

T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOMİSYON BAŞKANLIĞI
PROJE SONUÇ RAPORU

**MULTİPLE SKLEROZ'LU HASTALARDA SERUM MATRİX
METALLOPROTEİNAZ-8, MATRİX METALLOPROTEİNAZ-2, TIMP-1
VE TIMP-2 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TEZ DANIŞMANI : Doç. Dr. Ertuğrul BOLAYIR

TEZ SAHİBİ : Dr. İbrahim TERLEMEZ

**Bu Proje Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından T-382 numaralı Tıpta Uzmanlık tezi projesi olarak desteklenmiştir.**

SİVAS 2009

T.C
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**MULTİPLE SKLEROZ'LU HASTALARDA SERUM MATRİX
METALLOPROTEİNAZ-8, MATRİX METALLOPROTEİNAZ-2, TIMP-1
VE TIMP-2 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. İbrahim TERLEMEZ
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI:
Doç.Dr. Ertuğrul BOLAYIR

SİVAS 2009

C.Ü. TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

**İşbu çalışma, jürimiz tarafından Nöroloji Anabilim Dalı'nda
TIPTA UZMANLIK TEZİ OLARAK kabul edilmiştir.**

BAŞKAN :

ÜYE :

ÜYE :

ÜYE :

ÜYE :

**Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait
olduğunu onaylarım.**

..../..../2009

DEKAN

Prof. Dr. Mehmet ŞENCAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	1
ÖZET	2
İNGİLİZCE ÖZET	3
SİMGE ve KISALTMALAR	4
TABLolar	6
ŞEKİLLER, GRAFİKLER ve EKLER	7
GİRİŞ ve AMAÇ	8
GENEL BİLGİLER	
1. Multipl Skleroz	
1.1 Tanım	10
1.2 Tarihçe	10
1.3 Epidemiyoloji	11
1.4 Genetik	12
1.5 Patofizyoloji	13
1.6 İmmünopatogenez	16
1.7 Klinik Bulgular	19
1.8 Sınıflandırma	23
1.9 Tanı	25
1.10 Ayırıcı Tanı	26
2. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR ve İNHİBİTÖRLERİ	
2.1 Matriks Metalloproteinazlar	28
2.2 TIMP'ler	29

GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1 Hasta ve Kontrol Grubu	30
3.2 Analiz Yöntemi	32
3.3 İstatiksel Analiz	35
BULGULAR	36
TARTIŞMA	42
SONUÇLAR	46
KAYNAKLAR	48
EK'ler	59

TEŞEKKÜR

Anabilim dalımızın baŐkanı Sayın Prof.Dr.Suat TOPAKTAŐ ve danıŐman hocam Sayın Doç. Dr. Ertuğrul BOLAYIR'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem KAYIM YILDIZ'a, servisimizden ayrılan Sayın Prof. Dr. Aytekin AKYÜZ ve Sayın Prof. Dr. Kamil TOPALKARA'ya eğitimim boyunca yaptıkları akademik katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalıŐmam boyunca, hasta ve kontrol grubunun toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı anabilim dalımızda görevli mesai arkadaşlarıma özellikle Sayın Neslihan GÜRLEYÜK, Sayın Doç. Dr. Hafize SEZER ve Prof. Dr. Zeynep SÜMER'e teşekkür ederim.

ÇalıŐmam sırasında beni destekleyen eŐim, çocuklarım Musa ve Yeliz'e, beni seven tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç : Matriks metalloproteinazlar (MMPaz)'lar Multipl Skleroz (MS)'da immün hücrelerin transmigrasyonu ve kan-beyin bariyerinin bozulmasına aracılık eder. Lökositlerin Santral Sinir Sistemi (SSS)'ne girişi muhtamelen MMPazların ekspirasyonunu da içeren birçok faktöre bağlıdır. SSS'de MMPaz'ların üretimi, lökosit toplanmasına, miyelinin yıkımına ve Tümör Nekrozing Faktör-alfa (TNF- α) gibi membrane bağlı sitokinlerin membrandan ayrılarak serbest kalmasına neden olur. Bu mekanizmalardan herbirinin MS'in patogeneğinde önemli olduğu düşünülüyor. Bu gözlemler ışığında MS ve Klinik İzole Sendromu (KİS)'lu bireyleri MMP-8, MMP-2, Matriks metalloproteinazların doku inhibitörü-1 (TIMP-1) ve TIMP-2 açısından sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Yöntem : Daha önceden MS tanısı alan ve İnterferon kullanan 35 bireyden, 13 KİS'lu bireyden ve 22 sağlıklı bireyden alınan plazma örneklerinden ELISA yöntemi ile MMP-8, MMP-2, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyleri değerlendirildi.

Sonuçlar : Ortalam MMP-8 değeri kontrol grubundan düşük, KİS grubundan ise yüksekti. Fakat aralarında istatistiksel olarak bir fark yoktu.

Yorum : Deneysel alerjik ensefalomyelit'in akut evresinde 90 kat arttığı gösterilen MMP-8 değerini biz tesbit edemedik. Fakat bu durum Relapsing-Remitting Multiple Skleroz (RRMS) grubunda akut atak olmaması ve tedavi almalarına bağlı olabilir. MMP-2 ve TIMP-2 oranları beklediğimiz gibi çıktı. KİS grubunda daha önce gösterilmeyen MMP-8 değerini ilk defa biz çalışmamızda gösterdik ve oranını kontrol grubuna göre artmış bulduk. Fakat istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşamadı.

Anahtar Kelimeler: Multiple Skleroz, Matriks Metalloproteinaz, MMP, TIMP, MMP İnhibitörleri

ABSTRACT

Objective : Matrix metalloproteinase (MMP)'s have been implicated in Blood-brain barrier (BBB) disruption and immune cell transmigration in Multiple Sclerosis (MS). The entry of leukocytes into the Central nervous System (CNS) is dependent on several factors, most likely including the expression of matrix metalloproteinases. Expression of MMPs in the CNS can mediate leukocyte recruitment, myelin destruction and can perpetuate the inflammatory response by generating immunogenic peptides and releasing the pro-inflammatory cytokine Tumor Necrosis factor-alpha (TNF- α) by cleavage of the membrane-bound form of this cytokine. Each of these mechanisms is thought to be important in the pathogenesis of MS. In light of these observations and Clinical Isolated Syndrome (CIS) individuals with multiple sclerosis and MMP-8, MMP-2, Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 (TIMP-1) and TIMP-2 in terms of healthy subjects compared with the control group consisting.

Methods : Previously diagnosed MS and interferon using 35 individuals, 13 from individuals with CIS and 22 healthy individuals taken from plasma samples by ELISA MMP-8, MMP-2, TIMP-1 and TIMP-2 levels were evaluated.

Results : MMP-8 value lower than the control group, centering, the CIS group was high. There was no statistical difference between them.

Conclusion : 90-fold increase in the acute phase of experimental allergic encephalomyelitis' shown that MMP-8 value, we were unable to determine. But this case does not have an acute attack in Relapsing-Remitting multiple Sclerosis (RRMS) group may be due to receive treatment. MMP-2 and TIMP-2 ratios was as we expected. CIS group, not shown before the MMP-8 for the first time we have shown in our study. According to the control group increased and the rate we found. But the level of statistical significance could not be reached.

Keywords: Multiple Sclerosis, Matrix metalloproteinase, MMP, TIMP, MMP Inhibitors

SİMGELER VE KISALTMALAR

MS	: Multiple Sklerozis
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
TIMP	: Matriks Metalloproteinazların doku inhibitörü
ADAM	: Disintegrin ve MMP birleşik molekülü
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
KİS	: Klinik İzole Sendrom
SSS	: Santral Sinir Sistemi
RRMS	: Relapsing-Remitting Multipl Skleroz
SPMS	: Sekonder Progresiv Multipl Skleroz
PPMS	: Primer Progresiv Multipl Skleroz
PRMS	: Progresiv Relapsing Multipl Skleroz
EDSS	: Genişletilmiş özürülük durum skalası
OKB	: Oligo-klonal band
VEP	: Görsel uyarılmış potansiyel
BAEP	: Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyel
EAE	: Deneysel Allerjik Ensefalomyelit
HLA	: İnsan lökosit antijeni
EBV	: Epstein barr virüs
BOS	: Beyin Omirilik Sıvısı
NO	: Nitrik Oksit

ECM	: Ekstraselüler matriks
MBP	: Miyelin bazik protein
OG	: Oligodendrosit
MAG	: Miyelin ilişkili Glikoprotein
PLP	: Proteolipit protein
TNF α	: Tümör nekrozing faktör alfa
KBB	: Kan-beyin bariyeri
IL	: İnterlökin
TACE	: TNF çevirici enzim
IFN	: İnterferon
TGF β	: Transforme Büyüme Faktörü Beta
DTR	: Derin Tendon Refleksleri
MLF	: Medial Longitudinal Fasikül
INO	: İnternükleer Oftalmopleji

TABLULAR

Tablo 1 : MS'de hastalık patternleri

Tablo 2 : TIMP'lerin sınıflandırılması, fonksiyon ve lokalizasyonu

Tablo 3 : KİS için kabul ve dışlama kriterleri

Tablo 4 : Çalışmaya alınan bireylerin Demografik özellikleri

Tablo 5 : Olguların ELISA ile ölçülen MMP ve TIMP değerleri

Tablo 6 : Olguların hesaplanan MMP/TIMP oranları

Tablo 7 : Ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Tablo 8 : MMP-8 ile TIMP-1 arasındaki korelasyon

Tablo 9 : MMP-2 ile TIMP-2 arasındaki korelasyon

Tablo 10 : MMP-8 ile TIMP-2 arasındaki korelasyon

Tablo 11 : MMP-2 ile TIMP-1 arasındaki korelasyon

ŞEKİLLER, GRAFİKLER ve EK'ler

Şekil 1 : Grupların ortalama MMP-2 değerleri

Şekil 2 : Grupların ortalama MMP-8 değerleri

Şekil 3 : Grupların ortalama TIMP-1 değerleri

Şekil 4 : Grupların ortalama TIMP-2 değerleri

Şekil 5 : Henrik Toft-Hansen ve arkadaşlarının yapmış olduğu EAE
çalışması

Ek-1 : MS'de Poser tanı kriterleri

Ek-2 : MS'de Modifiye McDonald tanı kriterleri

Ek-3 : Barkoff ve Tintore MRG kriterleri

Ek-4 : MRG'de Zamansal ve Bölgesel dağılımı gösteren bulgular

Ek-5 : Hasta Onam Formu

Ek-6 : Multipl Skleroz Hasta Takip Formu

GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Skleroz (MS), sıklıkla genç erişkinlerde görülen, santral sinir sistemi beyaz maddesini birçok lokalizasyonda etkileyen demiyelinizan kronik bir hastalıktır (1). Etyopatogenezinde, genetik ve çevresel etkenlerin karışık etkileşimleri sonucu, aktive olduğu varsayılan otoimmün mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmektedir. Klinik seyrinde, benign semptomsuz olabileceği gibi ataklar ve düzelmelerle seyreden dalgalı, primer progresif ve sekonder progresif seyir de gözlemlenebilir (2,3).

Geniş klinik spektruma sahip olan MS hastalığı için günlük pratikte tanıya yardımcı laboratuvar yöntemleri; Manyetik Rezonans görüntüleme (MRG), Beyin omurilik sıvısı (BOS) incelemeleri ve bazı nörofizyolojik testlerden oluşur. Nörofizyolojik testler, duysal ve motor yolların değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır (5,7,8).

MRG ile demiyelinizan lezyonların yoğun olarak görüldüğü yerler ; periventriküler alan, 4. Ventikül taban ve tavanı, optik sinir, pons, akuadukt çevresi ve spinal kord olabildiği gibi, sıklıkla tutulan korpus kallozum demiyelinizasyonu yada atrofi gösterilebilmektedir. Klinik izole sendrom (KİS), Santral sinir sisteminin (SSS) tek veya birçok alanını etkileyen, multifokal veya monofokal olabilen, inflamasyon, demiyelinizasyonun neden olduğu en az 24 saat süren MS’i düşündüren ilk klinik epizoda denir (9).

Günümüzde sıklıkla başvuru alan tanı kriterleri Poser, McDonald's ve Modifiye McDonald kriterlerine göre MRG bulguları, BOS incelemeleri ve Nörofizyolojik testler klinik seyir ile birlikte kullanılmaktadır (8,10).

Bu çalışmada MMP-2, MMP-8, TIMP-1 ve TIMP-2 değerlerini herhangi bir İnterferon β tedavisi alan Relapsing-Remitting Multipl Skleroz (RRMS) hastalarını ve herhangi bir tedavi almayan KİS olgularını kontrol grubu ile karşılaştırdık.

GENEL BİLGİLER

1. MULTİPL SKLEROZ

1.1 Tanım

Multipl Skleroz (MS) çoğunlukla genç yetişkinlikte başlayan Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nin birçok bölgesinde inflamasyon, demiyelinizasyon ve gliosis ile karakterize kronik bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinde genetik faktörler kadar çevresel faktörler de rol oynamaktadır (1,2).

Relaps ve remisyonlarla (alevlenme ve düzelmelerle) seyreden kronik bir hastalıktır. Bu hastalarda MSS'nin tutulan bölgesine ve plağın büyüklüğüne bağlı olarak motor, somatosensöriyel, görsel, kognitif ve psikiyatrik bozukluklar olmak üzere çok çeşitli ve değişken semptomlar görülebilmektedir (2,3).

1.2 Tarihçe

MS hastalığı ile ilişkili olabilecek, patolojik kanıtlar olmaksızın ilk olgu, 14. yy'da Hollanda'da yaşamış bir kadın hastadır (1380-1433). Bu olguda ilk belirtiler yürüme güçlüğü şeklinde başlamış zamanla görme kaybı gelişmiştir (4). 18. yy'da tanımlanan bir erkek hasta ikinci olgudur. Bu kişide hastalık tekrarlayan ve

kendiliğinden düzelen görme bulanıklığı şeklinde başlamış ve zamanla yürüme gücünü ortaya çıkarmıştır (4).

1838 yılında Carswell ilk defa MS'deki değişiklikleri bir atlas'ta tarif etmiştir. 1849 yılında klinik patoloji uzmanı olan Friedrich, ilk kez MS tanısını klinik olarak bir hastaya koymuştur. Fransız nörolog Jean martin Charcot 1868 yılında MS'in en önemli klinik ve patolojik yönlerini ortaya koyan ilk tanımını yapmıştır. Hastalığın klinik spektrumunu tanımlamış, inflamasyon ve miyelin kaybının temel histopatolojik görünüm olduğuna dikkat çekmiştir. Ayrıca patolojik süreci "Sclerose en plaques" olarak tanımlamıştır (4).

1933 yılında Thomas River, MS'in bir hayvan modeli olan deneysel alerjik ensefalomyelit (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE)) geliştirmiştir. Bu ilk EAE modelleri monofazik seyir gösterdiği için MS'in klinik gidişini tam yansıtmamaktadır. Fakat takip edilen yıllarda, immünizasyon yöntemleri ile kronik veya ataklarla seyreden EAE modelleri geliştirilmiştir. 1948 yılında Evlin Kabat hastaların BOS'unda oligoklonal immünglobulinlerin arttığını göstererek, hastalığın inflamatuvar yönüne dikkat çekmiştir. Bu çalışmaların sonucu günümüzde halen geçerli bir görüş olan MS'in SSS'nin otoimmün bir hastalığı olduğu görüşünün ortaya çıkmasına yol açmıştır (4).

1.3 Epidemiyoloji

Tüm Dünya'da 2.5 milyondan fazla kişi etkilenmiştir. MS, kuzey Avrupa soyunda daha fazladır. En sık görüldüğü ülkeler Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika, Güney Kanada, Güney Avustralya ve Yeni Zellanda'dır. Tropikal bölgelerde seyrekler. Beyaz ırkda daha sık görülür, buna karşın Asya'lı ve siyah ırkda risk düşüktür (11).

