inkontinanstan daha sıktır. Sıklıkla gözardı edilmesine karşın cinsel işlev bozukluğu erkek olguların yaklaşık % 50'sinde görülür. Ereksiyon ve ejakülasyon sorunlarının yanısıra spasiteye ve parapareziye bağlı mekanik sorunlar da cinsel işlev bozukluğuna katkıda bulunur (29, 58).

Olguların çoğunda depresyon görülebilir. Bazen kişilik değişiklikleri de oluşabilir. Demans MS'de olguların % 5'inde görülür. Demans daha çok subkortikal demans şeklindedir; yakın bellek, dikkati toplama, kavramsal değerleri yorumlama etkilenir. Ancak lisan fonksiyonları nadiren bozulur. Nöropsikolojik testler ile % 35-65 oranında kognitif fonksiyonlarda bozulma saptanmıştır. En sık yakın bellek bozukluğu görülür. Bazı çalışmalarda hastanın sakatlık durumunun ağırlığı ile kognitif yetilerde bozulmanın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ancak hastalardaki depresyonun da buna katkısı olduğu düşünölmektedir (29).

Paroksizmal semptomlar sıklıkla spesifik faktörlerin tetiklediği duyuşsal ya da motor kısa bir fenomen ile karakterize klinik durumu anlatır. MS olgularında paroksizmal olaylar oldukça sık görölmektedir. Bunlar ileti bozukluğuna sekonder gelişen aksonun anormal uyarılması nedeniyle oluşmaktadır. Demyelinize bir alana ulaşan eksitatör sinyal aktive olmuş komşu aksonlara yayılabilir. Trigeminal nevralji en sık rastlanan olaydır. Trigeminal nevraljili olguların % 3'ünde MS saptanmıştır (19). MS olgularının ise %1'inde trigeminal nevralji göröldüğü bildirilmiştir. Temel klinik görünömleri tonik nöbetler, spazmlar, duyuşsal bozukluklar, dizartri, ataksi, epilepsi ve ağırlı bozukluklardır (55). Ayrıca görölen nöbetlerin bir kısmının paroksizmal diskineziler olduğu düşünölmektedir. Paroksizmal diskineziler ani bir hareketle veya spontan olarak ortaya çıkan saniyeler veya saatler süren distonik ve/veya koreatetonik hareketlerdir. Egzersiz veya sıcak banyo sonrası veya infeksiyona bağlı ateş gibi vücut ısısında oluşabilecek yükselmeler sonrası iletim bloğuna bağlı geçici nörolojik fonksiyon bozuklukları (Uhthoff fenomeni) da oluşabilir (19).

2.7. Prognoz ve Özürlülük

Bugüne kadar yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda MS’de prognozu etkileyen bazı faktörler belirlenmiştir. Bunlar arasında en belirgin olanları hastalığın başlangıç semptomları, başlangıç yaşı, klinik tip ve atak sıklığıdır (43). Hastalığın başlangıç semptomlarının monosemptomatik olması, izole optik nörit veya duyuşal semptomların olması, 40 yaşın altında başlaması, RRMS tipi olması ve ilk atakları tam düzelip daha sonraki atakların sıklığının ve şiddetinin az olması olumlu prognostik faktörler olarak bildirilmiştir (32). Hastalığı geç yaşta başlaması, başlangıç semptomlarının motor ve serebellar semptomla birlikte olması, ilk ataklarında düzelmenin daha az olması kötü prognostik faktörlerdir (43).

MS hastalarındaki özürlülüğün derecesini belirlemek için skalalar kullanılmaktadır. Bunların en önemlisi klinik çalışmalarda en yaygın kullanılan Genişletilmiş Özürlülük Durum Skalası (Expanded Disability Status Scale/EDSS) veya Kurtzke skalasıdır (46). MS’de ilgili çalışmalarda uzun yıllar klinik özürlülük üzerinde durulmuş, EDSS gibi sadece bu açıdan prognoz tayini yapan bir skala kullanılmaya gelmiştir. Bu skala ilk kez Kurtzke tarafından 1955’de tanımlanan disabilite durum skalasının yeniden düzenlenmiş şeklidir. EDSS MS’yle ilişkili sekiz fonksiyonel sistemdeki yetersizliği ölçer.

Farklı fonksiyonel sistemler için 0’dan 10’a kadar (0 ile 1 arası hariç) yarım puanlık artışlarla ölçülen skorlar özürlülük için toplam bir skor elde etmek için kullanılır. Bu sistemde 0 normal nörolojik muayeneyi temsil ederken, ambulasyon, günlük aktivitelerdeki yetersizlik açısından iyi tanımlanan her yarım puanlık artış ve fonksiyonel sistem skorları ile birlikte 10, MS’ye bağlı ölümü temsil eder. Özürlülükte kötüleşmenin kalıcı ve geri dönüşümsüz kabul edilebilmesi için skorda 1.0 veya daha fazla puan artışının en az altı ay boyunca kalıcı olması gerekir. Bu skalanın nörolojik klinik araştırmacılar için alışılmış olmasının yanı sıra uygulama kolaylığı vardır. Hastalar arası karşılaştırmalara yada tek bir hastanın zaman içindeki durumunun takibine olanak tanır. EDSS puanı, 1.0-4.0 arasında işlevsel sistemlere dayanır: Piramidal, serebellar, beyin sapı, duyuşal, görsel, barsak-mesane, mental ve diğer işlevsel sistemler olmak üzere sekiz işlevsel sistem vardır. EDSS, 4.0-8.0 puanları arasında ambulasyon durumunu gösterir. Değerlendirme hastanın aşırı çaba göstermeden ortaya koyduğu en iyi performansa dayanır. 6.0 puandan itibaren hastanın destek gereksinimi kaydedilmektedir. 6.0, tek taraflı desteğe; 6.5 ise iki taraflı desteğe gereksinim duyulduğunu ifade etmektedir. 7.0’dan itibaren tekerlekli sandalye ve giderek yatağa bağımlılık sözkonusudur.

Fiziksel özür lülüğü nün birikimi MS'li hastaların günlük hayatlarını etkiler. Başlangıçtaki özür lülük (genellikle EDSS'de 0-3.5) hastanın yaşam kalitesinde az etkili olurken, EDSS'nin 4.0'dan yukarı doğru ilerlemesi, çalışma yetisine yansıyan ve hatta yaşamını sürdürmek için başkalarının yardımına gereksinim duymaya neden olabilecek etki yapar. Genel olarak MS'nin başlangıcından beş yıl sonra hastaların yaklaşık % 20 ile % 30'u yardımsız yürüyemezler ya da normal iş aktivitelerini yürütemezler, bu 15 yılda % 50'ye ve 30 yılda % 80'e çıkabilmektedir. Hastaların sadece % 10 ile % 20'si semptomların başlangıcından 10 ya da daha fazla yıl sonra önemli özür lülük olmayan benign bir gidiş gösterirler (21). Türkiye'de MS'li hastalarda yapılan bir çalışmada 15 yılda hastaların % 66.3'ünün EDSS>3'e, % 41.2'sinin EDSS>6'ya ulaşırken, 25 yılda % 89.9'unun EDSS>3'e ve % 69.6'sının EDSS>6'ya ulaştığı bulunmuştur (42).

2.8. Multipl Skleroz'da Tanı ve Ayırıcı Tanı

MS, teknolojik gelişmelerin sağladığı tüm katkılara rağmen tanısı zor konulan bir hastalık olma özelliğini sürdürmektedir. Tanı, başka hastalıkların olmadığını gösterildiği durumda, klinisyenin bilgi ve deneyimlerine dayanmaktadır. Nesnel bir değerlendirme yapabilmek için geliştirilen Poser kriterleri yaygın olarak kullanılmaktadır (68). Alevlenmelerle giden MS formunu temel alan, MRG gibi inceleme yöntemlerindeki gelişmeleri yeterince değerlendirmeye katmayan bu kriterler, başka bazı yetersizlikleri de taşımaktadır.

Amerikan Ulusal MS Derneği ile Uluslararası MS Dernekleri Federasyonu'nca 2000 yılının Temmuz ayında, Londra'da ortak bir çalışma paneli düzenlenmiştir. MS tanı kriterlerini yeniden düzenlemeyi hedefleyen bu toplantının sonucu bir rapor halinde "Annals of Neurology" dergisinde 2001 yılı Temmuz sayısında yayınlanmıştır (55). Eylül 2001'de Dublin'de düzenlenen 17.ECTRIMS (European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis) konferansında da bu yeni tanı kriterleri MS ile ilgilenen hekimlerin dikkatine sunulmuştur. Bu kriterler, yazara atfen "Mc Donalds Kriterleri" olarak adlandırılmıştır. Klinik olarak MS tanısını güvenli bir şekilde koymanın güçlüğü nedeniyle son derece ayrıntılı kriterler geliştirilmiştir. Poser kriterlerinde de olduğu gibi, klinik tablonun MS dışı başka bir nedenle oluşmamış olması gerekmektedir. Bu ön koşulun sağlanması hekimin bilgi ve deneyimine bırakılmıştır. Ayrıca tanı için pek çok hastalık ve benzer durumun sorun yaratabileceği vurgulandıktan sonra, bazı hastalıklar özellikle belirtilmiştir. Gençlerde fosfolipid antikor sendromu, sistemik lupus eritamatozis, CADASIL, Takayasu hastalığı, meningovasküler sifiliz hatta karotis disseksiyonu hatırlatılmaktadır. HTVL-1 ve Lyme hastalığı gibi enfeksiyonların MS'ye çok benzeyebileceği ve paraneoplastik bir serebellar ataksinin BOS'da

IgG yüksekliği de yaparak kolayca karışabileceği belirtilmektedir. ADEM, postviral Devic sendromu, bazen de akut transvers myelit gibi monosemptomatik hastalıkların ayırıcı tanıda zorluk oluşturabileceği, belirtilerinin zamana yayılarak hatta tekrarlayarak tanı sorunları oluşturacağı, bu nedenle bu hastalıkların bir çeşit MS olup olmadıklarının halen bilinmediği vurgulanmaktadır.

Değerlendirme yaparken, objektif klinik belirtiler temel alınmaktadır. Öykü, subjektifliği nedeniyle dayanak olarak kullanılmamaktadır. Hastalığın santral sinir sisteminin farklı yerlerini farklı zamanlarda etkilediğinin kanıtlanması gerekmektedir. MRG, BOS ve GUP gibi incelemeler klinik olarak tanı koyma yetersizliği olduğunda değerlendirmeye alınmaktadır. Bireyler “MS” veya “MS değil” diye değerlendirilirken, klinik tablo kriterlerini doldurmadığında “Olası MS” denilmektedir. Daha önce kullanılan alt sınıflandırmalar (kesin MS, muhtemel MS, klinik bulgularla MS, laboratuvar destekli kesin MS) kullanılmamaktadır. Tanı için kullanılan temel kavramlar yeniden tanımlanmıştır (55).

Eksesarbasyon, relaps, alevlenme, kötüleşme ve benzeri adlarla anılan atak, “MS’de görülebilen cinsten” nörolojik bozukluğun oluştuğu döneme verilen isimdir. İster subjektif ifadeye isterse objektif gözleme dayansın en az 24 saat sürmelidir. Vücut ısısını yükselten enfeksiyon ya da benzeri başka bir nedenin yarattığu tablolar “Psödo atak” adını alır ve ayırteilmeleri klinisyenin deneyimine bırakılmıştır. Paroksizmler halinde gelen tonik spazm gibi izole belirtiler atak sayılmazken, 24 saati aşan birden çok belirtinin bulunduğu epizodlar atak kabul edilir (55).

Belirtiler arasında 30 günlük bir süre olduğunda, ayrı atak sayılması gerektiği konusunda görüş birliği varsa da değerlendirme yaparken zorluklar yaşanmaktadır. Poser kriterlerinde, ilk atağın iyileşmeye başladığı süre ile sonraki atağın başlangıcı arasındaki süre temel alınırken, Mc Donald kriterlerinde ilk olayın başlangıcı ile ikinci olayın başlangıcı arasındaki süre değerlendirilerek belirsizlik azaltılmaya çalışılmıştır (55).

MS tanısı her ne kadar klinik bulgulara dayanmakta ise de BOS bulguları, görsel (GUP), duyuusal (SUP), motor (MUP) ve beyin sapı uyandırılmış potansiyelleri (BSUP), BT, MRG, son yıllarda ortaya çıkan difüzyon ağırlıklı MRG (DA-MRG) ve MR spektroskopisi (MRS) gibi yöntemler tanıya önemli derecede yardımcı olmaktadır.

2.8.1. Uyandırılmış potansiyeller

Bu yöntemler SSS'deki afferent yollarda elektrofizyolojik olarak lezyon saptamak için kullanılır. Hastalığın multifokal tutulum özelliğini ortaya koyabilen önemli incelemelerdir. Ancak bu testlerin teknik bir sınırlılığı söz konusudur ki, bu da patolojiyi tesbit edebilmesi için, aynı olguda korunmuş (normal) nörolojik yolların bulunması gerekliliğine ihtiyaç duymasındır. Dolayısıyla MS'de kesin tanıya ulaşmada uyandırılmış potansiyellerin tesbiti de tam bir tanı kriteri olamamaktadır. Genellikle klinik bulgu vermeyen sessiz plakları göstermek açısından faydalıdır. GUP görme yollarında, SUP arka kordonda ve lemniskus sisteminde, BSUP beyin sapındaki lezyonları ortaya koymak için kullanılır. En duyarlı olan GUP'dir (49). GUP'lerde, dalga şeklinin korunduğu uzamış yanıtlar elde edilir. Ancak laboratuvarın güvenilir olması ve bulguların doğru yorumlanmasının gerekliliği vurgulanmaktadır. Öte yandan MUP yoğun olarak incelenmiştir. Bu şekilde motor yolların fonksiyonel durumu incelenerek klinik durumu değerlendirmek ve tedavi sonuçlarını matematiksel verilerle izlemek olanaklı hale gelmiştir. Klinik olarak kesin MS tanılı olgularda yöntemlerin duyarlılıkları GUP'nin % 80-85, SUP'nin % 65-80, BSUP'nin % 50-65 olarak belirlenmiştir (28).

2.8.2. BOS bulguları

MS'li hastalarda BOS incelemesi, lezyonların immün ve inflamatuvar özellikte olduğunu göstermek için yapılır. Lezyonların zamanını ve dağılımını göstermede BOS incelemesinin katkısı yoktur. Görüntüleme bulgularının özgün olmadığı yaşlı bireylerde veya klinik bulguların atipik olduğu olgularda BOS incelemesi değer kazanır. Genellikle BOS'un rengi berrak olup basıncı normaldir. Bazen milimetreküpde 25-50'yi aşmayan ve genellikle lenfositlerden ibaret bir pleositoz görülebilir (11). BOS proteini ve albumini genellikle normaldir. Bu nedenle BOS proteini 100 mg/dl'den fazla olan olgularda MS'nin dışında başka etiyolojik faktörler düşünülmelidir. BOS analizlerinde özellikle oligoklonal bandların (OKB), myelin esaslı proteinlerin ve immüoglobulin G (Ig G) düzeylerinin spinal sıvıdaki ölçümleri MS tanısında son derece önemli tanısal verileri oluşturmaktadır (39). BOS incelemesinde en önemli özellik artmış Ig G sentezinin ve OKB varlığının gösterilmesidir. Tüm immüoglobülin düzeylerinde yükselme görülür ancak en belirgin artış Ig G'dedir. Normal BOS elektroforezinde homojen bir band görünümü olurken, MS'li olguların BOS elektroforezinde Ig G artışına paralel olarak birden fazla OKB görülür (39). Bu bandlar plazma hücrelerinin birkaç klonu tarafından oluşturulan artmış antikörelere işaret etmektedir. MS tanısında oldukça önemli bir bulgu olmasına rağmen, bu bandlara diğer inflamatuvar olaylarda

da rastlanılmaktadır. Klinik olarak kesin MS tanısı konulan olguların % 85-95'inde bu bandlar saptanırken MS olmayan olguların ise % 8'inde pozitif olduğu görülmüştür (4). BOS incelemelerinde diğer inflamatuvar SSS hastalıklarından farklı olarak kalıcı plazma hücre aktivasyonu saptanmış, periferde bulunmayan klonotipik B hücreleri BOS'da gösterilmiştir (23). T hücreleri açısından ise BOS'da ve MS lezyonlarında saptanan CD8 hücrelerinin % 47'si klonotipik, CD4 hücrelerinin ise büyük bölümü poliklonal özellik taşımaktadır (23).

MS tanısında kullanılan diğer ana BOS belirteçleri; ak maddede demyelinizasyonun belirteci olarak MBP, nöronal hasarın belirteci olarak nöron spesifik enolaz, astroglial hasarın belirteci olarak S-100 proteini ve glial fibriler asidik protein, aksonal hasarın belirteci olarak, 14-3-3 protein, NFL ve tau proteini'dir (11, 45, 50) .

2.8.3. MRG

Birçok hastalıkta olduğu gibi MS'de de en objektif tanı kriterlerinden biri lezyonların gösterilmesidir. SSS patolojilerinde başvuru tıbbi görüntüleme yöntemleri içinde demyelinizan plakları kesin bir doğrulukla görüntüleyebilen tek tanı yöntemi MRG'dir. Bu incelemenin amacı, hastalığın farklı zamanlarda farklı yerleri etkilediğini göstermektir. MRG'nin bu üstünlüğü, tamamen görüntüyü oluşturmada yararlandığı fizik ilkelerden kaynaklanmakta olup genel bir ifade ile doku görüntülemesini başarması neticesindedir. MRG, SSS'de herhangi bir lokalizasyonda klinik olarak nörolojik defisite yolaçmış lezyonların yanında varolup da klinik olarak sessiz kalan lezyonları da büyük bir duyarlılıkla saptayabilmektedir. MS'de, Barkhoff ve Tintore'nin geliştirdiği ve MRG'de dört özelliğin en az üç tanesinin bulunması zorunluluğuna dayanan yaklaşım temel alınmıştır (6) (Tablo I).

Bu lezyonların en az üç mm olması gerekmektedir. Bu kriterlerin, Fazekes ve Patty tarafından daha önce geliştirilmiş olan MRG kriterlerinden daha özgün olduğu ve duyarlılığı belirgin ölçüde arttırdığı kabul edilmektedir (24).

