

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA SERUM CHEMERİN
DÜZEYİNİN İNCELENMESİ

Ahmet ÇETİZ
Tbp. Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi
Nöroloji Anabilim Dalının Nöroloji Programı İçin Öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Şeref DEMİRKAYA
Prof. Tbp. Kd. Alb.

ANKARA
2015

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına:

“Multipl Sklerozlu hastalarda serum chemerin düzeyinin incelenmesi”
konulu bu çalışma jürimiz tarafından Nöroloji Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Tbp. Kd. Alb. Şeref DEMİRKAYA

Başkan : Prof. Tbp. Kd. Alb. Şeref DEMİRKAYA

Üye : Prof. Tbp. Kd. Alb. Ümit Hıdır ULAŞ

Üye : Prof. Dr. Ceyla İRKEÇ

ONAY:

Tbp. Yzb. Ahmet ÇETİZ'in 29.06.2015 tarihinde savunduğı bu tez
Akademi Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun
görölmüş ve kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 23 Ekim 2014 gün ve 50687469-0530-317-14/1555-317 sayılı yazısı ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada multipl skleroz hastalarında serum chemerin düzeyinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Tbp. Kd. Alb. Şeref DEMİRKAYA başta olmak üzere, tez çalışmasını bizlere öneren, çalışmanın her safhasında desteğini hiç eksik etmeyen çok değerli hocam Prof. Tbp. Kd. Alb. Uğur MUŞABAK, serum örneklerinin saklanması çok emeği olan Uzm. Biyolog Aysel PEKEL, laboratuvarlarını kullanmamıza fırsat veren Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Temel İmmünoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Tbp. Kd. Alb. Nurittin ARDIÇ, serum örneklerini çalışan ve gayretlerini unutmayacağım Uzm. Biyolog Sema ÖREN ve Biyolog Hacer MISIRLIOĞLU, tez çalışmasının istatistiğini titizlikle yapan Dr. Sanem DİLMEN, uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında bana olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, öğrendiklerimde ve nörolojiyi sevmemde büyük katkısı olan ve öğrencisi olmaktan onur duyduğum sayın hocalarım Prof. Tbp. Kd. Alb. Zeki ODABAŞI, Prof. Tbp. Kd. Alb. Ümit Hıdır ULAŞ, Doç. Tbp. Yb. Oğuzhan ÖZ, Doç. Tbp. Bnb. Mehmet YÜCEL, Yrd. Doç. Hv. Tbp. Kd. Yzb. Hakan AKGÜN, yardımları nedeniyle uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma, klinik personeline, eşime ve oğullarıma sonsuz teşekkür ederim.

Ahmet ÇETİZ

Tbp. Yzb.

ÖZET

MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA SERUM CHEMERİN DÜZEYİNİN İNCELENMESİ

Multipl Skleroz (MS) merkezi sinir sisteminin (MSS) birçok bölgesinde demiyelinizasyon, multifokal inflamasyon, reaktif gliosis ve aksonal kayıpla karakterize T hücre aracılı otoimmün bir hastalıktır. Daha çok 20-40 yaş arasındaki erişkinleri etkiler ve ciddi derecede nörolojik özür lülü ğ e neden olabilir. Chemerin, G protein ba ğ lı reseptör ChemR23'ün do ğ al ligandı olarak izole edilmiştir. Chemerin, ChemR23 eksprese eden lökosit popülasyonları özellikle immatür plazmasitoid dendritik hücreler olmak üzere, immatür miyeloid dendritik hücreler, makrofajlar ve natural killer hücreler için kemotaktik bir rol oynar. ChemR23 eksprese eden hücrelerin crohn hastalı ğ ı, ülseratif kolit, lupus eritematozus, psöriazis, romatoid artrit ve MS gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda tespit edildi ğ i ve lezyonlarında birikti ğ i gösterilmiştir. MS'li hastaların inflame MSS lezyonlarında ve beyin omurilik sıvılarında (BOS) çok sayıda dendritik hücre oldu ğ u birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada de ğ işik klinik tipte, hastalı ğ ın farklı evrelerinde ve farklı immünmodülatuvar ila ç kullanan 203 MS hastasında serum chemerin, IL-1 beta ve IL-10 düzeylerini inceledik. Yeni tanı almış MS hastalarında, özellikle metilprednizolon ya da immünmodülatuvar ila ç kullanmayanlarda, chemerin seviyelerinin yüksek oldu ğ unu, metilprednizolon kullanmış veya immünmodülatuvar ila ç kullanan hastalarda chemerin seviyelerinin düşük oldu ğ unu gözlemledik. Bu veriler chemerin düzeylerinin MS'in başlangıcında, tedavi öncesi, tedavi sonrası tedaviye cevap ve hastalı ğ ın seyri hakkında bizlere fikir verebilece ğ ini düşündürmektedir. Çalışmamız chemerinin pro-inflamatuvar özelliklerini desteklemekte, MS'in etyopatogenezinde dendritik hücrelerin önemli bir rol oynadı ğ ını bir kez daha göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Multipl Skleroz, Chemerin, Dendritik Hücreler

Yazar Adı: Tbp. Yzb. Ahmet ÇETİZ

Danışman: Prof. Tbp. Kd. Alb. Şeref DEMİRKAYA

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SERUM CHEMERIN LEVELS IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Multiple Sclerosis (MS) is a T cell mediated autoimmune disease characterized by demyelination, multifocal inflammation, reactive gliosis and axonal loss in many regions of central nervous system (CNS). Usually affects adults between 20-40 years of age and can cause severe neurological disability. Chemerin was isolated as a natural ligand of the G protein coupled receptor ChemR23. Chemerin plays a chemotactic role for the leukocyte populations which express ChemR23 including especially immature plasmacytoid dendritic cells, immature myeloid dendritic cells, macrophages and natural killer cells. ChemR23 expressing cells has been shown that is recruited in chronic inflammatory diseases such as Crohn's disease, ulcerative colitis, lupus erythematosus, psoriasis, rheumatoid arthritis and MS. In several studies large number of dendritic cells has been shown in inflamed lesions of CNS and cerebrospinal fluids in patients with MS. In this study we investigated serum levels of chemerin, IL-1 beta and IL-10 in 203 MS patients which are in different clinical types, different stages of the disease and different usage of immunomodulating drugs. Newly diagnosed MS patients, particularly those who do not use immunomodulating drugs or methylprednisolone, have high levels of chemerin, conversely we observed the patients who use methylprednisolone and immunomodulating drugs have low levels of chemerin. These data can give an idea about the course of the disease and suggesting response to treatment. Our study supports the pro-inflammatory properties of chemerin and once again show that the dendritic cells play an important role in the pathogenesis of MS.

Key Words: Multiple Sclerosis, Chemerin, Dendritic Cells

Author: Ahmet ÇETİZ, MD

Counselor: Şeref DEMİRKAYA, MD, Professor

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
İNGİLİZCE ÖZET	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ.....	ix
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Multipl Skleroz	2
2.2. MS'in İmmünpatogenezi	4
2.2.1. MS'te Periferik İmmün Değişiklikler	4
2.2.2. MSS'ye Göç	5
2.2.3. MS'te İmmün Yanıtın Hücresel Oyuncuları.....	6
2.2.3.1 CD 4	6
2.2.3.2 CD 8	8
2.2.3.3 B Hücreleri.....	8
2.2.4. Nöronal Dejenerasyon.....	9
2.3. MS'te Dendritik Hücreler.....	9
2.3.1 Bazı Mevcut Tedavilerin DH'ler Üzerine Etkisi	9
2.4. Chemerin	13
2.4.1 Chemerinin Tanımlanması	13
2.4.2 Chemerinin Yapısı	14
2.4.3 (Pro)chemerinin İşlenmesi.....	15
2.4.4 Chemerin Ekspresyon Bölgeleri	16
2.4.5 Yüksek Affiniteli Fonksiyonel Reseptör Olarak ChemR23	17
2.4.6 ChemR23 ve Resolvin E1	18
2.4.7 Diğer Chemerin Reseptörleri	18
2.4.7.1 GPR1.....	18
2.4.7.1 CCRL2.....	19
2.4.8 Lökosit Toplanmasında Chemerin-ChemR23 Sistemi.....	19

2.4.9 Pro- veya anti-İnflamatuar Ajan Olarak Chemerin	20
2.4.10 Bir Adipokin Olarak Chemerin	21
2.4.11 Chemerin ve Chemerin Reseptörlerinin Diğer Etkileri	23
GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Çalışma Popülasyonu.....	24
3.2. Çalışma Tasarımı	24
3.3. İstatistik Metodu.....	25
3.3. Etik Kurul Onayı.....	26
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA.....	42
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
RIS	: Radyolojik İzole Sendrom
CIS	: Klinik İzole Sendrom
RRMS	: Relapsing Remitting Multipl Skleroz
PPMS	: Primer Progresif Multipl Skleroz
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
EBV	: Epstein-Barr Virüs
EBNA	: Epstein-Barr Nuclear Antigen
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
EAE	: Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit
PLP	: Proteolipit Protein
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
IL	: İnterlökin
THF	: Tetrahidrofolat
MBP	: Miyelin Basic Protein
MOG	: Miyelin Oligodendrosit Glikoprotein
MMP	: Matrix Metalloproteinazlar
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
VLA-4	: Very Late Activation Antigen-4
VCAM-1	: Vasküler Adezyon Molekülü 1
CD	: Cluster of Differentiation
BOS	: Beyin-Omurilik Sıvısı
NK	: Doğal Öldürücüler (<i>Natural Killer</i>)

DH	: Dendritik Hücreler
APC	: Antijen Prezente Eden Hücreler
cDH	: Miyeloid ya da Konvansiyonel Dendritik Hücre
pDH	: Plazmasitoid Dendritik Hücre
CMKLR1	: Chemokine-like receptor 1
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
TLR	: Tall Like Receptor
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
BMI	: Vücut Kitle İndeksi

ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

Şekil/Tablo	Sayfa
Şekil 2.1 : CD4+ T hücrelerinin Farklı T hücre Altkümelerine Farklanması ..7	
Tablo 2.1 : Ana İmmün Mekanizmalar ile MS'te Yeni Tedavi Stratejilerinin İlişkisi	10
Şekil 2.2 : MS'in Patogenezinde Dendritik Hücrelerin Rolü.....	11
Şekil 2.3 : İnsan (pro)chemerin Biyoaktivitesini Regüle Eden Proteazlar	15
Tablo 4.1 : Vaka ve Kontrol Grubu Sayıları.....	27
Tablo 4.2 : Vaka ve Kontrol Grubunda Cinsiyet Özellikleri.....	28
Tablo 4.3 : Vaka ve Kontrol Grubunda Yaş Ortalamaları	28
Tablo 4.4 : Vaka ve Kontrol Grubunda Yaş Özellikleri	29
Tablo 4.5 : Vaka Grubunda MS Tipleri.....	29
Tablo 4.6 : Vaka Grubunda IMD Kullanma Oranları.....	30
Tablo 4.7 : IMD Çeşitleri	30
Tablo 4.8 : Pulse ve IMD Kullananlar	31
Tablo 4.9 : Pulse ve IMD Kullananlar – Cinsiyet İlişkisi.....	31
Tablo 4.10: Vaka ve Kontrol Grubunda Serum Düzeyleri	32
Tablo 4.11: Vaka Grubunda IMD Kullananlarla Kullanmayanların Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	33
Tablo 4.12: Vaka Grubunda Pulse Tedavi Hiç Almamış Hastalarla Pulse Tedavi Almış Hastaların Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması	34
Tablo 4.13: Vaka Grubunda MS Tiplerine Göre Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması	35
Tablo 4.14: Vaka Grubunda Kullanılan IMD'ye Göre Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması	37
Tablo 4.15: IMD Almamış Hastalarla Kontrol Grubunun Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması	38
Tablo 4.16: Pulse Hiç Almamış Hastalarla Kontrol Grubunun Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	39
Tablo 4.17: Özet	40
Tablo 4.18: Subgrup Analizleri	41

GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS) merkezi sinir sisteminin (MSS) birçok bölgesinde demiyelinizasyon, multifokal inflamasyon, reaktif gliosis ve aksonal kayıpla karakterize T hücre aracılı otoimmün bir hastalıktır. Daha çok 20-40 yaş arasındaki erişkinleri etkiler ve ciddi derecede nörolojik özörlölölölge neden olabilmektedir [1].

MS etiyolojisi, patogenezi ve tedavisi konusunda çok çeşitli çalışmalar halen devam etmektedir.

Chemerin, G protein bağılı reseptör ChemR23'ün doğal ligandı olarak izole edilmiştir [2]. Chemerin, ChemR23 eksprese eden lökosit popölasyonları özellikle immatür plazmasitoid dendritik hücreler olmak üzere, immatür miyeloid dendritik hücreler, makrofajlar ve natural killer hücreler için kemotaktik bir rol oynar. MS'li hastaların inflame MSS lezyonlarında ve BOS'larında çok sayıda dendritik hücre olduğı birçok çalışmada gösterilmiştir [3, 4]. ChemR23 eksprese eden hücrelerin crohn hastalığı, ülseratif kolit, lupus eritematozus, psöriazis, romatoid artrit ve MS gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda tespit edildiğı ve lezyonlarında biriktiğı gösterilmiştir [5].

Bu çalışmada değışik klinik tipte, hastalığın farklı evrelerinde ve farklı immünmodölatuvar ilaç kullanan 203 MS hastasında serum chemerin, IL-1 beta ve IL-10 düzeylerini inceledik. MS, chemerin ve dendritik hücreler arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

2.1. Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (MS) merkezi sinir sisteminin (MSS) birçok bölgesinde demiyelinizasyon, multifokal inflamasyon, reaktif gliosis ve aksonal kayıpla karakterize T hücre aracılı otoimmün bir hastalıktır. Daha çok 20-40 yaş arasındaki erişkinleri etkiler ve ciddi derecede nörolojik özürllülüğe neden olabilmektedir [1].

MS'in değişik safhalarında farklı seviyede inflamasyon, demiyelinizasyon, remiyelinizasyon ve aksonal hasarla karşılaşırız. Genel olarak MS'in başlangıcında asemptomatik bir faz vardır. Bu asemptomatik faz belirli olmayan bir yaşta başlar, belirli olmayan süre devam eder. Klinik yani semptomatik fazlara kadar olan bu süre belirsizdir [6]. MS'in bu fazları, klinik tipleri şu şekilde bilinir:

- Radyolojik İzole Sendrom (RIS)
- Klinik İzole Sendrom (CIS)
- Relapsing Remitting MS (RRMS)
- Sekonder Progresif MS (SPMS)
- Primer Progresif MS (PPMS)

Eğer hastalara başka nedenlerle, örneğin migren tanısıyla, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yaptırıldığında prelinik ya da asemptomatik dönemde lezyonlar saptanırsa Radyolojik İzole Sendrom (RIS) olarak adlandırılmaktadır [7-9]. MS'in ilk semptomları ortaya çıkınca Klinik İzole Sendrom olarak adlandırılmaktadır (CIS). Eğer klinik gidişat multipl semptomatik ataklar şeklinde olursa Relapsing Remitting tip MS (RRMS) olarak adlandırılmaktadır. RRMS'i progresif bir seyir takip ederse Sekonder Progresif MS (SPMS) olarak adlandırılmaktadır. Eğer hastalar başlangıçta semptomatik atak geçirdikten sonra progresyon başlıyorsa Primer Progresif MS olarak (PPMS) adlandırılmaktadır [6].

MS genç erişkinlerde travmadan sonra 2.sırada özürlülük nedenidir [10]. Başlangıç yaşı, 20-30 yaşları arasında pik göstermekle birlikte nadiren 10 yaşından önce ve 60 yaşından sonra da oluşabilmektedir [11].

MS'in görülme sıklığı kuzey ve güney kutuplarına doğru gidildikçe artmaktadır [12-14]. Bazı bölgelerde MS'e daha sık rastlanması yalnız iklim ile açıklanamaz, çünkü iyi belirlenmiş etnik farklılıklar da vardır. ABD'ye göç etmiş İskandinav kökenli Amerikalılarda ve beyaz ırkta daha yüksek prevalansa sahipken bu ülkeye göç etmiş Asya kökenli kuşaklarda ve siyah ırkta daha az oranda görülmektedir [13, 14].

Otoimmün hastalıklarının çoğunda olduğu gibi birçok çalışmada MS'in kadınlarda erkeklere göre yaklaşık 2-3 kat daha sık izlendiği gösterilmiştir [15, 16]. Cinsiyetin, sıklığın dışında hastalık seyrini de etkilediği birçok prospektif çalışma ile ortaya konmuştur. Erkeklerde hastalık daha çok progresif şekilde izlenmekteyken kadınlarda ise daha iyi seyretmektedir [17].

MS hastalarının yaklaşık %20'sinde ailesel etkilene bildirilmiştir. En yüksek risk hastanın kardeşlerinde görülmektedir. Monozigot ikizlerde %20–30, dizigotik ikizlerde %3–5 oranında MS görüldüğü bildirilmiştir [18]. MS'li hastaların yaklaşık %20'sinde başka bir akrabasında hastalık görülmüştür [19].

MS'in etiyolojisi hala gizemini korumaktadır. Kompleks bir genetik zemin ve çevresel faktörlerin beraber hastalığı oluşturduğu düşünülmektedir [1]. HLA class II HLA-DRB5*0101-HLADRB11501-HLA-DQA1*0102-HLA-DQB1*0602 MS için genetik riskin %50'sini oluşturmaktadır [20]. HLA dışındaki gen alanları da MS genetik riski için araştırılmaktadır. Bu yeni HLA dışı genler, IL 2 ve IL 7 gibi interlökinlerin reseptörlerini kodlayan genler gibi, fonksiyonel etkileri ve genetik varyasyon sebepleri hala açıklanmayı beklemektedir [21, 22]. Viral ve diğer mikrobiyal ajanlar MS risk faktörleri olarak ileri sürülmüşlerdir. Fakat hiçbirisi hastalık durumu oluşturmak için yeterli değildir. MS hastalarının çoğunda rol alan Epstein-Barr virüsü (EBV) için de bu geçerlidir. EBV için seropozitiflik neredeyse tüm MS hastaları için evrenseldir. MS başlamadan yıllar önce risk altındaki bireylerin EBV nükleer antijen kompleksine (EBNA) ve ENA1'e karşı oluşan antikor titreleri yüksektir. Bu antijenler genellikle latent

enfeksiyon esnasında eksprese olurlar [23]. Bugüne kadar yapılan araştırma ve çalışmalarda yukarıda sözü edilen etiyolojik faktörlere ek olarak çevresel faktörlerin de hastalığın ortaya çıkışında etkisi kabul edilmektedir. Non-infeksiyöz risk faktörleri arasında vitamin D'nin protektif etkisi dikkati çekmektedir. Serum 25-hidroksivitamin D seviyesi beyaz ırktan olan hastalarda doğum yerinden ve oturduğu yerden bağımsız olarak risk faktörü olarak sayılabilir [24]. Diğer bir çevresel risk faktörü sigaradır. MS için önemli bir risk faktörüdür [25].