En sık 20-40 yaş arasında görülür. Erkek'lerden daha fazla oranda kadınları etkiler fakat bu farklılığın temeli bilinmiyor. K/E oranı (1.6-2/1)'dir. Hatta bu oran 15 yaş öncesi ve 50 yaş sonrası 3/1 kadar yükselir. Çocuklarda başlangıç yaşı genellikle 10-13 yaştır ve çoğunlukla kız çocuklarını etkiler. Daha erken yaşlarda da görülebilir. Erkeklerin Primer progresiv MS'e daha büyük yatkınlığı vardır. Çalışan yaş grubunda önemli derecede disabiliteye (sakatlık) neden olur. MS'li insanlar

hastalığın kendisinden çok, özellikle yatağa bağlı hastalarda tekrarlayan enfeksiyon gibi komplikasyonlara bağlı olarak kaybedilir (11).

Hastalığın başlangıcından sonra ortalama ölüm zamanı yaklaşık 30 yıldır. MS'li hastalarda hayat beklentisinin genel popülasyondan ortalama 5-10 yıl daha az olduğu düşünülüyor. Sosyo-ekonomik düzeyi yüksek olan toplumlarda sık görüldüğü kuramı henüz ispatlanmamıştır. MS ile ilişkisi henüz saptanmayan diğer çevresel faktörler ; cerrahi operasyon, anestezi, evcil hayvan besleme, diş dolgusunda kullanılan amalgam, organik çözücüler, endüstrileşme, nütrisyonel alışkanlıklar, travma ve aşılardır (11,12).

MS semptomlarını presipite eden en önemli faktörler; enfeksiyon, travma ve gebeliktir. Gebelik risk faktörü olarak belirlense bile bu dönemde alevlenme görülmez. Travma ve aşılar ile ilişkili olarak çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Fakat Tetanoz ve Hepatit B aşısı tavsiye edilmez. Stres önemli bir risk faktörüdür. Remisyonadaki MS hastaları stres ile akut atak geçirebilmektedir (12,13,14).

1.4 Genetik

MS'li olguların akrabalarında MS görülme riski %15-20 arasında değişmektedir. Birinci derece akrabalarda risk %3-5 arasındadır. Monozigot ikizlerde konkordans %25-34, dizigotlarda ise %2-4 arasındadır (15).

6. kromozomun kısa koluna yerleşen HLA DR, HLA DQ lokusuna yakın bir genin veya genlerin bu hastalıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. MS'de sıklıkla HLADR2, DR3, B7, A3, DR15, DQ6, DW2 birlikteliği görülür. Türk toplumunda DQ2 ve DR14 antijenlerine sık rastlanmıştır (15,16).

MS prevelansının düşük olduğu ülkelerden, MS prevelansının yüksek olduğu ülkelere göçeden topluluklar üzerinde birtakım epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda yaş faktörü oldukça önemli görünmektedir. 14-15 yaşından önce göçenlerde prevelans, göç edilen ülkeye uymakta, sonra göç edenlerde ise terk ettikleri ülkeye uymaktadır (16).

1.5 Patofizyoloji

MS, beyin parenkimi, beyin sapı, optik sinir ve spinal kord'da periventüler lenfosit ve makro faj infiltrasyonu ile karakterizedir. Hastalığın erken fazında nörolojik disfonksiyon epizodları iyileşme ile sonlanır. Ancak zaman içinde geniş derecede mikrogliyal aktivasyonun baskın hale gelmesiyle hastalığın patolojisi değişir (4). Bu inflamatuvar hücrelerin yüzeylerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonu kan-beyin bariyerinden penetre olmasını sağlar. BOS'da yükselmiş IgG seviyesi, elektroforezde Oligoklonal band olarak gösterilebilir ve MS'de humoral komponentin önemini akla getirir. Gerçekten de, değişken derecede antikor üreten plazma hücre infiltrasyonu MS lezyonlarında gösterilmiştir (17).

Şimdiye kadar viral bir teori üzerinde durulsa da ve EBV gibi virüslerin antijeni BOS'dan izole edilse de viral bir etyopatogenez tam olarak açıklanamamıştır. Etiyolojik ajan virüs olsa bile hastalığın aktive olabilmesi için mutlaka sekonder bazı faktörlerin varlığı gerekmektedir (14).

Beyin gros olarak normaldir, fakat kesitler alındığında beyin ve spinal korda özellikle beyaz maddede, dağınık vaziyette, pembe-gri renkte, büyüklükleri milimetreden birkaç santimetreye kadar ulaşan demiyelinize plaklar dikkati çeker. Lezyonlar karakteristik olarak periventriküler yerleşimlidir. Diğer yerleşim alanları ; Optik sinir, kiyazma (nadiren optik traktus) ve Spinal korddur. Beyin sapı ve Serebellar pedinküllerde de sıklıkla plaklara rastlanır. Patolojik olarak üç tip MS lezyonu görülür (18,19).

1. **Akut MS Plağı :** Venüller çevresinde gelişir. Plak etrafında lenfosit, makrofaj, plazma hücreleri ve immünglobülin varlığıyla birlikte ödem dikkati çeker. Akut MS lezyonu klinikle korele olarak akut demiyelinizasyon ve yoğun inflamatuvar cevapla karakterizedir. İnflamasyon myelin tabakalarının yanı sıra bazı aksonları da tahrip eder. Daha sonra Oligodendroglial proliferasyon ve remiyelinizasyon gelişir. Akut MS plağı, akut bir MS atağı ile birlikte (17).

2. **Kronik aktif MS plağı :** Plağın Merkezinde geçirilmiş olaylara ilişkin eski bulgular vardır. Kenarlarda aktif demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon görülür. Bu farklı bulgular lezyonun farklı yaşlarda olduğunun göstergesidir (18).

3. **Kronik sessiz MS plağı** : Bu plaklarda demiyelinizasyona ait bulgu yoktur. Ciddi fibriller gliozis ve demiyelinize aksonlar görülür. Astrositik proliferasyon mevcuttur. Lezyon içinde immünokompetan hücreler azdır (17,18).

Demiyelinizasyonun en önemli etkisi Ranvier boğumları arasındaki elektrik akımını engellemektir. Akut gelişen ve birkaç gün içerisinde düzelen demiyelinizasyonda sinir liflerindeki iletim bloğu patolojik olarak kabul edilmez, fizyolojiktir. Bu durumda düzelmeye yol açan neden demiyelinizasyon değil, lezyon çevresindeki ödem ve akut inflamatuvar değişikliklerin gerilemesidir. Muhtemelen demiyelinizasyon fonksiyonel etkileri bilinemez. Yaygın olan düşünce MS'de demiyelinizasyonun inhibisyonu yönündedir. Fakat zamanla demiyelinize plak alanlarında demiyelinizasyon görülebilir (18).

Oligodendrosit kaybı, apoptotik bir süreçte veya direk immün aracılı olarak gelişebilir. Apoptotik oligodendrositlerin T hücre, nöron ve miyelinin normal görüldüğü alanlarda lezyon oluşumundan çok önce ve kronik MS'li hastalarda lezyonun bulunmadığı alanlarda gösterilmesi apoptozun bağımsız gelişim mekanizmasını desteklemektedir (18).

İnflamasyona bağlı akson kaybı ; akson spesifik antikor, kompleman, miyelin spesifik antikor, miyelin spesifik T hücresi, makrofaj ve mikroglial hücreler, CD8 T hücresi, NO, calpain, MMP'lar, glutamat aracılığıyla oluşan kompleks bir inflamatuvar süreç neticesinde akson kaybı gelişebilir (18,19,22,23).

1.5.1 MS'de Hastalık patternleri

İmmünolojik incelemeler aktif MS lezyonlarında 4 patolojik pattern varlığını göstermiştir (20).

Tablo 1 : MS’de hastalık patternleri (24).

	PATTERN I	PATTERN II	PATTERN III	PATTERN IV
Lezyonların Karakteristiği	Ven veya Venül çevresinde keskin sınırlı	Ven veya Venül çevresinde keskin sınırlı	Lezyon merkezinde damar yok, periplak ayırımı net değil	Perivenöz dağılımlı lezyonlar
T hücre ve Makrofaj aktivasyonu	Var	Var	Çok az T hücre ve mikroglial aktivasyon var	Var
OG yapısı	Canlı	Muhtemel lizis ile OG kaybı	Apopitotik olarak OG ölümü, birincil hedef OG	Periplak beyaz cevherde primer OG dejenerasyonu, lezyonda OG total kaybı
Miyelin Kılıf	Harabiyeti var	Harabiyeti var	Miyelin kılıf ve OG distrofi belirtileri mevcut	
Ig / Kompleman depolanması	Yok	Var	Var	
Diğer hücre, Protein yapısındaki anormallikler	Yok	Lezyonda plazma hücreleri bulunur. PLP mRNA üreten Progenitor hücrelerde hızlı toplanma var	MAG ve siklik nükleotid fosfodiesterazın hızlı kaybı, MBP, PLP normal	
Remiyelinizasyon	Hızlı ve hemen hemen tam remiyelinizasyon (Shadow plak)	Shadow plak var		Shadow plak yok veya nadir
Akson Kaybı	Yok	Yok	Var	Yok

1.6 İmmünopatogenez

Akut ve kronik inflamasyon; plazma proteinlerinin ekzudasyonu, lökositlerin göçü, hücrelerin aktivasyonu ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı gibi birçok işlev ile karakterizedir. İnflamasyonun bulunduğu her insan hastalığında MMP'lerin artmış miktarı gözlenmiştir. SSS hasarı, nöroinflamasyon denen kaskad olayları başlatır. Genel olarak serbest radikal ve proteazların üretimiyle ilişkili bir sitokin ve kemokin yanıtı vardır. Bununla birlikte TNF α , interlökin 1 β ve kemokinler gibi mediatörler de olaya karışır (24).

Kronik infeksiyon ve immünolojik reaksiyonlar nörodejenerasyona neden olabilir. Kronik inflamasyon, mikroglia'yı aktive eder ve dokuyu tamir için makrofajları tetikler. Geri kalan ölü dokunun uzaklaştırılması ve hasarlı dokunun remodelingi boyunca toksik proteazlar salınabilir ve serbest radikaller oluşur (25).

MS'li hastalarda SSS'nin inflamatuvar reaksiyonunda, T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar, antikor ve sitokinler gibi birçok immün sistem komponenti işe karışır. Mikroglia, dentritik hücreleri, Natural Killer (NK) hücreleri ve B hücreleri gibi immün hücreler, MS araştırmacıları tarafından giderek daha fazla bir ilgi görmektedir. Ek olarak endotelial hücreler gibi immün olmayan hücrelerde mekanizmalara karışarak SSS'de inflamasyonuna neden olmaktadır (26,27,28).

MS'de ve EAE'de kan-beyin bariyerinin bozulduğu immünohistokimyasal çalışmalar ve kontrast madde verilerek yapılan kranial MRG çalışmalarında gösterilmiştir. Bu bozulma aktif lezyonlarda görülse de inaktif kronik plaklarda da az derece bozulma bulunmuştur. KBB'deki bozulma ve inflamasyon, patojenik hücrelerin ve antikorların SSS'e geçişini kolaylaştırır (32).

Beyin dokusuna geçen T hücreleri, MSS antijenlerini sunan astrosit veya mikroglial hücreler tarafından tekrar aktive edilirler (Reaktivasyon). Bu ikinci aktivasyon basamağı yeni bir inflamasyonu tetikler. Reaktif olmuş T hücreleri, sitokinleri salgılayarak çevredeki immün hücrelerin ve mikrogliaların aktive olmasına ve kemokinleri üretmesine neden olur. Sitokin ve kemokinler daha fazla hücreyi SSS'ne çekerek inflamatuvar yanıtı arttırırlar (29,30,31).

KBB'ni geçen T hücrelerinin daha sonraki adımı ekstraselüler matriks bariyerini aşmaktır. MMP'lar miyelin komponentlerini ve ekstraselüler matriks elemanlarını yıkarak T hücrelerinin bu hareketlerine katkıda bulunmaktır. MMP'ler özellikle TNF α gibi proinflamatuvar sitokinleri artırır ve hücre göçünü uyarır. TNF α güçlü proinflamatuvar sitokindir. TNF α 'nın artmış üretimi septik şok ve ağır otoimmün hastalıklarda görülmüştür. Makrofajlardan salınır ve "TNF converting enzyme" (TACE) tarafından aktive hale gelir. Birçok MMP'ler (MMP-1,2,3,7, 9,12,14,15 ve 17) invitro olarak pro-TNF α 'yı makrofajlarda aktive ettiği gösterilmiştir. Ekstarselüler matriks harabiyeti ile KBB'nin aşılması sağlanır ve direk olarak miyelin harab edilir. MMP-2 ve MMP-9 Th1 hücre göçünde önemli bir role sahiptir. MMP-2'nin özellikle hastalığın kronik fazıyla ilgili olduğu bulunmuştur (33).

MS, hücrel immünite ile ilgili bir hastalık gibi görülse de demiyelinizasyonda B hücrelerinin varlığı da bilinmektedir (28). T-Lenfositler başta Myelin basic protein (MBP) olmak üzere diğer miyelin antijenlerine (Proteolipid protein, Miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), heat shock protein vs...) karşı otoreaktif hale gelir (29). Otoreaktif T hücreleri bilinmeyen mekanizmayla reaktif olur ve kan-beyin bariyerini geçerek SSS'ne girer. Burada perivasküler antijen sunan hücreler otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonu için gerekli olan sinyalleri oluştururlar ve Th1 hücrelerinden proinflamatuvar stokin (Tümör nekrozing faktör-alfa (TNF- α), IFN δ , Lenfotoksin, IL-1 ve IL-2) salınımını başlatırlar. TNF α , IFN δ gibi sitokinler astrosit ve lökositlerin kemokin salgılanmasını ve adezyon moleküllerinin (Intrasellular adhesion molecule (1-ICAM), Vascular cell adhesion molecule (1-VCAM)) endotelial hücreler tarafından ekspirasyonunu stimüle ederler. Böylece T hücreleri kan beyin bariyerindeki endotelium ile etkileşime girmiş olur. Proinflamatuvar sitokinler direkt olarak sinir iletimini inhibe ederek nörolojik disfonksiyona yol açarlar ayrıca NO sentezini stimüle ederler. Mikroglial hücreler ve makrofajlardan salınan NO, kan-beyin bariyerinin hasarından, demiyelinizasyondan, aksonal kayıptan ve oligodendrosit kaybından sorumludur (21,23,24).

Th2'lerden salınan antiinflamatuvar sitokinler (Transforming Growth Factor-beta (TGF β), IL4, IL5, IL6, IL10, IL13) ise inflamatuvar olayları inhibe eder,

Nörolojik iyileşmeye yol açarlar. B lenfositleri antikor üretimini indükleyerek immünglobulinler aracılığıyla remiyelinizasyonu sağlarlar. Relaps döneminde Th1 sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin üretimi artar. Th2 sitokinlerinin üretimi azalır. Sonuç olarak proinflamatuvar (Th1) ve antiinflamatuvar (Th2) sitokinler arasında ince bir denge söz konusudur. MS'de bu dengenin proinflamatuvar sitokinler lehine bozulması sonucunda demiyelinizasyon meydana gelmektedir (24).

MS'da MMP'lar inflamatuvar mononükleer hücrelerin SSS içerisine geçişinden sorumludur. MMP seviyeleri MS'li hastalarda artar ve yükselmiş miktarları hastalığın erken seyrinde tesbit edilebilir (10). Birçok MMP, MBP'ni parçalar ve immünojenik peptitlerini oluştururlar. İmmünreaktif MBP parçaları MS'li hastaların BOS'larında görülür (34).

Ekstraselüler matriks, Serebral kan damarları civarındaki bazal lamina; laminin, fibronektin, heparan sülfat ve tip IV kollajen gibi proteinleri içerir. MMP-2, MMP-3, MMP-9 kan beyin bariyerinde geçirgenliği artırır. MMP'ların inhibitörleri kan-beyin bariyerindeki geçirgenliği azaltır (35,36).

Beyaz maddedeki plaklar üzerindeki moleküler çalışmalarda IL-12 gösterilmiştir. IL-12 güçlü proinflamatuvar madde olup, lezyonların erken aşamasında yüksek seviyelerde sentezlenir. B7-1, lenfositleri proinflamatuvar sitokinleri salması için stimüle eden bir madde olup, erken MS lezyonlarında yüksek oranlarda sentezlenir (24,26).