MS'de, MRG lezyonlarının zamansal dağılımının da gösterilmesi için kullanılan MRG kriterleri Tablo II'de belirtilmektedir.

TABLO I. MRG Tanı Kriterleri

MRG TANI KRİTERLERİ
1. En az bir adet Gadolinyum tutan (Gd+) lezyon, ya da Gd+ lezyon yoksa en az 9 adet T2A incelemede hiperintens lezyon
2. En az bir adet infratentoryal lezyon
3. En az bir adet kortikal bileşkede yerleşen (örneğin subkortikal lifleri tutan) lezyon
4. En az üç adet periventriküler lezyon

TABLO II. Zamana Yayılımı Kanıtlamak İçin MRG Kriterleri

ZAMANA YAYILIMI KANITLAMAK İÇİN MRG KRİTERLERİ
1. MRG, eğer klinik tablo oluşuktan en az üç ay sonra yapılmışsa ve gadolinyum tutan bir lezyon varsa bu zamana dağılımı göstermekte yeterlidir. Ancak bu incelemede kontrast tutan bir lezyon yoksa yeni bir inceleme yapılması gerekmektedir. Bu incelemenin zamanı çok önemli değilse de üç ay sonrası önerilmektedir. Yeni bir T2 lezyonu ya da Gd+ lezyon zamana yayılım kriterini doldurmaktadır.
2. MRG, eğer klinik tablo oluşumundan sonraki ilk üç ay içerisinde yapılmışsa, en az üç ay beledikten sonra yapılan incelemede Gd+ bir lezyonun varlığı zamana yayılım için yeterli kanıttır. Ancak bu ikinci incelemede kontrast tutulumu yoksa, ilk incelemeden en az üç ay sonra yapıldığı kesinse, yeni bir T2 lezyonunun varlığı da yeterli sayılır.

Bu kriterler medulla spinalisteki lezyonları dayanak olarak almamaktadır. Medulla spinalis lezyonu bir beyin lezyonu olarak sayılır. Medulla spinalisin MS lezyonları oldukça iyi tanımlanmıştır. Sağlıklı bireylerde ve yaşlılarda ortaya çıkmamaları nedeniyle kraniyal lezyonlardan daha az yanlışlığa neden olurlar. Bu lezyonlar, istisnalar hariç medulla spinaliste genişlemeye neden

olmazlar. En az üç mm olur, boylamasına iki vertebral aralığı aşmazlar ve enlemesine bütün kesiti doldurmazlar. Medulla spinaliste bu özelliklerde lezyon saptanması, izole klinik sendromlar ya da PPMS formunda, kraniyal MRG bulgularına ek bulgu olarak değerlendirilir. Kraniyumda lezyon yokken, medulla spinaliste tanımlanan özellikte bir lezyon varsa, zamana ve yere dağılım ilkesi doğrultusunda MS tanısı koymak için gerekli kriterler olduğu halde, tanının kuşkulu olduğu, duyarlılığı ve özgünlüğü daha fazla olan ileri inceleme yöntemlerine gerek duyulduğu belirtilmiştir (6).

MS'de MRG'deki lezyonların ortaya çıkışı ve kayboluşu genel olarak klinik ataklar ya da remisyonlarla korele olmadığı gibi, belirli bir klinik bulguya da karşılık gelmeyebilir. MRG, fizik muayene ile saptanamayan daha dinamik patolojik sürece işaret eder. Hastalığın seyrini yakın takip edebilmek, yeni tedavi yaklaşımlarını araştırabilmek amacıyla MRG'de hastalık aktivitesini değerlendirme ölçütleri saptanmıştır (6). Bu ölçütler;

1. Yeni lezyonların ortaya çıkışı,
2. Varolan lezyonların kaybolması,
3. Gd-DTPA tutulumu
4. Lezyonların çapında artma ya da azalma,
5. Periventriküler lezyonların daha kronik lezyonlar olduğu, akut lezyonların daha çok korona radiata ve sentrum semiovale ak maddesinde yer aldığı belirtilmektedir.

Seri MRG takip çalışmalarında ortaya çıkan sonuç, primer progressif ile diğer gruplardaki MRG bulgularının farklılık gösterebildiğidir. Primer progressif grupta MRG'de lezyon yükü ve yeni lezyonların görülmesi daha az, lezyonlar küçük ve kontrast madde tutmama özelliğinde iken, atak ve iyileşme ile seyreden ya da ikincil ilerleyici olarak değerlendirilen grupta lezyonlar dinamik özellikte olup; kontrast madde tutan, büyük-yaygın yeni lezyonlar olarak görülmekte ve dolayısıyla lezyon yükü daha fazla olmaktadır (24, 69) .

Hem akut hem de kronik MS lezyonları, diğer beyin patolojilerinde de olduğu gibi proton dansite (PD) ve T2-ağırlıklı (T2) incelemelerde hiperintens görülür. Lezyonların sınırları nisbeten belirgindir, çevrelerinde izlenen daha düşük hiperintens halonun inflamasyonun çok erken evresindeki ödemi gösterdiği düşünülmektedir. MS lezyonları yuvarlak ya da oval olma eğilimindedir ve büyüklükleri birkaç milimetre ile birkaç santimetre arasında değişmektedir (69).

MS lezyonları aynı zamanda dinamik gelişimleriyle de sınıflandırılmaktadır. RRMS veya SPMS'de, özellikle erken evrede MRG aktivitesinin klinik aktiviteden ortalama 5-10 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (6). Yeni lezyonların kontrast tutması ile anlaşılabilen kan-beyin bariyerinin

yıkımı akut inflamasyonu düşündürmekte olup kontrast tutulumu 2-6 hafta kadar devam edebilir. Kontrast tutulumu aynı zamanda mevcut lezyonda inflamasyonun tekrar ettiğini de düşündürür. MS'de rutin tek doz (0,1 mM/kg) yerine üçlü doz (0,3 mM/kg) kontrast madde kullanımı akut lezyonların tespitinde daha etkili olmaktadır. Kortikosteroid tedavisi ile atakların kontrast tutulum süresinin kısaldığı ve düzelme oranının hızlandığı bilinmektedir (24).

Akut ve subakut süreçten aylar sonra lezyonlar kronik evreye geçerler. Bu dönemde fibriler özellikle gliosis gelişimi ile beraber atrofi ve kavitasyonlar ortaya çıkar. Myelin kılıflar demyelinizan plağın kenarında kesilmiş durumdadır. Bu alanda glial hücreler mevcudiyetini sürdürmekte, bu da aktif hücresel sınırı göstermektedir (7).

MS plaklarının en sık görüldüğü lokalizasyonlar periventriküler beyaz cevher, internal kapşül, korpus kallosum, pons ve brakium pontis olmakla beraber myelinizasyon gösteren beyaz cevherin olduğu her yerde hatta gri cevherde bile gelişebileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle lezyonların dağılım özelliği hiçbir zaman MS'de tanısal bir kriter olarak alınmamalıdır. MS lezyonlarının gelişebildiği bir diğer bölge de optik sinirlerdir. Klinik bulgular ve otopsi çalışmaları, MS olgularında optik sinir tutulumunun oldukça yaygın olduğunu göstermesine karşın MRG'de bu lezyonların görüntülenemediği vurgulanmaktadır (6). Burada da spinal MS'de olduğu gibi tamamen teknik nedenlerin rol oynadığı söylenebilir.

MS'deki lezyonların genellikle periventriküler yerleşme eğiliminde olması ve küçük plakların T2 ağırlıklı kesitlerde komşu BOS sinyalleri ile izointens görülmesi nedeniyle gözden kaçabileceği akılda tutulmalıdır. Böyle olgularda PD ağırlıklı görüntüler yararlı olmakta, BOS relatif olarak hipointens görünüm kazandığından MS plakları hiperintens görünümleri ile kolayca ayırdedilebilmektedir. Özellikle kronik plakların son derece uzun T1 relaksasyonuna yol açması IR sekanslarında belirgin hipointens görünümle karakterize olmalarına neden olmaktadır (7). İskemi ya da infeksiyon zemininde gelişen diğer beyaz cevher lezyonları, bu sekansta daha az hipointens görünümle karakterize olmalarıyla ayırdedilebilir.

Hastalık aktivitesi ve yükü için belirleyici bir ölçü olarak MRG tekniklerinin kullanılmasıyla, MS tedavi ve izlem çalışmalarında yeni bir dönem başlatılmıştır. Bu durum, 1990'ların başlarında MS tedavisinde hastalığın seyrini değiştiren terapilerin kullanımının ilk defa onaylanmasını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Yapılmış bir çok çalışma, MRG'nin MS hastalarında hastalık aktivitesinin hassas bir ölçüsü olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarda, hastalık aktivitesiyle klinik ve MRG ölçüleri arasında düşük bir korelasyon bulunmuştur (57). Kranial MRG taramasında hastanın EDSS skorunun ne olduğu yada son relaps

oranının ne olduğunu tahmin etmek mümkün değilken, bu durum tersi için de geçerlidir. MS hastalığının seyrini değiştiren tedaviler ile ilgili yapılmış çok sayıda klinik araştırmada, MRG iyileşmesi olmamasına rağmen klinik iyileşmenin olduğu görülmüştür (7, 30). Bundan dolayı, MRG iyileşmesi, MS hastalarında ilaç tedavisinin başarısı için gerekli ancak yeterli olmayan bir ön koşuldur.

Konvansiyonel MRG MS tanısının konmasında, hastalığın aktivitesinin izleminde ve klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılır. Ancak konvansiyonel MRG ile klinik bulgular arasındaki ilişki net değildir. Bunun nedeni de MS'deki heterojen patolojik maddelere konvansiyonel MRG'nin özgüllüğünün yetersiz olmasıdır. Modern niceliksel MRG teknikleri bu yönlerden konvansiyonel MRG'den üstündür. Magnetik transfer ve diffüzyon ağırlıklı manyetik rezonans görüntüleri, makroskopik MS lezyonlarının içindeki ve dışındaki yapısal lezyonların büyüklüğünü anlamamızı sağlar. Ayrıca MRS bu lezyonların biyokimyasal özelliklerini de gösterir. Fonksiyonel MRG ise kortikal adaptif değişiklikler hakkında bilgi verir. Modern MRG tekniklerinin uygulanması, MS'nin nasıl geri dönüşümü olmayan işlev kayıplarına yol açtığını gösterse de bu tekniklerin klinik çalışmalarda kullanılması henüz çok sınırlıdır.

Günümüzde MRG teknolojisinde ulaşılan yeni görüntüleme teknikleri, MS tanısında aktif ve aktif olmayan lezyonları da ayırd edebilecek son derece duyarlılığı yüksek bilgilere ulaşma şansını da sunmaktadır. Son gelişmeler ışığında aksonal kaybın gösterilmesi ve aynı zamanda hastalığın gelişimini takip etmek amacıyla yalnızca nöronlarda ve aksonlarda bulunan N-Asetil Aspartat (NAA) konsantrasyonunu baz alan MRS yapılmaktadır. Bu bulgu, nöroaksonal kaybın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Spektroskopi ile belirlenen NAA'daki azalma, serabral akson hasarının MS'nin erken dönemlerinde başladığına işaret eden önemli bir bulgudur (10). SPMS'li hastaların beyinlerinde, erişkin SSS'nin nöronal bir belirleyicisi olan NAA seviyesinin düştüğü gösterilmiştir ve RRMS'te görülmeyen bu durum SPMS'li hastalarda yaygın aksonal hasar olduğunu düşündürmektedir (69).

Özellikle son yıllarda uygulamaya kazanılmış olan diffüzyon ağırlıklı MRG (DA-MRG) teknikleri MS'de aktif plak tanımlaması yanında, bu lezyonları iskemik lezyonlardan da objektif verilerle ayırd edebilme şansını vermektedir (5). DA-MRG tekniği, mikroskopik düzeyde su moleküllerinde görülen fizyolojik hareketlerin (Brownian hareketi) görüntülenmesi esasına dayanmaktadır (59). Normal dokuda su moleküllerinin gösterdiği bu sabit fizyolojik hareket, hücre metabolizmasındaki değişikliğe paralel olarak bozulmakta yani kaybolmaktadır. Normalde su moleküllerinin üç uzaysal düzlemde yapmakta olduğu bu diffüzyon hareketi, görünen diffüzyon

katsayısının (Apparent Diffusion Coefficient:ADC) haritalarının DA-MRG tekniği ile ölçülebilmesine olanak tanımaktadır (5). MS olgularında yapılan DA-MRG incelemelerinde plaklarda diffüzyon artışı saptanmıştır. Bu alanlar DA-MRG kesitlerinde fokal hiperintens alanlar olarak izlenirler. Yine, yapılan araştırmalar diffüzyon artışının gliotik doku değişikliğini temsil ettiğini ortaya koymaktadır (17). Ancak ilginç olan saptama, MS'li hastalarda normal görünen beyaz cevherin DA-MRG incelemelerinde patolojik sinyaller barındırdığının saptanmış olmasıdır (17, 87). Rutin MRG incelemelerinde lezyon görüntülenmemekle birlikte, mikroskopik olarak lezyon gelişmekte olan alanlarda DA-MRG ile elde edilen görüntülerde diffüzyon artışı tesbit edilmiştir. Bu hastalarda bir yıl süre ile yapılan aylık seri MR incelemelerinde ADC görüntülerinde sürekli bir sinyal artışı tesbit edilmiş, rutin incelemelerde bu alanlarda lezyonlar görünür olduğunda, paramanyetik kontrast madde tutan aktif lezyonların ise ADC görüntülerinde yüksek sinyallerin aniden kaybolarak bu alanların hipointens görünüm kazandığı dikkat çekmiştir (87). Bu veriler, aktif lezyonlarda gelişen doku hasarını yansıttığını ve şiddetli kan-beyin bariyeri yıkımını temsil ettiğini göstermektedir. DA-MRG'nin bu özellikleri ile MS hastalarının izleminde potansiyel lezyonların tanımlanması ve bu doğrultuda tedavi planlaması ile hastaların olası sekellerden korunmasında ciddi rol oynayabileceğine inanılmaktadır.

DA-MRG, T1 ve T2 özellikleri dışındaki mekanizmaları kullanılarak, dokuların mikroskobik düzeyde hem araştırma hem de klinik amaçlar için incelenmesini sağlayan bir tanı yöntemidir. Bu teknikte görüntü kontrastının kaynağı su moleküllerinin hareketi olup bu hareket beyinde oluşan herhangi bir hasar durumunda değişime uğramaktadır (59). Çoğunlukla beyinde kullanılmakta olup özellikle de yüksek duyarlılığından ötürü akut inmenin erken tanısında ilk dakikalardan itibaren çok büyük rol oynamaktadır. Bunun dışında MS gibi demyelinizan hastalıklarda patolojinin şiddeti ve yaygınlığının in vivo olarak ölçülmesinde kullanılması da giderek yaygınlaşmaktadır. MS'nin patolojik elemanları beyin, optik sinir veya omurilikteki suyun moleküler hareketine karşı yapısal bariyerlerin geometrisini ve permeabilitesini değiştiren bir potansiyele sahiptir. Bundan dolayı MS'de yapısal hasarın ölçülmesinde kullanılabilen ümit verici bir MR tekniğidir. Demyelinizasyonun boyutu, yaygınlığı ve miyelinli yollar ile ilişkisini göstermede de faydalı bir yöntemdir (5).

Serbest su molekülleri, hücre dışı alanda daha fazladır ve görüntülerdeki sinyal farklılığına başlıca bu kompartmandaki değişiklikler neden olmaktadır. Hücre içi su hareketi sınırlı olup sinyal değişikliklerine etkisi daha azdır. Bundan dolayı hücre dışı sıvı miktarı ile difüzyon artışı arasında paralellik bulunmaktadır. Bu kompartmandaki sıvının (örn; vazojenik ödem) ya da hücre dışı

mesafenin (örn; MS) artışı difüzyonda artışa yol açarken değişik nedenlere bağlı olarak azalması ise difüzyonda azalmaya neden olur (59).

DA-MRG için gerekli cihazın özellikleri: DA-MRG için iki temel ihtiyaç vardır. Birincisi güçlü ve hatasız gradiyent aksamı, ikincisi ise görüntüleme yönteminin hasta hareketine karşı duyarsız olmasıdır (59). İkinci şartı sağlamak için ya navigatör teknikler ile hareket artefaktlarını düzeltmek ayrıca kardiyak gating yapmak veya ekoplanar görüntüleme (EPG) ile hareket artefaktlarından kaçınmak gerekir. EPG'de bile hastanın kafasını oynatmamasına dikkat edilmelidir. Hızlı görüntüleme tekniklerinin önemli bir dezavantajı sinyal/gürültü oranlarının zayıf, rezolüsyonlarının düşük olmasıdır. Ayrıca gradiyent-eko tekniğinde olduğu gibi sinüs ve kemik komşuluklarında görüntü distorsiyonları önemli bir problemdir. Ekoplanar sistemler güçlü gradiyent donanım, geniş band aralığı ve güçlü işlemci özellikleri ile alışlagelmiş sistemlere göre hem hız olarak hem de özellikle kantitatif ölçümlerde daha üstündür (5, 59). Ancak alışlagelmiş sistemlerde de bazı yardımcı teknikler kullanılarak başarılı sonuçlar alınmaktadır.

DA-MRG'nin en önemli dezavantajı serebral yapılarda anatomik detayın konvansiyonel sekanslara göre yetersiz olarak gösterilmesidir. Bu durum sekansın çok güçlü gradiyentler gerektirmesi ve sinyal-gürültü oranının yeterli düzeyde olmamasından kaynaklanır (59). EPG sekansından kaynaklanan, özellikle kafa tabanı düzeyinde izlenen, paranazal sinüsler ve temporal kemiklere yakın anatomik distorsiyon artefaktları görüntülerde bozulmaya yol açmaktadır. Ancak bu artefaktlar kemik-hava ara yüzeyinde izlendiğinden tanınması kolaydır. Özellikle premeduller ve prepointin sisternalar düzeyinde bu artefakt belirgin olarak izlenir (59).