2.2. MS'in İmmünpatogenezi

2.2.1 MS'te Periferik İmmün Değişiklikler

MS'in otoimmün bir hastalık olduğu hipotezi MS'le hastalığın hayvan modeli deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) arasındaki benzerlikten ileri gelmektedir. EAE, hayvanları proteolipid protein (PLP) gibi miyelin derive proteinler (ya da peptitler), miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), miyelin basic protein (MBP) ile immünize ederek oluşturulur. Hastalık çoğunlukla miyelin-spesifik CD4+ T hücreleri marifetiyle gerçekleştirilir.

Miyelin-spesifik otoreaktif T hücreleri MS hastalarının periferik kan ve beyin omurilik sıvısında (BOS) bulunmaktadır. Bu hücreler benzer sıklıkta sağlıklı insanlarda da görülmektedir. Fakat MS'li hastalarda miyelin-reaktif T hücreleri daha aktiftir ve kontrol grubuna göre hafıza fenotipleri mevcuttur [26, 27]. MS'li hastalarda gözlenen bu miyelin-reaktif T hücreler kan beyin bariyerine eğilimi olan adezyon moleküllerinin upregülasyonu ile ilgilidir. Bu moleküller MSS'de miyelin antijenlere karşı inflamatuvar yanıtı yürütür. Bu otoreaktif T hücrelerin MS'li hastalarda periferde nasıl aktive oldukları hala tartışma konusudur.

T hücreler non-self epitoplara (viral ya da mikrobiyal antijenler) karşı üretilir, aynı seride self-miyelin epitoplarla çapraz reaksiyona girerler [28, 29] ya da T hücre aktivasyonu yapısal olarak servikal lenf nodlarında prezente olan miyelin antijenler tarafından tetiklenir [30, 31] şeklinde potansiyel mekanizmalar bildirilmiştir.

MS hastalarında periferde miyelin-spesifik T hücrelerinin daha aktif olması immünregülatuar kontrolün bozulmasından çok merkezi tolerans mekanizmalarının bozulması böylece MS hastalarında oluşan otoreaktif T hücrelerinin artmış yapımı tezini kuvvetlendirmektedir [32, 33].

2.2.2 MSS'ye Göç

Lenfositlerin kan beyin bariyerinden transmigasyonu çoğunlukla adezyon molekülleri, kemokinler ve matrix metalloproteinazlar (MMP) tarafından sıralı bir işlem şeklinde gerçekleşir. Kan beyin bariyerinden (KBB) geçişin ilk basamakları immün hücreler ile endotel hücreler üzerindeki eksprese edilen adezyon molekülleri arasındaki etkileşimlerdir [1].

Lökosit ekstrasvazyonundaki anahtar adezyon molekülü olan $\alpha 4\beta 1$ integrin (VLA-4, very late activation antigen-4) aktive edilmiş lenfositlerin yüzeylerinde eksprese edilir ve kapiller endotel hücrelerde eksprese edilen vasküler adezyon molekülü 1 (VCAM 1) ile etkileşime girer. Bu etkileşimin MS patogenezi için önemi humanize edilmiş monoklonal antikor natalizumabın VLA-4'ün $\alpha 4$ -integrin subünitinin terapötik olarak blokajıyla immün hücrelerin MSS'ye göçünün inhibe edilmesi ve hem klinik hem de radyolojik olarak MS hastalık aktivitesindeki belirgin azalmadır [34].

MMP'ler proteolitik enzimlerdir. Sadece KBB'de bazal membranların ve ekstraselüler matriksin yıkımı sonucu oluşmazlar, aynı zamanda demiyelinizasyon, sitokin aktivasyonu ve aksonal hasarlanmada da rol oynamaktadırlar. MMP-9'un BOS ve periferik kan seviyeleri MS'li hastalarda sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında artmış olarak bulunmuş ve bu da klinik ve radyolojik hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir [35, 36].

Kemokinler periferik kandan MSS'ye immün hücrelerin göçünü ve toplanmasını regüle eden küçük sitokinlerdir. Kemokinler endotelial lümende belirirler ve dolaşımdaki lökositlerin üzerindeki kemokin reseptörlerine bağlanarak hangi lökosit grubunun ekstrasvaze olacağı ve MSS'ye gireceği belirlenir [1]. Birçok çalışma kemokinler ve onların reseptörlerinin periferik kan, BOS ve MS'li hastaların beyin lezyonlarında değişen düzeylerde bulunduğunu

göstermiştir ve hastalığın nöropatogenezinde kemokinlerin rol oynadığını göstermektedir [37].

2.2.3 MS'te İmmün Yanıtın Hücresel Oyuncuları

2.2.3.1 CD4

Son yıllarda MS araştırmaları hastalığın patogenezinde CD4+ T hücrelerinin rolleri üzerine yoğunlaşmaktadır. MS'e primer olarak CD4+ T hücre aracılı hastalık diyebiliriz.

MSS'de makrofaj ve mikrogliya gibi antijen prezente eden hücrelerin yüzeylerindeki aksesuar moleküllerle ilişkide olan HLA class II molekülleri düzeyinde miyelin antijenleri prezente edilerek miyelin-spesifik CD4+ T hücrelerinin reaktivasyonu görülmektedir [1].

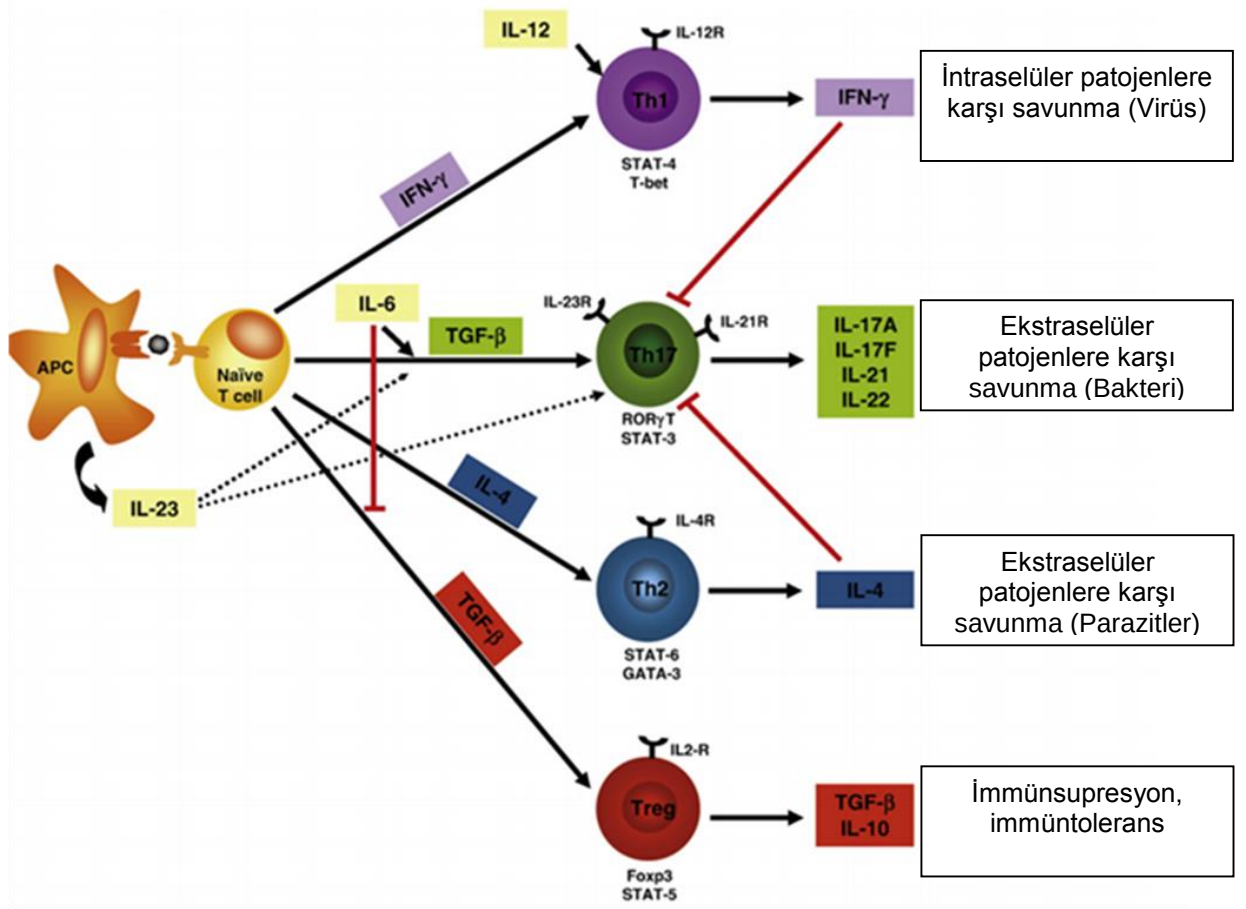
Aktive edildikten sonra naif CD4+ T hücreleri fonksiyonel olarak farklı T hücre altkümelerine farklılaşırlar (Şekil 2.1) [1].

Naif CD4+ T hücreleri spesifik sitokinlerin etkisi altında Th1, Th17, Th2 ve Treg'e (Regülatuar T hücreleri) farklılaşırlar. IFN- γ ve IL-4'ün Th17 üzerinde antagonist etkileri vardır (Şekil 2.1 kırmızı oklar).

Tam farklılaşmış T hücre alt kümeleri kendi efektör fonksiyonlarını yerine getirmek üzere spesifik sitokinler sekrete ederler. Th1 sitokinler virüs ya da bakteri gibi intraselüler patojenlere karşı konak savunmasında görev alır. Th1 hücreleri IFN- γ gibi proinflamatuar sitokinleri üreterek intraselüler patojenleri öldürmek için makrofajları aktive ederler.

Th2 sitokinler parazitler gibi ekstraselüler patojenlerin temizlenmesi için gerekli olan hümmoral immün yanıtı arttırırlar. Th2 hücreleri IL-4 gibi anti-inflamatuar sitokinleri sekrete ederek ekstraselüler patojenlerin temizlenmesinde görev alırlar [39].

Th1 ve Th2 sitokinleri arasındaki dengedeki disregülasyon uzun zamandır MS immünpatogenezinde vurgulanmaktadır.



Şekil 2.1: CD4+ T hücrelerinin farklı T hücre altkümelerine farklılaşması

Th17 hücreleri bakteriler gibi ekstraselüler patojenlere karşı konak savunması için güçlü proinflamatuvar özellikleri olan sitokinleri sekrete ederler. Th17 hücreleri efektör T hücreleri arasında farklı bir yerdedir. Makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından üretilen IL-23, pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-17A ve IL-17F Th17 hücrelerinin ekspansiyonu için kritiktir [38]. EAE çalışmalarında Th17 hücrelerinin supresyonu hastalığın şiddetinin azalmasıyla ilişkili bulunmuş ki bu da ayrı bir tartışma konusudur [39, 40]. Th17'nin Th1'e oranı MSS inflamasyonu için kritik bir belirleyici olabilmektedir. Yüksek Th17/Th1 oranı beyin parankiminde T hücre infiltrasyonu ve inflamasyonu ile ilişkilidir [41]. MS hastalarındaki patolojik çalışmalar ve EAE modellerinde IL-17 ya da IFN- γ eksprese eden hücrelerin KBB'yi geçtikleri ve beyinde biriktikleri gösterilmiştir [42]. MS hastalarının kan, BOS ve beyin dokusunda artmış IL-17 ekspresyonu gösterilmiştir [43]. MS hastalarının BOS'taki Th17

hücrelerinin sıklığı klinik kötüleşmenin olduğu zamanda remisyonadaki olduğu döneme göre belirgin olarak arttığı gösterilmiştir [44]. Bu gözlemlere dayanarak bu hücrelerin MS patogenezinde merkezi rol oynadığını söyleyebiliriz. Bununla beraber, oral sfingozin 1-fosfat reseptör modülatörü fingolimod gibi güncel MS tedavilerinin de Th17 hücrelerinin oluşmasını suprese ettiği in vitro olarak gösterilmiştir [45].

Treg hücreleri tarafından üretilen hücreler ise immünmodülasyonda rol oynarlar. Regülatuvar T hücreleri CD4+ T hücrelerinin küçük bir alt kümesi olmasına rağmen MS patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Periferik kan ve BOS'ta Treg hücrelerinin sayıları MS hastaları ve kontrol grubunda benzer olmasına rağmen, birçok çalışma MS hastalarında Treg'lerin kapasitelerinde defektler olduğu ve periferde miyelin-spesifik T hücrelerinin aktivasyonunun baskılandığı gösterilmiştir [46, 47]. Bu in vitro supresif kapasite RRMS hastalarında bildirilmiş fakat SPMS hastalarında böyle bir şey bulunamamıştır [48].

2.2.3.2 CD8

MS immünpatogenezinde CD8+ T hücrelerinin önemli rol oynadığına dair birçok kanıt bulunmaktadır. CD8+ T hücreleri MSS lezyonlarında inflamatuvar infiltratlarda belirgindir, bazı çalışmalarda ise CD8+ T hücreleri CD4+T hücrelerinden fazladır [49]. İnfiltratif CD8+ T hücreleri klonal olarak genişir ve BOS'ta yıllarca kalabilirler [50]. CD8+ T hücreleri MSS vasküler permabilitesini düzenleyebilirler [51]. Aksonal hasarla lezyonu infiltre eden CD8+ T hücreleri arasında korelasyon tespit edilmiştir [52].

2.2.3.3 B Hücreleri

Hümmoral immünite MS patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. BOS'tan ve MS beyin lezyonlarından izole edilen B hücreleri klon olarak genişir [53, 54]. MS hastalarında devamlı olarak intratekal oligoklonal immünglobulinler üretilmekte ve BOS'larda tespit edilmektedir. Bu oligoklonal immünglobulinler tanı kriterlerinin bir parçasıdır [55]. B hücreleri oligodendrositleri hedef alarak komplemanlı ya da komplemansız olarak patojenik antikorlar sekrete ederek demiyelinizasyon işlemine direkt dâhil

olabilirler [56]. Kronik progresif seyir gösteren hastalarda meninkslerin germinal merkezlerinde follikül benzeri agregatların varlığı gösterilmiştir [57]. B hücre ablasyon terapisi olan rituximabın (anti-CD20 monoklonal antikor) naif ve hafıza B hücrelerini etkin olarak azaltarak inflamatuvar beyin lezyonlarını ve klinik relapsları azalttığı gösterilmiştir [58]. Alemtuzumab, rituximab ve cladribine gibi tedaviler hastalık aktivitesinde belirgin gerilemeye neden olarak B hücre popülasyonlarının MS patogeneğinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir (Tablo 2.1).

2.2.4 Nöronal Dejenerasyon

Demyelinizasyon MS'in primer patolojik özelliğidir. Fakat aksonal kayıp da hastalık progresyonu ve kalıcı nörolojik disabilite ile korele önemli patolojik bir bulgudur [59].

MSS'de inflamatuvar saha içerisinde çözünebilen proteazlar, sitokinler ve serbest radikaller gibi aksonlara spesifik immünolojik olayların varlığı aksonal hasarı göstermektedir.

MS'te yeni tedavi stratejileri ile ana immün mekanizmalar arasındaki ilişkiyi aşağıdaki tabloda özetleyebiliriz (tablo 2.1) [1].

2.3. MS'te Dendritik Hücreler

MS'te beyin inflamasyonu MSS'de miyelini hedef alan immün hücrelerin infiltrasyonu ve birikmesi ile ilişkilidir [60]. Plaklardaki immün hücrelerin bileşimi değişebilmektedir. Hem adaptif hem de doğal immün hücreler aynı anda bulunabilmektedir [61]. Fakat son zamanlarda MS araştırmaları immün sistemin adaptif koluna odaklanmaktadır. MS öncelikle T hücre aracılı otoimmün bir hastalık olarak düşünülmektedir [62, 63].

Bozulmamış bir immün sistemde immün hücreler immünite ve tolerans arasındaki dengeyi korumak için sıkıca ayarlanmıştır. Dendritik hücreler profesyonel antijen sunan hücrelerdir ve naif T hücrelerini stimüle ederek bu dengeyi yönetebilmektedir [64]. Dendritik hücreler (DH) T hücre polarizasyonu için tüm gerekli sinyalleri içermektedir [65].