Son zamanlarda, regülatör rolü olan (Tregs) hücrelerinin fonksiyonlarında bir azalma olduğu MS'de gösterilmiş. Bu Tregs hücreleri CD4⁺ CD25⁺ T hücreleri olup, Fox3 adlı bir transkripsiyon faktörünü eksprese ederler (24).

Hastalığı modifiye edici immünmodülatör ajanlara (İnterferon β -1a, İnterferon β -1b ve Glatiramer asetat) olumlu klinik yanıt, bu ajanların hastalığın progresyonunu değiştirdiğini akla getirir. Hastalık modifiye edici diğer ajanlar Mitoxantrone (DNA'ya bağlanarak Lenfosit sayısını azaltır) ve Natalizumab (VLA-4 adezyon molekülüne monoklonal antikor) 'dır. Bu ajanların kesin etki mekanizması bilinmiyor (37,38,39,40).

1.6.1 EAE (Deneyisel Otoimmün Ensefalomyelit)

MS ile benzerlik gösteren bir hayvan modelidir. Genetik olarak duyarlı kemiriciler ve diğer türlerde komplet Freud adjuvanı (CFA) içindeki SSS antijenleriyle immünizasyon sonucu (aktif) veya SSS antijenlerine özgü aktif CD4+ T hücrelerinin naif hayvanlara aktarılmasıyla (pasif) şekilde oluşturulmaktadır. İki major miyelin proteini miyelin bazik protein (MBP) ve proteolipit protein (PLP) kemiricilerde EAE oluşturduğu ve MS’de potansiyel antijen olabileceği bilinmektedir. Diğer bir minör miyelin proteini olan MOG’un sıçan ve farelerde EAE oluşturduğu gösterilmiştir. MOG kullanılarak oluşturulan modellerde, nöroinflamasyon yanında demiyelinizasyon, oligodendrosit kaybı, aksonal ve nörolojik dejenerasyon olabildiği gösterilmiştir. Bunlar MS’in esas nöropatolojik özellikleridir. EAE’de demiyelinizasyon, ensefalitojenik T hücre yanıtı ile birlikte antikor yanıtının etkisine bağlanmaktadır (41,42,43,44).

1.7 Klinik Bulgular

Hastalığın iki karakteristik özelliği vardır.

- Relaps ve Remisyonlarla seyretmesi
- SSS’de birden fazla lezyona ait klinik belirti ve bulguların ortaya çıkması

Çoğu insanda nörolojik semptomların başlamasından birkaç hafta veya ay öncesinde yorgunluk, enerji azlığı, şüpheli kas ve eklem ağrıları mevcuttur. MS semptomları arasında zaten oldukça sık olarak görülen yorgunluğun daha çok Santral orjinli olduğu bilinmektedir (45).

Olguların yarısında başlangıç semptomu bir veya daha fazla ekstremitede güçsüzlük ve hissizlik şeklindedir. Ekstremitelerde karıncalanma, gövdede bant şeklinde sıkışma hissi sık görülür. Transvers Myelit, Optik veya Retrobulber Nevrit ensik gördüğümüz başlangıç bulgularıdır (45,46).

Ataklar genellikle 24 saatden fazla süren yeni bir nörolojik semptomun ortaya çıkması olarak tanımlanır ve bir önceki atakla arasında en az bir ay olması gerekir.

MS'un klasik bir bulgusu, çevre artışı ve egzersizle semptomların alevlenmesidir ve Uthoff Fenomeni olarak bilinir (45,46).

1.7.1 Duysal Semptomlar

Çeşitli derecelerde derin ve yüzeysel duyu kaybı vardır. Boynu pasif fleksiyona getirmekle boyundan aşağıya doğru elektriklenme hissi yayılır. (Lhermitte belirtisi) Fakat bu bulguya servikal bölge patolojilerinde de rastlanır. Nedeni demiyelinize aksonların gerilmesi ve basınca karşı aşırı duyarlı olmasıdır. Duysal bulgular %21-55 oranında erken belirti olarak ortaya çıkar. Radiküler ağrı, Nevraljik ağrı ve yanıcı ağrılar görülebilir. Hastalarda osteoporozla bağlı olarak da ağrılar oluşabilir (45,46).

1.7.2 Motor Semptomlar

Motor semptomlara %32-41 oranında rastlanır. Spastik ve ataksik paraparezi gelişebilir. Derin tendon refleksi (DTR) artar, karın cildi refleksi kaybolur, babinski yanıtı alınır. Bunun yanı sıra monoparezi, hemiparezi ve kuadriparezi (veya pleji)'de görülebilir. Ciddi klonus ve spastisite hastaları çok rahatsız eder. Spastisite alt ekstremitelerde daha sık görülür (45,46,47).

1.7.3 Optik Nevrit ve Diğer Görsel Bulgular

Tüm vakaların yaklaşık %25'de başlangıç bulgusu Optik veya Retrobulber nevrittir. Bir gözde birkaç gün içinde kısmi veya total görme kaybı gelişir. Bazı olgularda görme kaybından birkaç gün önce orbitada özellikle göz hareketleriyle artan ağrı vardır ve göz palpasyonla hassastır (48).

Görme kaybı nadiren optik sinirdeki bir tümörü taklit edencesine birkaç ayda gelişebilir. Genellikle makula ve kör noktayı içine alan çekosantral skotom bulunmakla birlikte diğer görme alan defektleri de görülebilir. Olguların yarısında optik sinir başı ödemi (Papillit) görülür. Bu olguların 1/3'ü tamamen düzelir geri kalanı ise tama yakın düzelir. Eğer bir olguda monosemptomatik olarak optik nevrit gelişmişse ve bu olguların MRG'de üç veya daha fazla lezyon varsa bu durum ileride MS gelişimi için büyük bir risk faktörü olarak değerlendirilir. Olguların %50-80'de ileride MS gelişmesi beklenir (48).

Medial longitudinal fasikül (MLF) tutulumuna bağlı diplopi ve internükleer oftalmopelji (INO) gelişebilir. Supranükleer bakış yollarının kesilmesi sonucu çeşitli bakış paralizileri oluşabilir (49).

Optik nevrit geçiren hastaların fundoskopik muayenesinde optik atrofi ve temporal solukluğa rastlanabilir. Üveitis ve retinal venlerde kılıflanma tahmin edilenden daha sık görülür (48).

1.7.4 Serebellar Bulgular

Nistagmus, ataksi ve intensiyonel tremor gibi serebellar semptomlarla başlangıç da görülebilir. Yürüme ataksisi başlangıç bulgusu olarak %13 oranında görülür. Serebellar ataksinin en ciddi şekli gövde veya ekstremiteleri hafifçe hareket ettirme teşebbüsüyle ortaya çıkan, ciddi ve kontrol edilemeyen ataksi tremordur. Bu durum dentatorubrotalamik yolların lezyonu sonucu gelişir ve lezyon orta beyin tegmentumundadır (50).

1.7.5 Beyin sapı lezyonuna ait bulgular

Myokimi, fasial paraliziler, işitme kaybı, tinnitus, şekillenmemiş işitsel halüsinasyonlar, vertigo, nistagmus, INO ve diğer konjuge bakış paralizileri, kusma, fasiyel anestezi, trigeminal nevralji ve nadiren stupor ve komadır. Hastalığın daha ciddi formlarında beyinsapı bulgularının hepsi veya bazılarıyla birlikte kuadriparezi, psödobulber paralizisi, serebellar ataksi ve dizarti bulunabilir (49).

1.7.6 Kognitif bozukluklar

Kognitif fonksiyon bozuklukları %40-60 oranında görülür. Hiçbir yakınması olmayan hastalarda bile hafif düzeyde bulunabilir. Dikkat, sözel hafıza, kelime bulma, bilgiyi işleme hızı ve emosyonel labilite en çok etkilenen birimlerdir. Bir çalışmada T2 lezyon alanı 30 cm² den büyük olanlarda kognitif fonksiyon bozukluğu daha fazla görülür. Derin beyaz cevherdeki geniş hasar kortikal alanlarda iletişimin fonksiyonel olarak kesilmesine yol açmaktadır. Bunun sonucunda da kognitif bozukluklar oluşmaktadır (50).

1.7.7 Paroksizmal Semptomlar

MS'de 1-2 saniye veya dakika süren, gün boyu tekrarlayan nörolojik defisit atakları sık görülmeyen fakat MS için oldukça tipik kabul edilen bulgulardır. Nedeni tam olarak bilinmese de genellikle lezyon içindeki komşu demiyelinize aksonlardaki enine (Ephatic) geçiş bundan sorumlu tutulmaktadır. Relaps ve remisyonlarla seyreden MS olgularında daha siktir (52).

Bunlar içerisinde ensık görüleni ; dizarti, ataksi, bir ekstremitede paroksizmal ağrı ve dizestezi, ışık parlamaları, paroksizmal kaşıntı, tonik nöbetler, el bilek ve dirsekte fleksiyon, alt ekstremitede ise ekstansiyon spazmlarıdır. Paroksizmal semptomalar sensöriyel uyarı ve hızlı solunum ile agreve olurlar. Tedavide karbamazepin önerilir (52).

1.7.8 Diğer belirti ve bulgular

Akut transvers myelit, Mesane ve bağırsak fonksiyon bozuklukları, yorgunluk, öfori, major depresif bozukluk, panik bozukluk, genelleşmiş anksiyete, bipolar bozukluk, demans, konfüzyonel psikotik durumlar ve frontal lob sendromlarına da rastlanmaktadır.

MS'li insanlarda intihar riski oldukça yüksektir, bazı çalışmalarda depresyon % 50 gibi yüksek oranda görülür (53).

Hastaların %2-3'ü hastalıklarının herhangi bir evresinde nöbet geçirebilmektedir. Bunun nedeni serebral korteks veya komşu beyaz maddedeki lezyonlardır (54).

Yorgunluk, hastaların %20-25'de enfazla yakınılan semptomdur. Yapılan çalışmalarda hastalığın ağırlığı ve MRG'de lezyon yükü ile yorgunluk arasında korelasyon saptanmamıştır. Yorgunluğun muhtemel nedenleri ; SSS hasarı, beyin metabolizmasında azalma, immün sistem disregülasyonu, endokrin sistem değişiklikleri, tedavide kullanılan ilaçlar, uyku bozuklukları, ağrı, psikolojik faktörler olduğu düşünülmektedir (55).

Hareket bozuklukları nadir olmakla birlikte pek çok hareket bozukluğu hastalık süresince izlenebilmektedir. En sık görüleni tremordur. Diğerleri kore, distoni, atetoz, hemiballismus, platal myoklonus ve huzursuz bacak sendromudur (56).

MS bazen periferik nöropatilerle birlikte görülebilir. Bunun nedeni çok iyi anlaşılmamakla birlikte spinal kord ve periferik sinirlerde otoimmün demiyelinizasyonun buna yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca hastalığın geç dönemlerinde vitamin eksikliğine bağlı polinöropati ve paraziler gelişebilir.

1.8 Sınıflandırma

Klinik seyir olarak dört değişik form belirlenmiştir. Bunların haricinde otopside veya MRG'de saptanan fakat klinik belirtisi olmayan asemptomatik MS olguları da bulunabilmektedir (57).

- **Relapsing-Remitting Form (RRMS)** : %85-90 oranında görülür. Ataklar arasında klinik olarak stabil periyotlar vardır. Ataklar tam veya kısmi iyileşme ile sonlanır. Bu hastaların %5-10 gibi bir kısmında benign gidiş olarak belirtilen, hafif ataklar, atak sonrası tam iyileşme veya yıllar içinde çok az dizabilite artışı vardır. 10 yıl içinde %50-80 oranında SPMS'e dönüşür (57,58).

- **Sekonder Progresif Form (SPMS)** : Önceleri RRMS gibi seyir vardır fakat daha sonra kronik nörolojik bozukluk şeklinde seyreder. Kadınlarda daha sık görülür. Progresyon dönemi 35-40 yaşlarında başlar (58).

- **Primer Progresif Form (PPMS)** : %10-15 oranında görülür. Hastalığın başlangıcından beri yavaş ve devamlı nörolojik bozukluk söz konusudur. Her iki cinsde eşit görülür. 35-40 gibi daha ileri yaşlarda başlar. Paraparezi önplandadır. Kognitif bozukluk daha az görülür. MRG'de özellikle C2 düzeyinde kord atrofi daha siktir. Hastalık aktivitesi azdır (58).

- **Progresif relapsing Form (PRMS)** : %5'den daha az görülür. Önceleri yavaş seyirli nörolojik bozukluk varken daha sonra buna relapslar eklenir (58).

Hastaların %80'de yıllar içinde kötüleşme görülür. Hastaların ancak yarısı 15 yıl sonra baston ile yürüyebilir. Hastaların nörolojik durumunu, özür lülüğünün ve progresyonunu belirlemek için Kurtzke'nin genişletilmiş dizabilite durum skalası (EDSS) yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak EDSS değeri 3.5 ve altında olan hastalarda minimal dizabilite, 3.5-6 arası olan hastalarda orta derece dizabilite, 6.0 ve üzeri olan hastalarda ise ağır dizabilite vardır (59).

Hastalık teşhisinde önceden kullanılan Poser tanı kriterleri artık terk edilmiş. Yerine 2001 yılında sunulan McDonald ve arkadaşlarının tanı kriterleri uygulanmaya konulmuş. 2005 yılında ise McDonal tanı kriterleri revize edilmiştir (60).

1.8.1 Multipl Skleroz Varyantları

Marburg Tipi : Hızlı progresif, remisyon göstermeyen, serebral hemisferler, beyin sapı ve optik sinirlerde multifokal lezyonların bulunduğu fatal seyirli bir MS varyantıdır. Homojen kontrast tutulumu vardır. BOS'da hafif mononükleer hücre artışı vardır. Oligoklonal bant negatiftir (61).

Balo'nun Konsantrik Sklerozu : Hızlı, progresif monofazik bir hastalıktır. Baş ağrısı, afazi, kognitif ve davranış değişiklikleri ile birlikte konvülsiyonlar görülür. Patogenezi iyi anlaşılamamıştır. Optik sinirler, serebellum ve spinal kord genellikle korunur. BOS'da mononükleer hücre artışı vardır ve bazen hemorajik görülür. T2 ağırlıklı ve gadolinyumlu T1'de konsantrik halka veya yumak şeklinde görüntü vardır. Haftalar ve aylar içinde ölümlerle sonlanır (62,63).

Schilder Hastalığı : Serebrumda masif demiyelinizasyon vardır. Demiyelinizasyon daha çok posterior bölgelerdeki beyaz maddeyi etkiler. Spastik paralizi, progresif görme kaybı, mental reterdasyon, baş ağrısı, epileptik nöbetler, optik nevrit, hemiparazi ve fasial paralizi mevcuttur. BOS'da IgG indeksi artar. Progresif seyirli ve genellikle fatal bir hastalıktır (64).

Akut Dissemine Ensefalomyelit (ADEM) : Klasik formu monofazik seyirli olan inflamatuvar demiyelinize bir hastalıktır. Çocukluk yaş grubunda daha sık görülür. Çoğu olguda enfeksiyöz bir olaydan veya aşılardan birkaç gün veya hafta sonra nörolojik semptomlar gelişir. Ateş, ensefalopati, koma, konvülsiyonlar, ataksi,

optik nöropati ve transvers miyelit klinik bulgulardır. MS'de Optik nöropati genelde tek taraflı iken ADEM'de karakteristik olarak bilateraldir. Spinal kord tutulumunda flask parapleji ve seviye veren duyu kusuru ortaya çıkar. Patolojik olarak geniş perivasküler inflamasyon ve demiyelinizasyon görülebilir. Beyaz madde tutulumu daha çok olmak üzere gri madde tutulumunda görülebilir. Oligoklonal bant genellikle negatiftir. Tedavisinde yüksek doz iv metilprednizolon verilir. Fulminan vakalarda plazma değişimi yapılır. Rekürren ADEM olgularında iv immünglobulin verilir (65).

Devic Hastalığı (Nöromiyelitis Optika) : Bir hastalıktan çok sendromdur. Optik snir ve spinal kord tutulumu vardır. Beyin genellikle korunur. Optik sinir ve medulla spinalis birlikte tutulacağı gibi ayrı da tutulabilir. Tutulum bölgesinde inflamasyon ve demiyelinizasyon vardır. Bazı olgularda spinal korda kavitasyon ve nekroz görülebilir (66).