2.9. Nöral sitoiskelet

MS, demyelinizan hastalıklar için bir prototiptir. Başlangıçta sanıldığı gibi tersine aksonal hasarın MS lezyonlarında sık görülen bir bulgu olduğu ve geri dönüşümsüz nörolojik hasarın nedeni olduğu gösterilmiştir (10). Bu nedenle, erken aksonal hasarın belirteçlerinin saptanmasının büyük bir önemi vardır. Nöronal sitoiskeletde yer alan yapılar aksonal bütünlüğün sağlanmasında önemli görev almaktadır (25).

Nöral sitoiskeletde mikrotübüller, intermediet filamentler, mikrofilamentler ve mikrotübül ilişkili proteinler yer almaktadır.

Mikrotübüller: alfa-tubulin, beta-tubulin, tau proteini'nden oluşur. Nörotübüler yapının polimerizasyonu ve stabilitesini sağlar.

İntermediet filamentler: H ve L nörofilamentler, glial fibriler asidik protein'den oluşur. Aksonal bütünlük ve yavaş aksonal transportta görevlidir.

Mikrofilamentler: Beta-aktin, gama-aktin'den oluşur. Nöritlerin büyümesi ve uzamasında görevlidir.

Mikrotübül ilişkili proteinler: Amiloid prokürsör protein, kinasin, dynein'den oluşur. Hızlı aksonal transportta görevlidir.

Aktin, tubulin, L-neurofilamentler, tau gibi sitoiskeletal strüktürel proteinler; akson spesifik antikolar; S-100, 14-3-3, glial fibriler asidik protein, nöron spesifik enolaz, nitrik oksid gibi nöronal veya glial proteinler aksonal ve nöronal dejenerasyonun göstergesi olarak kullanılabilir (8, 10, 22, 73).

2.10. Tau proteini ve Sinir sistemi

Tau proteini, aksonların mikrotübül yapısında bulunur ve SSS'nin dejeneratif hastalıklarında BOS'a salınır (9). Bu nedenle BOS tau düzeyinin, bazı hastalıkların tanısı ve aksonal hasarın şiddetinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir. Tau proteini ile ilgili bilinenlerin temel kaynağını Alzheimer Hastalığı (AH) konusunda yapılan çalışmalar oluşturmuştur. AH'da belirli beyin bölgelerinde seçilmiş bazı nöronların içinde bulunan anormal lif demetlerinden oluşan birikintilere, görünümüne dayanarak nörofibriller yumak (Tangle) adı verilir (13). Yumağı oluşturan liflerin her birinin iki ince liften oluşan bir sarmal olduğu görülür. Buna helikal filament çifti denir. En geniş olduğu yerde 25 nanometre olan bu sarmallar, her 80 nanometrede bir düzenli olarak kıvrılırlar. Bu filamentlerin ana bileşeni, aslında aksonun mikrotübülünde yapısal olarak bulunan tau proteindir. Ancak mikrotübüle bağlı iken solubl olan tau proteini hücre içi birikimlerde hiperfosforile şekildedir ve bu nedenle pek solubl değildir. Bu nöron içi birikimler, hücrenin temel iskeletini bozarak iletinin bozulmasına ve giderek hücrenin canlılığının sona ermesine neden olurlar. Nöron ölümünün ardından Nörofibriller yumaklar ekstrasöronal olarak görülürler (13). Nöron ölümü eşik değeri aştığında kognisyon ve özellikle bellek sorunları klinik olarak saptanır hale gelmektedir. Bu yerel birikimleri oluşturan tau proteinin farklı bölgelerinden fosforile olduğu anlaşılmış ve oluşan yeni formlar fosforile tau (p-tau) olarak adlandırılmıştır. Bu epitoplara, fosforilasyonun olduğu yere göre isimlendirilirler. Bilinen 6 izoform; Threonine 181 ve 231, Threonine 181, Threonine 231 ve Serine 235, Serine 199, Threonine 231, Serine 396 ve 404'dir (74).

Hücre içi birikimlerde bulunan tau, mikrotübüle bağlı bulunandan farklı olarak hiperfosforile şekildedir (74). Bu birikimlerin, hücrenin temel iskeletini bozarak önce aksonal iletinin bozulmasına, sonra da hücrenin ölümüne neden olduğu düşünülür. AH'da BOS total tau ve fosforile tau düzeyleri belirgin olarak yüksektir, ancak fosforile tau'daki artış daha spesifiktir (80).

BOS total tau düzeyinin, AH'nın gelişimini izlemek ve diğer tip demanslardan ayırt etmek için de kullanılabilirliği anlaşılmıştır. Demansa dönüşme potansiyeli olan ılımlı kognitif etkilenmesi olanlarda da tau artışı saptanmıştır (1).

Patolojisi SSS'ne sınırlı olan hastalıklarda BOS önemli bir biyolojik belirteç kaynağıdır. Bu patogenetik sürecin olası BOS belirteçlerinden biri de total ve fosforile tau protein düzeyleridir. BOS tau düzeyi, kafa travmasında, aksonal hasarın derecesini belirlemede, nöroprotektif ajanların etkinliğini izlemede, prognozu belirlemede ve klinik iyileşmenin takibinde de bir belirteç olarak kullanılabilir (9). İnmenin akut döneminde nöronal hasarın gelişimine paralel bir artış görülürken, birkaç ay sonra normale dönmektedir (78). Sonuç olarak, BOS total tau düzeyinin nöron yıkımını izlemek, BOS fosforile tau düzeyinin ise nörofibriller yumak oluşumunu izlemek için yararlı bir belirteç olduğu anlaşılmıştır.

Demans dışı bir nörolojik hastalığı olanlar ve nörolojik açıdan bulgusu olmayan aynı yaştaki kontroller ile karşılaştırıldığında, AH olanlarda BOS'ta total tau ve p-tau düzeylerinin belirgin olarak yüksek olduğu gösterilmiştir (13). Depresyon gibi psikiyatrik hastalığı olanlarda, amyotrofik lateral skleroz (ALS), parkinson hastalığı (PH), vasküler demans (VD), frontotemporal (FTD) ve lewy-body demans (DLB) gibi kronik nörolojik hastalığı olan hastalarda p-tau protein düzeyi normal bulunmuştur (31, 41, 78). Böylece p-tau proteininin AH ve diğer demansların ayırımında bir belirteç olarak kullanılabilirliği öne sürülmüştür. Yapılan başka çalışmalarla da bu kanı doğrulandığından, insan BOS'unda fosforile tau protein artışının AH için güvenilir bir biyolojik belirteç olduğu ve AH'yi ayırt etmede kullanılabilirliği konusunda görüş birliğine varılmıştır (76). BOS total tau düzeyinin, AH'nın evrelerine göre belirgin farklılıklar gösterdiği de saptanmıştır (80). Yaşla ilişkisiz olarak, şiddetli demansı olanlarda total tau en yüksek, orta şiddetteki demansta orta, ılımlı demansta ise en düşük düzeyde bulunmuştur. Böylece BOS total tau düzeyinin AH'nın gelişimini izlemek için biyokimyasal bir test olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür.

Ilımlı Kognitif Etkilenme (MCI), demans yokken ortaya çıkan, yaş ve eğitim durumuna kıyasla, objektif olarak doğrulanan bir bellek azalması durumudur. MCI, normal yaşlanma ile AH arasında bir ara durumdur ve yaklaşık olarak % 15 oranında AH'ye dönüşme potansiyeli olduğu düşünülür (1). MCI'nın iyi seyirli mi olduğu, yoksa AH'ye mi dönüşeceğini anlamak için en az beş yıllık izlem gerekmektedir. AH'ye dönüşecek olan MCI'ların erken dönemde saptanması için bazı çalışmalar yapılmış ve MCI olan hastaların BOS'larında tau proteini artmış olarak bulunmuştur (1). MCI'li hastalarda ayrıca hipokampal atrofi de görülür. Bununla birlikte, tau protein yoğunluğundaki artışın (% 210-290 artış) hipokampal atrofisinin derecesinden (hipokampal hacimde % 9-15

azalma) fazla olması nedeniyle MCI şeklinde başlamış AH'yi tanımda tau proteini gibi belirteçlerin daha yararlı olduğu bildirilmiştir (1).

Bazı çalışmalarda FTD'de BOS tau proteinin total konsantrasyonunda ılımlıdan orta düzeye kadar değişen bir artış olduğu bulunmuştur (13, 67). Semantik demans, sık rastlanmayan fakat klinik olarak belirgin bir durumdur. Semantik demansda da BOS tau protein düzeylerinde orta derecede artış olduğu gösterilmiştir (64). AH ile karşılaştırıldığında, DLB'de düşük amiloid-beta 42 ve p-tau (181P) düzeyleri açısından fark bulunmazken, BOS p-tau'nun ayırıcı tanıda iyi bir belirteç olabileceği gösterilmiştir (64). Alzheimer tip demansı VD'den ayırt etmede, BOS total tau düzeyinin kullanımının değerlendirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada; AH grubunda BOS total tau düzeyi, VD grubuna ve kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. BOS total tau düzeyinin AH'yi net olarak VD'den ayırt ettiği kabul edilmiştir (34). Ayrıca bazı çalışmalarda VD hastalarının büyük bir kısmında tau protein yoğunlukları yüksek bulunmuştur. Bunun klinik olarak tanısı konulmuş VD'lilerde, otopside sık olarak bulunan eşlik eden bir AH patolojisinin varlığı nedeniyle olduğu düşünülmüştür (64).

Demansı olmayan PH'larda, BOS tau proteini yoğunluğunun normal bireylerle benzer olduğu görülmüştür. Bu değerlerin hastanın yaşı, PH'nın başlama yaşı, PH'nın süresi, birleştirilmiş PH oranlama skoru (Unified Parkinson's Disease Rating Scale-UPDRS) ve Hoehn ve Yahr evrelemesi ile ilişkili olmadığı ve Parkinson için kullanılan ilaçlardan belirgin olarak etkilenmediği ortaya konulmuştur (78).

Creutzfeldt-Jakob Hastalığı (CJD), bulaşıcı proteinöz infeksiyöz bir ajanın (prion) neden olduğu, nadir görülen, ölümcül nörodejeneratif bir hastalıktır. CJD'nın Sporadik formunun erken klinik semptomları AH ve FTD gibi diğer nörodejeneratif hastalıklar ile karışabilir. Tau'nun hiperfosforilasyonu özellikle nörofibriler değişiklikler ile ilgili nörodejeneratif hastalıklarda görüldüğünden BOS'taki p-tau/total tau oranı CJD'yi diğer nörodejeneratif hastalıklardan ayırt etmede bir belirteç olarak kullanılabilir (64). Ayrıca CJD'de total tau protein artışından çok söz edilmesine karşın, p-tau proteininde artış olmadığı bildirilmiştir. Bir çalışmada kesin CJD'li hastalarda BOS'taki tau protein yoğunlukları diğer hastalıkları olan iki ayrı kontrol grubundan belirgin olarak daha yüksek (CJD'da tau yoğunluğu: ort. 558 pg/ml, demansif hastalığı olmayanlarda ise tau yoğunluğu ort. 296 pg/ml) bulunmuştur (63). CJD'nın laboratuvar tanısı için BOS'ta tau protein düzeylerinin saptanmasının kullanışlı bir belirteç olduğu sonucuna varılmıştır.

Akut inmeli hastalarda BOS total tau düzeyleri, sıfır ile birinci gün ölçülen taban düzeyleri olan % 140 ile karşılaştırıldığında, iki ile üçüncü günlerde % 179, yedi ile dokuzuncu günlerde % 257 ve

üç hafta sonrasında % 425 artmış ve üç ile beş ay sonra normal düzeylere dönmüştür (34). Bununla birlikte, BOS p-tau'da belirgin değişiklik saptanmamıştır. Bu bulgular, BOS'taki total tau ve p-tau düzeylerinin beyindeki farklı patogenetik süreçleri yansıttığı, total tau'nun nöronal hasarın derecesini ve p-tau'nun ise tau'nun fosforilasyon durumunu ve böylece nörofibriler yumak formasyonunu yansıttığı görüşünü desteklemektedir.

Kafa travmasının temel bulgusu ve mortalite ile morbiditenin en sık nedeni olan, diffüz aksonal hasarı görüntüleme yöntemleriyle saptamak neredeyse imkansızdır. Bir çalışmada tau protein düzeyi, MS (0.014 ng/ml), normal basınçlı hidrosefali (saptanamaz düzeyde), herhangi bir başka nörolojik hastalığı olanlar (0.031 ng/ml) veya nörolojik olmayan hastalar (saptanamaz düzeyde) ile karşılaştırıldığında, kafa travması (ort. 1.519 ng/ml) olanlarda çok yüksek bulunmuştur (91). Kafa travmasında klinik iyileşme ile BOS tau düzeyindeki azalma arasında doğrudan bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular BOS tau düzeylerinin kafa travması ile ilişkili aksonal hasarın derecesini belirlemede ve nöroprotektif ajanların etkinliğini izlemede kullanışlı olduğunu kanıtlamıştır. Bu çalışmada, hastaların klinik durumu ile BOS tau düzeyleri arasında korelasyon olduğu, BOS tau düzeylerinin kafa travmasının şiddeti ve hastanın prognozunu belirlemede iyi bir belirteç olduğu, komalı hastalarda aksonal hasarı ölçmede tau düzeylerinin BT'den daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (2).

Şizofreni hastaları ve normal bireyler karşılaştırıldığında BOS total tau ve Threonine-181'de fosforillenmiş tau protein düzeyleri arasında belirgin farklılık bulunmamıştır. Ancak, bu çalışmadaki sonuçlar, AH ile ilintili patolojisi olan şizofrenlerde bulunan tau düzeyindeki artış gibi, ilerleyici nörodejeneratif bir patolojiyi dışlamamaktadır (64). Depresyon, alkolik demans, progresif supranükleer felç gibi kronik nörolojik hastalıklarda BOS'ta total tau protein yoğunlukları normal bulunmuştur (2, 83, 90).

Meningoensefalit ve serebral hemorajili hastalarda tau düzeylerinin belirgin yükselmesi beyin parankim hasarını göstermiştir. Bakteriyel meninjitli hastalarda da eğer ensefalitik komplikasyonlar ortaya çıkmadıysa tau düzeyleri normal bulunmuştur (78). İnsanlarda oligodendrositlerde de tau proteininin varlığı bilinmektedir (70). MS'de BOS tau proteinin yüksekliği aksonal etkilenme ve/veya oligodendrosit hasarı ile açıklanmaktadır. Bununla birlikte Guillain Barre olgularında yapılan bir çalışmada BOS tau protein düzeyi düşük bulunmuştur (78).

Kontrollerle karşılaştırıldığında MS hastalarında BOS tau düzeyleri artmış olarak bulunmuştur (ortalama 249.6 ve 135 pg/ml, $p < 0.001$) (44). Relapsing remitting ve progresif MS alt tiplerinin her ikisinde de kontrollere göre belirgin artışın bulunması tau proteinin MS hastalarında, aktif

dönemdeki aksonal etkilenmeyi gösterebileceği ve hayat boyunca aksonal hasarın saptanması için kullanılabilirliğini düşündürmüştür. Bir başka çalışmada, MS hastalarındaki BOS tau protein yoğunluğunun kontrol grubundan farklı olmadığı görülmüş ve BOS tau yoğunluğunun MS aktivitesini ölçmek için bir belirteç olarak kullanılamayacağı bildirilmiştir (40).

Sonuç olarak, beyindeki aksonların mikrotübülüne bağlı olarak bulunan bir protein olan tau'nun, nöron yıkımına neden olan ilerleyici dejeneratif süreçlerde BOS'taki miktarının arttığı saptanmış ve yıkımın derecesini izlemek için bir belirteç olarak kullanılabilirliği anlaşılmıştır. Ayrıca inme ya da travma gibi, akut oluşan ancak gecikmiş nöron yıkımı yaratan süreçlerin izlenmesinde de iyi bir belirteç olabileceğine ilişkin bulgular gösterilmiştir.

2.11. Enzime Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Antikorların belirli antijenlere karşı olan spesifitesi sayesinde antijenler tespit edilebilir, saflaştırılabilir ve ölçülebilir. Her türlü makromolekül ve küçük kimyasallara karşı antikor üretilebildiği için her türlü antijen tespitinde ve ölçümünde rahatlıkla kullanılabilirler. Monoklonal antikor üretim tekniklerinin ilerlemesi sayesinde istenilen özellikte antikor üretimi yapılabilmektedir. Antijen miktarının immünolojik yöntemlerle ölçülmesi, hastalığın tanısı ve klinik seyri açısından önemlidir. Tüm modern immünokimyasal ölçme metodları, aktivitesi bir indikatörle belirlenen antijen-antikor reaksiyonu sonucu değerlendirilir. İndikatör kovalent bir şekilde enzime bağlandıysa bunun optik dansitometre ile ölçümüne ELISA denir (15). ELISA, oluşturulan antijen-antikor kompleksine, enzim ile işaretli anti-gammaglobulin bağlanarak ve enzimin etkilediği substratın eklenmesi ile renk oluşumuna dayanan bir testtir. Antijen veya antikor belirlenmesi için uygulanan duyarlı bir yöntemdir. Sandviç ELISA yönteminde ölçülmek istenen antijene karşı oluşturulmuş antikor ve biyotinli antikor kullanılır (15).

Bilinen bir antikor plastik tüp veya çukurlu tablanın çukurlarının iç yüzeylerine tespit edilir. Bunun için tablaların iç yüzeylerine tespit edilmiş hazır kitler kullanılır. Antijen aranacak serum veya BOS sulandırımından bir hacim çukurlara konur ve enkübasyondan sonra yıkanır. Materyalde, antikora uygun antijen varsa antikorla birleşir, antikora uygun olmayan antijenler yıkama ile giderilir. Çukurlara, peroksidaz veya alkalin fosfataz enzimi ile işaretli monoklonal insan anti-gammaglobulini konur ve inkübasyonu takiben aynı şekilde yıkanır. Materyalde antikora özgül antijen varsa antikorla birleşir ve eklenen enzimle işaretli anti-gammaglobulin de antijen-antikor kompleksine bağlanır. Oluşan antijen-antikor-enzimle işaretli anti-gammaglobulin kompleksinin üzerine, enzime uygun kromojen-substrat eklenerek karanlıkta inkübe edilir. İnkübasyonu takiben enzim reaksiyonunu durdurmak için asit veya alkali bir çözelti eklenir.