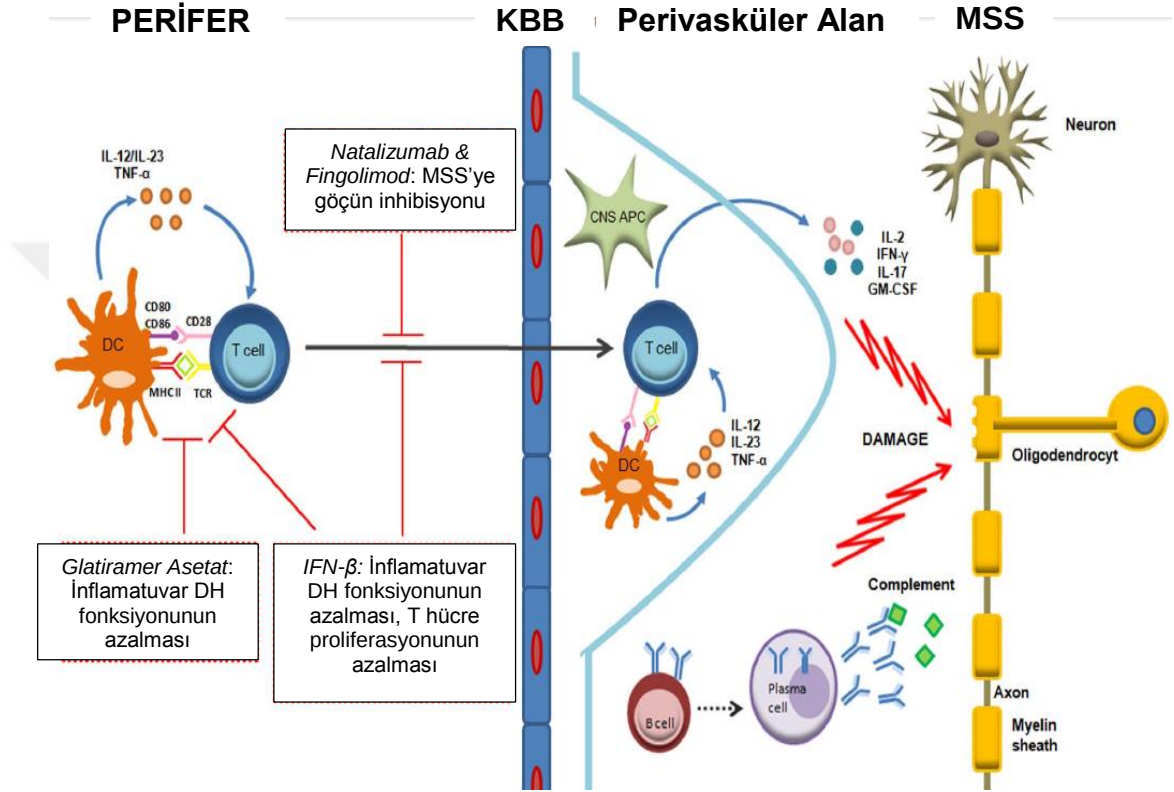
Tedavi	Yapı	Hedef	Etki Mekanizması
Daclizumab	Monoklonal antikor	CD25	T hücre aktivasyon ve ekspansiyonunun inhibisyonu
Alemtuzumab	Monoklonal antikor	CD52	Dolaşımdan CD52 taşıyan hücrelerin uzaklaştırılması
Rituximab	Monoklonal antikor	CD20	CD20+ B lenfositlerinin uzaklaştırılması
Fingolimod	Sfingozinin yapısal analogu	S1P Reseptörleri	Lenf nodundaki T hücrelerinin membranında eksprese edilen S1P reseptörlerinin fonksiyonel olarak antagonizması
Cladribine	Deoksiadenozin analogu	DNA	DNA tamirini engelleyerek dolaşan T ve B lenfositleri uzaklaştırmak
Laquinimod	Kinolon karboksamid	NFkB yolağı?	Muhtemel Th2 sitokin şifti ve nöroprotektif etkiler
Fumarate (BG00012)	Sitrik asit siklus ürünü	Hücrel redox sistemi	Antioksidan yolların up-regülasyonu
Teriflunomide	Leflunomide'in aktif metaboliti	Dihidroorotat dehidrogenazın antagonisti	De novo primidin biyosentezinin inhibisyonu

S1P: Sfingozin 1 fosfat, NFkB: Nükleer faktör kappa-B

Tablo 2.1: Ana İmmün Mekanizmalar ile MS'te Yeni Tedavi Stratejilerinin İlişkisi

Miyelin reaktif T hücreleri periferde DH'ler tarafından patolojik olarak aktive edilince bu oto-reaktif T hücreler endotelial KBB'yi geçmeyi kolaylaştırmak için proinflatuvar sitokinler salarlar. MSS'ye girince, MSS'deki antijen prezente eden hücreler (APC) tarafından, DH'ler dâhil,

miyelin-reaktif T hücreleri reaktif olur ve miyelin-derive epitoplar prezente ederler. Sonrasında bu perivasküler T hücreleri proinflamatuvar sitokinleri sekrete ederek diğer inflamatuvar hücrelerin rekrütmanını sağlarlar. Bu inflamatuvar kaskad aksonların demiyelinizasyonu ve böylece MS'in duysal ve motor semptomlarına yol açar [60] (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: MS'in Patogenezinde Dendritik Hücrelerin Rolü

İnsanlarda kanda iki majör DH alt kümesi ayırt edilmiştir. Bunlar miyeloid ya da konvansiyonel DH'ler (cDH) ve plazmasitoid DH'lerdir (pDH). cDH'ler yoğun olarak TLR2 ve TLR4 eksprese ederler. Aktif olduklarında büyük miktarda IL-12p70 salgılamaktadırlar. pDH'ler ise TLR7 ve TLR9 eksprese ederler ve aktif olduklarında önemli miktarda tip 1 interferon üretirler [66].

MS'li hastaların inflame MSS lezyonlarında ve BOS'larında çok sayıda DH'lerin olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Hem cDH hem de pDH'ler MS'li hastaların leptomeninkslerinde ve beyaz cevher lezyonlarında akümüledir [3, 4]. BOS'ta cDH'lerin miktarı hastalığın süresi ile ilgilidir. En

yüksek cDH'ler CIS ve erken MS hastalarında saptanmış ve zaman içerisinde azaldığı tespit edilmiştir [67]. Ayrıca MS hastaları ile inflamatuvar olmayan nörolojik hastalığı olanlar karşılaştırıldığında inflame BOS'ta pDH'lerin arttığı görülmüştür [67, 68]. Relapsta ise BOS'taki pDH'ler remisyonadaki MS hastalarına göre artmaktadır [68]. Bu veriler DH'lerin MS patogenezinde önemli rolleri olduğunu göstermektedir.

T hücre toleransı ile T hücre immünitesi arasındaki dengenin sağlanmasında DH'lerin önemli rolleri bulunmaktadır. DH'lerin sayılarının ya da aktivasyon durumlarının değişmesi bu dengeyi bozabilir. Bu hipotez EAE'de çalışılmış ve desteklenmiştir [69].

DH sayısı ve DH fenotipi MS klinik tipleri arasında değişiklik göstermektedir. SPMS hastalarında dolaşımdaki cDH'lerdeki ko-stimülatör markerların ekspresyonu daha fazladır. Bu da RRMS ve sağlıklı kontrollere göre daha pro-inflamatuvar fenotip demektir [60].

2.3.1 Bazı Mevcut Tedavilerin DH'ler Üzerine Etkisi

İnterferon-beta; MS hastaları için ilk kullanılan immünmodülatuvar tedavidir. T hücre profilerasyonu ve MSS'ye göçü inhibe etmektedir (Şekil 2.2) [70]. İnterferon tedavisi hem cDH hem de pDH'leri etkilemekte, periferik kandaki düzeyleri düşmektedir [3, 71, 72].

Glatiramer Asetat; tedavi edici etkisini polarizasyonu Th1'den Th2'ye shift ederek göstermektedir [73]. Yeni veriler glatiramer asetatin aynı zamanda DH fonksiyonunu etkilediğini göstermektedir (Şekil 2.2) [72, 74, 75]. Glatiramer asetat parsiyel olarak pDH fenotipini ve T hücre anti-inflamatuvar kapasitesini restore etmekte ve proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu azaltmaktadır [75, 76].

Natalizumab; VLA-4'e (very late antigen) karşı oluşan bir monoklonal antikordur. MSS'ye olan lökosit infiltrasyonunu engellemektedir. BOS'taki T hücre sayısını azaltmanın yanı sıra perivasküler alanda APC frekansını da düşürmektedir. Natalizumab kullanan MS hastalarında dolaşımdaki hem cDH'ler ve pDH'lerde azalmış VLA-4 ekspresyonu hem de pDH'lerin sayısında azalma tespit edilmiştir [77].

2.4. Chemerin

Chemerin, G protein bağı reseptör ChemR23'ün doğal ligandı olarak izole edilmiştir. ChemR23, CMKLR1 (Chemokine-like receptor 1) olarak da bilinir [2]. Chemerin, ChemR23 eksprese eden lökosit popülasyonları özellikle immatür pDH'ler olmak üzere, immatür cDH'ler, makrofajlar ve natural killer (NK) hücreler için kemotaktik bir rol oynar.

Chemerin epitelyal ve non-epitelyal hücrelerden inaktif prekürsör olarak eksprese edilir. Plazmada nanomolar konsantrasyonlarda bulunur.

Chemerinin biyoaktif formlarının oluşturulması için C-terminus prekürsörünün işlenmesi gerekmektedir. Muhtelif proteazlar bu işleme yardımcı olmaktadır. Bunlar arasında; nötrofil serin proteazlar ve koagülasyon ve fibrinolitik kaskadlardaki proteazlar bulunmaktadır.

ChemR23-eksprese eden hücreler psöriazis ve lupus gibi inflamatuvar hastalıklarda ortaya çıkarlar. Hayvan modellerinde chemerinin hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar etkileri raporlanmıştır.

Yakın zamanda chemerinin diğer iki reseptörü açıklanmıştır, GPR1 ve CCRL2, fakat fonksiyonel önemleri büyük oranda bilinmemektedir. Hem chemerin hem de ChemR23 adipositlerden de eksprese edilirler. Dolayısıyla chemerinin lipid ve karbonhidrat metabolizmasını regüle eden bir adipokin olabileceği de bir araştırma konusudur [5].

2.4.1 Chemerinin Tanımlanması

ChemR23, bakteriyel ve mitokondriyal formyl peptidler (FPR1, FPR2 ve FPR3), kompleman fragmanları (C5a ve C3a) ve prostaglandin D2 (DP2, önceden CRTH2 veya GPR44 olarak bilinirdi) gibi kemoatraktan reseptörlerine yapısal olarak benzer şekilde bir G protein bağı reseptör gibi klonlanır [2, 78]. Chemerin daha sonraları ChemR23'ün doğal ligandı olarak tanımlanmıştır [79].

Biyoaktif molekülleri insan inflamatuvar sıvılarından ve doku eksraktlarından kısımlar halinde araştırmak için ChemR23 eksprese eden bir hücre dizisi kullanılır. Bu Aequorin luminisansa dayanan kalsiyum

mobilizasyon işlemiyle (calcium-mobilization assay) yapılır. Biyoaktivite over karsinomuna sekonder asidik sıvıda tespit edilmiştir. Bu aktivitenin HPLC basamakları ve mass spektrometri analizleri ile saflaştırılmasından sonra tazarotene-indüklenmiş gen 2'den (Tig 2) derive edilmiş bir protein tanımlanması ile sonuçlanmıştır. Tig 2 daha önce deri raft kültürlerinde retinoik asit ve onun sentetik analogu tazarotene tarafından gen-upregüle edilerek bir subtraction hibridizasyon işleminden sonra tanımlanmıştır [80]. ChemR23 reseptöründeki aktivitesine bakılarak Tig2 gen ürünün aktif form ürünü chemerin olarak adlandırılmış.

2.4.2 Chemerinin Yapısı

Chemerinin yapısı kemokin veya diğer lökositler için olan kemoatraktan faktörlere benzemez. Sistatin katlantı ile birlikte birkaç set ekstraselüler protein içermektedir. Bunlar:

- Sistatin tip 2 (sistein proteaz inhibitörleri)
- Katelisinler (Bakteriyel peptitlerin prekürsörleri)
- Kininojen (Bradikininin prekürsörü)

Sistatin benzeri katlantı içeren ekstraselüler proteinler 4 ortak sistein içerirler. Chemerinin yapısı diğer sistatin benzeri katlantılardan farklıdır ve 4 yerine 6 adet sistein içerir. Bu da ek bir disülfid bağının varlığı demektir.

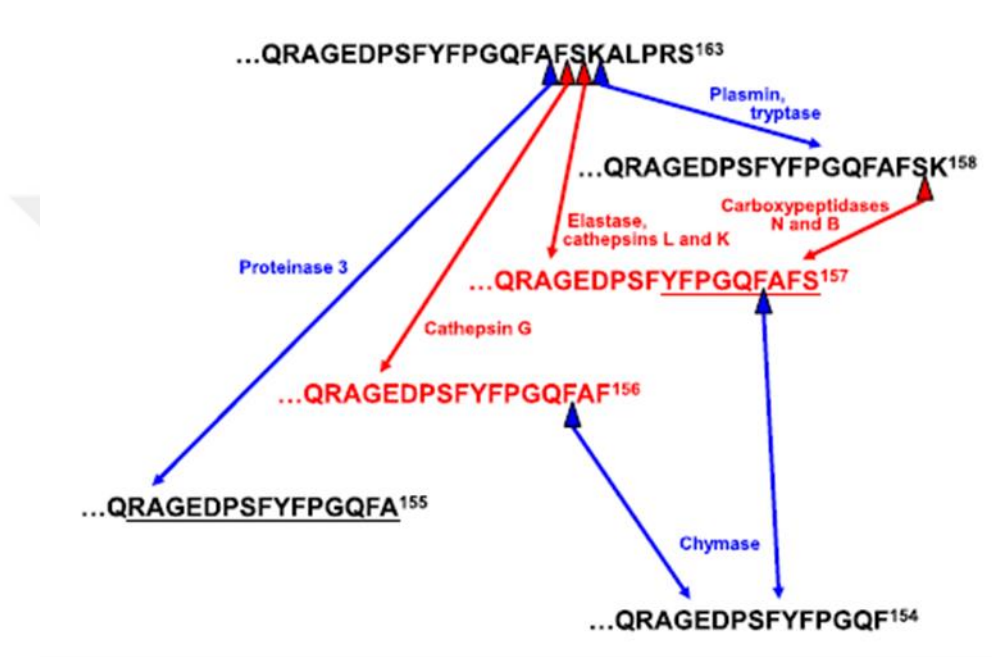
Chemerin inaktif prekürsör olan prochemerin şeklinde salınır. 20 aminoasit (aa) sinyal peptidi uzaklaştıktan sonra insanda 143 aa uzunluğundadır. Prochemerinin ChemR23'e karşı çok düşük bir affinitesi vardır. Biyoaktivitesini kazanması için sistatin benzeri katlantının dışında bulunan C-terminal domaininden proteolitik enzimler tarafından işlenmesi gerekir.

Prochemerinin C-terminalinde işlenmesi gerekliliği ChemR23'ün aktivasyonu için bu domainin rolünü öne çıkarmaktadır. Karşılaştırma yapılırsa, bütün kemokinler chemerinden farklı olarak ortak bir yapı paylaşırlar: N-terminus (biyoaktivite için gereklidir), 3 sıra beta sheet ve C-terminal alfa-helix. Chemerin kemokinlere benzer şekilde reseptörü aracılığıyla 2 farklı

domain üzerinden etkileşme yapar. Sistatin benzeri yapısına rağmen chemerin sistein proteazları inhibe etmemektedir [5].

2.4.3 (Pro)chemerinin İşlenmesi

Prochemerinin C terminallerinden 6 veya 7 aminoasit proteolitik olarak uzaklaştırılarak biyoaktif chemerine dönüşür. Burada bazı proteazlar işlev görürler(Şekil2.3)[5].



Şekil 2.3: İnsan (pro)chemerin biyoaktivitesini regüle eden proteazlar.

İnsan chemerininin çeşitli varyantlarının C-terminal sekansları görülmektedir. Siyah ile belirtilen varyantlar inaktif, kırmızı olanlar ise ChemR23 ve GPR1’de aktiftirler. Üçgenler çeşitli proteazlar tarafından ayrılma bölümlerini göstermektedir. Oklar ve kırmızı ile belirtilen proteazlar aktif chemerin formlarına giden yolları göstermektedir. Mavi renkli ok ve proteazlar inaktif chemerin formlarına giden yolları göstermektedir.

Nötrofil serin proteazlar olan Elastaz ve Katepsin G prochemerini aktive eden ilk proteazlardır. Elastaz 6 aminoasidi yararak chemerin 21-157’yi oluşturur. Bu da en aktif formdur. Katepsin G C-terminalinden 7 aminoasit uzaklaştırarak daha az aktif form olan chemerin 21-156’yı oluşturur. Yukarıda da bahsedildiği gibi ek olarak bir aminoasidin uzaklaştırılması biyoaktivitede azalmaya neden olacaktır.

Katepsin L ve K da prochemerin prekürsöründen direkt olarak 20-157 formunu oluştururlar. Plazmin ve triptaz C-terminalinden 5 aminoasit ayırırlar,

inaktif bir chemerin yapısı oluştururlar. Ürokinaz, doku plasminojen aktivitatörü (tPA) ve faktör 12a gibi diğerk proteazlar prochemerinin aktivitörüdürler fakat ayırma bölgeleri tam olarak belli değıldir. Diğerk proteazların da prochemerini aktive ettiğı düşünölebilir. İnsan patojen proteazları da prochemerini aktive edebilir. Mevcut bilgilerimiz şunu göstermektedir ki chemerin biyoaktivitesinin regölasyonu karmaşıktır. İnflamatuar, koagölasyon ve fibrinolitik kaskadlardan çeşitli proteazlar chemerinin aktif ve inaktif formları arasında dengeyi sağılamaktadır.

Chemerinin birçok C-terminal varyantının olması, bunların rölatif aktiviteleri arasındaki önemli farklılıklar, chemerin biyoaktivitesini immönolojik anlamda tanımlanmasını zorlaştırmaktadır. İki ayrı aktif formu (insanda 21-156 ve 21-157) inaktif formlardan ayırmak çözölemeyen bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. ELISA prochemerin (21-163) ve chemerin 21-158 ve 21-157'yi C-terminal peptitlerine karşı antikorlarla ayırabilmektedir fakat bunlar tüm aktif ve inaktif formları kapsamamaktadır. Sadece bioassay'ler ChemR23 eksprese eden hücrelerdeki aktiviteyi ölçerek chemerinin güvenli bir şekilde biyoaktif formlarını tahmin edebilmektedir. Fakat bu assayler en azından chemerinin parsiyel purifikasyonunu gerektirmektedir (plazma ya da diğerk bir kaynaktan). Dolayısıyla büyük ölçekli çalışmalar için yeterli değıllerdir [5].

2.4.4 Chemerin Ekspresyon Bölgeleri

Prochemerin özellikle karaciğerk, beyaz yağı dokusu ve plasentadan yüksek seviyelerde eksprese edilir. Fakat aynı zamanda deri, adrenal bez, midenin bütün bölümleri, pankreas, hava yolları ve böbrekten de eksprese edilirler.

Bazı hücre popölasyonlarının chemerin immönreaktivitesini ve/veya chemerin biyoaktivitesini gösteren prochemerin transkriptleri içerdikleri gösterilmiştir. Bunlar epitelyal hücreleri, endotelyal hücreleri, fibroblastları, kondrositleri ve plateletleri içerkir [81-84].

Prochemerin plazmada yüksek konsantrasyonlarda bulunur (6-12nM) fakat biyoaktif chemerin bazal durumlarda ihmal edilebilecek seviyelerdedir. Plazma prochemerinin kaynağı tam olarak bilinmemektedir, fakat karaciğerk ve

yağ dokusu ana kaynaklarıdır [85, 86]. Chemerin ayrıca platelet granüllerinde depolanır ve trombin, kollajen ya da ADP'nin aktivasyonunun ardından parsiyel aktive edilmiş şekilde salınır [82].

2.4.5 Yüksek Affiniteli Fonksiyonel Reseptör Olarak ChemR23

ChemR23 in vivo dâhil chemerinin biyolojik aktivitelerini tam olarak açıklayan bilinen tek reseptördür. Hâlbuki chemerinin bazı özelliklerinin başka reseptörler aracılığıyla yapıldığı muhtemeldir. GPR1 ve CCRL2 bunlardan bazılarıdır.

ChemR23 kemoatraktan moleküller için olan reseptörlere yapısal olarak benzemektedir (C5a, C3a, FPR1-3, DP2). Bunlara GPR1 ve orphan reseptörler GPR32 ve GPR 33'de dâhildir.

ChemR23 çeşitli lökosit popülasyonlarında eksprese edilir. Özellikle monositik dizede olanlarda; monositler ve makrofajlar, miyeloid (sitoplazmik) dendritik hücreler (cDH) ve plazmasitoid dendritik hücreler (pDH), mikrogial hücreler ve NK hücreler tarafından eksprese edilir [78, 83, 87, 88]. B ve T lenfosit popülasyonları, granülositler, langerhans hücreleri ve plateletler ChemR23 eksprese etmemektedirler. Hem cDH hem de pDH'lerde ChemR23 ekspresyonu maturasyon sırasında downregüle olmaktadır [83, 89].

ChemR23 ekspresyonu özellikle immatür pDH'lerde yüksektir. Bu hücrelerde ChemR23, kemoatraktan moleküller için birkaç fonksiyonel reseptörden birisidir. Bundan dolayı chemerinin pDH'lerin trafiğinde önemli bir rol oynadığı düşünülebilir. pDH'ler anti-viral immün yanıtta profesyonel tip 1 interferon üreticileridirler [83, 90].