1.9 Tanı

Kesin bir tanı yöntemi yoktur. MS esas olarak klinik bir tanıdır, semptom ve bulgularla hastalığın klinik seyri dikkate alınarak konmaktadır. MRG, Uyarılmış potansiyeller ve BOS incelemesi klinik tanısı kesin olmayan olgularda tanıyı desteklemeye yardımcıdır. Kesin tanı koyduracak bir laboratuvar bulgusu yoktur. İlk kayda değer kriterler Schumacher ve arkadaşları tarafından 1965 yılında yapıldı. Bu kriterler yalnızca öykü ve muayene bulgularına dayanmakta idi.

Görüntüleme yöntemlerinin geliştirilmesi, BOS'da IgG indeksi ve Oligoklonal band tesbiti tanıya oldukça katkıda bulunmuştur. Bunu üzerine 1983 yılında Poser başkanlığında toplanan komite bu tanı yöntemlerini de içine alacak şekilde tanı kriterlerini (Ek-1) yeniden tanımladı (68,69).

2001 yılında tanımlanan McDonald kriterleri (Ek-2) ile MR görüntüleri tanı için önemli hale geldi (70). BOS ve görsel uyarılmış potansiyeller (VEP) diğer paraklinik testler olarak belirlendi (71,72). Lezyonların zamansal ve mekansal yayılımını belirlemek için MRG kriterleri belirlendi (73).

1.10 Ayırıcı Tanı

MS'in blinen formlarında tanı nadiren şüphelidir. Problem genellikle atipik prezentasyon, monofazik epizod, progresif hastalık ve negatif görüntülemeye ortaya çıkar. MS'de SSS tutulumunu Sistemik lupus eritematosus (SLE), antifosfolipid sendromu (APS) ve sjögren sendromu (SS) gibi diğer otoimmün hastalıklardan ayırmak güç olabilir (74,75).

- **Genetik hastalıklar** : Aile öyküsü pozitifdir. Hastalık genellikle çok erken yaşlarda başlar. Sinir sistemi dışında da bulgular vardır. Normal BOS bulgusu bulunabilir.
 - Wilson hastalığı
 - Nütrisyonel eksiklikler
 - Herediter spastik paraparezi
 - Peroksizmal hastalıklar (Adrenolökodistrofi)
 - Mitokondriyel sitopatiler
 - Adult polyglucosan body hastalığı
 - Herediter serebroretinal vaskülopati
 - Lizozimal enzim eksiklikleri (Fabry hastalığı, Globoid hücreli lökodistrofi, Metakromatik lökodistrofi)
- **İnflamatuvar hastalıklar**
 - Behçet hastalığı
 - Miyastenia Gravis
 - Kollajen vasküler hastalıklar (SLE, Sistemik skleroz, Mikst konnektif doku hastalığı)
 - Nörosarkoidosis

- **Enfeksiyon hastalıkları**
 - Virüsler (Herpes, Kızamık, retrovirüs, JC virüs)
 - Bakteri (Brusella, Klamidya, Lyme, Sfiliz)
- **Metabolik hastalıklar**
 - Vitamin eksiklikleri (Vit. B12, Folik asit)
 - Mineral eksiklikleri (Kobalamin...)
- **Tümörler**
- **Psikiyatrik hastalıklar** (Ansiyete, depresyon, konversif hastalık)
- **Toksik hastalıklar** (NO zehirlenmesi, Santral pontin miyelinozis, radyasyon)
- **Vasküler Hastalıklar**
 - Antifosfolipid antikor sendromu (Sneddon sendromu)
 - CADASIL
 - Vaskülitler
- **Yapısal bozukluklar** (Vasküler malformasyon, disk servikal spondiloz, Arnold chiari malformasyonu)
- **Diğerleri**
 - Kronik yorgunluk sendromu
 - Komplike migren
 - Nöroretinitis

2. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR (MMP) ve İNHİBİTÖRLERİ

2.1 Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar Matriksinler olarak da adlandırılırlar. Zn bağımlı endopeptidazlardır. Embriyo gelişiminde, doku şekillenmesi ve morfogenezde, artrit, periodontit, glomerülonefrit, ateroskleroz, doku ülserasyonu gibi hastalıklarda ve kanserde hücre invazyonu, metastazında ve kan beyin bariyerinin yıkılmasında önemli rolleri vardır. MMP'ler protein yapılarına göre beş ana gruba ayrılır (76,77,78).

1. Gelatinazlar : MMP-2, MMP-9
2. Kollejenazlar : MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18
3. Stromelizinler (Matrilizin) : MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-11
4. Membran tip MMP'ler : MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25

Tüm MMP'ler preproenzim olarak sentezlenir ve proenzim olarak salgılanır. ProMMP'lerin plazmin tarafından aktive olduğu, in vivo olarak gösterilmiştir (78,80).

Çeşitli MMP'lerin ortaya çıkışı ve aktivitesi beyinde iskemi, enflamasyon, nörodejenerasyon'da çalışılmıştır (77,102). Proenzimlerin aktivasyonu ekstrasellüler matriks yıkımına neden olan çok kritik bir noktadır. MMP'lar büyüme faktörleri, ölüm reseptörleri ve diğer sinyal moleküllerinin aktivasyonunu kontrol eder (1). Ayrıca MMP'lerin hedefi kan damarları ve beyin hücrelerindeki matriks proteinleridir, sitotoksik ve vazojenik ödem, hemorajik transformasyon ve nöronların apoptosisi ile sonuçlanır. Makrofajlar kronik hasar bölgesinde bulunurken proteazları salgırlar ve etraf dokudaki hasara neden olurlar (81,82).

Beyinde Gelatinaz A (MMP-2) ve Geletinaz B (MMP-9) en fazla çalışılanlardır. Gelatinaz, kapiller civarındaki bazal laminayı yıkar, angiogenesis ve

nörogenezisi kolaylaştırır böylece hücre ölümünü aktive eder. MMP-2, sürekli olarak sentez edilir sağlıklı beyin ve BOS'da bulunur. Hücre yüzeyinde membrana bağlı olarak bulunan MMP-14 tarafından aktive edilir. Bu şekilde MMP-14, MMP-2'nin aktivitesini kontrol eder (83,84,85).

2.2 TIMP'ler (Matriks metalloproteinazların doku inhibitörü)

Molekül ağırlığı 21 ve 28 kDa olan küçük moleküllerdir. Şimdiye kadar dört TIMP tanımlandı. Bu inhibitörlerin etkileri birçok MMP'lar üzerindedir fakat bazı tercihler de vardır. TIMP-1 başlıca MMP-9'u inhibe eder, halbuki TIMP-2, MMP-2'yi inhibe eder, paradoks olarak pro-MMP-2'nin aktivasyonunu da sağlar (86,87)

TIMP-3, ekstraselüler matrikse bağlanan tek inhibitördür. MMP-14, MMP3 gibi membran bağımlı molekülü inhibe eder. Ayrıca TIMP-3 hücresel büyüme, hücresel ölüm ve doku tamiri gibi bir çok önemli rolü vardır (86,87).

Kültürde liposakkarid ile stimüle edilen astrositlerden TIMP-3 salgılanır bunlar da nöronlarda MMP-2'nin aktivasyonunu engelliyerek KBB'ni MMP-2'den korur fakat TIMP-3'ün artmış konsantrasyonu hücre ölümünü artırır (86,87).

Tablo 2 : TIMP'lerin sınıflandırma, fonksiyon ve lokalizasyonu (88).

TIMP Tipi	Moleküler Ağırlık (kDa)	İnhibe edilen MMP'ler	Diğer Fonksiyonu	Lokalizasyonu
TIMP-1	28	Bütün MMP'ler ADAM-10	MMP-9'un güçlü inhibitörü	ESM içine salgılanır
TIMP-2	21	Bütün MMP'ler	MMP-2'yi aktive eder	ESM içine salgılanır
TIMP-3	24	Bütün MMP'ler ADAM-10, ADAM-17	Apoptosis, Anjiogenezisi inhibe eder	ESM 'e bağlanır
TIMP-4	22	Bütün	Anjiogenezisi inhibe eder	ESM içine salgılanır

ESM : Ekstra selüler matrik

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mart 2009 - Eylül 2009 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ve Mikrobiyoloji anabilimdalı'nda yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 06.01.2009 tarihli 2008-12/8 numaralı karar ile onay alınmıştır.

3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Grupların homojen olması için hasta ve kontrol grubu bireyleri 20-60 yaş arası bayan ve erkek hastalardan oluşturuldu.

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniği ve daha önceden diğer dış merkezlerde kesin MS tanısı almış hastalardan; MRG, klinik, oligoklonal band (OKB) verileri ve aldıkları tedaviler göz önünde bulundurularak hasta grubu oluşturuldu. MS tanısı için Modifiye McDonald kriterleri (Ek-3) göz önünde bulunduruldu.

Herhangi bir nörolojik bulgusu olan fakat daha önceden hiçbir şikayeti olmayan, çekilen MRG'de 1 gadolinyum tutan lezyon veya 1 infratentoriyel lezyon veya 1 juxtakortikal lezyon veya 3 periventriküler lezyonu olan hastalardan KİS grubu oluşturuldu. KİS için kabul ve dışlama kriterleri için aşağıdaki parametreler kullanıldı.

Tablo 3 : KİS için kabul ve dışlama kriterleri

Kabul kriterleri	Dışlama kriterleri
Optik nöritis	Diabetes mellitus
Diplopi	Hipertansiyon
INO (İnternükleer Oftalmopleji	Vit. B12 eksikliği
Miyelitis	Kafa travması
Hemiparezi, Paraparezi	Karaciğer yetmezliği
Dizartri	Böbrek yetmezliği
Duysal semptomlar	Kalp yetmezliği
MRG Kriterleri	Demir eksikliği
- 1 Gadolinyum tutan lezyon	
- 1 İnfratentöriyel lezyon	
- 1 juxtakortikal lezyon	
- 3 periventriküler lezyon	

MS hastalığı ve nörolojik tutulumuna ait belirtisi olmayan, santral sinir sistemini etkileyecek başka bir hastalığı veya ilaç kullanım öyküsü olmayan, hastanemizde çalışan sağlık personellerinden ve hasta yakınlarından yaş olarak uyumlu erkek ve bayanlardan kontrol grubu oluşturuldu.

Başka bir SSS hastalığı olanlar ve nöromüsküler sistemi etkileyebilecek başka sistemik bir hastalık (SLE, APS, SS, Behçet, enfeksiyon) öyküsü olan bireyler çalışmaya alınmadı. Çalışmaya alınacak tüm bireylere yapılacak işlemler hakkında bilgi verildi ve onayları alındı.

Hazırlanmış bir anket formu doğrultusunda hastalara; yaşı, cinsi, Multipl Skleroz'un başlama yaşı ve süresi, hastalığın başlangıç semptomları ve şimdiki şikayetleri, başka bir hastalıkları olup olmadığı, varsa bu hastalık tedavisi için aldıkları ilaçlar (Interferonlar, Mitoxantrone, İmuran vs.), risk faktörü (ailede MS Hastalığı, SSS enfeksiyonu, inme, ilaç kullanımı, herhangi bir toksine maruz kalma öyküsü), alışkanlıkları (sigara, alkol, ilaç ve madde kullanımı), kranial görüntüleme

(MRG), Multiple skleroza yönelik ilaç kullanımı, kullanma süresi, kullanım dozu soruldu.

3.2 Analiz Yöntemi

Örneklerin Hazırlanması

RRMS tanısı alan ve interferon kullanan hastalardan ve KİS düşünülen olgulardan ve Kontrol grubundan antekübital venden enjektörle 8 ml kan alınarak heparinli tüp içerisine konuldu. Alınan kanlar en kısa sürede (yarım saat içerisinde) 15 dk. Süreyle 3000 g devirde santrifüj edilip üste kalan plazma ayrıldı. Ayrılan plazma 1,5 ml'lik Epanorf tüpüne konularak MMP-2, MMP-8, TIMP-1 ve TIMP-2 analizleri için -80°C'de tetkik edilinceye kadar saklandı.

MMP-2, MMP-8, TIMP-1 ve TIMP-2 Analizi

Deneyde R&D Systems'den temin edilen Quantikine Human MMP-2 Immunoassay (DMP2F0), Quantikine Human MMP-8 total Immunoassay (DMP800), Quantikine Human TIMP-1 Immunoassay (DTM100) ve Quantikine Human TIMP-2 Immunoassay (DTM200) ELISA kitleri kullanıldı. Deney kitin içerisindeki kullanım talimatına uygun olarak Tıp fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalında çalışıldı. Mikroplaklar EL 312 Microplate (Bio-tek Ins) marka ELISA Reader'da 450 nm'de Spektrofotometrik olarak okundu. Okunan Optic Density (OD) değerleri firmadan sağlanan Semilogaritmik kağıt kullanılarak ng/ml değerine çevrildi.

Kullanılan ELISA kitleri insan MMP-2, MMP-8, TIMP-1 ve TIMP-2 değerlerini Serum, Plazma, İdrar, Hücre kültürü'nde ölçebilmektedir.

MMP-2 için ELISA Protokolü (89)

- a. Örnek, Standartlar, Yıkama tamponu ve Substrat solüsyonu (25°C Oda sıcaklığında) kitapçığındaki direktiflere göre hazırlandı.
- b. ELISA kiti üzerindeki her kuyucuğa 100 µl Assay Dilüent konuldu

- c. Üzerine hazırlanan Standart ve Serum örneklerinden her kuyucuğa 50 µl eklendi ve 2 saat oda ısısında 500 rpm hızında çalışan Shaker üzerinde inkübe edildi.
- d. 4 kez otomatik yıkama aletinde Yıkama solüsyonu ile yıkanarak Aspire edildi
- e. 200 µl MMP-2 Conjugate eklenerek 2 saat oda ısısında 500 rpm Shaker üzerinde tekrar inkübe edildi.
- f. Adım d'deki Yıkama ve Aspire tekrar edildi.
- g. 200 µl Substrat solüsyonu eklenerek Oda ısısında Benc üzerinde karanlık bir ortamda 30 dk bekletildi.
- h. Her kuyucuğa 50 µl Stop solüsyonu eklenerek sonuçlar 450 nm dalga boyutunda ELISA aletinde okutuldu.

MMP-8 için ELISA Protokolü (90)

- a. Örnek, Standartlar, Yıkama tamponu ve Substrat solüsyonu (25°C Oda sıcaklığında) kitapçığındaki direktiflere göre hazırlandı.
- b. ELISA kiti üzerindeki her kuyucuğa 150 µl Assay Dilüent konuldu
- c. Üzerine hazırlanan Standart ve Serum örneklerinden her kuyucuğa 50 µl eklendi ve 2 saat oda ısısında 500 rpm hızında çalışan Shaker üzerinde inkübe edildi.
- d. 4 kez otomatik yıkama aletinde Yıkama solüsyonu ile yıkanarak Aspire edildi
- e. 200 µl MMP-8 Conjugate eklenerek 2 saat oda ısısında 500 rpm Shaker üzerinde tekrar inkübe edildi.
- f. Adım d'deki Yıkama ve Aspire tekrar edildi.

g. 200 µl Substrat solüsyonu eklenerek Oda ısısında Benc üzerinde karanlık bir ortamda 30 dk bekletildi.

h. Her kuyucuğa 50 µl Stop solüsyonu eklenerek sonuçlar 450 nm dalga boyutunda ELISA aletinde okutuldu.

TIMP-1 için ELISA Protokolü (91)

a. Örnek, Standartlar, Yıkama tamponu ve Substrat solüsyonu (25°C Oda sıcaklığında) kitapçığındaki direktiflere göre hazırlandı.

b. ELISA kiti üzerindeki her kuyucuğa 100 µl Assay Dilüent RDX1 konuldu

c. Üzerine hazırlanan Standart ve Serum örneklerinden her kuyucuğa 50 µl eklendi ve 2 saat oda ısısında 500 rpm hızında çalışan Shaker üzerinde inkübe edildi.

d. 4 kez otomatik yıkama aletinde Yıkama solüsyonu ile yıkanarak Aspire edildi

e. 200 µl TIMP-1 Conjugate eklenerek 1 saat oda ısısında 500 rpm Shaker üzerinde tekrar inkübe edildi.

f. Adım d'deki Yıkama ve Aspire tekrar edildi.

g. 200 µl Substrat solüsyonu eklenerek Oda ısısında Benc üzerinde karanlık bir ortamda 30 dk bekletildi.

h. Her kuyucuğa 50 µl Stop solüsyonu eklenerek sonuçlar 450 nm dalga boyutunda ELISA aletinde okutuldu.