Enzimin etki ettiği substrat kromojenden oluşan renk indeksi, enzim fotometresinde ölçülerek değerlendirilir. Renk oluşması, antijen ile antikorun birbirine uygun olduğunu gösterir (15). Bilinen bir antijen, plastik tüp veya çukurlu tablalardaki çukurların iç yüzeylerine tespit edilerek hasta örneklerinde aynı yöntemle antikor da aranabilir.

Kuyucukların temizlenme işlemleri özel aspiratörlerle veya levhanın ters çevrilerek boşaltılmasından sonra kuru kağıt havlu üzerine vurulması ile yapılır. Temizleme ve örnek doldurma işlemleri arasında kuyucukların kurumaması gerekmektedir. Kuyucukların doldurulması ve boşaltılması sırasında pipet uçlarının kuyucuğun tabanına değmemesine özen gösterilmelidir. Her aşama sona erdiğinde en az dört kez yıkanmalıdır. Çukurlu tablalardaki önceden belirlenen kuyucuklara aranılan antijenden bildiğimiz miktar beklenen en yüksek konsantrasyondan başlayarak belirli dilüsyonlarda konulur. Bu koyucuklarda elde edilen optik dansiteler ve bu optik dansitelere karşılık gelen konsantrasyonlarla bir eğri elde edilir. Örneklerin konsantrasyonları bu eğriden elde edilen formül ile logaritmik veya lineer belirlenir. Ayrıca antijensiz kuyucuklarla zemin değeri de belirlenir.

AH'de BOS tau düzeyinin biyolojik bir belirteç olarak kullanılabilceği ilk defa 1993'te gösterilmiş ve bu çalışmada ELISA yöntemi kullanılmıştır (84). BOS fosforile tau artışının AH için çok daha spesifik bir tanısal belirteç olduğu ilk defa 1999 yılında bu yöntem kullanılarak bildirilmiştir. Tau proteinin farklı fosforile epitoplarının saptanması için de birçok ELISA yöntemi geliştirilmiştir. ELISA yöntemi ile tau proteinin fosforilasyondan bağımsız olarak, monoklonal antikor tekniği ile izoformlarını ölçmek mümkün olmuştur (84). Daha sonraki çalışmalarda değişik nörolojik hastalıklarda BOS'da tau proteini çalışılmış ve yöntem olarak ELISA kullanılmıştır.

3. HASTALAR VE METOD

Bu çalışmaya Ekim 2000 - Ocak 2005 tarihleri arasında, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Multipl Skleroz Polikliniğine başvuran, Mc Donald's kriterleri'ne (55) göre MS tanısı alan ve MS polikliniğinde takibine devam edilen 45 hasta alındı. MS hastalarının tanısı ve klinik formunun belirlenmesi, BOS örneğinin alınması ve poliklinik izlemi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Multipl Skleroz Polikliniğinde yapıldı. Hastaların yaşı, cinsiyeti, hastalık süresi, başlangıç bulguları, nörolojik muayene bulguları, takip süreleri, kullandıkları tedaviler ve toplam atak sayıları saptandı. Hastalar kliniklerine göre relapsing remitting, primer progresif ve sekonder progresif olarak üç alt gruba ayrıldı. Relaps veya remisyonunda olmalarına göre de sınıflandırıldılar. Tüm hastalardan çalışmaya katılmadan önce bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı.

MS polikliniğimizde değerlendirilmeyen ve nörolojik muayenesi yapılmayan hastalar, EDSS'si 6'nın üstünde olan, başka nörolojik hastalığı olan, bilgilendirilmiş gönüllü olur formu doldurmayan hastalar çalışmaya alınmadı. MRG için klostrofobi olanlar ve LP için koagülopati, lomber bölge cilt enfeksiyonu gibi uygunsuz bir durumu olanlar, BOS mikroskopik incelemesinde atipik hücre görülen veya mm³'de 10'un üzerinde hücre bulunan hastalar, BOS proteini 45 mg/dl'nin üzerinde olan olgular çalışmadan çıkartıldı. MS hastalarına eğer daha önce başlanılmış immünomodülatör veya immünosüpresif tedavi varsa bu tedavilerine devam edildi.

Primer SSS lezyonuna ait bulgu ve belirtisi olmayan yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuyla uyumlu, 38 kişilik kontrol grubu oluşturuldu. Subaraknoid kanama, benign intrakranial hipertansiyon, intrakranial hipotansiyon, normal basınçlı hidrosefali, meningoensefalit gibi ön tanılarla LP yapıp BOS örneği alınan, BOS incelemesi normal olup bu tanıları almayan ve nörolojik bulgusu olmayan kişiler kontrol grubuna alındı. Kontrol grubuna rutin kranial MRG yapılmadı. Hasta grubu yaş, cins ve BOS total tau protein miktarı bakımından kontrollerle karşılaştırıldı.

LP sonrası hastalara bol hidrasyon gibi önerilerde bulunuldu ve hastalar işlemten sonra en az dört saat hastanede gözlemlendi. LP sonrası alınan ilk iki cc'lik BOS örneği hücre sayımı, protein ve elektrolit değerlerinin ölçümünde, sonraki iki cc'lik BOS örneği ise total tau düzeyinin ölçümü için kullanıldı. Alınan BOS örnekleri 30 dakika içerisinde mikroskopik inceleme ve santrifüj işlemine tabi tutuldu ve gerekli işlemlerden sonra, -80 ° C'de bekletildi. Alınan BOS örneklerinin mikroskopik incelenmesi, hücresel elemanların ve diğer insolubl meteryallerin eliminasyonu amacıyla BOS örneğinin 10 dakika süreyle 2000g'de santrifüj işlemi, uygun şartlarda saklanması ve

BOS tau protein miktarının ELISA yöntemiyle ölçülmesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. BOS total tau protein miktarı Innogenetics Innostest hTau Antijen kiti ile sandviç yöntemine dayanan ELISA yöntemi kullanılarak pg/ml cinsinden ölçüldü. ELISA yönteminde, yüzey olarak yüksek bağlanma kapasitesine sahip 'polystyrene' 96 kuyucuklu, kuyucukların iç yüzeylerinde tau antikoru tespit edilmiş düz tabanlı plak kullanıldı. Değerlendirmeye başlamadan önce bütün belirteçlerin (ayıracağı) oda sıcaklığında olmasına dikkat edildi (20-25 °C). Plakdaki ilk beş kuyucuk standardizasyon için kullanıldı. Her teste 75 mikrolitre konjugat eklendi. Hepsine ayrı ayrı uygun spesmen 25 mikrolitre eklendi. BOS örnekleri testten önce vortex ile çevrildi. Her teste 25 mikrolitre Sample Diluent (SD- örnek çözelti) eklendi. Aşağı yukarı manuel olarak çok sayıda sallayarak, spesmen ve standartların inkübasyon belirteciyle iyice karıştığından emin olundu. Stripler yapışkan sealer ile kaplandı ve bir geceliğine 25 °C'de inkübe edildi. Daha sonra her biri dört sefer iyice yıkandı. Her birine 100 mikrolitre konjugat (yıkama solusyonu) eklendi. Stripler yeni bir yapışkan sealer ile kaplandı ve 30 dakikalığına 25 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her biri tekrar dört sefer yıkandı. Her birine hazırlanmış substrat solusyonundan 100 mikrolitre eklendi ve 30 dakikalığına 25 °C'de inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için 100 mikrolitre sülfürik asid eklendi (2 N). Her solusyonun absorbans değeri, spektrofotometre ile 15 dakika içerisinde 450 nm'de okundu. Dual dalgaboyu analizi için, 620 nm referans dalga boyu olarak kullanıldı.

Remisyonda veya relapstaki tüm MS hastalarının beyin MR incelemeleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı ve değerlendirildi. Kranial MR incelemede PD-T2 transvers, T2 sagittal, T2 flair transvers, diffüzyon ağırlıklı MR ve ADC haritası, Heavy IR-T1 transvers, T1 transvers, postkontrast T1 transvers görüntülemelerdeki lezyon sayısı, tüm sekanslarda görülme oranları, kontrastlanma özellikleri değerlendirildi. Diffüzyon ağırlıklı MR ve ADC haritasında lezyonların görünüm özellikleri belirlendi ve bunların BOS total tau konsantrasyonu ile korelasyonu yapıldı. Atak dönemindeki olgularda pulse kortikosteroid başlanmadan önce BOS örnekleri alındı ve MRG'leri yapıldı.

MR incelemesi, 1.5 tesla gücünde süper iletken magnet (Magnetom Symphony Class Metro, Siemens, Almanya) MR cihazında 6 kanallı standart kafa sargısı ile; değişik görüntüleme alanı (FOV) ve matris büyüklüğü kullanılmak suretiyle, her bir sekansta ortalama 20 görüntü elde edilerek yapıldı. Hastalar herhangi bir ön hazırlık yapılmadan, supin pozisyonunda ve baş tarafı magnet içinde önde olacak şekilde yatırıldı. İlk önce lokalizasyon için 9 saniye süren T1 kesitler üç düzlemde (aksiyel, koronal ve sagittal) elde edildi. Bu görüntüler üzerinden uygun açı verilerek;

sagittal düzlemde T2 SE görüntüler, transvers düzlemde PD, T2 SE ve FLAIR görüntüler, koronal ve transvers düzlemde paramanyetik kontrast madde (Gadolinium, Omniscan) öncesi ve sonrası T1 SE görüntüler elde edildi. Transvers düzlemde yapılan PD ve T2 ağırlıklı incelemeler ikili eko (double eko) yöntemi kullanılarak yapıldı. Aksiyel ve koronal kesitler, anterior ve posterior kommissürü birleştiren çizgiye paralel ve dikey olarak uygulandı. Paramanyetik kontrast madde 0,1 mmol/kg standart dozda uygulanmış olup akut lezyonlardaki kontrastlanma paternini daha iyi göstermesi sebebiyle kontrastlı T1 SE görüntüler magnetizasyon transfer tekniği kullanılarak elde edildi.

FLAIR inceleme için kullanılan parametreler şunlardı; TR: 9000 msn, TE: 114 msn, TI: 2500 msn, NEX: 2, matriks: 179x256, FOV: 20 cm, kesit kalınlığı 5 mm, kesit aralığı: 1 mm, toplam tarama süresi: 4 dakika 32 saniye.

PD ve T2 ikili eko inceleme için kullanılan parametreler şunlardı; TR: 3270 msn, TE₁: 14 msn, TE₂: 86 msn, NEX: 2, matriks: 179x256, FOV: 18.5 cm, kesit kalınlığı: 5 mm, kesit aralığı: 1.5 mm, toplam tarama süresi: 4 dakika.

T2 ağırlıklı inceleme için kullanılan parametreler şunlardı; TR: 5710 msn, TE: 103 msn, NEX: 2, matriks: 203x256, FOV: 22 cm, kesit kalınlığı: 5 mm, kesit aralığı: 0.5 mm, toplam tarama süresi: 53 saniye.

T1 ağırlıklı inceleme için kullanılan parametreler şunlardı; TR: 500 msn, TE: 7.7 msn, NEX: 2, matriks: 256x256, FOV: 24 cm, kesit kalınlığı: 5 mm, kesit aralığı: 1 mm, toplam tarama süresi: 4 dakika 20 saniye.

Difüzyon MR görüntüleme "single shot" SE T2 EPG sekansı kullanılarak gerçekleştirildi. İnceleme b-değeri katsayısı 0, 500 ve 1000 sn/mm² olacak şekilde yapıldı. İlk olarak EP T2 (b=0 sn/mm²) görüntüler elde edildi. Daha sonra inceleme her üç düzlemde eş zamanlı olarak difüzyon gradiyentlerinin (b=500 ve b=1000 sn/mm²) eklenmesiyle 3 kez tekrarlandı ve exponential "trace" görüntüler elde edildi. Sonuçta T2 (b=0 sn/mm²) görüntü, DAG (b= 500 ve b=1000 sn/mm²) ve ADC (b1000-b0) haritası olmak üzere toplam 4 görüntü kümesi elde edildi.

DAG için kullanılan parametreler; TR: 3400 msn, TE: 94 msn, NEX: 3, matriks: 128x128, FOV: 23 cm, kesit kalınlığı: 5 mm, kesit aralığı: 1.5 mm, toplam tarama süresi: 1 dakika 16 saniye.

Lezyonlar önce transvers PD, T2 SE ve FLAIR görüntülerde lokalize edildi. Daha sonra T1 incelemedeki görünümüne göre isointens ve hipointens (kara delik) olarak sınıflandırılan lezyonlar, kontrastlı T1 görüntülerde kontrastlanma gösterip göstermemesine göre akut ve kronik MS plakları olarak iki gruba ayrıldı.

Elde edilen DA-MRG'lerde çalışma kriterlerine uyan lezyonların difüzyon değışiklikleri önce niteliksel olarak değeriendirildi. Niteliksel incelemede, difüzyon ağırlıklı "trace" ve ADC görüntülerde lezyonların sinyal intensiteleri, normal beyin parankimi ve BOS ile karşılaştırıldı. Difüzyon ağırlıklı "exponential" ve "trace" görüntüler birlikte değeriendirilerek lezyon alanlarında görülen intensite değışikliklerinin nedeni açıklanmaya çalışıldı.

DA-MRG'lerde niceliksel değeriendirilme için önce çalışmaya dahil edilen hastalarda tespit edilen lezyonlar T2 görüntülerde lokalize edildi. Daha sonra lezyonların ve normal görünümlü beyaz cevher (NGBC) alanlarının ADC değerielerinin ortalaması ve standart sapmasını hesaplayabilmek için sirküler ROI (region of interest)'lar, difüzyon T2 ($b=0 \text{ sn/mm}^2$), $b500$ ve $b1000 \text{ sn/mm}^2$ katsayılı DAG görüntüler üzerine yerleştirildi. NGBC alanlarının ADC değerielerini hesaplamak için bu ROI'lar seçilmiş dört beyaz madde alanına (frontal, paryetal, temporal ve oksipital) elle yerleştirildi. Ölçüm yapılan lezyonlarda, ilgilenilen her bir alana ROI'lar elle yerleştirildi. Kısmi hacim artefaktına bağılı oluşabilecek SI'nın inhomojenizasyonuna engel olmak için her bir ROI 18 piksel/58mm^2 (piksel boyutu $1,8 \times 1,8 \text{ mm}$) olarak belirlendi. Bu amaçla beş mm'den küçük lezyonlar difüzite değeriendirmesi için dikkate alınmadı. Frontal sinüs ve temporal kemik gibi artefakt oluşturabilecek alanlara yakın lezyonlardan elde edilen ROI değerieleri çalışmaya dahil edilmedi. Seçilen lezyon alanın altından ve üstünden geçen kesitlerin, NGBC alanı ve BOS içermemesine özen gösterildi. Elde edilen SI'ların doğal logaritmasının Stejskal ve Taner eşitliğine doğrusal yerleştirilmesi ile ADC değerieleri hesaplandı.

Çalışma sonunda elde edilen veriler "SPSS for Windows 10.0" istatistik paket programına aktarılarak analiz edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak belirtildi. Değışkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı kontrol edildi. Normal dağılıma uyanların karşılaştırılmasında parametrik istatistik yöntemler, uymayanların karşılaştırılmasında ise nonparametrik istatistik yöntemler kullanıldı (33, 79).

Hasta ve kontrol grubu arasındaki yaş ortalaması farkı, BOS total tau protein ortalaması farkı, cinsiyete göre BOS total tau değışimi ve hasta grubunda atak ve atak olmayanlardaki Bos total tau protein ortalaması farkının belirlenmesinde t testi kullanıldı. Gruplar arasında cinsiyet açısından farklılık Ki Kare testi ile araştırıldı. Hasta grubunda klinik forma göre; BOS total tau protein ortalaması değerieleri, kranial MRG'deki toplam lezyon sayısı, normal görünümlü beyaz cevher ve T1 lezyonlardaki ADC ortalaması değerieleri arasındaki farklılığın belirlenmesinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İmmunmodülatör tedavi alan ve almayan grup arasında, immunsüpressif tedavi alan ve almayan grup arasında, BOS OKB pozitif olan ve olmayan grup arasında BOS total tau protein

ortalama değeri açısından fark olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile araştırıldı. BOS total tau protein ortalama değeri ile MRG'deki akut lezyon sayısı ve akut lezyonlardaki ortalama ADC değerleri arasındaki korelasyonun belirlenmesinde, hastalık süresi ile kranial MRG özellikleri arasındaki ilişkinin saptanmasında Spearman korelasyon testi kullanıldı. BOS total tau protein ortalama değeri ile kronik lezyonlardaki ADC değerleri, normal beyaz cevherden ölçölen ADC değerleri arasındaki korelasyonun belirlenmesinde, hastalık süresi, atak sayısı, BOS Ig G indeksi, EDSS ve MRG'deki diğer özellikler ile olan ilişkinin araştırılmasında Pearson korelasyon testinden yararlandı. P değeri 0.05 ve üzeri ise anlamsız, 0.05'in altı ise anlamlı, 0.001'in altı çok anlamlı kabul edildi (33, 79). Pearson korelasyon testinde $r=0.0-0.24$ ise korelasyon zayıf, $r=0.25-0.49$ ise orta, $r=0.50-0.74$ ise güçlü, $r=0.75$ ve üzeri ise çok güçlü kabul edildi (79).



4. BULGULAR

Çalışmaya 45 MS hastası ve 38 kişiden oluşan kontrol grubu alındı. Hastaların 25'i kadın, 20'si erkek, kontrol grubunun ise 20'si kadın 18'i erkekti. Hasta grubunun yaş ortalaması 36.04±8.90, kontrol grubunun yaş ortalaması 38.63±11.81'di. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık yoktu (P>0.05) (Tablo III, IV).