Makrofajlarda ChemR23, proinflamatuvar sitokinler ve TLR ligandları tarafından downregüle edilirler. Fakat TGF- β tarafından upregüle edilirler. İnflamasyonun rezolüsyon fazında ve yara iyileşmesinde M2 polarize makrofajların rekrütmanında bir anti-inflamatuvar fenotiple birlikte chemerinin potansiyel katılımını düşündüren çalışmalar vardır [91].

ChemR23 ekspresyonu non-lökosit hücre popülasyonlarında da gösterilmiştir. Bunlar pre-adipositler ve adipositler, osteoklastlar, kondrositler, iskelet kas hücreleri ve endotelial hücrelerdir [84, 85, 92, 93].

2.4.6 ChemR23 ve Resolvin E1

Chemerine ek olarak ikinci bir ligand olarak resolvin E1 (RvE1) ChemR23 yerine önerilmiştir [94]. RvE1 esansiyel yağ asidi eicosapentanoik asitin oksijene ürünüdür. Bu yararlı yağ asidinin inflamasyon ilişkili insan hastalıklarında yararlı etkilerinin olduğuna inanılmaktadır.

RvE1'in farede anti-inflamatuar etkileri gösterilmiştir. Air pouch modelde (farede bir çeşit inflamasyon modeli) TNF- α 'ya yanıt olarak lökosit göçünün inhibe olduğu, DH'ler tarafından IL-12 üretiminin azaldığı, toxoplasma gondii tarafından stimüle edilen çözülebilir tachyzoite antijen ekstraktında DH'den dalağa olan trafiğin azaldığı gösterilmiştir [5].

RvE1 ve chemerin-derive peptitler ChemR23 eksprese eden aynı hücrelerde farklı yolları stimüle ettikleri gösterilmiştir [94]. Çeşitli çalışmalar RvE1'in ChemR23 üzerine aktivitesini doğrulamamıştır. Ek olarak, RvE1 için ana hedef hücre popülasyonu nötrofillerdir, fakat ChemR23'ün bu hücrelerde eksprese edilmediği bilinmektedir. Resmi olmasa da şu an için RvE1'in ChemR23 üzerine etkisi tartışmalıdır [5].

2.4.7 Diğer Chemerin Reseptörleri

Chemerini yüksek affinite ile bağlayacak iki tane daha G protein-bağlı reseptör tanımlanmıştır.

2.4.7.1 GPR1

GPR1'in chemerin tarafından aktivasyonu, Tango isimli β -arrestin toplanması görüntüleme çalışması geliştirilmesinde bildirilmiştir [95]. GPR1 yapısal olarak ChemR23'ün en yakın akrabasıdır. İkinci bir chemerin reseptörü adayı olduğu açıktır.

Aslında, GPR1 ChemR23'e benzer şekilde chemerine çok yüksek affinite göstermektedir, fakat klasik G protein-yardımlı yollarda sinyalleri çok zayıftır. GPR1'in lökosit popülasyonları tarafından eksprese edilmediği

bildirilmiştir. Fakat santral sinir sistemi (SSS), iskelet kası, deri ve adipoz dokuda eksprese edilmektedir ve belki de buralarda chemerinin aktivitesini regüle etmektedir [5].

2.4.7.2 CCRL2

Chemokine (C-C motif) reseptör-like 2 (CCRL2, aynı zamanda insanlarda CKRX, HCR ya da CRAM olarak da adlandırılır, farede L-CCR olarak adlandırılır), chemerin için 3. Reseptör olarak tanımlanmıştır [96].

CCRL2 kemokin reseptör ailesine aittir ve CCR1, CCR2, CCR3 ve CCR5 ile yakında ilişkilidir. İnsan reseptörünün ekspresyonu monositler, makrofajlar, DH'ler, nötrofiller, T hücreleri, mast hücreleri ve CD34+ kemik iliği prekürsörlerinde bildirilmiştir [97, 98].

Chemerin insan ve fare CCRL2'ye aynen ChemR23 ve GPR1'deki gibi yüksek affinite ile bağlanır. Fakat chemerinin reseptörüne bağlanması hücrelerde herhangi bir sinyal artımına neden olmamaktadır ve CCRL2'nin internazizasyonunu indüklememektedir.

2.4.8 Lökosit Toplanmasında Chemerin-ChemR23 Sistemi

Kemokinler ve kemoatraktan moleküllerdeki reseptörlerde olduğu gibi ChemR23 G proteinlerinin Gi ailesine bağlıdır. ChemR23 eksprese eden rekombinant hücrelerde pertussis toksin duyarlı biçimde, chemerin cAMP akkümüülasyonunu inhibe etmekte, fosfolipaz C, IP3 ve kalsiyum mobilizasyonunu aktive etmekte, PI3K ve ERK ½ yolaklarını tetiklemektedir.

Chemerin, ChemR23 eksprese eden tüm lökosit popülasyonlarının kemotaksisini arttırmaktadır. Ex vivo çalışmalarda makrofajların, immatür (matür olmayan) miyeloid ve plazmasitoid DH'ler ve NK hücrelerinin chemerine doğru kemotaksis için göç ettikleri gösterilmiştir [81, 83, 88, 89].

Chemerinin hücre yüzeyinde VLA-4 ve VLA-5 integrin kümeleşmelerini arttırdığı ve makrofajların VCAM-1 ve fibronektine adezyonlarına sebep olduğu gösterilmiştir [99].

2.4.9 Pro- veya anti-inflamatuar Ajan Olarak Chemerin

Chemerin incelenen hastalık modeline göre pro- ya da anti- inflamatuvar olabilmektedir.

Biyoaktif chemerin, inflamatuvar durumlarda doku ve sıvılarda artmaktadır. ChemR23 eksprese eden hücrelerin bazı kronik inflamatuvar hastalıklarda toplandığı gösterilmiştir.

Crohn hastalığı ve **ülseratif kolit** gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda dolaşan chemerin seviyelerinin artmış olduğu gösterilmiştir [100].

Chemerin **lupus eritematozusun** deri lezyonlarında dermal kan damarlarının endotelinde, sekonder lenfoid organların venlerinin yüksek endotelinde immünohistokimyasal olarak tespit edilmiştir [83]. Ayrıca ChemR23 eksprese eden pDH'ler lupus deri lezyonlarında bulunmuştur. Bu da chemerinin bu hücrelerin ve diğer lökosit popülasyonlarının bu hastalıkta toplanmasıyla ilgili olduğunu göstermektedir. Ciddi lupus nefriti olan hastaların böbreklerinin proksimal tübüler hücrelerinde ve lenfatik endotelial hücrelerinde chemerinin eksprese edildiği gösterilmiştir. Bu da ChemR23 eksprese eden pDH'lerin böbrek parankimine toplanması ile ilişkilendirilmektedir [101].

Psöriazis Tip 1 interferonun rol aldığı T-hücre aracılı bir hastalıktır. pDH'lerin cilde toplanması ile karakterizedir. Chemerin ekspresyonu pDH ve nötrofillerin infiltrasyonuna paralel olarak erken psöriatik lezyonlar ve prepsöriatik aktif lezyonlara komşu lezyonlarda bildirilmiştir [102]. Hâlbuki kronik plaklarda düşük chemerin seviyeleri ve düşük pDH infiltrasyonu tespit edilmiştir. Ayrıca psöriatik hastalarda yüksek serum chemerin seviyeleri tespit edilmiştir [103].

Multipl skleroz lezyonları olan serebrovasküler endotelial hücrelerde chemerin tespit edilmiştir. ChemR23'ün pDH'ler dahil olmak üzere infiltran lökositlerin üzerinde eksprese edildiği tespit edilmiştir [3]. Bu bulgular lupus, psöriazisin erken safhaları ve multipl sklerozda pDH'lerin toplanmasında chemerin/ChemR23 sisteminin bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

Ayrıca **oral liken planusta** endotelial hücrelerin dermal damarlarında da chemerin ekspresyonu bildirilmiştir [88].

Chemerin-ChemR23 sistemi ChemR23 knockout mice (KO) kullanılarak inflamatuvar hastalıkların fare modellerinde de çalışılmıştır. İnsandaki **MS**'in bazı özelliklerini taklit eden **EAE** modelinde, chemerin ve ChemR23'ün patogeneizde rol oynadığı gösterilmiştir [87]. Bu model miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG) ile immünizasyonu içermektedir. EAE faresinde chemerin lezyonlarda upregüle olmakta ve miyeloid DH infiltrasyonu ile beraberdir.

ChemR23 KO faresi sigara dumanına sekonder kronik obstrüktif pulmoner hastalık modelinde de test edilmiştir [104]. Sigara dumanına akut ya da kronik maruziyet sonrası bronkoalveolar lavaj sıvısında chemerin seviyeleri artmış, chemerin ve ChemR23 transkriptleri akciğer dokusunda downregüle olmuşlardır. Bu çalışmadaki bulgular chemerinin sigara dumanına maruz kalmış doğal ve adaptif bağışıklık hücrelerinin toplanması ile ilişkili olduğunu ve pro-inflamatuvar bir rol oynadığını göstermektedir.

Chemerin-ChemR23 sisteminin anti-inflamatuvar özelliklerinden de bahsedilmiştir. Bununla ilgili bir çalışmada zymosan ile uyarılmış peritonit fare modelinde chemerin ve chemerin-türevi peptitlerin makrofajlar üzerindeki etkilerinden bahsedilmiştir [105].

Akciğer inflamasyonu ve viral enfeksiyon olan ChemR23 KO fare modelinde havayollarına direkt lipopolisakkarit (LPS) verilmesi sonrası akut akciğer hasarı geliştirilmiştir. LPS ile beraber chemerin verilirse akciğere çok daha az nötrofil toplanması gerçekleşmiş ve kemokinlerin (CXCL1) ve sitokinlerin (TNF, IL1 β , IL6) üretimleri de azalmıştır [81].

2.4.10 Bir Adipokin Olarak Chemerin

Chemerinin kemoatraktan bir ajan olmasının yanında adipogenezis ve adiposit metabolizmasının regülasyonunda da rolü vardır. Bu yeni özellik chemerin ve ChemR23'ün adipositler tarafından sekrete edilmesinin anlaşılmasıyla ortaya çıkmıştır [106-108].

Kemik iliği mezenşimal kök hücrelerinin adipositlere farklılaşması esnasında chemerin upregülasyonunun adipogenezisin ana regülatörlerinden olan PPAR γ ile korele olduğu gösterilmiştir [86].

Chemerin sentez ve sekresyonu TNF α ve IL-1 beta tarafından in vivo 3T3-L1 adipositlerde, insan primer adipositlerinde ve fare adipositlerinde artmaktadır [92, 109].

Chemerinin adipositler tarafından ekspresyonu transkripsiyon faktörü sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2) aracılığıyla serbest yağ asitleri tarafından uyarılmaktadır [110]. Chemerinin matür adiposit fonksiyonlarını regüle ettiği bildirilmiştir. Bunu glukoz ve lipid metabolizmasının anahtar efektörlerinin ekspresyonunu kontrol ederek gerçekleştirir. Bu efektörler arasında glukoz transporter GLUT4, diaçilgliserol aciltransferaz (DGAT) bulunmaktadır. Ayrıca trigliseritlerin, adipokinlerden leptin ve adiponektinin sentezinde görev almaktadır [85, 106].

Chemerinin lipoliz üzerine etkisi tartışma konusudur. Bazı çalışmalarda 3T3-L1 ya da primer fare beyaz adipositlerde chemerine cevap olarak bazal ya da isoproterenol ile uyarılmış lipolizde azalmadan bahsedilmiştir [106, 111]. Diğer çalışmalar ise 3T3-L1 adipositlerde lipolizin chemerinle stimülasyonundan bahsedilmiştir [108].

Chemerinin glukoz metabolizması üzerine etkisi de tartışmalıdır. 3T3-L1 adipositlerde, insülin aracılı glukoz alımı hem artmış [112] hem de azalmıştır [113]. Primer kas hücrelerinde chemerin tarafından glukoz alımının inhibe edildiği gösterilmiştir [92, 107].

Serum chemerin seviyeleri **obez ve tip 2 diabetik** hastalarda artmıştır. Birkaç çalışmada vücut kitle indeksi (BMI), açlık glukozu, açlık insülini, trigliseritler ve total kolesterol ile pozitif korelasyonda olduğu, fakat HDL kolesterolle negatif korelasyonda olduğu gösterilmiştir [85, 107]. Ayrıca hayvan modellerinde, obezite ve diabetin dolaşan chemerin seviyeleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [114].

Chemerin nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında da yükselmektedir [115].

Chemerin ateriosklerotik lezyonlar için bir marker olmasa da lokal chemerin üretimi makrofajlarla ateriosklerotik plaklara toplandığı düşünülmektedir [116].

Bazı çalışmalarda ChemR23'ün insan kas hücreleri tarafından eksprese edildiği bildirilmektedir [92].

2.4.11 Chemerin ve Chemerin Reseptörlerinin Diğer Etkileri

ChemR23 ekspresyonu endotel hücrelerde bildirilmiştir. Bu hücrelerde reseptörün inflamatuvar sitokinler (TNF α ve IL-6) tarafından upregüle edildiği bildirilmiş ve chemerinin endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve metalloproteazların (MMP-2 ve MMP-9) salınmasını uyardığı, böylece angiogeneze yardımcı olduğu bildirilmiştir [93].

İki chemerin reseptörünün, ChemR23 ve GPR1, insan ve simian immünyetmezlik virüsü (HIV ve SIV) için ko-reseptör olduğu bildirilmiştir [78, 117, 118].

GEREÇ ve YÖNTEM

13 Haziran 2013 - 23 Ocak 2015 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı MS polikliniğinde ayaktan takip edilen MS hastalarından, çalışmaya katılmak isteyenlerden rıza (olur) formu imzalatıldıktan sonra, tetkikleri esnasında istenilen kanlara ek olarak 1 tüp rutin kan alınmıştır. Vaka grubuna benzer yaş ve cinsiyet özelliklerinde sağlıklı kontrol grubu olmayı kabul eden kişilerden rıza (olur) formu imzalatıldıktan sonra 1 tüp rutin kan alınmıştır. MS hastalarının klinik tipleri, kullandıkları immünmodülatuvar ilaçlar, kortikosteroid tedavileri sınıflandırılarak serum chemerin, IL-10, IL-1 beta düzeyleri kendi aralarında ve sağlıklı kontrol grubu arasında karşılaştırılmıştır.

3.1 Çalışma Popülasyonu

Hastaların tanıları 2010 McDonald Revize MS Tanı Kriterlerine göre değerlendirilmiştir [119].

Çalışmaya toplam 203 MS hastası, 50 sağlıklı kontrol grubu toplam 253 kişi dâhil edilmiştir.

Araştırmaya dâhil olma kriterleri:

- 2010 McDonald Revize MS Tanı Kriterlerine göre MS tanısı almış olan hastalar.
- Sağlıklı kontrol grubunda MS hastalığı ya da MS şüphesi olmayan sağlıklı bireyler.

Araştırmaya dâhil olmama kriterleri:

- MS tanısı almamış, demiyelinizan hastalık tanısıyla takip edilen hastalar.
- Psöriazis, Lupus, Crohn Hastalığı, Ülseratif Kolit, Romatoid Artrit gibi chemerin düzeylerini yükselttiği bilinen hastalığı olan hastalar.

3.2 Çalışma Tasarımı

Çalışma prospektif bir çalışma olup Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı MS polikliniğinde ayaktan takip edilen MS hastalarından,

çalışmaya katılmak isteyenlerden rıza (olur) formu imzalatıldıktan sonra, tetkikleri esnasında istenilen kanlara ek olarak 1 tüp rutin kan alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubu olmayı kabul eden kişilerden rıza (olur) formu imzalatıldıktan sonra 1 tüp rutin periferik kan alınmıştır. Kan örnekleri dakikada 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Serum örnekleri porsiyonlar halinde -80 °C'lik derin dondurucuda saklanmıştır.

Serumlarda chemerin, IL-10 ve IL-1 beta düzeyleri Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Temel İmmünoloji bilim dalı laboratuvarında sandviç prensibine dayanan ELISA (EnzymeLinked Immunosorbent Assay) yöntemi ile saptanmıştır. Serum örnekleri Boster marka Human Chemerin/RARRES2 ELISA Kit, Human IL-10 ELISA Kit, Human IL-1 beta ELISA Kit kullanılarak ALISEI tam otomatik ELISA cihazında çalışılmıştır. Dilüsyon oranı 1:10 olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde serum örnekleri, standartlar ve kontroller chemerin, IL-10 ve IL-1 beta'ya spesifik poliklonal antikor ile kaplı kuyucuklara pipetlenir. Üzerine biyotinlenmiş ikinci poliklonal anti-human antikor eklenir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış antikor yıkanarak uzaklaştırılır. Bunu takiben kuyucuklara streptavidin-peroxidaz enzim konjugatı eklenerek biyotinlenmiş antikorlarla bağlanması sağlanır. İkinci inkübasyondan sonra kuyucuklardaki bağlı olmayan antikor-enzim konjugatı yıkanarak uzaklaştırılır. Kuyucuklara kromojen bir substrat eklenir. Üçüncü inkübasyondan sonra enzimatik aktivite sonucu oluşan rengin şiddeti 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Oluşan rengin şiddeti örnekte mevcut chemerin, IL-10, IL-1 beta konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Sonuçlar chemerinde ng/ml, IL-10 ve IL-1 betada pg/ml olarak ifade edilmiştir.

MS hastalarının ve kontrol grubunun cinsiyetleri, yaşları, MS tipi, kullandıkları tedaviler (interferon beta 1A, interferon beta 1B, glatiramer asetat, fingolimod, dimetil fumarat, natalizumab, azatioprin, metotreksat), daha önce yüksek doz kortikosteroid tedavisi (pulse) alıp almadıkları incelenmiştir.

3.3 İstatistik Metodu

Çalışmalarda elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 20.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Ortalama, Standart sapma, Ortanca) yanı sıra iki grup arasında niteliksel değerlerin karşılaştırılmasında Ki-kare ve Fisher exact test kullanılırken, iki grup arası niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Bağımsız T testi ve Mann Whitney U testi kullanıldı. İki gruptan fazla niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Tek yönlü ANOVA ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın etik kurul onayı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Yerel Etik Kurulu'nun 09 Nisan 2014 gün ve 50687469-1491-320-14/1648.4-826 sayılı yazısı ile alınmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya 203 MS hastası, 50 sağlıklı kontrol grubu toplam 253 kişi dâhil edilmiştir. MS hastası ve sağlıklı kontrol grubunun serum chemerin, IL-10 ve IL-1 beta seviyelerine bakılmıştır. Chemerin seviyesi 50 ng/ml'den yüksek olan hastalar (>50) çalışma dışı bırakılmıştır (Chemerin >50 olan vaka grubundan 21, kontrol grubundan 3 toplam 24 kişi istatistik dışı bırakıldı) (Tablo 4.1).