TIMP-2 için ELISA Protokolü (92)

a. Örnek, Standartlar, Yıkama tamponu ve Substrat solüsyonu (25°C Oda sıcaklığında) kitapçığındaki direktiflere göre hazırlandı.

b. ELISA kiti üzerindeki her kuyucuğa 100 µl Assay Dilüent RD1W konuldu

- c. Üzerine hazırlanan Standart ve Serum örneklerinden her kuyucuğa 50 µl eklendi ve 2 saat oda ısısında 500 rpm hızında çalışan Shaker üzerinde inkübe edildi.
- d. 4 kez otomatik yıkama aletinde Yıkama solüsyonu ile yıkanarak Aspire edildi
- e. 200 µl TIMP-2 Conjugate eklenerek 2 saat oda ısısında 500 rpm Shaker üzerinde tekrar inkübe edildi.
- f. Adım d'deki Yıkama ve Aspire tekrar edildi.
- g. 200 µl Substrat solüsyonu eklenerek Oda ısısında Benc üzerinde karanlık bir ortamda 30 dk bekletildi.
- h. Her kuyucuğa 50 µl Stop solüsyonu eklenerek sonuçlar 450 nm dalga boyutunda ELISA aletinde okutuldu

Testin Duyarlılığı

MMP-8 Değeri (Serum'da 5-134 ng/ml), MMP-2 Değeri (Serum'da 161-301 ng/ml), TIMP-1 Değeri (Serum'da 87-524 ng/ml), TIMP-2 Değeri (Serum'da 23-338 ng/ml) arasında bulunmaktadır.

3.3 İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın verileri "SPSS (ver. 16.0) programı"na yüklendi. Verilerin değerlendirmesinde; ANOVA, Post Hoc analizde ise Dunett T3 ile gruplar karşılaştırıldı. Parametreler arasındaki korelasyon için Pearson korelasyon kullanıldı. Elde edilen veriler tablolarda normal dağılıma uyanlar ortalama \pm SD (standart sapma), uymayanlar ise ortalama \pm SEM (Standart Ortalama Hata) ve denek sayısı % ile belirtildi.

BULGULAR

Çalışmaya aldığımız RRMS grubundaki bireylerin 11'i Erkek (%31,4), 24'ü Kadın'dı (%68,6). KİS grubundaki bireyleri 2'si Erkek (%15,4) ve 11'i Kadındı (%84,6). Kontrol Grubunda ise 9 Erkek (%40,9), 13 Kadın (%50,1) vardı. RRMS ve KİS'lular hasta grubu olarak değerlendirildiğinde 13 Erkek (%27,1), 35 Kadın (%72,9)'dan oluşmaktaydı. Yaş yönünden hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.685$; $p>0.05$).

Tablo 4 : Çalışmaya alınan bireylerin demografik özellikleri

	HASTA GRUBU				KONTROL GRUBU	
	RR-MS		KİS		GRUBU	
	E	K	E	K	E	K
Hasta Sayısı	11	24	2	11	9	13
	% 31,4	% 68,6	% 15,4	% 84,6	% 40,9	% 50,1
Ortalama Yaş	34,51 ±7,44 (23-50)		32,00 ±9,93 (19-49)		31,36 ±4,78 (24-40)	

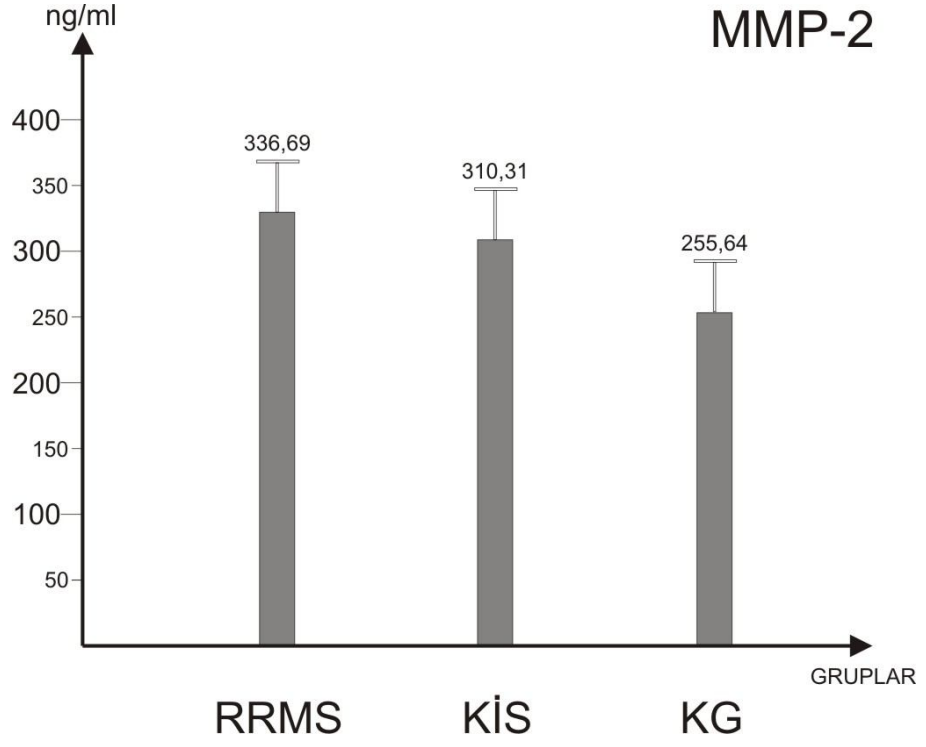
KİS : Klinik izole sendrom, KG : Kontrol grubu

Tablo 5 : Olguların ELISA ile ölçülen ortalama MMP ve TIMP değerleri (ng/ml)

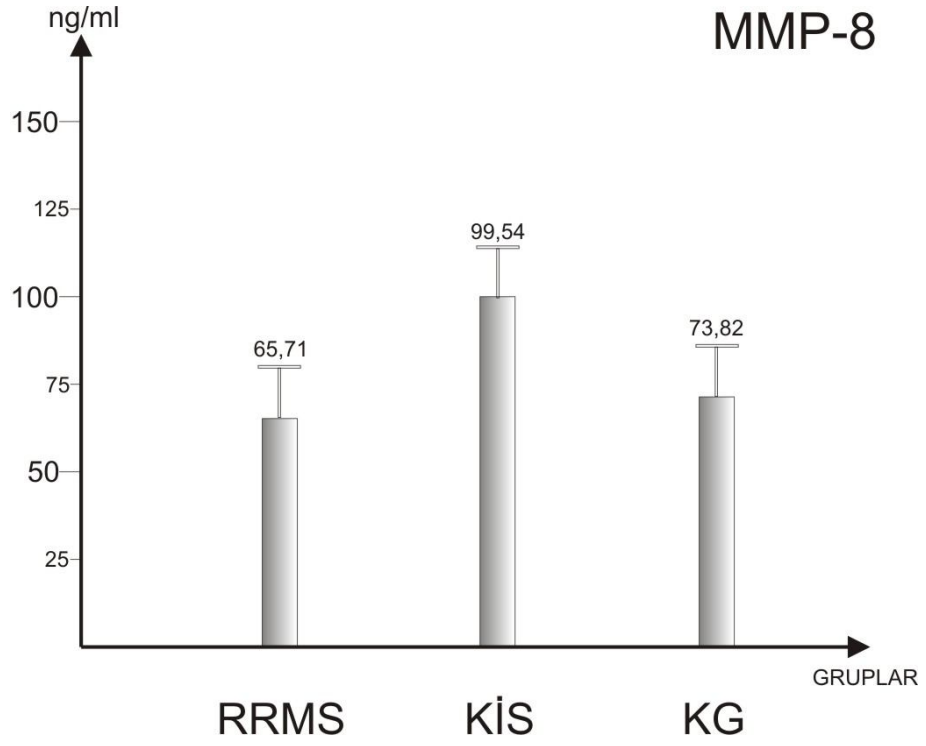
	MMP-2	MMP-8	TIMP-1	TIMP-2
	Ortalama ±SD	Ortalama ±SEM	Ortalama ±SD	Ortalama ±SEM
RR-MS	336,69 ±16,46	65,71 ±13,13	531,91 ±207,38	196,69 ±17,41
KİS	310,31 ±50,67	99,54 ±19,39	528,08 ±155,09	165,85 ±7,36
Kontrol Grubu	255,64 ±64,78	73,82 ±12,40	515,86 ±180,155	125,27 ±5,74

Tablo 6 : Olguların hesaplanan MMP/TIMP oranları

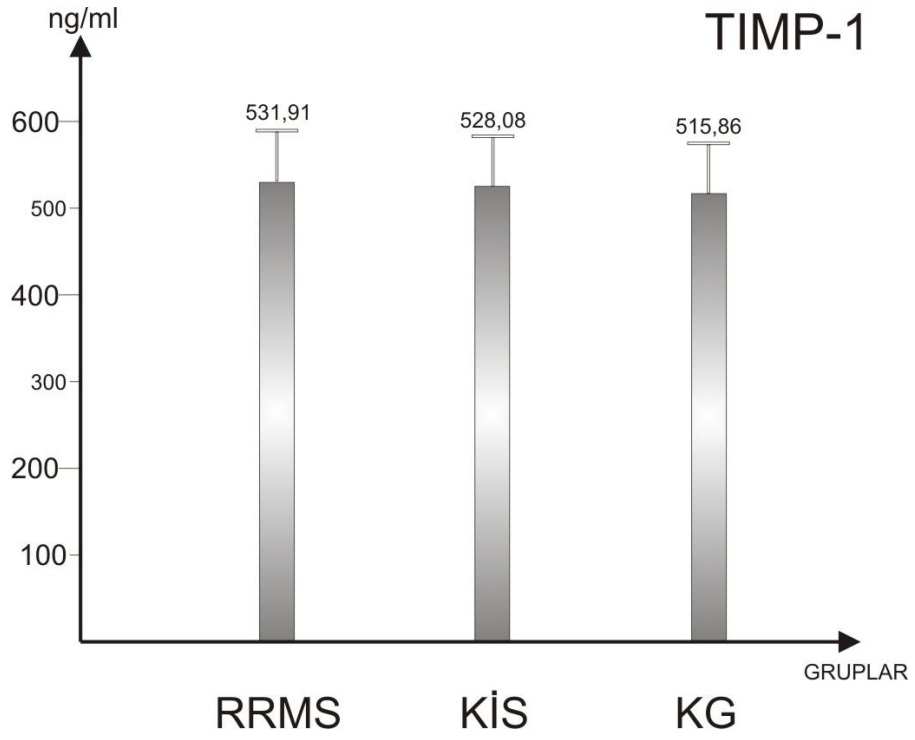
	MMP-8 / TIMP-1	MMP-8 / TIMP-2	MMP-2 / TIMP-2
	Ortalama ±SEM	Ortalama ±SEM	Ortalama ±SD
RR-MS	0,15 ±0,03	0,41 ±0,09	1,92 ±0,64
KİS	0,21 ±0,04	0,59 ±0,12	1,90 ±0,66
Kontrol Grubu	0,14 ±0,02	0,64 ±0,12	2,10 ±0,56



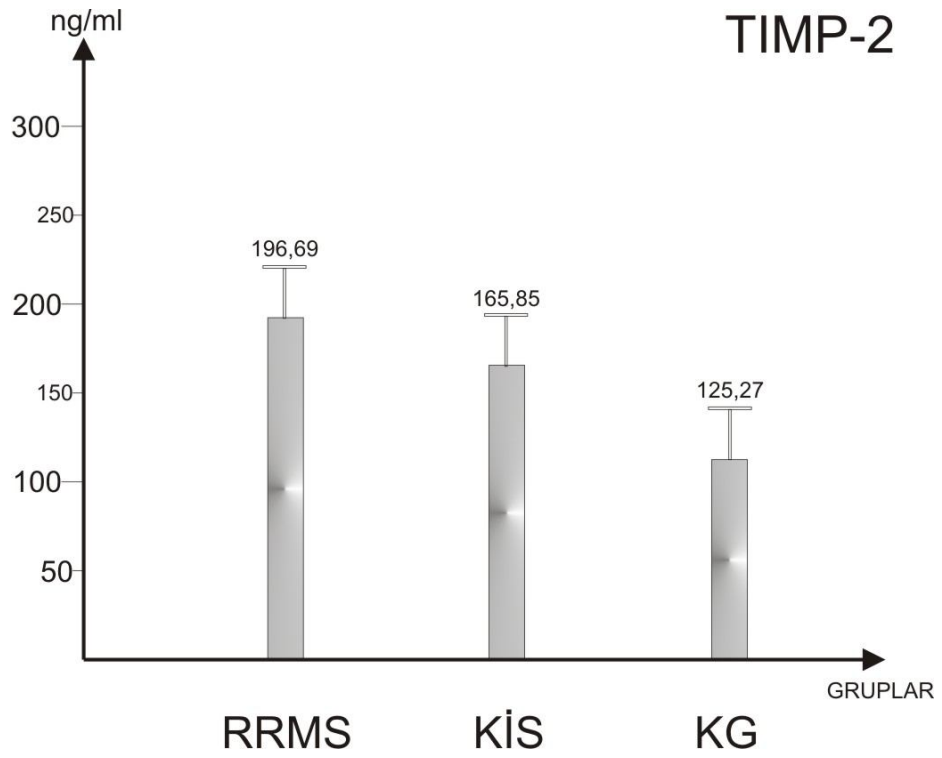
Şekil 1 : Grupların ortalama MMP-2 değerleri



Şekil 2 : Grupların ortalama MMP-8 değerleri



Şekil 3 : Grupların ortalama TIMP-1 değerleri



Şekil 4 : Grupların ortalama TIMP-2 değerleri

	I GRUBU	J GRUBU	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	P Değeri	% 95 Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
MMP-2	RRMS	KIS	26,378	21,644	,537	-27,43	80,19
		KG	81,049*	21,488	,001	28,19	133,91
	KIS	RRMS	-26,378	21,644	,537	-80,19	27,43
		KG	54,671*	19,703	,028	5,00	104,35
	KG	RRMS	-81,049*	21,488	,001	-133,91	-28,19
		KIS	-54,671*	19,703	,028	-104,35	-5,00
MMP-8	RRMS	KIS	-33,824	23,421	402	-93,77	26,12
		KG	-8,104	18,060	,958	-52,57	36,36
	KIS	RRMS	33,824	23,421	402	-26,12	93,77
		KG	25,720	23,017	,609	-33,59	85,03
	KG	RRMS	8,104	18,060	,958	-36,36	52,57
		KIS	-25,720	23,017	,609	-85,03	33,59
TIMP-1	RRMS	KIS	3,837	55,489	1,000	-136,46	144,14
		KG	16,051	52,000	,986	-112,29	144,39
	KIS	RRMS	-3,837	55,489	1,000	-144,14	136,46
		KG	12,213	57,668	,995	-133,69	158,12
	KG	RRMS	-16,051	52,000	,986	-144,39	112,29
		KIS	-12,213	57,668	,995	-158,12	133,69
TIMP-2	RRMS	KIS	30,840	18,898	,291	-16,02	77,70
		KG	71,413*	18,331	,001	25,86	116,97
	KIS	RRMS	-30,840	18,898	,291	-77,70	16,02
		KG	40,573*	9,333	,001	16,81	64,34
	KG	RRMS	-71,413*	18,331	,001	-116,97	-25,86
		KIS	-40,573*	9,333	,001	-64,34	-16,81
MMP-8/TIMP-1	RRMS	KIS	-056679	053471	,646	-19246	07910
		KG	008396	038900	,995	-08736	10415
	KIS	RRMS	056679	053471	,646	-07910	19246
		KG	065076	047666	,453	-05959	18974
	KG	RRMS	-008396	038900	,995	-10415	08736
		KIS	-065076	047666	,453	-18974	05959
MMP-2/TIMP-2	RRMS	KIS	021028	211467	,999	-52540	56746
		KG	-181935	160094	,592	-57710	21323
	KIS	RRMS	-021028	211467	,999	-56746	52540
		KG	-202963	217144	,728	-76183	35590
	KG	RRMS	181935	160094	,592	-21323	57710
		KIS	202963	217144	,728	-35590	76183
MMP-8/TIMP-2	RRMS	KIS	-171888	145763	,567	-54289	19912
		KG	-227240	146266	,332	-59036	13588
	KIS	RRMS	171888	145763	,567	-19912	54289
		KG	-055353	166518	,982	-47489	36418
	KG	RRMS	227240	146266	,332	-13588	59036
		KIS	055353	166518	,982	-36418	47489

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tablo 7 : Ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Tablo 8 : MMP-8 ile TIMP-1 arasındaki korelasyon

		RRMS	KİS	KG
		TIMP-1	TIMP-1	TIMP-1
MMP-8	Korelasyon katsayısı	0,150	0,040	0,337
	P değeri	0,391	0,896	0,125

Çalışmamızda MMP-8 ile TIMP-1 arasında bir korelasyon bulamadık. Henrik Toft-Hansen ve ark. yapmış olduğu EAE çalışmasında MMP-8'in 90,1 kat arttığı, TIMP-1'in 115,1 kat arttığı tesbit edilmiş. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada MMP-8 ile TIMP-1 arasında bir korelasyon bulamamız hastaların akut atak ile gelmemesi ve tedavi almalarına bağlı olabilir.