Tablo III. MS ve Kontrol Grubunun Yaş Dağılımı

	n	Minimum yaş	Maximum yaş	Ort±SD
MS	45	20	18	36.04±8.9
Kontrol	38	57	57	38.63±11.8

t=1.11, P>0.05

Tablo IV. MS ve Kontrol Grubunun Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

	Kadın	Erkek	Toplam
MS	25	20	45
Kontrol	20	18	38
Toplam	45	38	83

X²=0.002, P>0.05

Hastaların hastalık süreleri bir yıl ile 20 yıl arasında değişkenlik göstermekte olup ortalama hastalık süresi 5.16±4.45 yıldır. Hasta grubunda klinik seyir boyunca ortalama atak sayısı 2.60±1.36'ydi. Hastaların 30'u RRMS (%66.7), 9'u SPMS (%20), 6'sı PPMS'ydi (%13.3). Relapsing formdaki MS olgularının 14'ü atak dönemlerinde çalışmaya alındı. Kranial MRG çekilmesi ile BOS alınması arasında geçen süre bir ile beş gün arasında değişmekteydi. Hastaların klinik seyri boyunca etkilenen toplam nörolojik sistem sayısı ortalama 3.022±0.941'di. Hastaların EDSS'leri bir ile altı arasında değişmekte olup ortalama EDSS 2.82±1.18'di. Hastaların 28'inde daha önce puls kortikosteroid kullanılmıştı. Toplam uygulanan puls kortikosteroid ortalaması 6.80 gündü. Hastaların 15'i (%33.3) immunomodülatör tedavi, 7'si (%15.6) immünsüpresif tedavi görmekteydi. GUP anormalliği olguların 25'inde (%55.6), BOS OKB pozitifliği 30'unda (%66.7) vardı. Ortalama BOS Ig G indeksi 0.89±0.62'ydi.

Kranial MRG'deki ortalama toplam lezyon sayısı 17.07 ± 7.94, periventriküler beyaz cevher ortalama lezyon sayısı 10.07 ± 4.43, hipointens lezyon sayısı 11.53 ± 6.34, akut lezyon sayısı 0.73 ±

1.62'ydi. Klinik formlar arasında ortalama lezyon sayısı PPMS'de daha az olmakla birlikte gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). T1 hipointens lezyonların ortalama ADC değeri $1.118 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, T1 izointens lezyonların ise $0.985 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ olarak hesaplandı. Akut lezyonlardan ölçülen ortalama ADC değeri $1.062 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, normal görünümlü beyaz cevherden ölçülen ortalama ADC değeri ise $0.801 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ 'ydi (Tablo V).

Tablo V. MS Olgularının Kranial MRG'lerindeki Ortalama Lezyon Sayısı ve Diffüzyon MRG'deki Ortalama ADC Değerleri

MRG özellikleri	Minimum	Maximum	Ort±SD
Toplam lezyon	5	42	17.07±7.94
Periventriküler	3	22	10.07±4.43
Sentrum semiovale	2	20	5.8±4.26
Korpus kallozum	0	2	0.51±0.73
Beyin Sapı	0	3	0.67±0.98
Hipointens lezyon	2	33	11.53±6.34
Akut Lezyon	0	9	0.73±1.62
NGBC ADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	0.77	0.85	0.801
AADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	0.96	1.115	1.062
T1 izointens ADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	0.92	1.114	0.985
T1 hipointens ADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	0.97	1.119	1.118

Klinik formlarda, normal görünümlü beyaz cevherden ölçülen ortalama ADC değerleri RRMS'de $0.79 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, PPMS'de $0.8 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, SPMS'de $0.82 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ bulundu. Klinik formlar arasındaki normal görünümlü beyaz cevherden ölçülen ortalama ADC değeri farklılığı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). T1 izointens lezyonlardan ölçülen ortalama ADC değeri, RRMS'de $0.97 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, PPMS'de $0.98 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, SPMS'de $0.99 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ olup gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). T1 hipointens lezyonlardan ölçülen ortalama ADC değeri, RRMS'de $1.106 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, PPMS'de $1.119 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, SPMS'de $1.132 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ bulundu ve gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo VI).

Tablo VI. MS Klinik Alt Gruplarında Ortalama ADC Değerleri

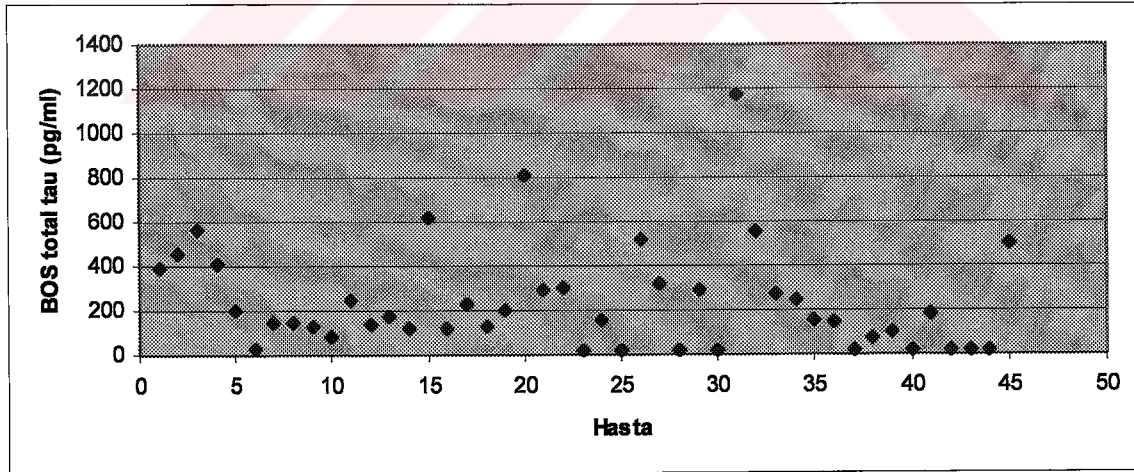
	RRMS	PPMS	SPMS	X ²	P
NGBC ADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	0.79	0.8	0.82	10.3	<0.05
T1 izointens ADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	0.97	0.98	0.99	0.06	>0.05
T1 hipointens ADC ($\pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$)	1.106	1.119	1.132	11.6	<0.05

Hastalık süresi ile T1 hipointens lezyon sayısı, T1 hipointens lezyonların ortalama ADC değeri ve normal görünümlü beyaz cevherden ölçülen ortalama ADC değerleri arasında olumlu yönde, güçlü, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon vardı ($p < 0.05$).

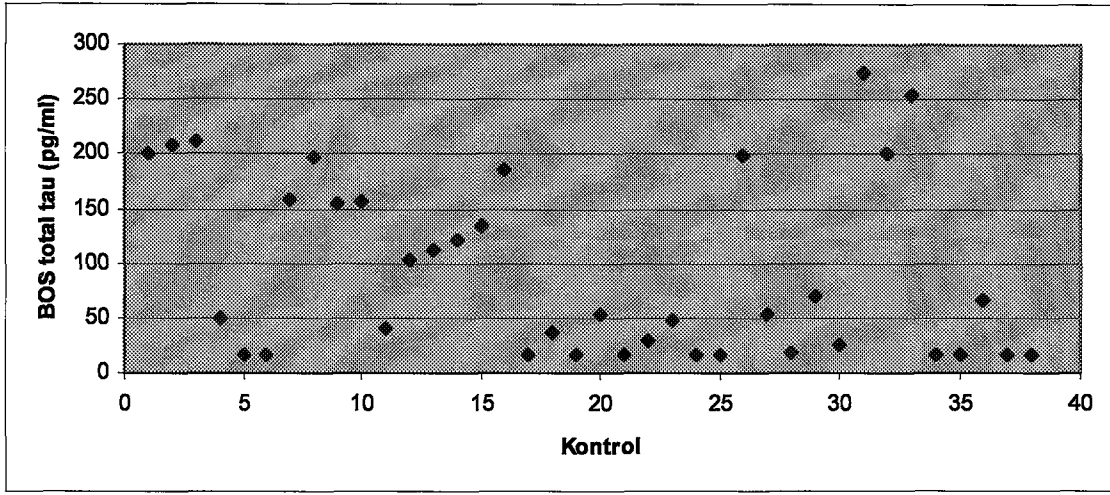
Hasta grubunda ortalama BOS total tau protein düzeyi $238.66 \pm 237.44 \text{ pg/ml}$, kontrol grubunda $93.65 \pm 82.14 \text{ pg/ml}$ 'ydi (Şekil 1, 2). Hasta grubundaki ortalama BOS total tau protein düzeyi yüksekliği istatistiksel olarak oldukça anlamlıydı ($p < 0.001$) (Tablo VII). BOS total tau protein düzeyi her iki grupta da cinsiyetler arasında farklılık göstermiyordu ($p > 0.05$).

Tablo VII. MS ve Kontrol Grubunda Ortalama BOS Total Tau Protein Düzeyi

	MS (n=45)	Kontrol (n=38)	t	P
BOS total tau (pg/ml)				
Ortalama \pm SD	238.66 ± 237.44	93.65 ± 82.14	3.83	<0.001



Şekil 1. MS Grubunda BOS Total Tau Protein Düzeyi Dağılımı



Şekil 2. Kontrol Grubunda BOS Total Tau Protein Düzeyi Dağılımı

Hasta grubunda klinik seyre göre ortalama BOS total tau protein miktarı sekonder progressif grupta 337.11 ± 345.85 pg/ml, relapsing remitting grupta 217.63 ± 202.42 pg/ml, primer progressif grupta 196.09 ± 211.65 pg/ml bulundu. Her üç klinik formdaki ortalama BOS total tau protein miktarı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı oranda yükseklik gösteriyordu ($p < 0.05$) (Tablo VIII). Bununla birlikte klinik formlar arasındaki ortalama BOS total tau protein miktarı farklılığı istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Atak dönemindeki 14 hastanın ortalama BOS total tau protein düzeyi 338.71 ± 57.93 pg/ml olup remisyonadaki relapsing remitting formlu hastalar ve primer progressif formdaki hastalarla karşılaştırıldığında atak dönemindeki BOS total tau protein yüksekliği istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Atak dönemindeki olgular ile sekonder progressif formdaki olgular arasında BOS total tau protein düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Tablo VIII. MS Klinik Alt Tiplerinde BOS Total Tau Düzeyi

	n	Minimum (pg/ml)	Maximum (pg/ml)	Ortalama \pm SD (pg/ml)
RRMS	30	<16.99	806.3	217.63 ± 202.42
SPMS	9	<16.99	1174	337.11 ± 345.85
PPMS	6	<16.99	616.4	196.09 ± 211.65

$$\chi^2=1.74, p>0.05$$

BOS OKB pozitif olgularda ortalama BOS total tau düzeyi 241.33 ± 194.12 pg/ml, OKB negatif olgularda 233.30 ± 314.77 pg/ml'ydi. İmmunmodülatör tedavi alan olgulardaki ortalama BOS total tau protein düzeyi 256.54 ± 170.53 pg/ml, İmmünsüpresan tedavi alanlarda 363.24 ± 396.66 pg/ml,

immün tedavi almayanlarda 215.71 ± 195.06 bulundu. BOS OKB pozitifliği, BOS Ig G indeksi, immünmodülatör veya immünyüpresan tedavi kullanımı ile BOS total tau protein düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon yoktu ($p > 0.05$) (Tablo IX, X).

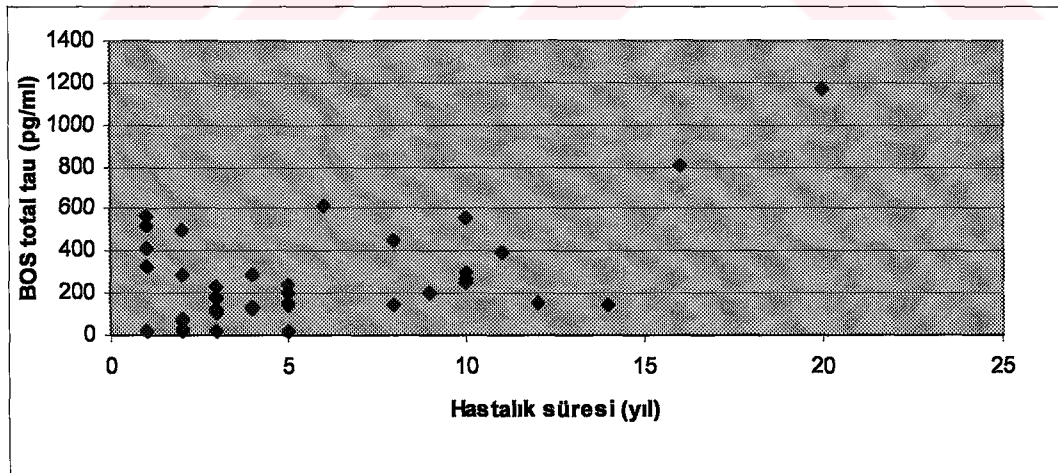
Tablo IX. BOS OKB Pozitifliği İle BOS Total Tau Protein Arasındaki İlişki

Oligoklonal band	pozitif (n=30)	negatif (n=15)	u	p
BOS total Tau (pg/ml)	241.33 ± 194.12	233.30 ± 314.77	186	> 0.05
Ort \pm SD				

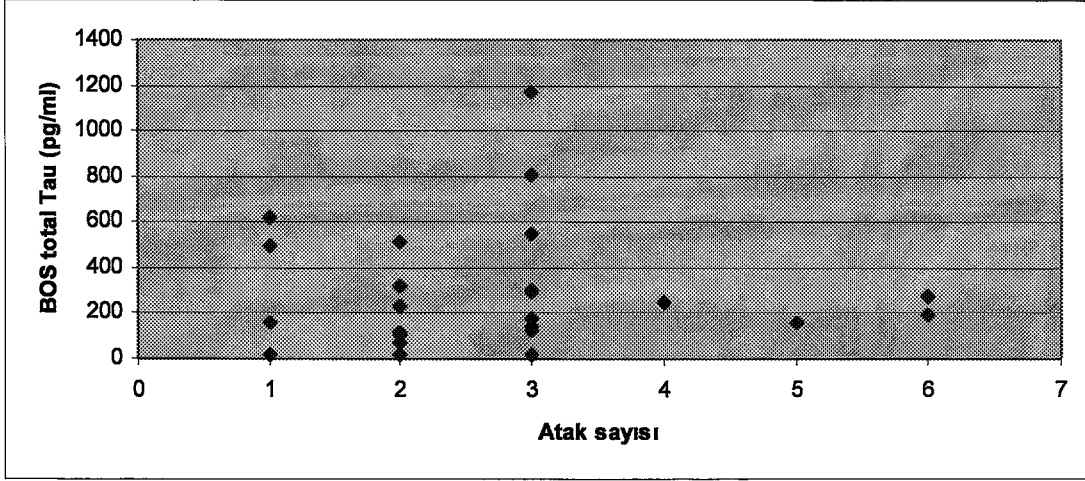
Tablo X. İmmünmodülatör Tedavi İle BOS Total Tau Proteini Arasındaki İlişki

İmmünmodülatör tedavi	alan (n=15)	almayan (n=30)	u	p
BOS total Tau (pg/ml)	256.54 ± 170.53	229.71 ± 266.92	168	> 0.05
Ort \pm SD				

Hasta grubunda BOS total tau protein düzeyi ile hastalık süresi arasında olumlu yönde, güçlü, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardı ($p < 0.001$) (Şekil 3). BOS total tau protein düzeyi ile EDSS ve daha önceki atak sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon yoktu ($p > 0.05$) (Şekil 4).

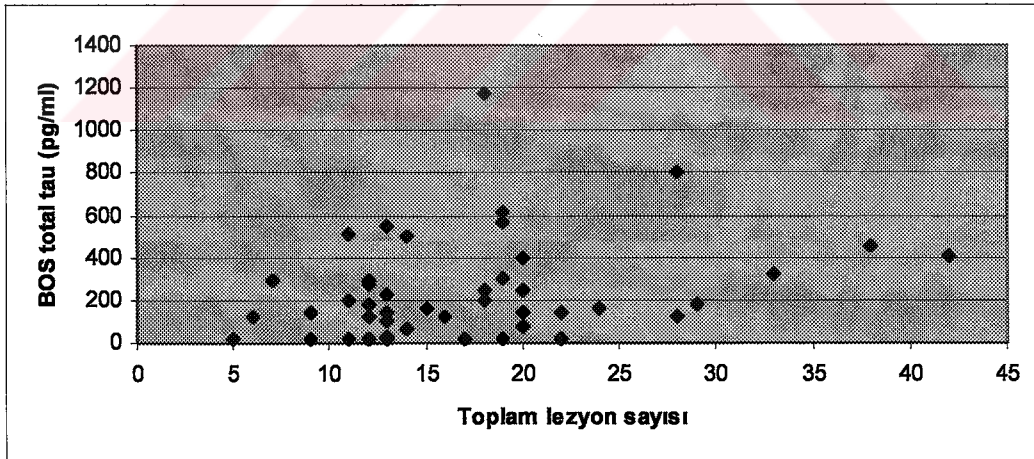


Şekil 3. Hastalık Süresi İle BOS Total Tau Protein Düzeyi Arasındaki İlişki

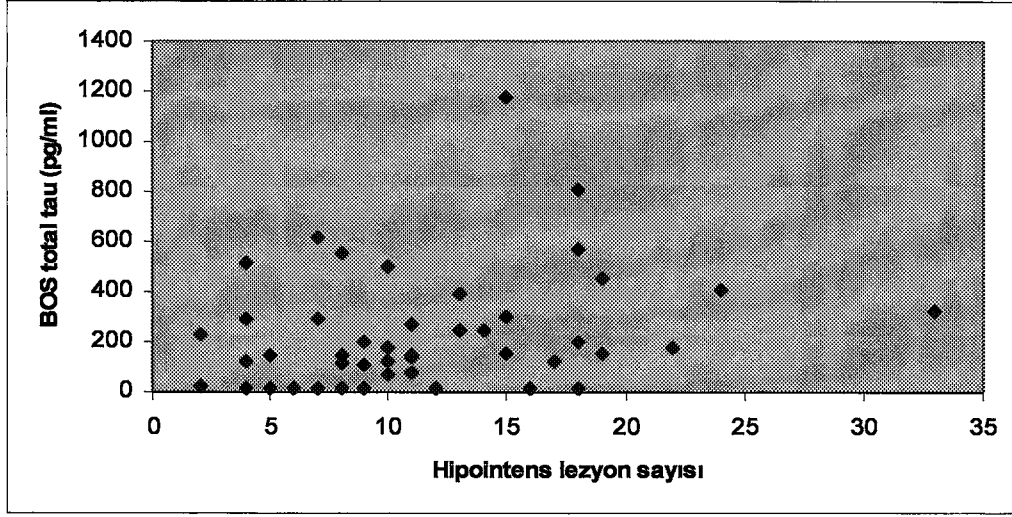


Şekil 4. Atak Sayısı İle BOS Total Tau Protein Düzeyi Arasındaki İlişki

Hastaların kranial MRG'lerindeki toplam lezyon sayısı, periventriküler lezyon sayısı, toplam hipointens lezyon sayısı, akut lezyon sayısı, T1 hipointens lezyon ortalama ADC değeri ve akut lezyon ortalama ADC değeri ile BOS total tau protein düzeyleri arasında olumlu yönde, orta derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardı ($p < 0.05$) (Şekil 5).