Vaka ve Kontrol Grubu Sayıları				
		Vaka	Sağlıklı Kontrol	Toplam
Chemerin	< 50	182	47	229
		% 79,5	% 20,5	% 100
	> 50	21	3	24
		% 87,5	% 12,5	% 100
Toplam	Sayı	203	50	253
	%	% 80,2	% 19,8	% 100
P = 0,431				

Tablo 4.1: Vaka ve Kontrol Grubu Sayıları

MS hastaların 53'ü erkek (%29,1), 129'u kadındır (%70,9). Kontrol grubunun 20'si erkek (%42,6), 27'si kadındır (%57,4) (Tablo 4.2).

MS hastaların yaşları minimum 12 ve maksimum 61'dir. Kontrol grubunun yaşları minimum 22 ve maksimum 54'dür. MS Hastaların yaşlarının aritmetik ortalaması 37,48'dir. Kontrol grubunun yaşlarının aritmetik ortalaması 36,57'dir. Hasta kadınların yaşlarının aritmetik ortalaması 36,67, hasta erkeklerin yaşlarının aritmetik ortalaması 39,38'dir. Kontrol grubu kadınların yaşlarının aritmetik ortalaması 33,40, kontrol grubu erkeklerin yaşlarının aritmetik ortalaması 40,90'dır (Tablo 4.3). MS Hastalarının 5'i 10-20 yaş arasında (%2,7), 108'i 20-40 yaş arasında (%59,3), 69'u 40-65 yaş arasındadır (%37,9). Kontrol grubunun 34'ü 20-40 yaş arasında (%72,3), 13'ü 40-65 yaş arasındadır (%27,7) (Tablo 4.4).

Vaka ve Kontrol Grubunda Cinsiyet Özellikleri				
Cinsiyet		Vaka	Sağlıklı Kontrol	Toplam
Kadın	Sayı	129	27	156
	%	% 70,9	% 57,4	% 68,1
Erkek	Sayı	53	20	73
	%	% 29,1	% 42,6	% 31,9
Toplam	Sayı	182	47	229
	%	% 100	% 100	% 100
<i>P = 0,078</i>				

Tablo 4.2: Vaka ve Kontrol Grubunda Cinsiyet Özellikleri

Vaka ve Kontrol Grubunda Yaş Ortalamaları				
		Vaka	Sağlıklı Kontrol	
Sayı		182	47	
Ort. ± S.D.		37,48 ± 10,203	36,57 ± 8,153	
Cinsiyet	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
Sayı	129	53	27	20
Ort. ± S.D	36,67 ± 9,952	39,38 ± 10,411	33,40 ± 7,700	40,90 ± 6,789

Tablo 4.3: Vaka ve Kontrol Grubunda Yaş Ortalamaları
(S.D: Standart Derivasyon)

Hastaların 117'i RRMS (Relapsing Remitting) (%64,3), 21'i SPMS (Sekonder Progresif) (%11,5), 4'ü PPMS (Primer Progresif) (%2,2), 38'i CIS (Klinik İzole Sendrom) (%20,9), 2'si RIS (Radyolojik İzole Sendrom) (%1,1) tipindeydi (Tablo 4.5).

Vaka ve Kontrol Grubunda Yaş Özellikleri				
Yaş Sınıflandırması		Vaka	Sağlıklı Kontrol	Toplam
10 – 20 Yaş	Sayı	5	0	5
	%	% 2,7	% 0	% 2,7
20 – 40 Yaş	Sayı	108	34	142
	%	% 59,3	% 72,3	% 61,59
40 – 65 Yaş	Sayı	69	13	82
	%	% 38	% 27,7	% 36,12
Toplam	Sayı	182	47	229
	%	% 100	% 100	% 100

P = 0,229

Tablo 4.4: Vaka ve Kontrol Grubunda Yaş Özellikleri

Vaka Grubunda MS Tipleri		
TANI	Sayı	Yüzde
RRMS	117	% 64,3
SPMS	21	% 11,5
PPMS	4	% 2,2
CIS	38	% 20,9
RIS	2	% 1,1
Toplam	182	% 100,0

Tablo 4.5: Vaka Grubunda MS Tipleri

Hastaların 96'sı (%52,7) serum örneği alındığında herhangi bir immünmodülatuvar ilaç (IMD) kullanmıyordu (Tablo 4.6).

İmmünmodülatuvar İlaç (IMD) Kullanma Oranları		
IMD	Sayı	Yüzde
Yok	96	% 52,7
Var	86	% 47,3
Toplam	182	% 100

Tablo 4.6: Vaka Grubunda IMD Kullanma Oranları

İmmünmodülatuvar ilaç kullanan hastaların 11'i interferon beta-1a 30 µg (Avonex®) (%12,8), 18'i interferon beta-1b (Betaferon®) (%20,9), 28'i interferon beta-1a 44 µg (Rebif®) (%32,6), 10'u glatiramer asetat (Copaxone®) (%11,6), 10'u azatioprin (Imuran®) (%11,6), 1'i natalizumab (Tysabri®) (%1,2), 4'ü fingolimod (Gilenya®) (%4,7), 2'si dimetil fumarat (Tecfidera®) (%2,3), 2'si metotreksat (%2,3) kullanıyordu (Tablo 4.7).

IMD Çeşitleri		
IMD	Sayı	Yüzde
Avonex®	11	% 12,8
Betaferon®	18	% 20,9
Rebif®	28	% 32,6
Copaxone®	10	% 11,6
Imuran®	10	% 11,6
Tysabri®	1	% 1,2
Gilenya®	4	% 4,7
Tecfidera®	2	% 2,3
Metotreksat	2	% 2,3
Toplam	86	% 100,0

Tablo 4.7: IMD Çeşitleri

MS hastalarının 31'i (%17) serum örneği alındığında pulse (yüksek doz metilprednizolon) ya da IMD tedavisi almamıştır, 65'i (%35) pulse tedavisi almış fakat IMD tedavisi almamıştır, 86'sı (%48) hem pulse hem de IMD tedavisi almıştır (Tablo 4.8, 4.9).

Pulse ve IMD Kullananlar

	Pulse ya da IMD yok	Pulse almış IMD yok	Pulse ve IMD almış	Sağlıklı Kontrol
Chemerin	31	65	86	47
	< 50			
	% 86,1	% 91,5	% 29,6	%94
	5	6	10	21
	> 50			
	% 13,9	% 8,5	% 10,4	%6

Tablo 4.8: Pulse ve IMD Kullananlar

P = 0,636

Pulse ve IMD Kullananlar - Cinsiyet ilişkisi

	Pulse ya da IMD yok	Pulse almış IMD yok	Pulse ve IMD almış	Kontrol Grubu	Toplam
Kadın	24	48	57	27	156
	15,4%	30,8%	36,5%	17,3%	% 100
Erkek	7	17	29	20	73
	9,6%	23,3%	39,7%	27,4%	100,0%
Toplam	31	65	86	47	229
	13,5%	28,4%	37,6%	20,5%	100,0%

Tablo 4.9: Pulse ve IMD Kullananlar – Cinsiyet İlişkisi

P= 0,186

Vaka grubunda chemerin seviyeleri ortalaması 11,24 ng/ml, kontrol grubunda 12,77 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda chemerin düzeyinin düşük çıkması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p= 0,007$). Vaka grubunda IL-10 seviyeleri ortalaması 6,26 pg/ml, kontrol grubunda 7,37 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IL-10 düzeyinin düşük çıkması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p= 0,527$). Vaka grubunda IL-1 beta seviyeleri ortalaması 1,24 pg/ml, kontrol grubunda 0,54 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IL-1 beta değerinin yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p= 0,019$) (Tablo 4.10).

Vaka ve Kontrol Grubunda Serum Düzeyleri				
		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
Vaka	Sayı	203	203	182
	Ort. $\pm$ S.D	1,24 $\pm$ 1,57	6,26 $\pm$ 7,91	11,24 $\pm$ 9,51
Sağlıklı Kontrol	Sayı	50	50	47
	Ort. $\pm$ S.D	0,54 $\pm$ 0,78	7,37 $\pm$ 9,33	12,77 $\pm$ 7,80
<i>P</i>		0,019	0,527	0,007

Tablo 4.10: Vaka ve Kontrol Grubunda Serum Düzeyleri

Vaka grubunda IMD kullananların chemerin seviyeleri ortalaması 10,26 ng/ml, IMD kullanmayanların chemerin seviyeleri ortalaması ise 12,11 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IMD kullanmayanların chemerin seviyelerinin ortalaması IMD kullananlara oranla yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,115$). Vaka grubunda IMD kullananların IL-10 seviyeleri ortalaması 6,46 pg/ml, IMD kullanmayanların IL-10 seviyeleri ortalaması ise 6,09 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IMD kullanmayanların IL-10 seviyelerinin ortalamasının IMD kullananlara oranla düşük çıkması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,751$). Vaka grubunda IMD kullananların IL-1 beta seviyeleri ortalaması 0,95 pg/ml, IMD kullanmayanların IL-1 beta seviyeleri ortalaması ise 1,51 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IMD kullanmayanların IL-1 beta seviyelerinin

ortalaması IMD kullananlara oranla yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,039) (Tablo 4.11).

Vaka Grubunda IMD Kullananlarla Kullanmayanların Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
IMD Yok	Sayı	96	96	96
	Ort. ± S.D	1,51 ± 1,73	6,09 ± 8,07	12,11 ± 9,77
IMD Var	Sayı	86	86	86
	Ort. ± S.D	0,95 ± 1,32	6,46 ± 7,77	10,26 ± 9,18
Toplam	Sayı	182	182	182
	Ort. ± S.D	1,24 ± 1,57	6,26 ± 7,91	11,2 ± 9,51
P		0,039	0,751	0,115

Tablo 4.11: Vaka Grubunda IMD Kullananlarla Kullanmayanların Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

Vaka grubunda pulse tedavi hiç almamış hastaların chemerin seviyeleri ortalaması 14,76 ng/ml, pulse tedavi almış hastaların chemerin seviyeleri ortalaması ise 10,52 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda pulse tedavi hiç almamış hastaların chemerin seviyelerinin ortalaması pulse tedavi almış hastalara oranla yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlıdır (p= 0,018). Vaka grubunda pulse tedavi hiç almamış hastaların IL-10 seviyeleri ortalaması 6,16 pg/ml, pulse tedavi almış hastaların IL-10 seviyeleri ortalaması ise 6,28 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda pulse tedavi hiç almamış hastaların IL-10 seviyelerinin ortalaması pulse tedavi almış hastalara oranla düşük çıkması istatistiksel olarak anlamlı değildir (p= 0,868). Vaka grubunda pulse tedavi hiç almamış hastaların IL-1 beta seviyeleri ortalaması 1,61 pg/ml, pulse tedavi almış hastaların IL-1 beta seviyeleri ortalaması ise 1,16 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda pulse tedavi hiç almamış hastaların IL-1 beta

seviyelerinin ortalaması pulse tedavi almış hastalara oranla yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p= 0,181$) (Tablo 4.12).

Vaka Grubunda Pulse Tedavi Hiç Almamış Hastalarla Pulse Tedavi Almış Hastaların Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması				
		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
Pulse Yok	Sayı	31	31	31
	Ort. $\pm$ S.D	1,64 $\pm$ 1,79	6,16 $\pm$ 7,85	14,76 $\pm$ 11,43
Pulse Var	Sayı	151	151	151
	Ort. $\pm$ S.D	1,16 $\pm$ 1,52	6,28 $\pm$ 7,94	10,52 $\pm$ 8,94
Toplam	Sayı	182	182	182
	Ort. $\pm$ S.D	1,24 $\pm$ 1,57	6,26 $\pm$ 7,91	11,24 $\pm$ 9,51
<i>P</i>		0,181	0,868	0,018

Tablo 4.12: Vaka Grubunda Pulse Tedavi Hiç Almamış Hastalarla Pulse Tedavi Almış Hastaların Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

Vaka grubunda MS tiplerine göre hastaların chemerin seviyeleri ortalaması RRMS'li hastalarda (n=117) 10,67 ng/ml, PPMS'li hastalarda (n=4) 18,94 ng/ml, SPMS'li hastalarda (n=21) 10,33 ng/ml, CIS'li hastalarda (n=38) 12,27 ng/ml, RIS'li hastalarda (n=2) 19,3 ng/ml'dir. Vaka grubunda MS tiplerine göre hastaların IL-10 seviyeleri ortalaması RRMS'li hastalarda (n=117) 5,51 pg/ml, PPMS'li hastalarda (n=4) 4,92 pg/ml, SPMS'li hastalarda (n=21) 9,42 pg/ml, CIS'li hastalarda (n=38) 7,10 pg/ml, RIS'li hastalarda (n=2) 3,95 pg/ml'dir. Vaka grubunda MS tiplerine göre hastaların IL-1 beta seviyeleri ortalaması RRMS'li hastalarda (n=117) 1,13 pg/ml, PPMS'li hastalarda (n=4) 1,01 pg/ml, SPMS'li hastalarda (n=21) 0,98 pg/ml, CIS'li hastalarda (n=38) 1,65 pg/ml, RIS'li hastalarda (n=2) 3,20 pg/ml'dir (Tablo 4.13).

Vaka Grubunda MS Tiplerine Göre Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
RRMS	Sayı	117	117	117
	Ort. ± S.D	1,13 ± 1,50	5,51 ± 6,99	10,67 ± 8,99
PPMS	Sayı	4	4	4
	Ort. ± S.D	1,01 ± 2,02	4,92 ± 6,83	18,94 ± 16,72
SPMS	Sayı	21	21	21
	Ort. ± S.D	0,98 ± 1,28	9,42 ± 8,69	10,33 ± 8,59
CIS	Sayı	38	38	38
	Ort. ± S.D	1,65 ± 1,84	7,10 ± 9,93	12,27 ± 10,62
RIS	Sayı	2	2	2
	Ort. ± S.D	3,20 ± 0,38	3,95 ± 5,59	19,30 ± 6,37
Toplam	Sayı	182	182	182
	Ort. ± S.D	1,24 ± 1,57	6,26 ± 7,91	11,24 ± 9,51
<i>P</i>		0,134	0,365	0,298

Tablo 4.13: Vaka Grubunda MS Tiplerine Göre Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

Vaka grubunda kullanılan IMD'ye göre hastaların chemerin seviyeleri ortalaması Avonex® (İnterferon beta 1A 30 µg) kullanan hastalarda (n=11) 9,62 ng/ml, Betaferon® (İnterferon beta 1B) kullanan hastalarda (n=18) 8,25 ng/ml, Rebif® (İnterferon beta 1A 44 µg) kullanan hastalarda (n=28) 9,55 ng/ml, Copaxone® (Glatiramer Asetat) kullanan hastalarda (n=10) 7,58 ng/ml, Imuran® (Azatioprin) kullanan hastalarda (n=10) 15,07 ng/ml, Tysabri® (Natalizumab) kullanan hastada (n=1) 4,94 ng/ml, Gilenya® (Fingolimod) kullanan hastalarda (n=4) 14,97 ng/ml, Tecfidera® (Dimetil fumarat) kullanan

hastalarda (n=2) 27,73 ng/ml, metotreksat kullanan hastalarda (n=2) 7,11 ng/ml'dir (Tablo 4.14).

Vaka grubunda kullanılan IMD'ye göre hastaların IL-10 seviyeleri ortalaması Avonex® (İnterferon beta 1A 30 µg) kullanan hastalarda (n=11) 9,28 pg/ml, Betaferon® (İnterferon beta 1B) kullanan hastalarda (n=18) 5,75 pg/ml, Rebif® (İnterferon beta 1A 44 µg) kullanan hastalarda (n=28) 4,75 pg/ml, Copaxone® (Glatiramer Asetat) kullanan hastalarda (n=10) 5,56 pg/ml, Imuran® (Azatioprin) kullanan hastalarda (n=10) 7,36 pg/ml, Tysabri® (Natalizumab) kullanan hastada (n=1) 8,35 pg/ml, Gilenya® (Fingolimod) kullanan hastalarda (n=4) 13,62 pg/ml, Tecfidera® (Dimetil fumarat) kullanan hastalarda (n=2) 1,36 pg/ml, metotreksat kullanan hastalarda (n=2) 11,24 pg/ml'dir (Tablo 4.14).

Vaka grubunda kullanılan IMD'ye göre hastaların IL-1 beta seviyeleri ortalaması Avonex® (İnterferon beta 1A 30 µg) kullanan hastalarda (n=11) 0,93 pg/ml, Betaferon® (İnterferon beta 1B) kullanan hastalarda (n=18) 0,86 pg/ml, Rebif® (İnterferon beta 1A 44 µg) kullanan hastalarda (n=28) 0,99 pg/ml, Copaxone® (Glatiramer Asetat) kullanan hastalarda (n=10) 0,27 pg/ml, Imuran® (Azatioprin) kullanan hastalarda (n=10) 1,30 pg/ml, Tysabri® (Natalizumab) kullanan hastada (n=1) 1,68 pg/ml, Gilenya® (Fingolimod) kullanan hastalarda (n=4) 2,52 pg/ml, Tecfidera® (Dimetil fumarat) kullanan hastalarda (n=2) 0,45 pg/ml, metotreksat kullanan hastalarda (n=2) 0,02 pg/ml'dir (Tablo 4.14).

Vaka Grubunda Kullanılan IMD'ye Göre Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
Avonex®	Sayı	11	11	11
	Ort. ± S.D	0,93 ± 1,43	9,28 ± 8,03	9,62 ± 4,84
Betaferon®	Sayı	18	18	18
	Ort. ± S.D	0,86 ± 1,26	5,75 ± 10,02	8,25 ± 6,30
Rebif®	Sayı	28	28	28
	Ort. ± S.D	0,99 ± 1,50	4,75 ± 6,50	9,55 ± 8,46
Copaxone®	Sayı	10	10	10
	Ort. ± S.D	0,27 ± 0,55	5,56 ± 5,46	7,58 ± 4,68
Imuran®	Sayı	10	10	10
	Ort. ± S.D	1,30 ± 1,34	7,36 ± 7,99	15,07 ± 14,56
Tysabri®	Sayı	1	1	1
	Ort. ± S.D	1,68	8,35	4,94
Gilenya®	Sayı	4	4	4
	Ort. ± S.D	2,52 ± 1,01	13,62 ± 8,90	14,97 ± 10,37
Tecfidera®	Sayı	2	2	2
	Ort. ± S.D	0,45 ± 0,14	1,36 ± 1,92	27,73 ± 27,34
Metotreksat	Sayı	2	2	2
	Ort. ± S.D	0,02 ± 0,02	11,24 ± 7,23	7,11 ± 0,65
Toplam	Sayı	86	86	86
	Ort. ± S.D	0,95 ± 1,32	6,46 ± 7,77	10,26 ± 9,18
<i>P</i>		0,134	0,235	0,528

Tablo 4.14: Vaka Grubunda Kullanılan IMD'ye Göre Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

Vaka grubunda IMD kullanmayanların chemerin seviyeleri ortalaması 12,11 ng/ml, kontrol grubunun chemerin seviyeleri ortalaması ise 12,77 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IMD kullanmayanların chemerin seviyelerinin ortalamasının kontrol grubunun chemerin seviyeleri ortalamasından düşük olması istatistiksel olarak anlamlı değildir (p= 0,106).