Tablo 9 : MMP-2 ile TIMP-2 arasındaki korelasyon

		RRMS	KİS	KG
		TIMP-2	TIMP-2	TIMP-2
MMP-2	Korelasyon katsayısı	0,496	-0,320	0,328
	P değeri	0,002	0,286	0,136

MMP-2 ile TIMP-2 arasındaki bir korelasyon varlığı daha önceki çalışmalardan da biliniyordu. Bizim çalışmamızda da RRMS'li grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir korelasyon olduğu istatistiksel olarak anlamlı çıktı. Bu da MS'li grupta MMP-2'nin hastalığın kronikleştikçe arttığını ve bunun yanında MMP-2'ye spesifik inhibitöründe orantılı olarak arttığını gösterir (106).

Tablo 10 : MMP-8 ile TIMP-2 arasındaki korelasyon

		RRMS	KİS	KG
		TIMP-2	TIMP-2	TIMP-2
MMP-8	Korelasyon katsayısı	-0,185	0,078	-0,184
	P değeri	0,286	0,800	0,411

Çalışmamızda MMP-8 ile TIMP-2 arasında bir oran bulamadık. Daha önce yapılan çalışmalarda da bir oran olmadığı tesbit edilmişti.

Tablo 11 : MMP-2 ile TIMP-1 arasındaki korelasyon

		RRMS	KİS	KG
		TIMP-1	TIMP-1	TIMP-1
MMP-2	Korelasyon katsayısı	-0,250	-0,044	-0,212
	P değeri	0,147	0,887	0,343

Çalışmamızda MMP-2 ile TIMP-1 arasında bir oran bulamadık. Daha önce yapılan çalışmalarda MMP-2 için spesifik inhibitörün TIMP-2 olduğu yayınlanmıştı. Bizde yapmış olduğumuz çalışmada bir oran tesbit edemedik. Bu şekilde geçmiş bilgileri de teyit etmiş olduk.

TARTIŞMA

MS, SSS'ni etkileyen otoimmün bir hastalıktır. Kliniğinde başlıca bulgular; çift görme, bulanık görme, kol ve bacaklarda uyuşukluklar, başdönmesi, denge ve postür bozuklukları görülür. Hastalığın ileri evrelerinde kognitif ve psikiyatrik semptomlar, yürüme bozuklukları ve tekerlekli sandalyeye bağımlı hale gelme, görme bozuklukları gelişebilir (93). Bu çalışmada, MS ve KİS'li bireyler ile sağlıklı Kontrol grubunda, ELISA yöntemi kullanarak serum MMP-2, MMP-8, TIMP-1 ve TIMP-2 oranlarını inceledik.

Yetişkin SSS içinde MMP'lar, muhtemelen ekstrasellüler matriksin (ECM) yeniden şekillenmesinde fonksiyon görür. ECM, hücre göçü ve yaşamı gibi değişik fizyolojik işlevlerin devrini regüle eder (94). Sağlıklı insan beyinde herhangi bir nörolojik hastalığın kanıtı olmadan, MMP-2 ve MMP-9 astosit, mikroglia ve nöronlarda bulunur (95). MMP'lar MS ve EAE'da kemokin ve sitokinleri de parçalar. Kemokin/Sitokin oranının değişmesi CD4 T hücrelerinin Th1 ve Th17 gibi proinflamatuvar hücrelere dönüşmesinde etkilidir. MMP'ler ve TIMP'ler MS'de tedaviye yanıt ve hastalığın aktivitesinde potansiyel bir belirteç olarak kullanılabilir (96, 97, 98).

Birçok MMP'nin oranı MS'de değişir ve farklı seviyede MS'in patolojisinde işe karışır. MS patogenezinde rol alan MMP'ler; MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -12, -13, -14 ve -19'i içerir. Bunların miktarındaki değişiklik serum, lökosit, BOS ve beyin dokusunda tesbit edilir. Örneğin Bar-Or ve arkadaşları monosit kaynaklı MMP-2, MMP-14 ve TIMP-2'nin oranlarını normal bireyler ile karşılaştırdıkları zaman yüksek bulmuşlardır (99). RR-MS'li hastalarda MMP-9 seviyelerinin artışı MRG'de kontrast tutan lezyonlarla ilişkilidir (96).

MMP-2, MMP-7, MMP-9'un yükselmiş seviyeleri MS'li hastalarda rapor edildi (100,101). MMP-2 , anjiogenesis ve vasküler şekillenmede kritik rol oynar (102). Bununla birlikte MMP-2, MS ve EAE'de belirgin şekilde artmaz. Normalde MMP-2 serebral damar civarındaki beyin dokusunda, asositlerin ayaksı çıkıntılarında ve endotelial ve pial yüzeylerde bulunur. İskemik durumlarda MMP-2 aktivasyonu artarak vasküler sistemde lokalize geçişe neden olur (103). Biz de kendi

çalışmamızda daha önce bulunan verilere uygun olarak MMP-2 oranını RRMS grubunda istatistiksek olarak anlamlı ve artmış olarak bulduk.

Birçok yazar MMP-9 ve MMP-9 / TIMP-1 oranını RR-MS'li hastalarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulmuştur (93). Sestra-Garriga ve arkadaşları MMP-9 seviyelerini Primer-progresiv MS'li hastalarda önemli derecede düşük bulmuştur (104). Avolio ve ark. MMP-9 ile TIMP-1 oranını RR-MS'lilerde Primer progresiv MS'lilerden daha yüksek bulmuştur. Fakat MMP-2 ile TIMP-2 oranı Primer progresiv MS'lilerde yüksek bulunmuştur. Buradan MMP-2 ile TIMP-2 oranının hastalığın kronik safhasında önemli olduğu söylenebilir. Bu bilginin onaylanması gerekir diye rapor etmişlerdir (105, 106). C. Avolio ve ark. 2003 yılında yaptıkları çalışmada MMP-2/TIMP-2 oranının hastalığın süresi ve olguların yaşı ile orantılı olarak arttığını bulmuşlardır (106). Bu bulguya paralel olarak yapmış olduğumuz çalışmada MMP-2 ve TIMP-2 oranlarını biz de aynı şekilde artmış olarak bulduk. C. Avolio ve ark. Yapmış olduğu çalışmadan ve bizim verilerimize dayanılarak MMP-2 ve TIMP-2 oranının RRMS'li hastalarda giderek arttığı söylenebilir.

TIMP'ler üzerine yapılan çalışmada, sağlıklı yetişkin beyinde MMP'lerin bazı fonksiyonuna yardım ettiğini ortaya çıkmıştır. Sağlıklı yetişkin örneklerinde 4 çeşit TIMP tesbit edilmiştir. TIMP-4 seviyesi en bol olandır, bunu TIMP-2 ve TIMP-3 izler. Enaz bulunan ise TIMP-1'dir. TIMP-1 ve TIMP-3'ün MMP'leri inhibe etmesi yanında multifonksiyonel rolleri vardır. TIMP-1'in büyüme faktörü etkileri vardır ve antiapoptotiktir. Halbu ki hücrelerdeki TIMP-3 geni apoptotik hücre ölümünü arttırır (103). TIMP-2 sağlıklı nöronlar tarafından beyin her bölgesinden güçlü şekilde sentez edilir (1097). Aktif MMP'ların etkileri bir serum proteini olan α -Makroglobulin tarafından veya dört fizyolojik metalloproteinin inhibitörü tarafından sonlandırılır (108). TIMP-1 knockout farelerde, EAE'nın daha ağır seyrettiği bu nedenle TIMP-1'in koruyucu olabileceği önerilmiştir (109). Biz çalışmamızda TIMP-1 oranı yönünden gruplar arasında bir fark göremedik. TIMP-2 beklendiği gibi yüksek ve anlamlı çıktı.

Comabella ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, IFN- β kullanan 43 RR-MS'li hastada tedaviye başlamazdan önce, başladıktan sonra 3., 6., 12. ve 24 ayda MMP-2,

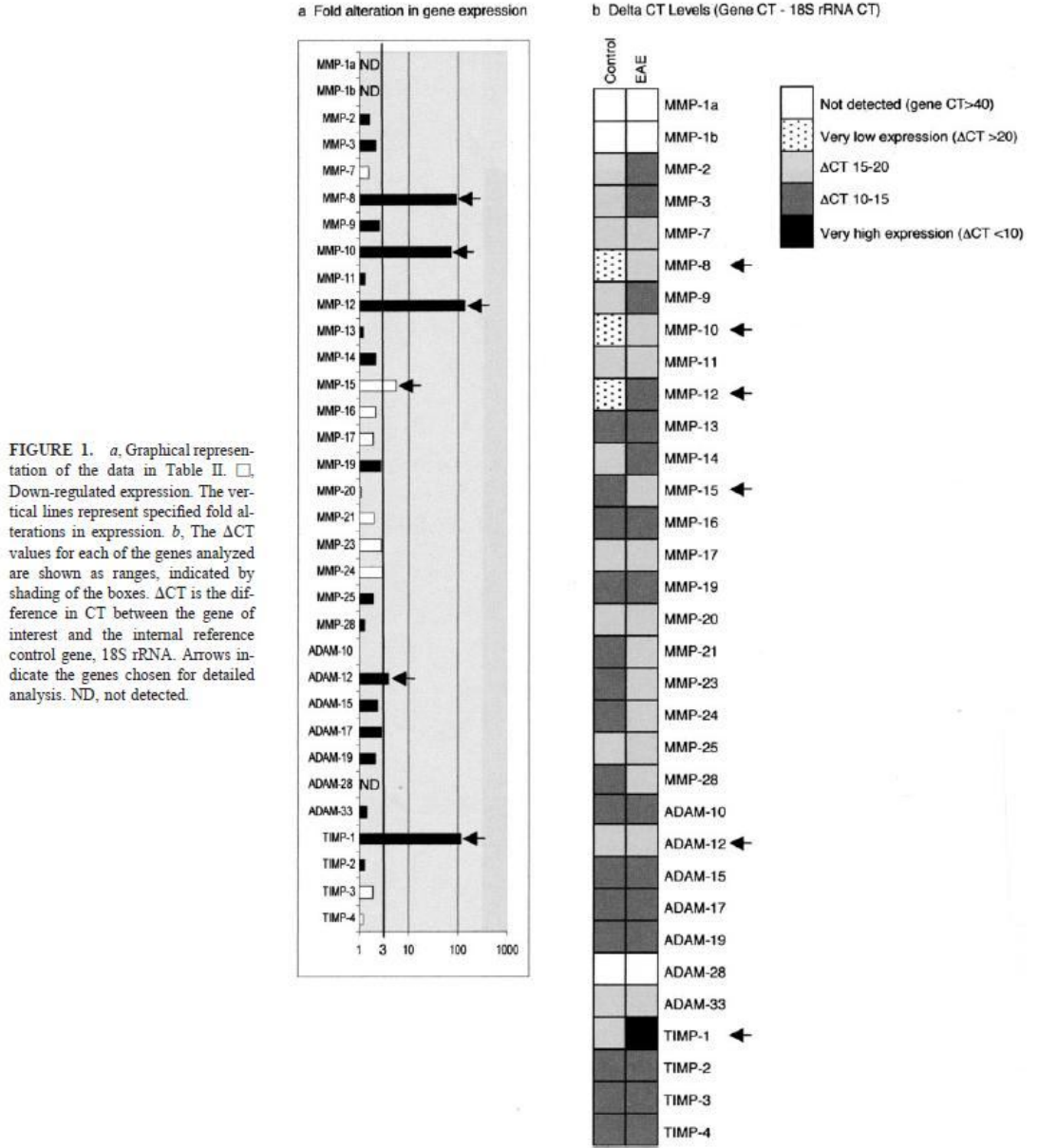
MMP-7, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 oranlarını tesbit etmişler. Tedavi ile birlikte MMP-9 oranı azalırken MMP-2 ve MMP-7 seviyesinde önemli bir değişme olmamış. TIMP-1 seviyesi ilk 3 ay belirgin biçimde artmış ve bu etki zaman içinde de belirgin olarak devam etmiş. TIMP-2 seviyesinde de artış olmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Yapmış oldukları çalışmaya göre erken ve devam eden TIMP-1 artışının IFN- β 'a karşı bir cevap olarak değerlendirilemesine karar vermişler (96).

IFN- β 'a karşı oluşan nötralizan antikorlar hastaların 1/3'de bulunur ve IFN- β 'ya karşı tedavi etkinliğini azaltır. Nötralizan antikorların bulunması MMP seviyelerinde değişikliğe de neden olur (110). Comabella ve arkadaşları tedaviye rağmen TIMP-1 oranlarında bir değişikliğin olmamasını nötralizan antikor gelişimine bağlamışlardır (96).

MMP-8, Kollagenaz-2 veya Nötrofil kollagenaz olarak da bilinir. Uzun bir süre sadece nötrofillerden salındığı düşünülmüş fakat daha sonraları birçok hücreden salındığı tesbit edilmiştir (111). MMP-8 akut ve kronik inflamasyonda santral mediatördür (111). Birçok MMP gibi pro-enzim olarak salgılanır. Bu çevrime nötrofillerden salgılanan reaktif oksijen türleri veya Katepsin G ve kimotripsin gibi proteazlar aracılık eder. Birkez aktive edildiğinde geniş sayıda substratı yıkar. (Kollajenler, diğer ECM parçalarını, serin proteaz inhibitörü ve birçok kemokini). Bu nedenle MMP-9 gibi MMP-8'de inflamatuvar reaksiyonun gelişiminde belirgin rol oynar ve matür nötrofillerin granüllerinde inaktiv enzim olarak depo edilir. Yapılan çalışmalar MMP-8'in akut inflamatuvar yanıt süresince nötrofil toplanmasında etkili olduğunu göstermiştir. Fakat aynı zamanda sonraki aşamalarda inflamasyonun çözülmesine yardım eder (111).

İnsan ve hayvan çalışmalarının her ikisinde MMP-8, SSS'de birçok inflamatuvar hastalıkla ilişkilidir. MMP-8 EAE'lı hayvanların spinal kordunda artmış olarak bulunmuştur (112). Sonuç olarak MMP-8, deneysel bakteriyel menenjitli hayvanların kortekslerinde ve Bakteriyel menenjitli insanların BOS'unda artmış olarak bulunur (113). Biz çalışmamızda MMP-8 oranını Kontrol grubundan düşük bulduk fakat istatistiksel olarak bir fark yoktu. RRMS grubunda ve KİS grubundaki hastaların hiçbiri akut atak ile gelmemişti. MS'in bir hayvan modeli olan EAE'da artmış MMP-8 baskın olarak granülositler tarafından salgılanır (114). Henrik Toft-

Hansen ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış olduğu EAE çalışmasında, MMP-2'nin 1,6 kat arttığı, MMP-8'in 90,1 kat arttığı, TIMP-1'in 115,1 kat arttığı ve TIMP-2'nin 1,3 kat arttığını tesbit etmiştir. Aynı zamanda astrositlerin MMP/TIMP oranının kontrolünde rol oynayabileceğinden şüphelenmişlerdir (114)



Şekil 6 : Henrik Toft-Hansen ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış olduğu ve The Journal of Immunology’de yayımlanan EAE çalışmasında MMP ve İnhibitörlerinin kontrollere göre ne kadar değiştiğini gösteren grafik (114).