Şekil 5. MRG'deki Toplam Lezyon Sayısı İle BOS Total Tau Düzeyi Arasındaki İlişki



Şekil 6. T1 Ağırlıklı MRG'deki Toplam Hipointens Lezyon Sayısı İle BOS Total Tau Protein Düzeyi Arasındaki İlişki

T1 izointens ortalama ADC değeri, normal görünümlü beyaz cevher ortalama ADC değeri ve periventriküler bölge dışında kalan lokalizasyonlardaki ortalama lezyon sayısı ile BOS total tau protein düzeyi arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Multipl skleroz hastalığının aktivitesi ve hastalığıdaki aksonal hasarı göstermek için çeşitli markırlar kullanılmıştır (89, 90). MS hastalarında SSS'deki aksonal hasar çeşitli histopatolojik ve nörogörüntüleme yöntemleriyle de gösterilebilmektedir (18, 89). Aksonal hasarın irreversibl klinik defisitlerle morfolojik korelasyonu vardır. Bu nedenle aksonal harabiyetin derecesinin belirlenebilmesi hastalığın klinik seyri hakkında önemli bilgi sağlamaktadır. BOS tau protein düzeyi SSS'deki aksonal etkilenmenin düzeyini belirlemek için kullanılabilen biyolojik belirteçlerden biridir. MS'de vücut sıvılarındaki biyolojik belirteçlerle ilgili çalışmalar yaygın olarak yapılmaktadır. Şu ana kadar vücut sıvıları kullanılarak yapılan çalışmalarda örneklerin elde edilmesinde belirli bir standardın olmadığı, sıklıkla yanlış analiz yöntemlerinin seçildiği, verilerin genellikle küçük örneklerden oluşan kontrolsüz pilot çalışmalardan elde edildiği görülmektedir. Bu bakımdan MS için güvenilir bir biyolojik belirteç henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda MS aktivitesi ve bu hastalığıdaki aksonal hasarın şiddetini gösterdiği düşünülen çeşitli markırların BOS'da arttığı gösterilmiştir (45). Lycke ve arkadaşları RRMS hastalarının BOS'unda NFL'nin arttığını ve bu artışın klinik dizabilite ile korele olduğunu bildirmiştir (51). Semra ve arkadaşları NFL, tubulin ve aktin konsantrasyonunun primer ve sekonder progressif MS hastalarının BOS'unda arttığını bulmuştur (73). Martinez-Yelamos ve arkadaşları MS hastalarının BOS'unda 14-3-3 protein varlığını ve BOS s100 beta düzeyinin hastalığıdaki erken dönemde var olan aksonal hasarın göstergesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir (54). Khromograninler, sekretogranin ve nöral thread protein gibi bazı nöronal proteinlerin MS hastaları ve kontrol grubunda benzer olduğu görülmüştür (81, 90). GAP-43, amiloid beta, tau ve hiperfosforile tau konsantrasyonlarının MS hastalarının BOS'unda ölçümünün, farklı MS alt tiplerinde ayırt edici özelliğe sahip olmadığı görülmüştür (53, 81). N-AA ve GAP-43 ile EDSS arasında korelasyon bulunması ise bu belirteçlerin hastalık progresyonunun takibinde kullanılabileceklerini göstermiştir (90). Çalışmamızda hastaların EDSS düzeyleri ile BOS total tau protein düzeyi arasında anlamlı korelasyon görülmemiştir. SSS'de yaygın plağı olan ve hatta serebral atrofisi belirgin olan MS hastalarında EDSS çok yüksek olmayabilirken, plağı az olan MS olgularında EDSS yüksek olabilmektedir. BOS total tau değeri ile hastaların EDSS'leri arasında anlamlı korelasyon olmaması, EDSS'nin sinir sistemindeki dejenerasyondan bağımsız olmasıyla açıklanabilir.

Agresif seyirli MS hastalarının BOS'unda aksonal hasarın göstergesi olan solubl mediatörlerin arttığı gösterilmiştir (90). Bu mediatörlerdeki artış aksonal hasarın, dolayısıyla da progresyonun göstergesi olarak kullanılabilmektedir (45, 81). BOS'daki tau protein miktarının bu progresyonun

habercisi veya göstergesi olarak kullanılabilineceği düşünülmektedir. Tau proteini hızlı aksonal transport için gerekli olan ve aksonal mikrotübülün stabilizasyonunda görev alan önemli bir moleküldür (74). Nöronal hasarla birlikte tau ekstraselüler alana salınmakta ve BOS'ta artmaktadır. MS'li olguların BOS'unda tau düzeyinde artış olabileceği ve aksonal etkilenmenin göstergesi olarak kullanılabilineceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (2, 44, 53). Farklı klinik formdaki MS olgularında BOS tau protein düzeyi arasındaki farklılığın araştırıldığı çalışmalarda, artışın atak döneminde, progresif form ve relapsing forma göre daha yüksek olduğu görülmüştür (44). BOS tau protein düzeyinin progresyonun göstergesi olarak MS'de kullanılabilineceği ile ilgili görüşler de bildirilmiştir. Çalışmamızda MS olgularının BOS total tau protein düzeyinin kontrol grubuna oranla yüksek olduğunu gördük. Bu yükseklik literatürle de uyumlu olarak, atak dönemindeki olgularda ve sekonder progressif seyirli olgularda daha fazlaydı. Primer progressif seyirli olguların ortalama BOS total tau düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı oranda yükseklik göstermekle birlikte diğer klinik formlardan daha azdı. PPMS'de BOS tau protein düzeyindeki bu düşüklüğün, PPMS'de SSS'deki plak oluşumu ve inflamasyonun diğer klinik formlardan daha az olmasına bağlı olduğunu düşündük.

Histopatolojik ve nörogörüntüleme çalışmalarında hastalığın erken aşamasında akson harabiyetinin varlığı gösterilmiştir. Demiyelinize liflerde oluşan değişiklikler, hücresel enerji kaynakları ile ihtiyaçlar arasındaki dengede bozulma oluşturarak hipoksik bir durum gelişir. Ak madde hipoksilerinde Na-K ATPaz'daki yetersizlik aksonal depolarizasyona ve sodyum artışına yol açar ve tüm bu mekanizmalar direkt ya da indirekt yolla kalsiyum birikimine ve hücre ölümüne sebep olur (10, 60). Miyelinsiz aksonların ileti görevlerini idame ettirmeleri için daha fazla enerji ve mitokondriyal aktiviteye ihtiyaçları vardır. Eğer bu hasarlanmaya açık aksonlardaki mitokondrielerde fonksiyon bozukluğu gelişirse, aksonal dejenerasyonda artma görülür (10, 18, 48).

BOS tau protein miktarı, aksonal hasarın erken göstergesi olarak ve nöroprotektif tedavilerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla MS'de kullanılabilir (30, 53, 60). Yüksek BOS tau düzeyi kalıcı klinik defisitler oluşmadan önce, hastalığın erken aşamasında gelişmiş olan aksonal hasarın göstergesidir (53). Bu bulgular histopatolojik ve farklı nörogörüntüleme yöntemlerinin kullandığı çalışmalarla desteklenebilir.

BOS tau protein miktarı, klinik izole MS olgularında RR ve SPMS'lilere oranla daha yüksek bulunmuştur (2). BOS tau proteinin tüm subtiplerde yüksek olduğunun görüldüğü bu çalışmada klinik izole sendromlularda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı yükseklik görülmüştür. Diğer subtiplerdeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Diğer bir

çalışmada BOS tau proteini klinik olarak atak döneminde remisyon oranla yüksek bulunmuş fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (40). Bizim olgularımızda klinik formlar arasında en yüksek BOS tau protein düzeyi SPMS grubunda görülmüş, bu grubu sırasıyla RRMS ve PPMS izlemiştir. Çalışmamızda atak dönemindeki olgularda diğer klinik formlarla karşılaştırıldığında ortalama BOS total tau protein yüksekliği istatistiksel olarak anlamlıydı. Daha önce yapılan bir çalışmada kranial MRG'de kontrast tutan lezyonların bulunduğu olgularda BOS tau protein miktarının MRG'sinde kontrast tutulumu olmayanlara göre anlamlı oranda yüksek olduğu görülmüştür (78). Çalışmamızda da akut lezyon sayısı ve Diffüzyon MRG'de akut lezyonlardan ölçülen ortalama ADC değerleri ile BOS total tau protein düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon görülmüştür. Atak döneminde inflamasyondaki artışa paralel olarak aksonal dejenerasyonun arttığı ve BOS total tau protein düzeyi artışının bu etkilenmeye bağlı olduğu düşünüldü.

Hasta grubumuzda, hastalık süresi ile BOS total tau düzeyi arasında olumlu yönde, anlamlı korelasyon vardı. MS'de hastalık süresi uzadıkça klinikte progresyon ve SSS'de lezyon yükünde artış görülebilmektedir (44, 90). Çalışmamızda hastalık süresi ile T1 hipointens lezyon sayısı, T1 hipointens lezyonların ortalama ADC değeri ve normal görünümlü beyaz cevherdeki ortalama ADC değerleri arasında olumlu yönde, güçlü, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur. Kranial MRG'ye yansıyan ve zamanla SSS'de gelişen bu değişiklikler, hastalığın süresi ile BOS tau protein düzeyi arasındaki korelasyonu açıklayabilir.

Kapaki ve arkadaşları 36 MS hastası ve 29 kontrol grubundan oluşan ve BOS tau protein miktarının klinik formla olan ilişkisine baktıkları çalışmalarında, özellikle sekonder progressif ve primer progresif grupta BOS tau protein miktarının kontrol grubuna oranla yüksek olduğunu görmüşler (44). Yazarlar bu çalışmalarında BOS tau konsantrasyonunun aksonal yıkımın göstergesi olabileceğini düşünmüştür. Süßsmuth ve arkadaşları 17'si MS hastası olan ve çeşitli nörolojik hastalıkları olan toplam 61 kişide BOS tau proteinine bakmışlar. MS hastalarında kontrol grubuna göre yüksek BOS tau protein düzeyi olduğunu görmüşler (78). Çalışmacılar klinik aktif MS olan 11 hastada, altı klinik inaktif MS olgusuna oranla daha yüksek BOS tau proteininin varlığını göstermiştir. Bunun sonucunda yazarlar aktif MS'de aksonal hasarın daha da arttığını düşünmüştür. Jimenez ve arkadaşları 20 klinik aktif MS hastasının yaş ve cins bakımından eşit 32 kişilik kontrol grubuyla karşılaştırıldığı çalışmalarında BOS tau konsantrasyonunun iki grupta benzer olduğunu görmüştür (40). Diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmanın sonucunda BOS tau konsantrasyonunun MS aktivitesini gösteren bir parametre olarak kullanılamayacağı görülmüştür.

Bizim sonuçlarımızda MS olgularının BOS tau protein yüksekliği kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı. SPMS ve atak dönemindeki RRMS olgularında diğer formlara göre BOS tau protein düzeyi daha yüksekti. Sonuçlarımız literatürdeki verilerle genel olarak uyumlu olup, BOS tau protein yüksekliğinin hastalık aktivitesini ve progresyonunu gösteren bir belirleyici olarak kullanılabileceği yönündeydi.

Sağlıklı insanların BOS'unda da belirli düzeyde tau proteini bulunmaktadır. Sjögren ve arkadaşları, 21-93 yaş arası sağlıklı insanlarda BOS tau düzeyini araştırdıkları çalışmalarında, Bos tau düzeyinin yaşla ilişkili olduğunu göstermiştir (77). Sağlıklı insanlardaki BOS tau düzeyi; 21-50 yaşlar arasında <300 pg/ml, 51-70 yaşlar arasında <450 pg/ml, 71-93 yaşları arasında <500 pg/ml bulunmuştur. Bu çalışmada kan beyin bariyeri fonksiyonu ile BOS tau düzeyi arasında korelasyon olmadığı görülmüştür. Aynı yaş grubundaki kadın ve erkek olgularda, BOS tau protein düzeyi açısından farklılık görülmemiştir. Sağlıklı insanların serumunda tau proteinine rastlanmazken, nörodejeneratif hastalığı olan insanların serumunda tau proteini gözlenmiştir. Bu durum, nörolojik hastalığa bağlı gelişmiş olan kan beyin bariyerindeki bozukluğa sekonder olarak, tau proteinin bu hasarlı bölgeden seruma geçmesiyle açıklanmaktadır. Çalışmacılar aldıkları BOS örneklerini beş farklı porsiyona bölerek tau düzeyine bakmışlar ve tau protein düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulamamışlar. Bu sonuç, BOS'da tau proteini düzeyinin belirlenmesinde, alınan BOS örneğinin ilk veya son birkaç cc'sinin çalışılmasının sonucu değiştirmediğini göstermektedir (77). Daha önce yapılan çalışmalarda, BOS örneğinin cam tüplerde saklanması tau protein düzeyini yaklaşık % 40 azalttığı görülmüştür (56, 77). Bundan dolayı BOS tau protein düzeyini etkilemeyen, nonadsorban özeliği olan polipropilen tüplerin çalışmalarda kullanılması önerilmektedir. BOS örneğinin taze olarak çalışılması veya dondurulup daha sonraki bir zamanda eritilerek çalışılması tau protein düzeyi bakımından farklılık göstermemektedir (77). Biz çalışmamızda polipropilen tüp kullandık. İlk iki cc'den sonraki iki cc'lik BOS örneğini aldık ve hücre eliminasyonu için daha önceki çalışmalarda da önerilen 2000 g'de 10 dakikalık santrifüj işleminden sonra BOS örneklerini ELISA işilemine kadar -80 °C'de beklettik. Çalışmamıza aldığımız kontrol grubunu oluşturan hastaların yaş ortalaması 38.63±11.81 olup ortalama BOS total tau düzeyleri 96.69±82.14'dü. Bu gruptaki olgularımız Sjögren ve arkadaşlarının yaptığı geniş serili çalışmadaki 21-50 yaş arası grupla uyumlu olup ortalama BOS total tau protein düzeyi 300 pg/ml'nin altındaydı. Bu grupta 250 pg/ml'nin üzerinde tek bir olgu olup diğer olguların BOS total tau protein düzeyi 250 pg/ml'nin altındaydı.

İskemik strok'lu hastalarda yapılan bir çalışmada, BOS tau protein düzeyinin bir ile ikinci haftalarda yükseldiği, iki ile üçüncü haftada pik yaptığı ve üç ile dördüncü haftalarda tekrar normal değerlere döndüğü görülmüştür (2, 78). Tau proteini primer olarak nöronlarda lokalizedir. Beyin parankimal hasarlarından sonra BOS'a geçmekte ve BOS'da artmaktadır. Farklı nörolojik hastalıklara sahip 61 hastalık bir çalışmada kan-beyin bariyer disfonksiyonu ile BOS tau protein düzeyi arasında bir ilişki olmadığı görülmüştür (78). Beyin parankim hasarının olduğu serebral hemoraji, meningoensefalit ve MS olgularında BOS tau proteinin yüksek, ensefalitik komponenti olmayan bakterial menenjit olgularında ise normal sınırlarda olduğu görülmüştür (2, 78).

MS'de diğer dejeneratif nörolojik hastalıklara oranla BOS tau protein miktarı daha düşük bulunmuştur (2). Aktif dönemde MS olgularının BOS tau protein düzeyinin, inaktif olgulara oranla daha yüksek olduğu ve bu durumun aktif dönemde aksonal hasardaki artışa bağlı olduğu düşünülmüştür (44). Klinik olarak aktif ve aktif olmayan olgularda BOS tau proteini bakımından farklılık olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (40). Fakat bu çalışmalarda BOS tau proteini ile önceki relaps sayısı ve bir sonraki relaps süresi arasında korelasyon olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda bu çalışmanın sonuçlarından farklı olarak, atak dönemindeki olgularda BOS total tau proteinindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte, BOS total tau proteini ile atak sayısı arasında anlamlı korelasyon görülmemiştir.

BOS tau protein düzeyi, yeni tanı almış MS olgularında klinik seyir hakkında önceden fikir sahibi olmak amacıyla kullanılabilen bir markıdır. Beş yıldan az süredir tanı almış, olası veya kesin MS tanısı ile izlenen 32 hastanın BOS tau proteini düzeylerinin klinik seyirle olan ilişkisinin incelendiği bir çalışmada; BOS tau protein düzeyinin progresyonla korelasyon gösterdiği görülmüştür (53). Yüksek BOS tau proteini olan hastaların EDSS'lerinde bir puanlık artışın daha hızlı olduğu belirlenmiştir.

Tau proteinine benzer şekilde, daha önce ilk tanı almış MS olgularında BOS 14-3-3 proteininin erken relaps ve kısa sürede gelişen disabilite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (8). Klinik izole sendromlu olgularda BOS 14-3-3 proteininin varlığının, kısa sürede klinik kesin MS'e dönüşümde belirleyici bir markır olarak kullanılabileceği Martinez-Yelamos ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bildirilmiştir (54).

MS'de aksonal patolojiden inflamatuvar demiyelinizan sürecin sorumlu olduğu düşünülmekle birlikte, inflamasyonun aksonal yıkımla olan ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Sitokinler, proteolitik enzimler, oksidatif ürünler, serbest radikaller ve CD 8 sitotoksik lenfositler inflamasyona bağlı nöronal dejenerasyondan sorumlu tutulan bazı immun moleküllerdir (90). Bir çalışmada, BOS

tau proteini ve 14-3-3 proteini ile intratekal Ig G sentezi arasındaki korelasyona bakılmıştır. İntratekal Ig G sentezinin MS'de hastalık progresyonunun bir göstergesi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (8). MS hastaları ve inflamatuvar nörolojik hastalığı olan olguların, noninflamatuvar hastalara oranla BOS tau proteininin anlamlı oranda yüksek olduğu bildirilmiştir (2). MS hastalarında, BOS tau protein düzeyleri ile Ig G indeksi arasında pozitif bir korelasyon olduğu ve bu ilişkinin hem relapsing remitting hem de progressif MS grubunda bulunduğu görülmüştür (8, 18). Benzer ilişkinin inflamatuvar nörolojik hastalarında da olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, MS'de gelişen aksonal hasarda inflamasyonun rolünün olabileceği hipotezini desteklemektedir. Çalışmamızda BOS Ig G indeksi ile total tau düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunamamıştır.