Vaka grubunda IMD kullanmayanların IL-10 seviyeleri ortalaması 6,09 pg/ml, kontrol grubunun IL-10 seviyeleri ortalaması ise 7,37 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IMD kullanmayanların IL-10 seviyelerinin ortalamasının kontrol grubunun IL-10 seviyeleri ortalamasından düşük olması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p= 0,506$). Vaka grubunda IMD kullanmayanların IL-1 beta seviyeleri ortalaması 1,51 pg/ml, kontrol grubunun IL-1 beta seviyeleri ortalaması ise 0,54 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda IMD kullanmayanların IL-1 beta seviyelerinin ortalamasının kontrol grubunun IL-1 beta seviyeleri ortalamasından yüksek olması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p= 0,003$) (Tablo 4.15).

IMD Almamış Hastalarla Kontrol Grubunun Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması				
		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
IMD Yok	Sayı	96	96	96
	Ort. $\pm$ S.D	1,51 $\pm$ 1,73	6,09 $\pm$ 8,07	12,11 $\pm$ 9,77
Sağlıklı Kontrol	Sayı	47	47	47
	Ort. $\pm$ S.D	0,54 $\pm$ 0,78	7,37 $\pm$ 9,33	12,77 $\pm$ 7,80
Toplam	Sayı	229	229	229
	Ort. $\pm$ S.D	1,10 $\pm$ 1,47	6,49 $\pm$ 8,21	11,55 $\pm$ 9,19
P		0,003	0,506	0,106

Tablo 4.15: IMD Almamış Hastalarla Kontrol Grubunun Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

Vaka grubunda pulse hiç almamış hastaların chemerin seviyeleri ortalaması 14,76 ng/ml, kontrol grubunun chemerin seviyeleri ortalaması ise 12,77 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda pulse hiç almamış hastaların chemerin seviyelerinin ortalamasının kontrol grubunun chemerin seviyeleri ortalamasından yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p= 0,713$). Vaka grubunda pulse hiç almamış hastaların IL-10 seviyeleri

ortalaması 6,16 pg/ml, kontrol grubunun IL-10 seviyeleri ortalaması ise 7,37 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda pulse hiç almamış hastaların IL-10 seviyelerinin ortalamasının kontrol grubunun IL-10 seviyeleri ortalamasından düşük olması istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p= 0,572$). Vaka grubunda pulse hiç almamış hastaların IL-1 beta seviyeleri ortalaması 1,64 pg/ml, kontrol grubunun IL-1 beta seviyeleri ortalaması ise 0,54 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Vaka grubunda pulse hiç almamış hastaların IL-1 beta seviyelerinin ortalamasının kontrol grubunun IL-1 beta seviyeleri ortalamasından yüksek olması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p= 0,007$) (Tablo 4.16).

Pulse Hiç Almamış Hastalarla Kontrol Grubunun Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması				
		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
Pulse Yok	Sayı	31	31	31
	Ort. $\pm$ S.D	1,64 $\pm$ 1,79	6,16 $\pm$ 7,85	14,76 $\pm$ 11,43
Sağlıklı Kontrol	Sayı	47	47	47
	Ort. $\pm$ S.D	0,54 $\pm$ 0,78	7,37 $\pm$ 9,33	12,77 $\pm$ 7,80
Toplam	Sayı	229	229	229
	Ort. $\pm$ S.D	1,10 $\pm$ 1,47	6,49 $\pm$ 8,21	11,55 $\pm$ 9,19
<i>P</i>		0,007	0,572	0,713
<i>Tablo 4.16: Pulse Hiç Almamış Hastalarla Kontrol Grubunun Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması</i>				

Hiç pulse tedavi almamış, IMD almamış fakat pulse almış, IMD ve pulse almış ve sağlıklı kontrol gruplarında serum chemerin, IL-10 ve IL-1 beta düzeyleri aşağıda özetlenmiştir (Tablo 4.17).

ÖZET				
		IL-1 beta (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	Chemerin (ng/ml)
Pulse ya da IMD Yok	Sayı	31	31	31
	Ort. ± S.D	1,64 ± 1,79	6,16 ± 7,85	14,76 ± 11,43
Pulse Almış, IMD Yok	Sayı	65	65	65
	Ort. ± S.D	1,44 ± 1,71	6,05 ± 8,23	10,85 ± 8,68
Pulse ve IMD Almış	Sayı	86	86	86
	Ort. ± S.D	0,95 ± 1,32	6,46 ± 7,77	10,26 ± 9,18
Sağlıklı Kontrol	Sayı	47	47	47
	Ort. ± S.D	0,54 ± 0,78	7,37 ± 9,33	12,77 ± 7,80
Toplam	Sayı	229	229	229
	Ort. ± S.D	1,10 ± 1,47	6,49 ± 8,21	11,55 ± 9,19

Tablo 4.17: Özet

Chemerin düzeylerinde sağlıklı kontrol – pulse ya da IMD kullanmamış hastalar ve pulse ve IMD almış – pulse almış hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur. Chemerin düzeylerinde sağlıklı kontrol – pulse ve IMD almış, sağlıklı kontrol - pulse almış, pulse ve IMD almış – pulse ya da IMD almamış, pulse almış – pulse ya da IMD kullanmamış hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır (Tablo 4.18).

IL-10 düzeylerinde subgruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur (Tablo 4.18).

IL-1 beta düzeylerinde sağlıklı kontrol – pulse ve IMD kullanmamış hastalar, pulse ve IMD kullanmamış – pulse almış hastalar, pulse ve IMD

kullanmış – pulse ya da IMD kullanmamış hastalar ve pulse almış – pulse ya da IMD kullanmamış hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur. IL-1 beta seviyelerinin sağlıklı kontrol – pulse almış hastalar ve sağlıklı kontrol pulse ya da IMD kullanmamış hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır (Tablo 4.18).

SUBGRUP ANALİZLERİ			
	IL-1 beta	IL-10	Chemerin
Sağlıklı Kontrol – Pulse ve IMD Almış	0,226	N	0,002
Sağlıklı Kontrol – Pulse almış	0,010	N	0,016
Sağlıklı Kontrol – Pulse ya da IMD yok	0,009	N	0,916
Pulse ve IMD almış – Pulse almış	0,096	N	0,503
Pulse ve IMD almış – Pulse ya da IMD yok	0,064	N	0,009
Pulse almış – Pulse ya da IMD yok	0,602	N	0,045

Tablo 4.18: Subgrup Analizleri

TARTIŞMA

Birçok çalışma kemokinler ve onların reseptörlerinin periferik kan, BOS ve MS'li hastaların beyin lezyonlarında değişen düzeylerde bulunduğunu ve hastalığın nöropatogenezinde rol oynadıklarını göstermektedir [43]. Son yıllarda MS araştırmaları hastalığın patogenezinde CD4+ T hücrelerinin rolleri üzerine yoğunlaşmaktadır. MS'e primer olarak CD4+ T hücre aracılı hastalık diyebiliriz.

En yüksek cDH'ler CIS ve erken MS hastalarında saptanmıştır [67]. Dendritik hücreler chemerini en çok eksprese eden hücrelerdendir [3]. Bizim çalışmamızda da CIS hastalarında özellikle pulse almamış hastalarda chemerin seviyesinin yüksek olması dikkati çekmektedir. İnterferon tedavisi hem cDH hem de pDH'leri etkilemekte ve periferik kandaki düzeylerini düşürmektedir [73, 79, 80].

pDH'ler bağışıklık sisteminde Tip1 interferonların (IFN) ana kaynağıdır. pDH'ler DH'lerin minör bir popülasyonunu oluşturur ve miyeloid hücre markerlarından mahrumdurlar ve plazmasitoid bir morfoloji gösterirler. Sitokinler gibi (CD 154 – CD 40 ligand, virüsler, bakteriyel DNA) çeşitli uyarılara in vitro maruz kalınca olgunlaşırlar [120, 121]. pDH'ler virüslere yanıt olarak periferik kanda tip 1 IFN'yi etkin ve hızlıca üreten tek hücre tipleridir [120]. pDH'lerin inflamatuvar deri hastalıklarında, romatoid artrit ve allerjik hastalıklarda hedef dokularda biriktiği ve lokal inflamatuvar hadiselerle ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [122-126]. pDH'ler MS dahil birçok nöroinflamatuvar hastalıkta hastaların BOS'unda tespit edilmiştir [67]. *Stasiolek ve ark. (2006)* MS'li hastalarda bozulmuş pDH fonksiyonlarının immünregülatuar mekanizmaların düzgün çalışmamasıyla ilişkilendirmiştir [76]. *Serafini ve ark. (2007)* MS'lilerin beyinlerinde demiyelinizan lezyonlarda ve leptomeninkslerde pDH'ler tespit etmişlerdir [127]. pDH ve MS arasındaki ilişkiyi araştıran yukarıda çalışmalara ek olarak *Lande ve ark. (2008)* MS'li hastaların postmortem beyinlerinde immünohistokimyasal olarak yaptıkları çalışmada ilk defa plazmasitoid dendritik hücreler (pDH) ve chemerin/chemR23 aksı arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir [3]. Bu çalışmada 4

SPMS hastasında postmortem beyin dokusu incelenmiştir. pDH işaretleyicileri olan BDCA-2 (Blood dendritic cell antigen) ve CD123 immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. BDCA-2+ ve CD123+ hücreler akut ve kronik aktif MS lezyonlarında damarların etrafında inflamatuvar hücrelerle birlikte birikmiş şekilde gözlemlenmiştir. Kontrol beyin dokusu örneklerinde BDCA-2 ve CD123 için immünreaksiyon tespit edilmemiştir. Ayrıca İmmünohistokimyasal analizlerde ChemR23'ün MS lezyonlarının perivasküler kılıflarında ve leptomeninkslerde biriken inflamatuvar hücrelerde eksprese edilmekte olduğu gösterilmiştir. Chemerin ise meninkslerde, bazı inflame olmuş kan damarlarında ve beyaz cevher lezyonlarında sınırlı şekilde tespit edilmiştir. Double immünflorasan boyama ile perivasküler kılıflarda tespit edilen bazı ChemR23+ hücrelerle BDCA2+ pDH'lerin benzer olduğunu gösterilmiştir. Chemerin meninkslerin vasküler endotelial hücrelerinde ve beyaz cevher lezyonlarında eksprese edilirken, ChemR23 pDH'ler dâhil olmak üzere infiltrate olan lökositlerde eksprese edilmektedir. Bu gözlemler sistemik lupustakine benzerdir. *Vermi ve ark. (2005)* Chemerin/ChemR23 aksı ile pDH göçünü ilişkilendirilmiş, SLE'deki deri lezyonlarındaki pDH birikiminin inflame dermal endotelial hücrelerdeki chemerin ekspresyonu vasıtasıyla olduğunu göstermişlerdir [83]. Bütün bu veriler MS'li hastaların beyinlerinde pDH'lerin tip 1 IFN üretmek için biriktiğini ve chemerin/ChemR23 aksının pDH'lerin intraserebral yönlendirilmesinde rol oynadığını düşündürmektedir. Yine bu çalışmada 11 MS hastasında tam kanlar baseline (0.gün), İlk IFN-beta enjeksiyonundan sonraki 24 saat (1.gün) ve tedaviden 3 ay sonra (90.gün) analiz edilmiştir. IFN-beta tedavisinin belirgin ve progresif olarak BDCA-2'nin ekspresyonunu azalttığı tespit edilmiştir.

MS ve EAE lezyonları CD4+ T hücrelerine ek olarak diğer birçok hücre tipi içerirler. Bu hücreler arasında; rekrüte olan B lenfositler, CD 8 + T lenfositler, makrofajlar ve MSS'de bulunan hücreler (ör: astrositler ve mikroglialar) vardır [128]. CMKLR 1 kemoatraktan bir reseptördür. Dendritik hücrelerin belirli alt kümeleri tarafından eksprese edildiği gibi, insan ve farelerdeki makrofajlardan da eksprese edilirler [79, 90, 91]. CMKLR1 eksprese eden hücreler proteolitik olarak regüle edilen bir kemoatraktan olan

chemerine doğru göç ederler [83, 90, 129]. Makrofaj ve DH'ler EAE ve MS'de inflamatuvar lezyonlarda belirgindir ve doku hasarı oluşmasında kritik rolleri vardır. *Graham ve ark. (2009)* otoimmün demiyelinizan hastalık modelinde (EAE) MSS'yi infiltre eden lökositler tarafından CMKLR1'in ekspresyonunu araştırmışlardır [87]. Bu çalışmada CMKLR1-noksan olan (CMKLR1 knockout (KO)mice) fareler wild-tip (WT) olan benzerlerine göre daha az klinik ve histolojik hastalık aktivitesi göstermektedirler. WT ve CMKLR1 KO farelerde MSS lezyonları, beyin ve spinal kord dokuları akut ve kronik dönemlerde incelenmiştir (Post-immünizasyon 13 ve 46.günlerde). WT ve CMKLR1 KO farelerde 13. günde benzer sayıda parankimal inflamatuvar odaklar bulunmuştur. Fakat CMKLR1 KO farelerde belirgin derecede daha az meningeal inflamatuvar odaklar tespit edilmiştir. Aynı zamanda CMKLR1 KO farelerde, WT olanlara göre kronik dönemde (46.gün) belirgin olarak daha az meningeal ve parankimal inflamatuvar lezyonlar tespit edilmiştir. Yine bu çalışmadaki veriler chemerin mRNA'sının EAE farelerinin spinal kordunda up-regüle edildiğini ve MSS'nin CMKLR1 eksprese eden hücreler için aktif chemerin kaynağı olduğunu göstermiştir.

Chemerinin hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar etkileri vardır ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda inflame dokularda ve vücut sıvılarında yüksek chemerin seviyeleri tespit edilmiştir. *Weigert ve ark. (2010)* ülseratif kolit ve Crohn hastalarında dolaşımda chemerin seviyelerini yüksek bulmuşlardır [100]. Buna benzer bir çalışmada *Nakajima ve ark. (2010)* psöriaziste chemerin seviyelerini yüksek bulmuşlardır [103]. Chemerinin adipogenezis ve doğal bağışıklık sistemi ile ilişkili yeni bir adipokin olduğu kabul edilmektedir [107]. Çok sayıda çalışmada romatoid artrit inflamasyon ve immün yanıtta adipokinlerin rolleri olduğu gösterilmiştir [130]. Son çalışmalarda sinoviyal fibroblastların chemerin ve reseptörünü (ChemR23) eksprese ettiği ve romatoid artrit hastalarının sinoviyumunda chemerin ve ChemR23 ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir [131]. Yeni yapılan bir çalışmada *Ha ve ark. (2014)* ilk defa romatoid artritte chemerinin sistemik seviyelerini araştırmışlardır [132]. Bu çalışmada 71 romatoid artrit hastası ve kontrol grubu olarak da yaş ve cinsiyet benzer olan 42 kişinin plazma chemerin

seviyeleri incelenmiştir. Plazma chemerin seviyeleri romatoid artritli hastalarda kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Romatoid artrit hastaları arasında ise plazma chemerin seviyeleri aktif olan grupta inaktif olan gruba göre daha yüksek seviyelerde çıkmıştır. Bu bulgular chemerin seviyelerinin hastalığın progresyonu ile ilgili bir belirteç olabileceğini göstermektedir. Yine bu çalışmada hastaların vücut kitle indeksleri (BMI) hesaplanmıştır. Chemerin seviyeleri ile BMI arasında romatoid artritli hastalarda negatif korelasyon saptanmıştır. Bu veriler chemerinin obeziteden çok sistemik inflamasyonla ilişkili olduğunu göstermektedir. Hâlbuki daha önceki yayınlarda chemerin obezite, diabetes mellitus, insülin rezistansı, hipertansiyon ve yağlı karaciğer hastalığı ile ilişkili bulunmuştur [85, 107, 133-136].

Obezite ile inflamasyon hep ilişkilendirilmiştir. Adipoz doku birçok sitokin ve adipokin üretebilmektedir. Adipokinler immün fonksiyonları modüle edebilmektedir [137]. Leptin Th1 yanıtını artırmakta ve regülatuvar T hücre aktivitesinde düşmeye neden olmaktadır [138]. Erken yaşta obezite ile artmış MS gelişme riski arasında bir ilişki söz konusudur [139-141]. Yeni yapılan bir çalışmada *Tomalka-Kochanowska ve ark. (2014)* 39 yeni MS tanısı almış hasta (28 kadın, 11 erkek) ve 42 kontrol grubunda (36 kadın, 6 erkek) plazma chemerin seviyelerini incelemişlerdir [142]. Plazma chemerin konsantrasyonları kilolu/obez MS hastalarında zayıf olan kontrollere göre yüksek çıkmıştır ($p<0.05$). Aynı zamanda chemerinin kilolu olanlarda zayıf olanlara göre hem kontrol hem MS grubunda artmaya meyil gösterdiği tespit edilmiştir. Obez MS ve kontrol grubu karşılaştırıldığında belirgin fark görülmemiştir. IL-10 konsantrasyonları MS'li obezlerde zayıflara göre daha düşük çıkmıştır. MS hastalarında chemerin ve insülin rezistansı, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar markerlar ve sitokinler (CRP, IL-6 ve IL-10) arasında anlamlı bir korelasyon saptanamamıştır. Tek anlamlı korelasyon obez MS grubunda HDL ile chemerin arasında saptanmıştır. *Hedström ve ark. (2014)* İnsan lökosit antijeni ile (HLA) BMI arasında bir ilişki saptamışlardır. Proinflamatuvar sitokinlerin salınımında artma Th-1 yanıtını artırmakta ve bu da regülatuvar T hücrelerinin sayısını azaltmakta böylece MSS oto-antijenlerini

hedef alan CD4+ hücrelerin aktivasyonuna neden olmaktadır [146]. Obezitedeki bu inflamatuvar ve immünolojik mekanizmalar yetişkin obezlerde MS gelişme riskini açıklayabilmektedir.