SONUÇLAR

1. MMP-2 Ortalama değeri (ng/ml olarak)
 - a. RRMS grubunda (336,69 ±16,46 SD), Kontrol Grubundan (255,64 ±64,78) yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlıydı. (P=0,002)
 - b. KİS grubunda (310,31 ±50,67 SD), Kontrol grubundan (255,64 ±64,78) yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi. (P=0,028)
 - c. RRMS ile KİS Grubu arasında bir fark yoktu. (P=0,537)
2. MMP-8 Ortalama değeri (ng/ml olarak)
 - a. RRMS grubunda (65,71 ±13,13), Kontrol grubundan (73,82 ±12,40) düşüktü fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi. (P=0,958)
 - b. KİS grubunda (99,54 ±19,39), Kontrol grubundan (73,82 ±12,40) yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi. (P=0,609)
 - c. RRMS ile KİS grubu arasında istatistiksel olarak fark yoktu. (P=0,402)
 - d. MMP-8 değerinin RRMS grubunda düşük olması, KİS grubunda ise Kontrol grubuna göre yüksek olması aldıkları İnterferon β tedavisine bağlanabilir.
3. TIMP-1 Ortalama değeri (ng/ml olarak)
 - a. RRMS grubu (531,91 ±207,38) ile Kontrol grubu (515,86 ±180,155) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. (P=0,986)
 - b. KİS grubu (528,08 ±155,09) ile Kontrol grubu (515,86 ±180,155) arasında anlamlı bir fark yoktu. (P=0,995)
 - c. RRMS ile KİS grubu arasında bir fark yoktu. (P=1,000)
4. TIMP-2 Ortalama değeri (ng/ml olarak)
 - a. RRMS grubu (196,69 ±17,41), Kontrol grubu (125,27 ±5,74) arasında istatistiksel olarak birbirinden farklıydı. (P=0,001)

- b. KİS grubu ($165,85 \pm 7,36$), Kontrol grubu ($125,27 \pm 5,74$) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. ($P=0,001$)
- c. RRMS ile KİS grubu arasında fark yoktu. ($P=0,291$)
5. MMP-8/TIMP-1 oranı açısından gruplar arasında fark yoktu. Atak sırasında artması gereken MMP-8 değerinin gruplar arasında farklı olmamasının sebebi akut atak olmamasına ve aldıkları İnterferon tedavisine bağlanabilir.
6. MMP-2/TIMP-2 oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
7. MMP-8/TIMP-2 oranı açısından gruplar arasında fark yoktu.
8. Ölçülen parametrelerin arasındaki korelasyon incelendiğinde (Pearson korelasyon ile) sadece MMP-2 ile TIMP-2 arasında bir korelasyon vardı. ($P=0,002$ $r=0,496$) Diğer gruplar arasında bir korelasyon tesbit edilemedi.

KAYNAKLAR

1. J H Millar. **Multiple sclerosis.** Br Med J. 1980 January 19; 280(6208): 184–185
2. M A Agius. **Multiple sclerosis.** West J Med. 1995 November; 163(5): 473
3. C M Poser. **Onset symptoms of multiple sclerosis.** J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1995 February; 58(2): 253–254
4. Richard W Orrell. **Multiple Sclerosis: The History of a Disease.** J R Soc Med. 2005 June; 98(6): 289
5. T J Murray. **Diagnosis and treatment of multiple sclerosis.** BMJ. 2006 March 4; 332(7540): 525–527. doi: 10.1136/bmj.332.7540.525
6. Rohit Bakshi, Alireza Minagar, Zeenat Jaisani, and Jerry S. Wolinsky. **Imaging of Multiple Sclerosis: Role in Neurotherapeutics.** NeuroRx. 2005 April; 2(2): 277–303
7. B R Casey and A J Mason. **Oligoclonal immunoglobulins and multiple sclerosis.** Br Med J. 1979 April 28; 1(6171): 1149
8. McDonald WI, Compston A, Edan G. **Recommended diagnostic criteria for Multiple sclerosis : Guidelines from the international panel on the diagnosis of Multiple sclerosis.** Ann. Neurol 2001; 50:840-46
9. Sigliti-Henrietta Pelidou, Sotirios Giannopoulos, Sotiria Tzavidi, Georgios Lagos, and Athanassios P Kyritsis. **Multiple sclerosis presented as clinically isolated syndrome: the need for early diagnosis and treatment.** Ther Clin Risk Manag. 2008 June; 4(3): 627–630
10. L Leocani, M Rovaris, F M Boneschi, S Medaglini, P Rossi, V Martinelli, S Amadio, and G Comi. **Multimodal evoked potentials to assess the evolution of multiple sclerosis: a longitudinal study.** J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006 September; 77(9): 1030–1035
11. T A Laily. **Epidemiology of multiple sclerosis.** Br Med J. 1980 January 26; 280(6209): 247–248
12. I A F van der Mei, A-L Ponsonby, T Dwyer, L Blizzard, R Simmons, B V Taylor, H Butzkueven, and T Kilpatrick. **Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study.** BMJ. 2003 August 9; 327(7410): 316. doi: 10.1136/bmj.327.7410.316

13. Maya R, Gershwin ME, Shoenfeld Y. **Hepatitis B virus (HBV) and autoimmune disease.** Clin Rev Allergy Immunol. 2008 Feb;34(1):85-102
14. J Nikoskelainen, M Panelius, and A Salmi. **E.B. virus and multiple sclerosis.** Br Med J. 1972 October 14; 4(5832): 111
15. Stephen Sawcer. **The complex genetics of multiple sclerosis: pitfalls and prospects.** Brain. 2008 December; 131(12): 3118–3131
16. International Multiple sclerosis Genetics Consortium (IMSGC). **Refining genetic associations in Multiple Sclerosis.** Lancet Neurol. 2008; 7:567-69
17. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. **Heterogeneity of Multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination.** Ann Neurol 2000; 47:707-717
18. C. Stadelmann, W. Brück, **Interplay between mechanism of damage and repair in Multiple Sclerosis,** J. Neurol 2008; 255:12-18
19. Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. **Axonal damage in acute Multiple sclerosis lesions.** Brain 1997; 120:393-99
20. Charles M. Poser, Vesna V. Brinar. **The Nature of Multiple Sclerosis.** Clinical Neurology and Neurosurgery 2006; 106:159-171
21. Lisa K. Peterson and Robert S. Fujinami. **Inflammation, Demyelination, Neurodegeneration and Neuroprotection in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis.** J Neuroimmunol. 2007 March; 184(1-2): 37–44
22. Sain-Marie Lucas, Nancy J. Rothwell, Rosemary M. Gibson. **The role of inflammation in CNS injury and disease.** British Journal of Pharmacology 2006; 147:232-240
23. A W Johnson, J M Land, E J Thompson, J P Bolaños, J B Clark, and S J Heales. **Evidence for increased nitric oxide production in multiple sclerosis.** J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1995 January; 58(1): 107
24. Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. **New concepts in the immunopathogenesis of Multiple sclerosis.** Nat. Rev. Neurosci. 2002; 3:291-301

25. Suhayl Dhib-Jalbut, Douglas L. Arnold, Don W. Cleveland, M. Fisher, Robert M. Friedlander. **Neurodegeneration and neuroprotection in Multiple Sclerosis and other neurodegenerative diseases.** Journal of Neuroimmunology 2006; 176: 198-215
26. Patrick Blanco, A. Karolina palucka, V. Pascual, J. Banchereau. **Dendritic cells and Cytokines in Human inflammatory and autoimmune diseases.** Cytokine Growth factor Rev. 2008.2 19(1): 41-52
27. L.G. Filion, G. Graziani Bowering, D. Matusevicius, M.S. Freedman. **Monocyte-derived cytokines in Multiple Sclerosis.** Clin. Exp. Immunol. 2003; 131:324-334
28. D. Franciotta, M. Solvetti, F. Lolli, B. Serafini, F. Aloisi. **B Cells and Multiple Sclerosis.** Lancet Neurol. 2008; 7 852-858
29. M. Saresella, I. Marventano, F. Rosa Guerini, M. Zanzottera, S. Delbue. **Myelin Basic protein-specific T Lymphocytes proliferation and programmed Cell Death in Demyelinating Disease.** Clin. Immunol. 2008.12 ; 129(3) : 509-517
30. Svetlana M. Stamatovic, Richard F. Keep, Anuska V. Andjelkovic. **Brain endothelial Cell-Cell Junctions : How to “Open” the Blood Brain Barrier.** Department of pathology, Neurology and Molecular and Integrative Physiology, University and Michagan Ann Arbor MI 48109 USA
31. Waubant E. **Biomarkers indicative of blood-brain barrier distruption in Multiple sclerosis.** Dis. Markers. 2006; 22:235-244
32. Yong VW, Power C, Forsyth P, Edwards DR. **Metalloproteinases in biology and pathology of nervous system.** Nat. Rev Neurosci 2001; 2(7):502-11
33. Abraham M, Shapiro S, Karni A, Weiner HL, Miller A, **Gelatinases (MMP-2 and MMP-9) are preferentially expressed by Th1 vs. Th2 cells.** J Neuroimmunol 2005; 163(1-2): 157-64

34. Gary A Rosenberg. **Matrix metalloproteinase and their multiple roles in neurodegenerative disease.** *Lancet Neuro* 2009.8; 205-16
35. Brew K, Dinakarbandian D, Nagase H. **Tissue inhibitors of metalloproteinases: Evolution, structure and function.** *Biochim Biophys Acta* 2000; 1477:267-83
36. Ozenci V, Rinaldi L, Teleshove N, Matusevicius D, Kivisakk P, Kouwenhoven M, Link H. **Metalloproteinases and their tissue inhibitors in Multiple sclerosis.** *J. Autoimmun* 1999; 12:297-303
37. Chris H Polman and B M J Uitdehaag. **Drug treatment of multiple sclerosis.** *West J Med.* 2000 December; 173(6): 398–402
38. Bashir K, Buchwald L, Coyle P, Freedman M, jeffrey DR, Markowitz C. **Optimizing immunomodulatory therapy for MS patients.** *MS Care* 2002; 3-7
39. Syed A Rizvi, Edward Kim, and Jennifer Moodie. **Glatiramer in the treatment of multiple sclerosis.** *Int J Nanomedicine.* 2006 September; 1(3): 283–289
40. Richard A Rudick and Michael A Panzara. **Natalizumab for the treatment of relapsing multiple sclerosis.** *Biologics.* 2008 June; 2(2): 189–199
41. V. W. Yong, F. Giuliani, M. Xue, A. Bar-Or, L. M. Metz. **Experimental models of neuroprotection relevant to Multiple Sclerosis.** *Neurology* 2007;68 S32-37
42. Dusanka S. Skundric, R. Dai, Vaagn L. Zakarian, Weili Zhou. **Autoimmune-induced preferential depletion of myelin-associated glycoprotein (MAG) is genetically regulated in relapsing EAE (B6 x SJL) FI mice.** *Molecular Neurodegeneration* 2008. 3:7
43. Jiehao Zhou, Norman W. Marten, Cornelia C. Bergmann, Wendy B. Macklin, David R. Hinton, Stephan A. Stohlman. **Expression of Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor during Viral Encephalitis.** *Journal of Virology* 2005.4; 4764-4773
44. Pagenstecher A, Stalder AK, Kincaid CL, Shapiro SD, Campell IL. **Differential expression of Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix**

- metalloproteinase genes in the Mouse central nervous system in normal and inflammatory states.** Am J. Pathol 1998; 152(3):729-41
45. David A. Hafler. **Multiple Sclerosis.** The Journal of Clinical Investigation 2004; 113:788-794
 46. Alastair Compston, Alasdair Coles, **Multiple Sclerosis,** Lancet 2008 ; 372:1502-17
 47. Abou Zeid NE, Weinshenker BG, Keegan BM. **Gait apraxia in multiple sclerosis.** Can J Neurol Sci. 2009 Sep;36(5):562-5
 48. Pula JH, Reder AT. **Multiple sclerosis. Neuro-ophthalmic manifestations.** Curr Opin Ophthalmol. 2009 Nov;20(6):467-75
 49. Obuchowska I, Mariak Z. **Internuclear ophthalmoplegia--causes, symptoms and management.** Klin Oczna. 2009;111(4-6):165-7
 50. Valentino P, Cerasa A, Chiriaco C, Nisticò R, Pirritano D, Gioia M, Lanza P, Canino M, Del Giudice F, Gallo O, Condino F, Torchia G, Quattrone A. **Cognitive deficits in multiple sclerosis patients with cerebellar symptoms.** Mult Scler. 2009 Jul;15(7):854-9
 51. Bodling AM, Denney DR, Lynch SG. **Cognitive Aging in Patients with Multiple Sclerosis: A Cross-Sectional Analysis of Speeded Processing.** Arch Clin Neuropsychol. 2009 Oct 9
 52. J A Twomey and M L Espir. **Paroxysmal symptoms as the first manifestations of multiple sclerosis.** J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1980 April; 43(4): 296–304
 53. Lydia A. Chwastiak and Dawn M. Ehde. **Psychiatric Issues in Multiple Sclerosis.** Psychiatr Clin North Am. 2007 December; 30(4): 803–817
 54. Kelley BJ, Rodriguez M. **Seizures in patients with multiple sclerosis: epidemiology, pathophysiology and management.** CNS Drugs. 2009;23(10):805-15
 55. Andreasen AK, Spliid PE, Andersen H, Jakobsen J. **Fatigue and processing speed are related in multiple sclerosis.** Eur J Neurol. 2009 Oct 1
 56. Baker M, Fisher K, Lai M, Duddy M, Baker S. **Slow orthostatic tremor in multiple sclerosis.** Mov Disord. 2009 Jul 30;24(10):1550-3

57. Hu W, Lucchinetti CF. **The pathological spectrum of CNS inflammatory demyelinating diseases.** Semin Immunopathol. 2009 Sep 25
58. Miller A, Bourdette D, Chen J. **Multiple sclerosis.** Continuum 1999 ; 5:7-185
59. Kurtzke JF. **Rating neurologic impairment in Multiple sclerosis (EDSS).** Neurology 1983; 33(11):1444-52
60. Polman CH, Reingold SC, Edan G. **Diagnostic criteria for Multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”.** Ann Neurol 2005; 50:121-27
61. M D Johnson, P Lavin, and W O Whetsell, Jr. **Fulminant monophasic multiple sclerosis, Marburg's type.** J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1990 October; 53(10): 918–921.
62. Li Y, Xie P, Fan X, Tang H. **Balò's concentric sclerosis presenting with benign clinical course and multiple sclerosis-like lesions on magnetic resonance images.** Neurol India. 2009 Jan-Feb;57(1):66-8
63. De Seze J. **Borderlines types of multiple sclerosis.** Rev Neurol (Paris). 2006 Jan;162(1):137-43
64. Tselis AC, Lisak RP. **Other demyelinating diseases.** Adv Neurol. 2006;98:335-49
65. Gulay Alper, Rock Heyman, and Li Wang. **Multiple sclerosis and acute disseminated encephalomyelitis diagnosed in children after long-term follow-up: comparison of presenting features.** Dev Med Child Neurol. Author manuscript; available in PMC 2009 June 30
66. Hazin R, Khan F, Bhatti MT. **Neuromyelitis optica: current concepts and prospects for future management.** Curr Opin Ophthalmol. 2009 Nov;20(6):434-9
67. Elíasdóttir OJ, Olafsson E, Kjartansson O. **Multiple sclerosis--symptoms, diagnosis and treatment.** Laeknabladid. 2009 Sep;95(9):583-9
68. Ebers GC. **Oligoclonal banding in MS.** Ann N Y Acad Sci. 1984;436:206-12
69. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW. **New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols.** Ann Neurol. 1983 Mar;13(3):227-31

70. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS. **Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis.** *Ann Neurol.* 2001 Jul;50(1):121-7
71. Richey ET, Kooi KA, Tourtellotte WW. **Visually evoked responses in multiple sclerosis.** *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1971 Jun;34(3):275-80
72. L Leocani, M Rovaris, F M Boneschi, S Medaglini, P Rossi, V Martinelli, S Amadio, and G Comi. **Multimodal evoked potentials to assess the evolution of multiple sclerosis: a longitudinal study.** *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006 September; 77(9): 1030–1035
73. Huttner HB, Schellinger PD, Struffert T, Richter G, Engelhorn T, Bassemir T, Mäurer M, Garcia M, Schwab S, Köhrmann M, Doerfler A. **MRI criteria in MS patients with negative and positive oligoclonal bands: equal fulfillment of Barkhof's criteria but different lesion patterns.** *J Neurol.* 2009 Jul;256(7):1121-5
74. Sigliti-Henrietta Pelidou, S. Giannopoulos, S. Tzavidi, G. Lagos. **Multiple Sclerosis presented as clinically isolated syndrome : The need for early diagnosis and treatment.** *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2008;4(3) 627-630
75. Miller AE, Lublin FD, Coyle PK. **Diagnosis and differential diagnosis in Multiple Sclerosis in clinical practice.** Martin Dunitz Ltd London and New York 2003; 55-102
76. Yong VW. **Metalloproteinases: mediators of pathology and regeneration in the CNS.** *Nat. Rev. Neurosci* 2005; 6:931-44
77. Kathryn M. Thrailkill, Cindy S. Moreau, G. Cockrell, P. Simpson, R. Goel. **Physiological Matrix metalloproteinase concentrations in serum during childhood and adolescence, using Luminex Multiplex technology.** *Clin Chem. Lab. Med.* 2005; 45(12): 1392-1399

78. Ethell IM, Ethel DW. **Matrix metalloproteinases in brain development and remodeling: synaptic functions.** J Neurosci Res 2007
79. Nagase H. **Activation mechanism of matrix metalloproteinases.** Biol. Chem. 1997; 378:151-60
80. Hyun-Jeong ra, William C. Parks. **Control of matrix metalloproteinase catalytic Activity.** Matrix Biol. 2007 October; 26(8): 587-596
81. Sekine Aizawa Y, Hama E, Watanabe K, Tsubaki S, Kanai Azuma M, Kanai Y. **Matrix metalloproteinase system in brain: Identification and characterization of brain specific MMP highly expressed in cerebellum.** Eur J. Neurosci 2001; 13(5):935-48
82. Yong VW, Zabad RK, Agrawal S, Goncalves Dasilva A, Metz LM. **Elevation of Matrix metalloproteinases (MMPs) in Multiple sclerosis and impact of immunomodulators.** J Neurol Sci. 2007
83. Chandler S, Coates R, Gearing A, Lury J, Wells G, Bone E **Matrix metalloproteinases degrade myelin basic protein.** Neuroscience Letters 1995; 201:223-26
84. Rosenberg G.A., Dencoff J.E., Correa Jr. N., Reiners M, Ford C.C. **Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in Multiple sclerosis: Relation to blood-brain barrier injury.** Neurol. 1996; 46:1626-1632
85. Correlate J, Bassani Molinas Mde L, **Temporal variations of adhesion molecules and Matrix metalloproteinases in the course of MS.** J Neuroimmunol 2003; 140(1/2):198-209
86. Lorenzl, D.S. Albers, P.A. LeWitt, J.W. Chirichigno, S.L. Hilgenberg, M.E. Cudkowicz, M.F. Beal. Tissue inhibitors of Matrix metalloproteinases are elevated in cerebrospinal fluid of Neurodegenerative diseases. **Journal of the Neurological Sciences 2003; 207:71-76**

87. Jaworski DM, Soloway P, Caterina J, Falls WA. **Tissue inhibitor of Metalloproteinase-2 (TIMP-2) deficient mice display motor deficits.** J Neurobiol 2006; 66(1):82-94
88. Murphy G, Docherty AJ. **The matrix metalloproteinases and their inhibitors.** Am J Respir Cell Mol Biol. 1992 Aug;7(2):120-5.
89. R & D Systems **Quantikine Human MMP-2 Immunoassay (DMP2F0)**
Product catalog
90. R & D Systems **Quantikine Human MMP-8 Immunoassay (DMP800)**
Product catalog
91. R & D Systems **Quantikine Human TIMP-1 Immunoassay (DTM100)**
Product catalog
92. R & D Systems **Quantikine Human TIMP-2 Immunoassay (DTM200)**
Product catalog
93. Anne M. Manicone, John K. McGuire. **Matrix Metalloproteinase as modulators of Inflammation.** Semin Cell Dev Biol. 2008 Feb.; 19(1): 34-41
94. Smriti M. Agrawal, Lorraine lau, V. Wee Yong **MMPs in the central nervous system : Where the good guys go bad.** Seminars in Cell & Developmental Biology 2008; 19:42-51
95. Luo J. **The role of Matrix metalloproteinases in the morphogenesis of the cerebellar cortex.** Cerebellum 2005; 4(4): 239-245
96. M. Comabella, J. Rio, C. Espejo, M. Ruiz de Villa, H. Al-zayat. **Changes in matrix metalloproteinases and their inhibitors during Interferon-beta treatment in Multiple Sclerosis.** Clinical Immunology 2008.9 ; 10:1016
97. Y. Galboiz, S. Shapiro, N. Lahat, H. Rawashdeh, A. Miller **Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors as markers of disease subtype and response to interferon-beta therapy in relapsing and secondary-progressive multiple sclerosis patients.** Ann Neurol. 2001; 50(443-451)
98. E. Fainardi, M. Castellazi, T. Bellini, M.C. Manfrinato, E. Baldi, I. Casetta, E. Paolino, E. Granieri, F. Dallochio. **Cerebrospinal fluid and serum levels and**

- intrathecal production of active matrix metalloproteinase-9 as markers of disease activity in patients with multiple sclerosis.** *Mult. Scler.* 2006; 12(294-301)
99. Amit Bar-Or, Robert K. Nuttall, Martin Duddy, Andrea Alter, Ho Jin Kim, Igal Ifergan, Caroline J. Pennington, Pierre Bourgoin. **Analyses of all Matrix metalloproteinase members in leukocytes emphasize monocytes as major inflammatory mediators in Multiple Sclerosis.** *Brain* 2003; 126:2738-2749
100. Lillian A. Buhler, Ramsey Samara, E. Guzman, Carole L. Wilson **Matrix metalloproteinase -7 facilitates immune Access to the CNS in experimental autoimmune encephalomyelitis.** *BMC Neuroscience* 2009; 10:17
101. A. Rovira canellas, A. Rovira Gols, J. Rio Izquierdo, M. Tintore Subirana, X. Montalban Gairin. **Idiopathic inflammatory-demyelinating diseases of the Central Nervous System.** *Neuroradiology* 2007; 49:393-409
102. Silletti S, Kessler T, Goldberg J, Boger DL, Cheresh DA. **Disruption of matrix metalloproteinases2 binding to integrin alpha vbeta 3 by an inorganic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:119-124
103. Gary A. Rosenberg. **Matrix Metalloproteinases in Neuroinflammation.** *GLIA* 2002; 39:279-291
104. Korn T, Reddy J, Gao W, Bettelli E, Awasthi A, Petersen TR. **Myelin specific regulatory T cells accumulate in the CNS but fail to control autoimmune inflammation.** *Nat Med* 2007; 13(4): 423-31
105. Avolio C, Flippi M, Tortorella C, Rocca M.A., Ruggieri M, Agosta F, Tomassini V. **Serum MMP-9/TIMP-1 and MMP-2/TIMP-2 ratios in Multiple sclerosis: Relationships with different magnetic resonance imaging measures of disease activity during IFN- β 1a treatment.** *Mult Scler* 2005; 11:441-446
106. Carlo Avolio, Maddalena Ruggieri, Fabrizio Giuliani, Grazia maria Liuzzi, R. Leante, P. Riccio, P. Livrea, M. Trojano. **Serum MMP-2 and MMP-9 are**

- elevated in different Multiple Sclerosis subtypes.** Journal of Neuroimmunology 2003; 136:46-53
107. Pagenstecher A, Stalder AK, Kincaid CL, Shapiro SD, Campbell IL. **Differential expression of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase genes in the mouse central nervous system in normal and inflammatory states.** Am J Pathol. 1998 Mar;152(3):729-41
108. V. Wee Yong, Smriti M. Agrawal, David P. Stirling **Targeting MMPs in Acute and Chronic Neurological Conditions.** Neurotherapeutic 2007 october ; 4:580-589
109. Sean R. Werner, Joseph E. Dotzlaw, Rosamund C. Smith. **MMP-28 as a regulator of myelination.** BMC Neuroscience 2008; 9:83
110. M. Trojano, C. Avolio, G.M. Liuzzi, M. Ruggieri, G. Defazio, M. Liguori, M.P. Santacroce, D. Paolicelli, F. Giuliani, P. Riccio, P. Livrea. **Changes of serum SICAM-1 and MMP-9 induced by RIFN β -1b treatment in relapsing-remitting MS.** Neurology 1999; 53:1402
111. Philippe Van Lint, Claude Libert. **Matrix metalloproteinase-8: Cleavage can be decisive.** Cytokine & Growth Factor reviews 2006; 17:217-223
112. Nygardas PT, Hinkkanen AE. **Up-regulation of MMP-8 and MMP-9 activity in the BALB/c Mouse spinal cord correlates with the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis.** Clin Exp Immunol 2002; 128:245-54
113. Leppert D, Leib SL, Grygar C, Miller KM, Schaad UB, Hollander GA. **MMP-8 and MMP-9 in cerebrospinal fluid during bacterial meningitis: association with blood-brain barrier damage and neurological sequelae.** Clin Infect Dis 2000; 31:80-4
114. Toft-Hansen H, Nuttall RK, Edwards DR, Owens T. **Key metalloproteinases are expressed by specific cell types in experimental autoimmune encephalomyelitis.** J Immunol. 2004 Oct 15;173(8):5209-18.

Ek-1 : MS'de Poser tanı kriterleri 1983 (69).

I. KESİN MS

- **Klinik kesin MS**

A1. 2 atak, 2 ayrı lezyonun klinik bulguları

A2. 2 atak, 1 lezyonun klinik bulgusu ve 1 diğer lezyonun paraklinik bulgusu

- **Laboratuvar destekli kesin MS (LDKMS)**

B1. 2 atak, 1 lezyonun klinik veya paraklinik bulgusu + BOS'da oligoklonal band / IgG

B2. 1 atak, 2 ayrı lezyonun klinik bulgusu ve BOS'da OKB / IgG

B3. 1 atak, 1 lezyonun klinik ve 1 diğer lezyonun paraklinik bulgusu + BOS'da OKB / IgG

II. OLASI MS

- **Klinik olası MS**

C1. 2 atak, 1 lezyonun klinik bulgusu

C2. 1 atak, 2 lezyonun klinik bulgusu

C3. 2 atak, 1 lezyonun klinik bulgusu ve 1 diğer lezyonun paraklinik bulgusu

- **Laboratuvar destekli olası MS**

D1. 2 atak, nörolojik muayene normal, paraklinik bulgu yok. BOS OKB / IgG

NOT : Atak 24 saatten fazla sürmeli, başka bir atağı değerlendirmek için önceki atak ile aralarında en az 1 ay düzelme periyodu ve farklı lokalizasyon göstermeli

Paraklinik Bulgu : Uyarılmış potansiyeller, görüntüleme yöntemleri

BOS Bulgusu : BOS'da OKB varlığı, IgG sentezi

Ek-2 : MS'de Modifiye McDonald tanı kriterleri 2005 (60).

McDONALD MS TANI KRİTERLERİ (2005 Revize)		
ATAK	LEZYON	İLAVE GEREKENLER
2 veya 2+	2 veya 2+	YOK. Klinik kanıtlar yeterli, ilave kanıt arzu edilir fakat MS ile tutarlı olmalı
2 veya 2+	1	MRI'da mekanda yayılma (Ek-4) veya MS ile tutarlı 2 veya 2+ MRI lezyonu ve + BOS veya Diğer bir bölgede klinik atak oluncaya kadar beklenir
1	2 veya 2+	MRI'da zamanda yayılma (Ek-4) veya 2. Klinik atak
1	1	MRI'da mekanda yayılma (Ek-4) veya MS ile tutarlı 2 veya 2+ MRI lezyonu ve + BOS ve MRI'da zamanda yayılma (Ek-4) veya 2. Klinik atak
0	1 veya 1+	1 yılda hastalığın progresyonu ve Pozitif MRI (9 T2 lezyonu veya (4 veya 4+ lezyon VEP ile) Pozitif Spinal kord MR (2 veya 2+ fokal T2 lezyonu) Pozitif BOS

Ek-3 : Barkoff ve Tintore MRG kriterleri

Aşağıdaki 4 özellikten 3'ü bir arada bulunmalıdır.

- Gadolinium (Gd) tutan bir lezyon veya Gd tutan lezyon yoksa 9 tane T2'de hiperintens lezyon
- En az 1 infratentoriyel lezyon
- En az 1 jukstakortikal lezyon
- En az 3 periventriküler lezyon

Ek-4 : MRG'de Zamansal ve Bölgesel dağılımı gösteren bulgular

I. Zamansal dağılımı gösteren MR takip kriterleri

- a. İlk MR olayın başlangıcından 3 ay ve daha sonra çekilmiş ve Gd tutan lezyon var ise klinik tabloyu tam yansıtmasa da yeterlidir. Eğer kontrast tutan lezyon yok ise 3 ay sonra MR tekrarlanır. Yeni T2 ve Gd tutan lezyon var ise kriter tamdır.
- b. Eğer ilk MR klinik tablonun başlangıcından itibaren 3 ay veya daha kısa bir sürede yapılmış ise ikinci bir MR 3 ay veya daha sonra tekrarlanır. Yeni Gd tutan lezyon varsa yeterlidir. Ancak kontrast tutan yeni lezyon görülmez ise yine 3 ay sonra çekilen yeni MR'da T2'deki yeni lezyonun yada kontrast tutan lezyonun varlığı tanı için yeterlidir.

II. Bölgesel dağılımı gösteren MR bulguları

- a. Beyinde 9 veya daha fazla T2 lezyonu veya
- b. Medulla Spinalis'de 2 veya daha fazla lezyon veya
- c. Beyin'de 4-8 lezyon + Medulla Spinalis'de 1 lezyon veya
- d. Patolojik VEP bulgusu ile birlikte beyinde 4-8 lezyon veya beyinde 4'den az lezyon ile birlikte Medulla Spinalis'de 1 lezyon

Ek 5

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ NÖROLOJİ ANABİLİM DALI
“MULTİPLE SKLEROZ’LU HASTALARDA SERUM MMP-8, MMP-
2, TİMP-1 VE TİMP-2 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ”
ÇALIŞMASI İÇİN

HASTA ONAM FORMU

Adı ve Soyadı :

Dosya Numarası :

Tarih :

Multiple Sklerozlu hastalarda yapılacak olan bu çalışmada planlanan tıbbi müdahalelerin Doç. Dr. Ertuğrul BOLAYIR ve Dr. İbrahim TERLEMEZ ve onların gözetimindeki kişiler tarafından gerçekleştirilmesine, tahlil için kullanılmasına, gerekli miktarda (4cc) kanın alınmasına izin veriyorum. Kanın alınması sonucu oluşabilecek komplikasyonlar tarafıma anlatıldı.

Çalışmayı yürüten doktorlar ve onların gözetimindeki kişiler tarafından hastanın dökümanlarının kimlik bilgileri gizli kalmak koşulu ile Cumhuriyet Üniversitesi Nöroloji kliniğinde saklanmasına ve gerekirse Tıp bilimine hizmet amacı ile kullanılmasına veya yayımlanmasına izin veriyorum.

Adı ve Soyadı

İmza

Ek 6

MULTİPL SKLEROZ HASTA TAKİP FORMU

Verilen Numara :

Adı ve Soyadı :

Şikayet – Hikayesi :

Yaşı :

Cinsiyeti :

Tel No. :

MS Tipi :

EDSS :

Atakları :

Özgeçmişi ve Soygeçmişi :

Nörolojik Muayene Bulguları :

LABORATUAR ve GÖRÜNTÜLEMELERİ

Beyin MRI :

BOS Oligoklonal Bant ve IgG Indexi