Klinik olarak kesin MS tanısı alan hastalarda MRG pozitifliği % 85-95 oranına ulaşabildiğinden, MRG tanı aşamasının standart tetkiklerinden biri olarak rutine girmiştir (26, 57). MRG'deki gelişmelere karşın, MS tanısı, hala klinik gözlem ve tecrübeye dayanmaktadır. Yapılacak hataların sonucunda gereksiz tedavi, tedavisiz kalan hastalarda progresyonun gelişmesi gibi sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. MRG'nin uygulanması ve MS tanısında kullanımı ile ilgili uzun dönem çalışmalar ve MRG kullanım standardizasyonu gerekmektedir.

Eikelenboom ve arkadaşları, MRG'de aksonal hasarın göstergelerinden olan T1 görüntülerdeki hipointens lezyon yükü ve atrofik ölçümler ile, BOS nörofilament hafif zincir antikoları arasında korelasyonun varlığını göstermiştir (22). Ayrıca BOS NFL miktarının MS hastalarında yüksek olduğu ve klinik disabilite ile korelasyon gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda kranial MRG ile BOS total tau protein düzeyi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Kranial MRG'deki lezyon yükü, T1 hipointens lezyon sayısı, akut lezyon sayısı ve periventriküler yerleşimli lezyon sayısı ile BOS total tau protein düzeyi arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. T1 hipointens lezyonlarda ve periventriküler yerleşimli lezyonlarda kronik sürecin ve aksonal hasarın daha fazla olduğu bilinmektedir (26, 57, 61). Toplam lezyon yükü artışıyla paralel olarak SSS'deki dejenerasyon da artmaktadır (57, 61). SSS'deki dejenerasyonu yansıtan bu MRG bulguları ile BOS total tau proteini arasında korelasyon olması, BOS total tau proteinin, MS hastalarının progresyonunun ve klinik seyrinin takibinde kullanılacak bir markır olabileceğini göstermektedir.

MS'de diffüzyon ağırlıklı MRG kullanımıyla ilgili ilk bildiri 1992 yılında Larsson ve arkadaşları tarafından sunulmuştur (47). Bu çalışmada, T2'de görülebilen lezyonlarda difüzyon artışı görülmüştür. Daha sonra yapılan tüm çalışmalarda T2'de görülen lezyonlarda benzer şekilde

diffüzyon artışının olduğu bildirilmiştir. Takip eden çalışmalarda klinik formlar arasındaki farklılığın belirlenebilmesi amacıyla diffüzyon MRG kullanılmıştır. İlk olarak Horsfield ve arkadaşları benign MS ve sekonder progressif MS'lilerde yaptıkları çalışmalarında her iki grup arasında diffüzyon açısından farklılık bulamamıştır (35). Bu çalışmadan sonra RRMS ve SPMS karşılaştırmasının yapıldığı çalışmalarda dikkate değer farklılıklar görülmüştür. Scanderbeg ve arkadaşları RRMS'lilerle karşılaştırıldığında, SPMS olgularındaki lezyonlarda % 50 oranında daha fazla diffüzyon artışının olduğunu göstermiştir (72). Nusbaum ve arkadaşları da bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde SPMS olgularında difüzyon artışının anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmiştir (62). Diffüzyon parametreleri ile patolojik bulguların karşılaştırmasının yapıldığı posmortem çalışma olmamakla birlikte, diğer MR teknikleri kullanılarak difüzyon artışının olduğu bölgelerde şiddetli aksonal hasarın olduğunun gösterilebildiği çalışmalar vardır. Ayrıca MRG'de T1'deki hipointens lezyonlar destrüktif patolojiyi yansıtmakta olup bu bölgelerde diffüzyonun oldukça fazla arttığı gösterilmiştir (61). Bizim hasta grubumuzda T1 izointens ve T1 hipointens lezyonlardan yapılan ADC ölçümleri sonucunda T1 izointens lezyonlardan yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmazken, T1 hipointens lezyonlardan yapılan ölçümlerde SPMS grubunda lezyonlardaki diffüzyon artışının diğer gruplara göre anlamlı oranda yüksek olduğu görülmüştür. En fazla difüzyon artışı ise RRMS grubundaki olguların akut lezyonlardan kaydedilmiştir. T1 hipointens lezyonlar ve akut lezyonlardaki ortalama ADC değerleri ile BOS total tau protein düzeyi arasında da anlamlı bir korelasyonun görülmüş olması, BOS total tau proteinin SSS'deki destrüktif tabloyu yansıtabilen bir belirleyici olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

MRG'de T2 ve T1'de görülen lezyonlarda difüzyon artışının gösterildiği çalışmalarla birlikte, MS olguları ile sağlıklı grubun karşılaştırıldığı çalışmalarda, MS olgularında normal görünümlü beyaz cevherde % 4-8 oranında diffüzyon artışının olduğu görülmüştür (88). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, MS'in sadece plak olan alanları değil mikroskopik düzeyde NGBM alanlarını da etkileyen diffüz beyaz cevher hastalığı olduğu varsayımı genel kabul gören yaklaşımdır. Bu bulgu MS'in multifokal natürde diffüz bir beyaz cevher hastalığı olduğunu desteklemektedir. MS'de su difüzyonuyla ilgili yapılan tüm çalışmalarda normal görünümlü beyaz cevher ADC değerleri, sağlıklı kontrol gruplarından daha yüksek bulunmuştur (27, 71, 87). Bu sonuçlar normal görünümlü beyaz cevherde suyun moleküler difüzyonunu engelleyen yapıların organizasyonunun bozulduğunu ve net bir kayıp olduğunu göstermesine rağmen bu bulguların muhtemel patolojik alt yapıları henüz tanımlanamamıştır. MS olgularının sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığı çalışmalarda Christansen ve arkadaşları % 8.45, Werring ve arkadaşları % 4.76, Horsfield ve arkadaşları % 12.7,

Bammer ve arkadaşları % 3.45, Flippi ve arkadaşları ise % 12.9 oranında normal görünümlü beyaz cevherde diffüzyon artışı olduğunu göstermiştir (5, 17, 27, 36, 88). Normal görünümlü beyaz cevherdeki diffüzyon artışı, bu bölgelerde görünen bir lezyon olmasa da histopatolojik düzeyde etkilenmenin olduğunu ve bu bölgelerde klinik seyir esnasında yeni görünebilir lezyonların oluşabileceğini düşündürmektedir.

Bu bulgular ışığında MS'nin beyaz cevheri diffüz olarak etkileyen demyelinizan bir hastalık olduğu söylenebilir. Buna rağmen bu bulgular ile sadece hastalığın patolojik alt yapısı üzerinde tam bir yorum yapılamaz. MS'li hastaların normal görünümlü beyaz cevherlerinde diffüz astrositik hiperplazi, yama tarzı ödem, perivasküler infiltrasyon, gliozis, zayıf anormal myelin ve aksonal kayıp gibi bazı değişikliklerin olduğu bilinmektedir (86). Tüm bu olaylar sonucunda myelin ve akson kaybı su difüzyonunu artırıyor olmalıdır. Belki inflamatuvar değişiklikler ve gliozis potansiyel olarak su difüzyon hareketini sınırlayabilir. Biz normal görünümlü beyaz cevherdeki ADC artışında myelin ve akson kaybının en büyük rolü olduğuna inanıyoruz. Postmortem ve MRS çalışmalarının sonuçları MS'li hastaların normal görünümlü beyaz cevherlerinde doku yıkımı olduğunu desteklemektedir ve bu da hastaların klinik durumunu etkiliyor olabilir. Enteresan olarak bazı anormalliklerin ve diffüzyon değişikliklerinin korpus kallosum, internal kapsül, periventriküler ve subkortikal alanlarda daha şiddetli olduğu görülmektedir (86). Bu bölgelerde makroskopik olarak da MS lezyonları lokalize edilmektedir.

Çalışmamızda normal görünümlü beyaz cevherlerden elde edilen ADC değerlerinde artış olduğu görülmüştür. Tüm klinik formlarda artış olmakla birlikte SPMS'deki artış diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Normal görünümlü beyaz cevherdeki ortalama ADC değeri ile BOS ortalama tau protein düzeyi arasında anlamlı korelasyon bulunamamıştır. Bu sonuç normal görünümlü beyaz cevherde tutulumun varlığını fakat aksonal etkilenmenin henüz geri planda olduğunu, MS'de BOS tau protein düzeyindeki artışın daha çok akut lezyonlar ve T1 hipointens lezyonlardaki aksonal etkilenmeye bağlı geliştiğini düşündürmüştür.

Scanderbeg ve arkadaşlarının çalışmasında, normal görünümlü beyaz cevherden elde edilen ortalama ADC değerlerinin sağlıklı kontrol grubunda $0.732 \pm 0.02 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, RRMS hastalarının plaklarında $0.951 \pm 0.08 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, SPMS hastalarının plaklarında ise $1.445 \pm 0.129 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ olarak hesaplanmıştır (72). Ayrıca bu çalışmada ADC değeri ile EDSS skoru ve hastalık süresi arasında pozitif korelasyon, T1 görüntülerdeki lezyonların sinyal intensitesi ile negatif korelasyon bulundu. SPMS'li hastalarda ADC değerlerinin yüksek olmasının hastalık süresinin anlamlı derecede uzun olmasına bağlı olabileceği sonucuna varıldı. Bu çalışma hastalığın

farklı tipleri olan RRMS ve SPMS'in ayrımlarının yapılmasında, plaklardan yapılan ölçümlerle hesaplanan ADC değerlerinin kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu parametre klinik durumla olduğu kadar T1 görüntülerdeki lezyon intensitesiyle de koreledir. Filippi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, MS olgularında normal görünümü beyaz cevher alanlarından yapılan ölçümlerle hesaplanan ADC değerleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (27). Normal görünümü beyaz cevher alanları ile karşılaştırıldığında plakların ADC değerleri anlamlı derecede yüksekti. Kontrastlanan ve kontrastlanmayan lezyonlar arasında ADC değerleri arasında anlamlı fark yokken T1 hipointens lezyonların ADC değerleri T1 izointens lezyonlardan anlamlı derecede yüksekti. Bu çalışmaya dahil edilen hastalar bir yıldır immunosupresif veya immunomodülatuvar tedavi kullanmamışlardı. Ayrıca çalışmadan önceki üç ayda atak geçirmemiş ve steroid tedavisi almamışlardı. Normal görünümü beyaz cevher alanlarının ADC değeri $0.821 \pm 0.18 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, kontrol beyaz madde alanlarının $0.727 \pm 0.09 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ 'ydi. Ayrıca tüm plaklardan yapılan ölçümlerde ADC değeri $1.085 \pm 0.08 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ olarak hesaplandı ve bu anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$).

Ortalama ADC değerleri MS lezyonlarında oldukça değişkendir ve normal görünümü beyaz cevherden daha yüksektir (61, 87). Bu MS lezyonlarında görülen doku hasarının değişik derecelerde olduğunu göstermektedir. MS'in bir hayvan modeli olan EAE' de difüzyon değişiklikleri üç çalışmayla araştırılmıştır. Beş maymunda yapılan bir çalışmada T2 görüntülerde lezyonlar görülmeden önce, DA-MRG'de bu bölgelerde sinyal intensitesinin ve ADC değerlerinin arttığı tespit edilmiştir (37). Onaltı maymunda yapılan diğer bir çalışmada, akut ve kronik lezyonlarda DAG ölçümleri yapılmış ve kronik lezyonlar ile karşılaştırdıklarında akut lezyonların anizotropilerini korudukları görülmüştür (14). Bu da farklı patolojik alt yapılardan kaynaklanan su difüzyonundaki değişikliklerin ölçülmesine dayanan DAG'yi ümit verici bir duruma getirmiştir. Lewis farelerinde kronik EAE'yi indüklemeyen önce ve indükledikten sonra ADC değerlerinin ölçüldüğü bir çalışmada, klinik bozukluğun şiddeti ve beyaz madde ADC değerleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur (16).

Çalışmamızda akut ve kronik lezyonlarda değişik ADC değerlerinin hesaplanmış olması lezyonların suyun moleküler hareketi üzerine farklı etkileri olan oldukça heterojen patolojik elemanlardan oluştuğu yönündeki genel kabulü desteklemektedir. En yüksek ADC değerleri T1 hipointens lezyonlarda ölçülmüştür. Diğer bazı çalışmalarda, SPMS'li hastaların hastalık ilerlemesiyle korele olarak ve şiddetli doku kaybında T1 hipointens lezyonların böyle yüksek ADC değerlerine sahip olduğu görülmüştür. DAG değişiklikleri ve histopatolojik karakteristiklerin

korelasyonu için postmortem çalışmalara ihtiyaç duyulsa da T1 hipointens lezyonların en yüksek ADC değerlerine sahip olduğu yönündeki gözlemler, MS'de artmış ADC'nin aksonal kayıp ve demyelinizasyonun patolojik altyapısını oluşturduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızdaki tüm olguların DA-MRG'sinde kronik lezyon, akut lezyon ve normal görünümlü beyaz cevherde diffüzyon artışı olduğu görüldü. Akut lezyonlardan ölçülen ortalama ADC değeri $1.062 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, T1 hipointens lezyonların ortalama ADC değeri $1.118 \pm 0,15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$, T1 izointens lezyonların ise $0.985 \pm 0.12 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sn}$ olarak hesaplandı. T1 hipointens lezyonların ve akut lezyonların ADC değerlerinin anlamlı derecede yüksek olması, bu lezyonlarda oluşan doku hasarının daha fazla olduğunu ortaya çıkaran önemli bir bulgu olarak değerlendirildi.

Bu çalışma, MS hastalarının BOS tau proteini miktarıyla kranial DA-MRG arasındaki ilişkiyi inceleyen literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda, MS hastalarında beyin MRG ve beyin Diffüzyon/ADC MRG'deki dejenerasyon bulguları ile BOS tau protein düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğunu gördük. Tüm bu bulgulara rağmen diffüzyon parametreleri MS'nin klinik seyrinin takibi ve tedavi etkinliğinin izlenmesinde rutin olarak kullanılmamaktadır. Bunun nedeni diffüzyon parametreleri ile patolojik bulgular arasındaki ilişkiyi net olarak belirleyen uzun seyirli ve çok olgulu çalışmaların olmamasıdır. Bu ilişkinin ortaya konulması DA-MRG'nin MS'de miyelin ve aksonal etkilenmenin derecesinin belirlenmesi açısından kullanımını daha da ön plana çıkaracaktır.

Tau proteini akson ve oligodendrositlerde eksprese edilmektedir. MS'de BOS tau düzeyinde artış olması aksonal ve/veya oligodendrosit hasarını yansıtmaktadır. Bununla birlikte bu proteinin aksonal hasarı göstermedeki sensitivitesi çok yüksek değildir. Tau proteini aksonal hasarın önemli bir göstergesi olmakla birlikte, bu proteinin sağlıklı insanların BOS'unda yaşa bağlı olarak yükselebileceği bilinmektedir (12). MS'de aksonal hasarı göstermede daha özgün olan ve klinikte rutin kullanılacak markırlara ihtiyaç vardır. Tau proteinin bu anlamda kullanılabilmesini desteklemek için, daha çok olgu içeren ve farklı alt grupları kapsayan, daha uzun süreli çalışmalar yapılmalıdır.

6. SONUÇ

- 1- Hasta grubundaki ortalama BOS total tau protein düzeyinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu görüldü.
- 2- Her üç klinik formda da ortalama BOS total tau protein miktarının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu, en fazla yüksekliğin SPMS grubunda olduğu, bununla birlikte klinik formlar arasındaki ortalama BOS total tau protein miktarı farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.
- 3- Remisyondaki relapsing remitting formulu hastalar ve primer progressif formdaki hastalarla karşılaştırıldığında atak dönemindeki BOS total tau protein yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Atak dönemindeki olgular ile sekonder progressif formdaki olgular arasında BOS total tau protein düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.
- 4- SPMS grubunda normal görünümlü beyaz cevherde ve T1 görüntülerdeki lezyonlarda ortalama diffüzyon artışının diğer klinik formlara oranla daha yüksek olduğu görüldü.
- 5- Kranial MRG'deki toplam lezyon sayısı, periventriküler lezyon sayısı, T1 hipointens lezyon sayısı, akut lezyon sayısı ve diffüzyon MRG'deki T1 hipointens lezyon ve akut lezyon ortalama ADC değerleriyle BOS total tau protein düzeyi arasında olumlu yönde, anlamlı korelasyon bulundu.
- 6- MS'de BOS total tau protein düzeyindeki artışın daha çok akut lezyonlar ve T1 hipointens lezyonlardaki aksonal etkilenmeye bağlı geliştiği görüldü.
- 7- T1 hipointens lezyonlar ve akut lezyonlardaki ortalama ADC değerleri ile BOS total tau protein düzeyi arasında anlamlı bir korelasyonun görülmüş olması, BOS total tau proteinin SSS'deki destrüktif tabloyu yansıtabilen bir belirleyici olarak kullanılabilceği düşüncesini desteklemektedir.
- 8- BOS tau protein düzeyi aksonal hasarın erken dönemde gösterilmesi ve klinik seyrin takibi için kullanılabilcek bir markır olabilir.