Mevcut ruhsat almış hastalık modifiye edici tedaviler sistemik lökosit göçünü veya dağılımını değiştirerek etki etmektedir fakat bazı hastalarda ciddi yan etkilere neden olabilmektedirler (Natalizumab (Tysabri®), anti- α 4 integrin adezyon molekül antikoru ya da Fingolimod gibi (Gilenya®), sfingozin-1-fosfat reseptör modülatörü). [143-147]. Birçok faz I/II klinik çalışma DH'ler tarafından tipik olarak üretilen proinflamatuvar sitokinlerin nötralizasyonu ile ilgilidir. Anti IL-12, anti IL-23 ve anti-TNF- α antikorları MS tedavisinde araştırılmaktadır. Maalesef TNF- α blokajı MS hastalığının seyrinde herhangi bir pozitif etki göstermemiştir [148]. Benzer şekilde IL-12 ve IL-23 tarafından paylaşılan subüniti bloklayan ustekinumab, MS hastalığının düzelmesinde etki göstermemiştir [149]. Yeni moleküller DH fonksiyonunu engellemek için hala çalışılmaktadır. *Lande ve ark. (2008)* ve *Graham ve ark. (2009)* yaptıkları çalışmalar CMKLR1'in MSS inflamasyonunda ana roller üstlendiğine dair önemli kanıtlar oluşturmaktadır. *Graham ve ark. (2014)* CMKLR1'in MS tedavisi için yeni bir hedef olduğundan hareketle α -NETA adlı potent bir chemerin inhibitörü üzerinde çalışmışlardır [150]. α -NETA (naphthoyl ethyltrimethylammonium iodide) ilk olarak kolin asetiltransferaz inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Chemerin CMKLR1+ hücrelerin göçlerini uyarmaktadır [79, 90]. Araştırmacılar α -NETA'nın CMKLR1+ hücrelerin chemerin kemotaksisini modüle edip etmediği araştırmışlar ve α -NETA'nın CMKLR1+ hücre göçünü inhibe ettiğini göstermişlerdir. α -NETA klinik ve histolojik olarak EAE'yi suprese etmekte ve MSS ve lenfosit dokuda lökosit dağılımını değiştirmektedir. In vivo olarak α -NETA tedavisi lenfosit proliferasyonunu ve sitokin üretimini değiştirmemektedir. Lökosit göçünün kontrolü kemoatraktan reseptörlerin primer fonksiyonudur ve α -NETA ile tedavi edilmiş EAE'li farede görülen azalmış MSS lökosit infiltrasyonu CMKLR1'in nöral dokulara olan immün hücre trafiğindeki rolünü desteklemektedir.

Çalışmamızda MS hastalarının chemerin seviyeleri ortalaması kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır (Chemerin; vaka = 11,24 ng/ml, kontrol = 12,77

ng/ml). Bunun nedeni çalışmaya dahil edilen hastalarının çoğunun pulse ya da IMD tedavi almış olmasından ileri geldiği düşünülmektedir (Toplam hasta sayısı = 182, IMD kullanan ve sadece pulse almış hastalar = 151, IMD ya da pulse almamış hastalar = 31). IMD kullanmayan hastaların (n = 96) chemerin düzeyi 12,11 ng/ml, IMD kullanan hastaların (n = 86) chemerin düzeyi 10,26 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Pulse almayan hastaların chemerin düzeyi ise yüksek çıkmıştır (n = 31, chemerin = 14,76 ng/ml). Pulse almamış hastalarla (n = 31, chemerin = 14,76 ng/ml) pulse tedavi almış hastalar (n = 151, chemerin = 10,52) istatistiksel olarak karşılaştırıldığında pulse almamış MS hastalarında, bu gruba yeni tanı almış MS hastaları da diyebiliriz, chemerin seviyesinin yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlıdır (p = 0,018). Bu gruba benzerlik olarak en yakın grup klinik izole sendrom (CIS) hastalarıdır diyebiliriz (n = 38). Bu hastalar ilk şikayetleri olduğunda başvurmuş ve MS tanısı almış hastalardır. Çalışmamızda bu hastaların çoğu pulse tedavisi almamıştır (n = 31). 7 hasta ise daha önce pulse tedavisi almış olarak polikliniğimize kontrol amacıyla başvuran hastalardır. CIS'lı hastaların chemerin düzeyi ortalaması 12,27 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bizlere pulse ve IMD tedavisinin chemerin seviyelerini düşürücü etkisini göstermektedir. Ayrıca bu bulgular chemerinin pro-inflamatuvar etkinliğini de göstermektedir. *Lande ve ark. (2008)* yaptığı çalışmada da IFN-beta tedavisinin belirgin ve progresif olarak BDCA-2'nin ekspresyonunu azalttığı tespit etmişlerdir (Yine bu çalışmada ChemR23+ hücrelerle BDCA2+ pDH'lerinin benzer olduğunu gösterilmiştir) [3]. Çalışmamıza katılan 2 radyolojik izole sendrom (RIS) hastasında chemerin seviyeleri ortalaması 19,30 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Her ne kadar örneklem sayısı az olsa da bu 2 asemptomatik MS adayı RIS'lı hastada chemerin düzeylerinin CIS ve kontrol grubuna göre yüksek çıkması chemerinin pro-inflamatuvar özelliğine dikkati çekmektedir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde *Tomalka-Kochanowska ve ark. (2014)* yaptığı çalışmada da yeni MS tanısı almış kilolu/obez hastalarda plazma chemerin konsantrasyonları zayıf olan kontrollere göre belirgin olarak yüksek çıkmıştır (p<0.05) [142].

Tıpkı chemerin gibi IL-1 beta ve IL-10'da da vaka ve kontrol grubu arasında farklılıklar tespit ettik. IL-1 beta pro-inflamatuvar, IL-10 ise anti-inflamatuvar özellikleri olan sitokinlerdir. IL-1 beta seviyeleri ortalaması vaka grubunda kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır (IL-1 beta; vaka = 1,24 pg/ml, kontrol = 0,54 pg/ml, $p = 0,019$). IL-1 beta seviyeleri ortalaması IMD kullanmayan MS hastalarında 1,51 pg/ml ($p = 0,039$), pulse almayan MS hastalarında 1,64 pg/ml'dir ($p = 0,181$). Görüldüğü gibi IL-1 beta düzeyleri de chemerin gibi IMD ve pulse tedavisinden etkilenmektedir. Fakat pulse alan ile almayan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır (bu grup hastalardaki chemerin düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur). IL-10 seviyelerinin ortalaması vaka grubunda kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır (IL-10; vaka = 6,26 pg/ml, kontrol = 7,37 pg/ml, $p = 0,527$). IL-10 düzeyleri IMD kullanmayan (6,09 pg/ml, $p = 0,751$) ve pulse almamış (6,16 pg/ml, $p = 0,868$) hastalarda da düşüktür fakat bu sonuçların hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı değildir. Anti-inflamatuvar sitokin olan IL-10 düzeylerinin pulse almamış MS hastalarında kontrol grubuna göre düşük çıkması istatistiksel olarak anlamlı olmasa da dikkati çekmektedir. *Tomalka-Kochanowska ve ark. (2014)* yaptıkları çalışmada da IL-10 konsantrasyonları MS'li obezlerde zayıflara göre daha düşük çıkmıştır [142].

RRMS ve SPMS hastalarında chemerin seviyeleri ortalaması düşük bulunmuştur (Chemerin; RRMS ($n = 117$) = 10,67 ng/ml, SPMS ($n = 21$) = 10,33 ng/ml). Bunun nedeninin bu hastaların pulse tedavi almış ya da IMD tedavi kullandıklarından dolayı olduğu düşünülmektedir. IL-1 beta düzeyleri de chemerin gibi RRMS ve SPMS hastalarında pulse ya da IMD kullanmayan hastalara göre düşük seviyededir. RRMS, SPMS ve CIS hastalarındaki IL-10 düzeyleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Çalışmamıza 4 PPMS hastası dahil edilmiştir. PPMS hastalarının chemerin seviyeleri ortalaması yüksek çıkmıştır ($n = 4$, 18,94 ng/ml) fakat örneklem sayısı az olduğu için bu sonuçların değerlendirilmesi istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu 4 PPMS hastasının 2'sinin uzun zamandır IMD kullanmadığı dikkati çekmektedir. Belki de IMD'nin etkisi ortadan kalktıkça chemerin düzeyleri zamanla artmış olabilmektedir. Gelecekte PPMS

hastalarla yapılan çalışmaların sayısı arttıkça bu konuda daha kesin konuşabileceğiz.

Çalışmamızda IMD tedavisi alan MS hastalarının chemerin seviyeleri ortalaması düşüktür (n = 86, 10,26 ng/ml). Chemerin seviyeleri ortalaması 1. basamak tedavi olarak kullandığımız Avonex® (İnterferon beta 1A 30 µg) kullanan hastalarda (n=11) 9,62 ng/ml, Betaferon® (İnterferon beta 1B) kullanan hastalarda (n=18) 8,25 ng/ml, Rebif® (İnterferon beta 1A 44 µg) kullanan hastalarda (n=28) 9,55 ng/ml, Copaxone® (Glatiramer Asetat) kullanan hastalarda (n=10) 7,58 ng/ml olarak tespit edilmiştir. 1. Basamak tedavilerin chemerin seviyelerini belirgin olarak düşürdüğünü söyleyebiliriz. İnterferon beta, interferon ailesi içinde MS tedavisinde kullandığımız bir sitokindir. İnterferon beta beyindeki pro- ve anti-inflamatuvar ajanların ekspresyonunu dengeleyerek kan beyin bariyerini geçen inflamatuvar hücre sayısını azaltır [151]. Azatioprin ise kimyasal sınıf olarak pürin analoglarından olup otoimmün hastalıklarda kullanılan immünsüpresif bir ilaçtır. Daha çok İmmün sistemde T ve B hücreleri gibi proliferen olan hücreleri etkiler [152, 153]. İlginç bir şekilde çalışmamızda Imuran® (Azatioprin) kullanan hastalarda chemerin seviyeleri ortalaması yüksektir (n=10, 15,07 ng/ml). Dendritik hücreler chemerini en çok eksprese eden hücrelerdendir [73]. Dolayısıyla azatioprinin dendritik hücreler üzerine etkisinin interferon beta ve glatiramer asetata göre çok daha az olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda IMD kullanmayan hastalarla (n = 96) sağlıklı kontrol grubunu (n = 47) karşılaştırdığımızda chemerin, IL-10 düzeylerinin farklı olmasının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını lakin IL-1 beta seviyelerinin yüksek çıkmasının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük (p = 0,003). Benzer şekilde pulse almayan hastalarla (n = 31) sağlıklı kontrol grubunu (n = 31) karşılaştırdığımızda chemerin, IL-10 düzeylerinin farklı olmasının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını, IL-1 beta seviyelerinin yüksek çıkmasının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük (p = 0,007). Chemerin düzeyinin hastalığın tanısında bir marker olarak kullanılması için bir cut-off değeri belirleyemedik. Fakat Pulse almamış hastalarla (n = 31, chemerin = 14,76 ng/ml) pulse tedavi almış hastalar (n = 151, chemerin = 10,52)

istatistiksel olarak karşılaştırıldığında pulse almamış MS hastalarında, bu gruba yeni tanı almış MS hastaları da diyebiliriz, chemerin seviyesinin yüksek çıkması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,018$). Bu veriler chemerin düzeylerinin MS'in başlangıcında, tedavi öncesi, tedavi sonrası tedaviye cevap ve hastalığın seyri hakkında bizlere fikir verebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız chemerinin pro-inflamatuvar özelliklerini desteklemekte, MS'in etyopatogenezinde dendritik hücrelerin önemli bir rol oynadığını bir kez daha göstermektedir.



SONUÇ ve ÖNERİLER

Chemerin hem lökosit popülasyonları için bir kemoatraktan faktör hem de lipid ve karbonhidrat metabolizmalarını regüle eden bir adipokindir. Bu iki rolün bağımsız ya da iç içe olduğu şu an için bilinmemektedir. İleriki çalışmalar bu konuya açıklık getirecektir.

İnflamasyon penceresi içinde chemerinin pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar özellikleri belirtilmiştir. Bu iki zıt etkinin hangi hücre popülasyonlarını nasıl etkiledikleri tam olarak araştırılmalıdır. Bu tip çalışmalar ChemR23'e karşı agonist ve antagonistleri tespit edecek ya da diğer reseptörlerin terapötik ajan olarak düşünülmesini sağlayacaktır.

CMKLR1(ChemR23) EAE'nin inflamatuvar mekanizmalarında yer almakta ve multipl skleroz için yeni bir terapötik hedef olarak ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamız chemerin düzeylerinin MS'in başlangıcında, tedavi öncesi, tedavi sonrası tedaviye cevap ve hastalığın seyri hakkında bizlere fikir verebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız chemerinin pro-inflamatuvar özelliklerini desteklemekte, MS'in etyopatogenezinde dendritik hücrelerin önemli bir rol oynadığını bir kez daha göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Comabella, M. and S.J. Khoury, *Immunopathogenesis of multiple sclerosis*. Clin Immunol, 2012. **142**(1): p. 2-8.
2. Gantz, I., et al., *Molecular cloning of a novel receptor (CMKLR1) with homology to the chemotactic factor receptors*. Cytogenet Cell Genet, 1996. **74**(4): p. 286-90.
3. Lande, R., et al., *Plasmacytoid dendritic cells in multiple sclerosis: intracerebral recruitment and impaired maturation in response to interferon-beta*. J Neuropathol Exp Neurol, 2008. **67**(5): p. 388-401.
4. Serafini, B., et al., *Dendritic cells in multiple sclerosis lesions: maturation stage, myelin uptake, and interaction with proliferating T cells*. J Neuropathol Exp Neurol, 2006. **65**(2): p. 124-41.
5. Bondue, B., V. Wittamer, and M. Parmentier, *Chemerin and its receptors in leukocyte trafficking, inflammation and metabolism*. Cytokine Growth Factor Rev, 2011. **22**(5-6): p. 331-8.
6. Kantarci, O.H., I. Pirko, and M. Rodriguez, *Novel immunomodulatory approaches for the management of multiple sclerosis*. Clin Pharmacol Ther, 2014. **95**(1): p. 32-44.
7. Lebrun, C., et al., *Unexpected multiple sclerosis: follow-up of 30 patients with magnetic resonance imaging and clinical conversion profile*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2008. **79**(2): p. 195-8.
8. Okuda, D.T., et al., *Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome*. Neurology, 2009. **72**(9): p. 800-5.
9. Siva, A., et al., *Multiple sclerosis risk in radiologically uncovered asymptomatic possible inflammatory-demyelinating disease*. Mult Scler, 2009. **15**(8): p. 918-27.
10. Noseworthy, J.H., et al., *Multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2000. **343**(13): p. 938-52.
11. Sadiq SA, M.J., .Demyelinating disease. Multiple sclerosis. In Rowlaand RP(ed):, W.a.W. Merrt's Textbook of Neurology.9th Ed. New York, 1995:pp 804-, and 825.

12. Pugliatti, M., S. Sotgiu, and G. Rosati, *The worldwide prevalence of multiple sclerosis*. Clin Neurol Neurosurg, 2002. **104**(3): p. 182-91.
13. JD., M., *Geographical Clues About Multiple Sclerosis*. Association of American Geographers, 1981. **71**: p. 29-39.
14. Laily, T.A., *Epidemiology of multiple sclerosis*. Br Med J, 1980. **280**(6209): p. 247-8.
15. Duquette, P., et al., *The increased susceptibility of women to multiple sclerosis*. Can J Neurol Sci, 1992. **19**(4): p. 466-71.
16. sclerозis, a.v.m.
17. Hensiek, A.E., et al., *HLA-DR 15 is associated with female sex and younger age at diagnosis in multiple sclerosis*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2002. **72**(2): p. 184-7.
18. Tienari, P., et al., *Multiple sclerosis in G: genes and geography*. Clin Neurol Neurosurg, 2006. **108**(3): p. 223-6.
19. Sotgiu, S., et al., *Genes, environment, and susceptibility to multiple sclerosis*. Neurobiol Dis, 2004. **17**(2): p. 131-43.
20. Hillert, J. and O. Olerup, *HLA and MS*. Neurology, 1993. **43**(11): p. 2426-7.
21. Hafler, D.A., et al., *Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study*. N Engl J Med, 2007. **357**(9): p. 851-62.
22. De Jager, P.L., et al., *Meta-analysis of genome scans and replication identify CD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci*. Nat Genet, 2009. **41**(7): p. 776-82.
23. Sundstrom, P., et al., *An altered immune response to Epstein-Barr virus in multiple sclerosis: a prospective study*. Neurology, 2004. **62**(12): p. 2277-82.
24. Munger, K.L., et al., *Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis*. Jama, 2006. **296**(23): p. 2832-8.
25. Handel, A.E., et al., *Smoking and multiple sclerosis: an updated meta-analysis*. PLoS One, 2011. **6**(1): p. e16149.
26. Lovett-Racke, A.E., et al., *Decreased dependence of myelin basic protein-reactive T cells on CD28-mediated costimulation in multiple*

- sclerosis patients. *A marker of activated/memory T cells*. J Clin Invest, 1998. **101**(4): p. 725-30.
27. Frohman, E.M., M.K. Racke, and C.S. Raine, *Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis*. N Engl J Med, 2006. **354**(9): p. 942-55.
 28. Wucherpfennig, K.W. and J.L. Strominger, *Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein*. Cell, 1995. **80**(5): p. 695-705.
 29. Munz, C., et al., *Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity?* Nat Rev Immunol, 2009. **9**(4): p. 246-58.
 30. Furtado, G.C., et al., *Swift entry of myelin-specific T lymphocytes into the central nervous system in spontaneous autoimmune encephalomyelitis*. J Immunol, 2008. **181**(7): p. 4648-55.
 31. Zhang, H., et al., *Intrinsic and induced regulation of the age-associated onset of spontaneous experimental autoimmune encephalomyelitis*. J Immunol, 2008. **181**(7): p. 4638-47.
 32. Burns, J., et al., *Isolation of myelin basic protein-reactive T-cell lines from normal human blood*. Cell Immunol, 1983. **81**(2): p. 435-40.
 33. Lisak, R.P. and B. Zweiman, *In vitro cell-mediated immunity of cerebrospinal-fluid lymphocytes to myelin basic protein in primary demyelinating diseases*. N Engl J Med, 1977. **297**(16): p. 850-3.
 34. Polman, C.H., et al., *A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2006. **354**(9): p. 899-910.
 35. Lee, M.A., et al., *Serum gelatinase B, TIMP-1 and TIMP-2 levels in multiple sclerosis. A longitudinal clinical and MRI study*. Brain, 1999. **122 (Pt 2)**: p. 191-7.
 36. Waubant, E., et al., *Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis*. Neurology, 1999. **53**(7): p. 1397-401.
 37. Holman, D.W., R.S. Klein, and R.M. Ransohoff, *The blood-brain barrier, chemokines and multiple sclerosis*. Biochim Biophys Acta, 2011. **1812**(2): p. 220-30.

38. Korn, T., et al., *IL-17 and Th17 Cells*. Annu Rev Immunol, 2009. **27**: p. 485-517.
39. Gocke, A.R., et al., *T-bet regulates the fate of Th1 and Th17 lymphocytes in autoimmunity*. J Immunol, 2007. **178**(3): p. 1341-8.
40. Haak, S., et al., *IL-17A and IL-17F do not contribute vitally to autoimmune neuro-inflammation in mice*. J Clin Invest, 2009. **119**(1): p. 61-9.
41. Stromnes, I.M., et al., *Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells*. Nat Med, 2008. **14**(3): p. 337-42.
42. Kebir, H., et al., *Preferential recruitment of interferon-gamma-expressing TH17 cells in multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2009. **66**(3): p. 390-402.
43. Tzartos, J.S., et al., *Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis*. Am J Pathol, 2008. **172**(1): p. 146-55.
44. Brucklacher-Waldert, V., et al., *Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis*. Brain, 2009. **132**(Pt 12): p. 3329-41.
45. Liao, J.J., M.C. Huang, and E.J. Goetzl, *Cutting edge: Alternative signaling of Th17 cell development by sphingosine 1-phosphate*. J Immunol, 2007. **178**(9): p. 5425-8.
46. Tsaknaris, L., et al., *Functional assay for human CD4+CD25+ Treg cells reveals an age-dependent loss of suppressive activity*. J Neurosci Res, 2003. **74**(2): p. 296-308.
47. Viglietta, V., et al., *Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis*. J Exp Med, 2004. **199**(7): p. 971-9.
48. Venken, K., et al., *Secondary progressive in contrast to relapsing-remitting multiple sclerosis patients show a normal CD4+CD25+ regulatory T-cell function and FOXP3 expression*. J Neurosci Res, 2006. **83**(8): p. 1432-46.

49. Babbe, H., et al., *Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction*. J Exp Med, 2000. **192**(3): p. 393-404.
50. Skulina, C., et al., *Multiple sclerosis: brain-infiltrating CD8+ T cells persist as clonal expansions in the cerebrospinal fluid and blood*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(8): p. 2428-33.
51. Johnson, A.J., et al., *The CD8 T cell in multiple sclerosis: suppressor cell or mediator of neuropathology?* Int Rev Neurobiol, 2007. **79**: p. 73-97.
52. Bitsch, A., et al., *Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation*. Brain, 2000. **123 (Pt 6)**: p. 1174-83.
53. Qin, Y., et al., *Clonal expansion and somatic hypermutation of V(H) genes of B cells from cerebrospinal fluid in multiple sclerosis*. J Clin Invest, 1998. **102**(5): p. 1045-50.
54. Obermeier, B., et al., *Matching of oligoclonal immunoglobulin transcriptomes and proteomes of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis*. Nat Med, 2008. **14**(6): p. 688-93.
55. Link, H. and Y.M. Huang, *Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness*. J Neuroimmunol, 2006. **180**(1-2): p. 17-28.
56. O'Connor, K.C., et al., *Antibodies from inflamed central nervous system tissue recognize myelin oligodendrocyte glycoprotein*. J Immunol, 2005. **175**(3): p. 1974-82.
57. Magliozzi, R., et al., *Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology*. Brain, 2007. **130**(Pt 4): p. 1089-104.
58. Hauser, S.L., et al., *B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2008. **358**(7): p. 676-88.

59. Trapp, B.D., R. Ransohoff, and R. Rudick, *Axonal pathology in multiple sclerosis: relationship to neurologic disability*. Curr Opin Neurol, 1999. **12**(3): p. 295-302.
60. Nuyts, A.H., et al., *Dendritic cells in multiple sclerosis: key players in the immunopathogenesis, key players for new cellular immunotherapies?* Mult Scler, 2013. **19**(8): p. 995-1002.
61. Hafler, D.A., et al., *Multiple sclerosis*. Immunol Rev, 2005. **204**: p. 208-31.
62. Martin, R., H.F. McFarland, and D.E. McFarlin, *Immunological aspects of demyelinating diseases*. Annu Rev Immunol, 1992. **10**: p. 153-87.
63. Fletcher, J.M., et al., *T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis*. Clin Exp Immunol, 2010. **162**(1): p. 1-11.
64. Banchereau, J. and R.M. Steinman, *Dendritic cells and the control of immunity*. Nature, 1998. **392**(6673): p. 245-52.
65. Cools, N., et al., *Balancing between immunity and tolerance: an interplay between dendritic cells, regulatory T cells, and effector T cells*. J Leukoc Biol, 2007. **82**(6): p. 1365-74.
66. Kadowaki, N., et al., *Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens*. J Exp Med, 2001. **194**(6): p. 863-9.
67. Pashenkov, M., et al., *Two subsets of dendritic cells are present in human cerebrospinal fluid*. Brain, 2001. **124**(Pt 3): p. 480-92.
68. Longhini, A.L., et al., *Plasmacytoid dendritic cells are increased in cerebrospinal fluid of untreated patients during multiple sclerosis relapse*. J Neuroinflammation, 2011. **8**(1): p. 2.
69. Almolda, B., B. Gonzalez, and B. Castellano, *Antigen presentation in EAE: role of microglia, macrophages and dendritic cells*. Front Biosci (Landmark Ed), 2011. **16**: p. 1157-71.
70. Hartung, H.P., A. Bar-Or, and Y. Zoukos, *What do we know about the mechanism of action of disease-modifying treatments in MS?* J Neurol, 2004. **251 Suppl 5**: p. v12-v29.

71. Lopez, C., et al., *Altered maturation of circulating dendritic cells in primary progressive MS patients*. J Neuroimmunol, 2006. **175**(1-2): p. 183-91.
72. Hussien, Y., et al., *Multiple sclerosis: expression of CD1a and production of IL-12p70 and IFN-gamma by blood mononuclear cells in patients on combination therapy with IFN-beta and glatiramer acetate compared to monotherapy with IFN-beta*. Mult Scler, 2004. **10**(1): p. 16-25.
73. Lalive, P.H., et al., *Glatiramer acetate in the treatment of multiple sclerosis: emerging concepts regarding its mechanism of action*. CNS Drugs, 2011. **25**(5): p. 401-14.
74. Vieira, P.L., et al., *Glatiramer acetate (copolymer-1, copaxone) promotes Th2 cell development and increased IL-10 production through modulation of dendritic cells*. J Immunol, 2003. **170**(9): p. 4483-8.
75. Hussien, Y., et al., *Glatiramer acetate and IFN-beta act on dendritic cells in multiple sclerosis*. J Neuroimmunol, 2001. **121**(1-2): p. 102-10.
76. Stasiolek, M., et al., *Impaired maturation and altered regulatory function of plasmacytoid dendritic cells in multiple sclerosis*. Brain, 2006. **129**(Pt 5): p. 1293-305.
77. de Andres, C., et al., *Long-term decrease in VLA-4 expression and functional impairment of dendritic cells during natalizumab therapy in patients with multiple sclerosis*. PLoS One, 2012. **7**(4): p. e34103.
78. Samson, M., et al., *ChemR23, a putative chemoattractant receptor, is expressed in monocyte-derived dendritic cells and macrophages and is a coreceptor for SIV and some primary HIV-1 strains*. Eur J Immunol, 1998. **28**(5): p. 1689-700.
79. Wittamer, V., et al., *Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids*. J Exp Med, 2003. **198**(7): p. 977-85.
80. Nagpal, S., et al., *Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin*. J Invest Dermatol, 1997. **109**(1): p. 91-5.

81. Luangsay, S., et al., *Mouse ChemR23 is expressed in dendritic cell subsets and macrophages, and mediates an anti-inflammatory activity of chemerin in a lung disease model.* J Immunol, 2009. **183**(10): p. 6489-99.
82. Du, X.Y., et al., *Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets.* J Biol Chem, 2009. **284**(2): p. 751-8.
83. Vermi, W., et al., *Role of ChemR23 in directing the migration of myeloid and plasmacytoid dendritic cells to lymphoid organs and inflamed skin.* J Exp Med, 2005. **201**(4): p. 509-15.
84. Berg, V., et al., *Human articular chondrocytes express ChemR23 and chemerin; ChemR23 promotes inflammatory signalling upon binding the ligand chemerin(21-157).* Arthritis Res Ther, 2010. **12**(6): p. R228.
85. Ernst, M.C. and C.J. Sinal, *Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity.* Trends Endocrinol Metab, 2010. **21**(11): p. 660-7.
86. Muruganandan, S., et al., *Chemerin, a novel peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) target gene that promotes mesenchymal stem cell adipogenesis.* J Biol Chem, 2011. **286**(27): p. 23982-95.
87. Graham, K.L., et al., *Chemokine-like receptor-1 expression by central nervous system-infiltrating leukocytes and involvement in a model of autoimmune demyelinating disease.* J Immunol, 2009. **183**(10): p. 6717-23.
88. Parolini, S., et al., *The role of chemerin in the colocalization of NK and dendritic cell subsets into inflamed tissues.* Blood, 2007. **109**(9): p. 3625-32.
89. Wittamer, V., et al., *The C-terminal nonapeptide of mature chemerin activates the chemerin receptor with low nanomolar potency.* J Biol Chem, 2004. **279**(11): p. 9956-62.
90. Zabel, B.A., A.M. Silverio, and E.C. Butcher, *Chemokine-like receptor 1 expression and chemerin-directed chemotaxis distinguish plasmacytoid*

- from myeloid dendritic cells in human blood. J Immunol, 2005. 174(1): p. 244-51.*
91. Zabel, B.A., et al., *Chemokine-like receptor 1 expression by macrophages in vivo: regulation by TGF-beta and TLR ligands. Exp Hematol, 2006. 34(8): p. 1106-14.*
 92. Sell, H., et al., *Chemerin is a novel adipocyte-derived factor inducing insulin resistance in primary human skeletal muscle cells. Diabetes, 2009. 58(12): p. 2731-40.*
 93. Kaur, J., et al., *Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: chemerin-induced endothelial angiogenesis. Biochem Biophys Res Commun, 2010. 391(4): p. 1762-8.*
 94. Arita, M., et al., *Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1. J Exp Med, 2005. 201(5): p. 713-22.*
 95. Barnea, G., et al., *The genetic design of signaling cascades to record receptor activation. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. 105(1): p. 64-9.*
 96. Zabel, B.A., et al., *Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis. J Exp Med, 2008. 205(10): p. 2207-20.*
 97. Migeotte, I., et al., *Distribution and regulation of expression of the putative human chemokine receptor HCR in leukocyte populations. Eur J Immunol, 2002. 32(2): p. 494-501.*
 98. Yoshimura, T. and J.J. Oppenheim, *Chemokine-like receptor 1 (CMKLR1) and chemokine (C-C motif) receptor-like 2 (CCRL2); two multifunctional receptors with unusual properties. Exp Cell Res, 2011. 317(5): p. 674-84.*
 99. Hart, R. and D.R. Greaves, *Chemerin contributes to inflammation by promoting macrophage adhesion to VCAM-1 and fibronectin through clustering of VLA-4 and VLA-5. J Immunol, 2010. 185(6): p. 3728-39.*
 100. Weigert, J., et al., *Circulating levels of chemerin and adiponectin are higher in ulcerative colitis and chemerin is elevated in Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis, 2010. 16(4): p. 630-7.*

101. De Palma, G., et al., *The possible role of ChemR23/Chemerin axis in the recruitment of dendritic cells in lupus nephritis*. *Kidney Int*, 2011. **79**(11): p. 1228-35.
102. Albanesi, C., et al., *Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment*. *J Exp Med*, 2009. **206**(1): p. 249-58.
103. Nakajima, H., et al., *Circulating level of chemerin is upregulated in psoriasis*. *J Dermatol Sci*, 2010. **60**(1): p. 45-7.
104. Demoor, T., et al., *The role of ChemR23 in the induction and resolution of cigarette smoke-induced inflammation*. *J Immunol*, 2011. **186**(9): p. 5457-67.
105. Cash, J.L., et al., *Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23*. *J Exp Med*, 2008. **205**(4): p. 767-75.
106. Goralski, K.B., et al., *Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism*. *J Biol Chem*, 2007. **282**(38): p. 28175-88.
107. Bozaoglu, K., et al., *Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome*. *Endocrinology*, 2007. **148**(10): p. 4687-94.
108. Roh, S.G., et al., *Chemerin--a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007. **362**(4): p. 1013-8.
109. Parlee, S.D., et al., *Serum chemerin levels vary with time of day and are modified by obesity and tumor necrosis factor- α* . *Endocrinology*, 2010. **151**(6): p. 2590-602.
110. Bauer, S., et al., *Sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2) activation after excess triglyceride storage induces chemerin in hypertrophic adipocytes*. *Endocrinology*, 2011. **152**(1): p. 26-35.
111. Shimamura, K., et al., *Identification of a stable chemerin analog with potent activity toward ChemR23*. *Peptides*, 2009. **30**(8): p. 1529-38.

112. Takahashi, M., et al., *Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes*. FEBS Lett, 2008. **582**(5): p. 573-8.
113. Kralisch, S., et al., *Interleukin-1beta induces the novel adipokine chemerin in adipocytes in vitro*. Regul Pept, 2009. **154**(1-3): p. 102-6.
114. Ernst, M.C., et al., *Chemerin exacerbates glucose intolerance in mouse models of obesity and diabetes*. Endocrinology, 2010. **151**(5): p. 1998-2007.
115. Yilmaz, Y., et al., *Serum levels of omentin, chemerin and adipsin in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease*. Scand J Gastroenterol, 2011. **46**(1): p. 91-7.
116. Spiroglou, S.G., et al., *Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis*. J Atheroscler Thromb, 2010. **17**(2): p. 115-30.
117. Edinger, A.L., et al., *Use of GPR1, GPR15, and STRL33 as coreceptors by diverse human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus envelope proteins*. Virology, 1998. **249**(2): p. 367-78.
118. Tokizawa, S., et al., *Infection of mesangial cells with HIV and SIV: identification of GPR1 as a coreceptor*. Kidney Int, 2000. **58**(2): p. 607-17.
119. Polman, C.H., et al., *Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria*. Ann Neurol, 2011. **69**(2): p. 292-302.
120. Colonna, M., A. Krug, and M. Cella, *Interferon-producing cells: on the front line in immune responses against pathogens*. Curr Opin Immunol, 2002. **14**(3): p. 373-9.
121. Liu, Y.J., *IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors*. Annu Rev Immunol, 2005. **23**: p. 275-306.
122. Wollenberg, A., et al., *Plasmacytoid dendritic cells: a new cutaneous dendritic cell subset with distinct role in inflammatory skin diseases*. J Invest Dermatol, 2002. **119**(5): p. 1096-102.

123. Farkas, L., et al., *Plasmacytoid dendritic cells (natural interferon-alpha/beta-producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions*. Am J Pathol, 2001. **159**(1): p. 237-43.
124. Jahnsen, F.L., et al., *Involvement of plasmacytoid dendritic cells in human diseases*. Hum Immunol, 2002. **63**(12): p. 1201-5.
125. Lande, R., et al., *Characterization and recruitment of plasmacytoid dendritic cells in synovial fluid and tissue of patients with chronic inflammatory arthritis*. J Immunol, 2004. **173**(4): p. 2815-24.
126. Nestle, F.O., et al., *Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production*. J Exp Med, 2005. **202**(1): p. 135-43.
127. Serafini, B., et al., *Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain*. J Exp Med, 2007. **204**(12): p. 2899-912.
128. Sospedra, M. and R. Martin, *Immunology of multiple sclerosis*. Annu Rev Immunol, 2005. **23**: p. 683-747.
129. Zabel, B.A., et al., *Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades*. J Biol Chem, 2005. **280**(41): p. 34661-6.
130. Tilg, H. and A.R. Moschen, *Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity*. Nat Rev Immunol, 2006. **6**(10): p. 772-783.
131. Eisinger, K., et al., *Chemerin induces CCL2 and TLR4 in synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis*. Experimental and Molecular Pathology, 2012. **92**(1): p. 90-96.
132. Ha, Y.J., et al., *Plasma chemerin levels in rheumatoid arthritis are correlated with disease activity rather than obesity*. Joint Bone Spine, 2014. **81**(2): p. 189-90.
133. Bozaoglu, K., et al., *Chemerin is associated with metabolic syndrome phenotypes in a Mexican-American population*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(8): p. 3085-8.

134. Yamawaki, H., et al., *A novel adipocytokine, chemerin exerts anti-inflammatory roles in human vascular endothelial cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2012. **423**(1): p. 152-7.
135. Chu, S.H., et al., *Chemerin and adiponectin contribute reciprocally to metabolic syndrome*. PLoS One, 2012. **7**(4): p. e34710.
136. Bremer, A.A. and I. Jialal, *Adipose tissue dysfunction in nascent metabolic syndrome*. J Obes, 2013. **2013**: p. 393192.
137. de Heredia, F.P., S. Gomez-Martinez, and A. Marcos, *Obesity, inflammation and the immune system*. Proc Nutr Soc, 2012. **71**(2): p. 332-8.
138. Matarese, G., C. Procaccini, and V. De Rosa, *The intricate interface between immune and metabolic regulation: a role for leptin in the pathogenesis of multiple sclerosis?* J Leukoc Biol, 2008. **84**(4): p. 893-9.
139. Munger, K.L., T. Chitnis, and A. Ascherio, *Body size and risk of MS in two cohorts of US women*. Neurology, 2009. **73**(19): p. 1543-50.
140. Hedstrom, A.K., T. Olsson, and L. Alfredsson, *High body mass index before age 20 is associated with increased risk for multiple sclerosis in both men and women*. Mult Scler, 2012. **18**(9): p. 1334-6.
141. Langer-Gould, A., et al., *Childhood obesity and risk of pediatric multiple sclerosis and clinically isolated syndrome*. Neurology, 2013. **80**(6): p. 548-52.
142. Tomalka-Kochanowska, J., et al., *Plasma chemerin levels in patients with multiple sclerosis*. Neuro Endocrinol Lett, 2014. **35**(3): p. 218-23.
143. Kleinschmidt-DeMasters, B.K. and K.L. Tyler, *Progressive multifocal leukoencephalopathy complicating treatment with natalizumab and interferon beta-1a for multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2005. **353**(4): p. 369-74.
144. Langer-Gould, A., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient treated with natalizumab*. N Engl J Med, 2005. **353**(4): p. 375-81.

145. Linda, H., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab monotherapy*. N Engl J Med, 2009. **361**(11): p. 1081-7.
146. Mullen, J.T., T.K. Vartanian, and M.B. Atkins, *Melanoma complicating treatment with natalizumab for multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2008. **358**(6): p. 647-8.
147. Cohen, J.A., et al., *Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2010. **362**(5): p. 402-15.
148. Caminero, A., M. Comabella, and X. Montalban, *Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), anti-TNF-alpha and demyelination revisited: an ongoing story*. J Neuroimmunol, 2011. **234**(1-2): p. 1-6.
149. Segal, B.M., et al., *Repeated subcutaneous injections of IL12/23 p40 neutralising antibody, ustekinumab, in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase II, double-blind, placebo-controlled, randomised, dose-ranging study*. Lancet Neurol, 2008. **7**(9): p. 796-804.
150. Graham, K.L., et al., *A novel CMKLR1 small molecule antagonist suppresses CNS autoimmune inflammatory disease*. PLoS One, 2014. **9**(12): p. e112925.
151. Kieseier, B.C., *The mechanism of action of interferon-beta in relapsing multiple sclerosis*. CNS Drugs, 2011. **25**(6): p. 491-502.
152. Maltzman, J.S. and G.A. Koretzky, *Azathioprine: old drug, new actions*. J Clin Invest, 2003. **111**(8): p. 1122-4.
153. Patel, A.A., R.A. Swerlick, and C.O. McCall, *Azathioprine in dermatology: the past, the present, and the future*. J Am Acad Dermatol, 2006. **55**(3): p. 369-89.