KAYNAKLAR

1. Andreasen N, Blennow K. CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2005;107: 165-173.
2. Arai H, Morikawa Y, Higuchi M, et al. Cerebrospinal fluid tau levels in neurodegenerative diseases with distinct tau-related pathology. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1997; 236:262-264.
3. Arai H, Terajima M, Higuchi S, et al. Tau in cerebrospinal fluid: a potential diagnostic marker in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995;38:649-653.
4. Avasarala JR, Cross AH, Trotter JL. Oligoclonal Band Number as a Marker for prognosis in Multiple Sclerosis. *Arch Neurol* 2001;58:2044-2045.
5. Bammer R, Augustin M, Strasser-Fuch S, et al. Magnetic resonance diffusion tensor imaging for characterizing diffuse and focal white matter abnormalities in multiple sclerosis. *Magn Reson Med* 2000; 44:583-591.
6. Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Current Opinion in Neurology* 2002;15:239-245.
7. Barkhof F, Jan-Hein TMW, Flippi M, et al. T1 hypointense lesions in secondary progressive multiple sclerosis: effect of interferon beta-1b treatment. *Brain* 2001;124:1396-1402.
8. Bartosik-Psujek H, Archelos JJ. Tau protein and 14-3-3 are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and correlate with intrathecal synthesis of Ig G. *J Neurol* 2004;251:414-420.
9. Binder LI, Frankfurter A, Rebhun LI. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *J Cell Biol* 1985;101:1371-1378.
10. Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, et al. Acute axonal injury in multiple sclerosis correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000;123:1174-1183.
11. Blennow K, Fredman P, Wallin A, et al. Protein analyses in cerebrospinal fluid. Influence of concentration gradients for proteins on cerebrospinal fluid/serum albumin ratio. *Eur Neurol* 1993;33:126-128.
12. Blomberg M, Jensen M, Bsun H, et al. CSF tau levels increase with age in healthy individuals. *Demantia Geriatr. Cognit Disord.* 2001;12:127-132.

13. Burger nee Buch K, Padberg F, Nolde T, et al. Cerebrospinal fluid tau protein shows a better discrimination in young old (<70) than in old old patients with Alzheimer's disease compared with controls. *Neurosci Lett* 1999;277:21-24.
14. Caramia F, Pantona P, Di Legge S, et al. A longitudinal study of MR diffusion changes in normal appearing white matter of patients with early multiple sclerosis. *Magn Reson Imaging* 2002;20(5):383-388.
15. Carpenter AB. Enzyme-Linked Immunoassays. In: *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 4th ed. Rabin BS (section editor), American Society for Microbiology, Washington, DC, 1992.
16. Cercignani M, Lanucci G, Rocca MA, et al. Pathologic damage in MS assessed by diffusion-weighted and magnetization transfer MRI. *Neurology* 2000;54:1139-1144.
17. Christiansen P, Gideon P, Thomsen C, et al. Increased water self-diffusion in chronic plaques and in apparently normal white matter in patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1993;87:195-199.
18. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:1430-1438.
19. Domzal TM. Multiple sclerosis-certain clinical and diagnostic problems. *Neurol Neurochir Pol.* 1999;32:61-64.
20. Droogan AG, Clark CA, Werring DJ, et al. Comparison of MS clinical subgroups using navigated diffusion-weighted imaging. *Magn Reson Imag* 1999;17:653-661.
21. Ebers GC, Sadovnick AD. Epidemiology. In: Paty DW, Ebers GC, eds. *Multiple sclerosis*. Philadelphia: FA Davis, 1997:5-28.
22. Eikelenboom MJ, Petzold A, Lazeron RHC, et al. Multiple sclerosis Neurofilament light chain antibodies are correlated to cerebral atrophy. *Neurology* 2003;60:219-223.
23. Farrell MA, Kaufmann JC, Gilbert JJ, et al. Oligoclonal bands in Multiple Sclerosis: Clinical-pathologic correlation. *Neurology* 1985; 35:212-218.
24. Fazekas F, Offenbacher H, Fuchs S. Criteria for an increased specificity of MRI interpretation in elderly subjects with suspected multiple sclerosis. *Neurology* 1988;38:1822-1825.
25. Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997;120: 393-399.

26. Flippi M. Modern MR techniques to monitor the evolution of multiple sclerosis. *Erciyes Medical Journal* 2002;24:96-106.
27. Flippi M, Lanucci G, Cercignani M, et al. A quantitative study of water diffusion in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter using echo-planar imaging. *Arch Neurol* 2000;57:1017-1021.
28. Fuhr P, Kappos L. Evoked potentials for evaluation of multiple sclerosis. *Clinical Neurophysiology*. 2001;112:2185-2189.
29. Gilroy J. *Basic neurology* (3 rd ed). Mc Graw-Hill, New York 2000, pp 199-223.
30. Goodin D, Frohman E, Garmany G, et al. Disease-modifying therapies in multiple sclerosis. Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology and the MS council for Clinical Practice Guidelines. *Neurology* 2002;58:168-178.
31. Hampel H, Teipel SJ. Total and phosphorylated tau proteins evaluation as care biomarker candidates in frontotemporal dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004;17:350-354.
32. Hawkins SA, McDonnell GV. Benign multiple sclerosis? Clinical course, long term follow up, and assessment of prognostic factors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:148-152.
33. Hayran M, Özdemir O. *Bilgisayar İstatistik ve Tıp*. Hekimler Yayın Birliği, Ankara: 1995.
34. Hesse C, Rosengren L, Vanmechelen E, et al. Cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease evaluated after acute ischemic stroke. *J Alzheimer's Dis* 2000;2:199-206.
35. Horsfield MA. Using diffusion-weighted MRI in multicenter clinical trials for multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 2001;186:51-54.
36. Horsfield MA, Jones DK. Applications of diffusion-weighted and diffusion tensor MRI to white matter diseases-a review. *NMR Biomed* 2002;15:570-577.
37. Horsfield MA, Lai M, Webb S, et al. Apparent diffusion coefficients in benign and secondary progressive multiple sclerosis by nuclear magnetic resonance. *Magn Reson Med* 1996;36:393-400.
38. Ise K, Urakami K, Shimomura T, et al. Tau proteins in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease: a longitudinal study. *Dementia* 1996; 7: 175-176.

39. Izquierdo G, Angula S, Garcia-Moreno JM, et al. Intrathecal IgG synthesis: marker of progression in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand* 2002;105:158-163.
40. Jimenez-Jimenez FJ, Hernanz A, Medina Acebron S, et al. Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of patients with Amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand* 205;111:114-117.
41. Jimenez-Jimenez FJ, Zurdo JM, Hernanz A, et al. Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2002; 106: 351-354.
42. Kantarcı O, et al and the Turkish Multiple Sclerosis Study Group (TUMSSG). Survival and predictors of disability in Turkish MS patients. *Neurology* 1998;51:765-772.
43. Kantarcı O, Weinshenker BG. Prognostic factors in multiple sclerosis. In: Cook D, ed. *Handbook of multiple sclerosis*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 2001: 449-463.
44. Kapaki E, Paraskevas GP, Michalopoulou M, Klidiereas K. Increased cerebrospinal fluid tau protein in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2000;43: 228-232.
45. Kaskers NF, Bergers E, Castelijns JA, et al. Optimizing the association between disability and biological markers in MS. *Neurology* 2001;57:1253-1258.
46. Kurtzke JF. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1444-1452.
47. Larsson HBW, Thomsen C, Frederiksen C, et al. In vivo magnetic resonance diffusion measurement in the brain of patients with multiple sclerosis. *Magn Reson Imag* 1992;10:7-12.
48. Lassmann H. Axonal injury in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:695-697.
49. Leocani L, Comi G. Neurophysiological investigations in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2000;13:255-261.
50. Lim ET, Grant D, Pashenkov M, et al. Cerebrospinal fluid levels of brain specific proteins in optic neuritis. *Multiple Sclerosis* 2004;10:261-265.
51. Lycke JN., Karlsson JE, Andersen O, Rosengren LE. Neurofilament protein in cerebrospinal fluid: a potential marker of activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64: 402-404.
52. Malmeström C, Haghighi S, Rosengren L, et al. Neurofilament light protein and glial fibrillary acidic protein as biological markers in MS. *Neurology* 2003;61:1720-1725.

53. Martinez-Yelamos A, Saiz A, Bas J, et al. Tau protein in cerebrospinal fluid: a possible marker of poor outcome in patients with early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroscience Letters* 2004;363:14-17.
54. Martinez-Yelamos A, Saiz A, Sanchez R, et al. 14-3-3 protein in the CSF as prognostic marker in early multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 57 (4): 722-728.
55. McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2001;50:121-127.
56. Merritt H, Fremont-Smith F. *The cerebrospinal fluid.* 1937: 19-73 WB Saunders Philadelphia.
57. Miki Y, Grossman R, Udupa JK, et al. Differences between relapsing-remitting and chronic progressive multiple sclerosis as determined with quantitative MR imaging. *Radiology* 1999;210:769-774.
58. Miller AE. Clinical features. In: Cook SD, ed. *Handbook of multiple sclerosis.* 3rd ed. New York: Marcel Dekker. 2001:231-232.
59. Mukherji SK, Chenevert TL, Castillo M. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *J Neuroophthalmol* 2002;22(2):118-122.
60. Narayanan S, Stefano N, Francis GS, et al. Axonal metabolic recovery in multiple sclerosis patients treated with interferon beta-1b. *J Neurol* 2001;248:979-986.
61. Nusbaum AO, Lu D, Tang CY, Atlas SW. Quantitative diffusion measurements in focal multiple sclerosis lesions: correlations with appearance on T1-weighted MR images. *Am J Radiol* 2000;175:821-825.
62. Nusbaum AO, Tang CY, Wei TC, et al. Whole-brain diffusion MR histograms differ between MS subtypes. *Neurology* 2000;54:1421-1426.
63. Otto M, Wiltfang J, Tumani H, et al. Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 1997;225:210-212.
64. Parnetti L, Lanari A, Saggese E, et al. Cerebrospinal fluid biochemical markers in early detection and in differential diagnosis of dementia disorders in routine clinical practice. *Neurol Sci* 2003;24:199-200.
65. Paty DW, Noseworthy JH, Ebers GC. Diagnosis of multiple sclerosis. In: Pathy DW, Ebers GC, eds. *Multiple sclerosis.* Philadelphia: FA Davis. 1997:48-134.

66. Pelletier D, Nelson SJ, Oh J. MRI lesion volume heterogeneity in primary progressive MS in relation with axonal damage and brain atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:950-952.
67. Pijnenburg YA, Schoonenboom NS, Rosso SM, et al. CSF tau and Abeta42 are not useful in the diagnosis of frontotemporal lobar degeneration. *Neurology* 2004;111:1649.
68. Poser CM, Brinar VV. Diagnostic criteria for multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg.* 2001;103:1-11.
69. Poser CM, Kleefeld J, O'Reilly GV, et al. Neuroimaging and the lesion of multiple sclerosis. *AJNR* 1987;8:549-552.
70. Richter-Landsberg C. The oligodendroglia cytoskeleton in health and disease. *J Neurosci Res* 2000; 59: 11-18.
71. Rocca MA, Cercignani M, Lanucci MD, et al. Weekly diffusion-weighted imaging of normal-appearing white matter in MS. *Neurology* 2000;55:882-884.
72. Scanderbeg AC, Tomaiuolo F, Sabatini U, et al. Demyelinating plaques in relapsing-remitting and secondary-progressive multiple sclerosis: assessment with diffusion MR imaging. *Am J Neuroradiol* 2000;21:862-868.
73. Semra YK, Seide OA, Shairef MK. Heightened intrathecal release of axonal cytoskeletal proteins in multiple sclerosis is associated with progressive disease and clinical disability. *Journal of Neuroimmunology* 2002;122:132-139.
74. Shahani N, Brandt R. Functions and malfunctions of the tau proteins. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59:1668-1680.
75. Sharief MK, Thompson EJ. The predictive value of intrathecal immunoglobulin synthesis and magnetic resonance imaging in acute isolated syndromes for subsequent development of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1991;29:147-151.
76. Sjögren M, Davidsson P, Tullberg M, et al. Both total and phosphorylated tau are increased in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:624-630.
77. Sjögren M, Vanderstichele H, Agren H , et al. Tau and Abeta42 in Cerebrospinal Fluid from Health Adults 21-93 Years of Age : Establishment of Reference Values. *Clinical Chemistry.* 2001; 47: 1776-1781.

78. Sussmuth SD, Reiber H, Tumani H. Tau protein in cerebrospinal fluid (CSF): a blood-CSF barrier related evaluation in patients with various neurological diseases. *Neuroscience Letters* 2001;300: 95-98.
79. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Hatipoğlun Yayınevi, Ankara: 2000.
80. Tato RE, Frank A, Hernanz A. Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of patients with dementia of the Alzheimer type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59:280-283.
81. Teunissen CE, Dijkstra C, Polman C. Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2005 Jan;4(1):32-41.
82. Trapp BD, Bö L, Mörk S, Chang A. Pathogenesis of tissue injury in MS lesions. *J Neuroimm* 1999;98:49-56.
83. Urakami K, Mori M, Wada K, et al. A comparison of tau protein in cerebrospinal fluid between corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Neuroscience Letters* 1999;259:127-129.
84. Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, et al. Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 1993;61:1828-1834.
85. Vukusic S, Confavreux C. The natural history of multiple sclerosis. In: Cook SD, ed. *Handbook of multiple sclerosis*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 2001: 433-447.
86. Werring DJ, Brassat D, Droogan AG, et al. The pathogenesis of lesions and normal-appearing white matter changes in multiple sclerosis A serial diffusion MRI study. *Brain* 2000;123:1667-1676.
87. Werring DJ, Clark CA, Barker GJ, et al. Diffusion tensor imaging of lesions and normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurology* 1999;52:1626-1632.
88. Werring DJ, Clark CA, Droogan AG, et al. Water diffusion in elevated in widespread regions of normal-appearing white matter in multiple sclerosis and correlates with diffusion in focal lesions. *Mult Scler* 2001;7(2):83-89.
89. Whitaker JN, Wolinsky JS, Narayana PA, et al. Relationship of urinary myelin basic protein-like material with cranial magnetic resonance imaging in advanced multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2001;58:49-54.
90. Zaffaroni M. Biological indicators of the neurodegenerative phase of multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2003;24:279-282.

91. Zemlan FP, Rosenberg WS, Luebke P.A., et al. Quantification of axonal damage in traumatic brain injury: affinity purification and characterization of cerebrospinal fluid tau proteins. *Journal of Neurochemistry* 1999; 72: 741-750.



EK Tablo: Multipl Skleroz Hastalarının Klinik ve Demografik Özellikleri

Hasta	cins	yas	Hast. Sür.(Yıl)	klinik form	EDSS	İModT	İsüprT	GUP anm.	OKB	Ig G indeks	Total Tau (pg/ml)
MA	K	31	11	RRMS	2,5	+	-	+	+	0,81	393,1
ZB	K	33	8	RRMS	2,5	-	-	+	+	0,76	454,5
MC	E	20	1	RRMS	3	-	-	-	+	0,87	566,1
SÇ	K	21	1	RRMS	3	+	-	+	+	3,2	407,7
ED	K	34	5	RRMS	3	+	-	+	+	0,54	198,2
SD	K	34	2	RRMS	2	+	-	-	-	0,62	26,19
EK	K	25	8	SPMS	3	+	-	+	+	0,65	142,5
MK	E	46	5	RRMS	2	+	-	+	-	0,56	145,9
FÖ	K	48	4	PPMS	3	-	+	+	+	0,9	126,5
ZÖ	K	37	2	RRMS	2	+	-	-	-	0,48	77,55
EÖ	K	33	5	SPMS	4	+	-	+	-	0,86	242,4
ÇT	E	34	4	PPMS	4	-	-	+	+	0,68	138,1
AY	E	30	3	RRMS	1	-	-	-	-	0,51	175,7
MY	E	44	3	PPMS	2	-	+	-	+	0,3	122,1
ZY	E	43	6	PPMS	3	+	-	-	-	0,74	616,4
AG	E	26	3	RRMS	2	+	-	+	+	1,1	118,7
YA	K	24	3	RRMS	3,5	-	-	+	+	0,86	227,9
PA	K	40	3	RRMS	2,5	-	-	+	+	0,77	124,6
GA	K	57	9	SPMS	4,5	+	-	-	+	0,76	198,7
SY	K	31	16	RRMS	3,5	-	-	+	+	1,6	806,3
AA	E	24	4	RRMS	2,5	-	-	+	+	0,56	292,3
KK	K	42	10	SPMS	4,5	+	+	+	+	1,6	300,7
MK	E	43	1	RRMS	3	-	-	-	+	0,8	16,99
MY	E	26	5	PPMS	6	-	-	+	-	0,51	156,5
NB	K	48	3	PPMS	2,5	-	-	+	+	1,2	16,99
AÖ	K	41	1	RRMS	2	-	-	-	-	0,4	515,4
FS	K	32	1	RRMS	2	-	-	+	+	0,8	322,2
HÖ	K	39	2	RRMS	1	-	-	-	-	0,3	16,99
HK	K	46	2	RRMS	2,5	-	-	+	+	2,2	291,2
GA	K	44	5	RRMS	2	-	-	+	+	1,8	16,99
HA	E	41	20	SPMS	4	-	+	-	-	0,29	1174
HE	E	31	10	SPMS	3,5	+	+	-	+	0,71	552,6
ME	E	49	10	RRMS	3	+	-	+	+	0,86	271,3
AÖ	E	32	10	SPMS	6	-	+	+	+	2,8	249,8
MB	E	32	12	SPMS	5,5	+	-	+	+	1,8	156,3
NÇ	E	40	14	RRMS	2,5	-	-	-	-	0,6	145,57
FE	K	39	5	SPMS	3,5	-	+	-	+	0,56	16,99
NC	K	42	2	RRMS	2	-	-	-	-	0,5	68,83
SS	K	42	3	RRMS	2	-	-	-	-	0,4	104,2
RA	K	43	2	RRMS	1	-	-	+	-	0,34	16,99
EA	K	50	3	RRMS	3	-	-	-	+	0,56	179,3
OK	E	21	1	RRMS	1	-	-	-	-	0,7	16,99
FA	E	30	1	RRMS	2	-	-	-	+	0,6	16,99
AD	E	29	1	RRMS	2	-	-	+	+	1,28	16,99
YK	E	25	2	RRMS	2	-	-	-	+	0,73	497,5

E: Erkek, K: Kadın, RRMS: Relapsing remitting multipl skleroz, SPMS: Sekonder progresif Multipl Skleroz, PPMS: Primer Progressif Multipl Skleroz, İModT: İmmunmodülatuar tedavi, İsüprT: İmmünstüpressan tedavi, GUP anm.:Görsel Uyandırılmış Potansiyel anormalliği, OKB: Oligoklonal Band