

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA SİRTUİN 7, SEMA 3A,
SEMA 3F GEN EKSPRESYONLARININ BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Feti ÇETİN**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Caner Feyzi DEMİR**

**ELAZIĞ
2020**

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Bülent MÜNGEN

Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Caner Feyzi DEMİR _____ **Danışman**

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince engin tecrübeleriyle bize daima yol gösteren anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Bülent MÜNGEN'e, asistanlık sürem boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim ve tez hazırlama sürecinde bana oldukça yardımcı olan tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Caner Feyzi DEMİR'e ve eğitimime katkıda bulunan hocalarım Sayın Doç. Dr. Emrah AYTAÇ'a, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Murat GÖNEN'e, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Ferhat BALGETİR'e, tez çalışmalarım sırasında genetik çalışmalarımıza katkısı olan Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Moleküler Genetik Laboratuvarı sorumlusu Sayın Dr. Öğretim Üyesi Semra TÜRKOĞLU'na ve Sayın Uzman Dr. Kürşat KARGÜN'e, birlikte çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarım Muhammed, Zeynep, Müdile, Burak, Said ve Ayşe'ye, ayrıca klinik ve poliklinikte birlikte çalıştığımız tüm hemşire, tekniker, sekreter ve yardımcı sağlık personellerimize teşekkür ederim.

Son olarak hayatta iken beni yetiştiren, her zaman bana destek olan kıymetli anne ve babama, hep yanımda ve bana yardımcı olan hayat arkadaşım sevgili Fatma'ya, hayatıma renk katan biricik oğullarım Arjin ve Yiğit'e candan teşekkür ederim.

Dr. Feti ÇETİN

Elazığ 2020

ÖZET

Bu çalışmada, multipl skleroz (MS)'lu hastaların BOS ve kan örneklerinde SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F gen ekspresyon düzeylerini saptayarak hastalığın patogenezinin katkılarının belirlenmesi amaçlandı.

SIRTUİN7 (SIRT7), DNA hasarını zayıflatmaya ve dolayısıyla genetik stres koşullarında hücrel sağkalımı artırmaya yardımcı olabilir. Bazı kanser hastalarında, SIRT7 yüksek oranda eksprese edilir, bu da onun bir onkogen olabileceğini düşündürmektedir. Semaforinler hücreler arası bir sinyal proteini ailesi olup, çoğu aksonal rehber molekülü olarak görev yapmaktadır. Semaforinler en önemli oligodentosit progenitor hücre (OPC) rehber molekülleridir.

Hastalık grubu olarak MS tanısı almış hastalar ile MS hastalığı olmayan kontrol grubu kişiler seçilmiş olup bu kişilerin BOS ve kan örneklerinden total RNA izolasyonu yapılarak ACTB, SEMA3A, SEMA3F ve SIRT7 gen ekspresyon düzeyleri çalışıldı. Çalışmaya 31 hasta, 28 kontrol grubu olarak gönüllü 59 birey dahil edilmiştir. Beyin Omurilik Sıvısı ve kan örneklerinden elde edilen RNA örneklerinden SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F genleri ve endojen kontrol için de ACTB geni kullanılarak gen ekspresyon düzeyleri RT-PCR yöntemi ile elde edildi.

Hasta ve kontrol grubundan aldığımız kan örneklerindeki SIRT7 gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda 1,86 kat artış gözlemlendi (up-regüle). BOS örnekleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda SIRT7 gen ekspresyonunda 5 kat artış (up-regüle), SEMA3A için 36 kat, SEMA3F için ise 17 kat artış olduğunu saptandı. Hasta grubu kan örneklerindeki gen ekspresyon düzeyleri, SEMA3A'da 161 kat artış (up regüle), SEMA3F'de ise 69 kat artış olsa da kontrol grubuna göre down regüle olarak bulundu. Bu çalışmada MS hastalarında SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F'nin gen ekspresyon düzeylerinde, kan örneklerinde daha belirgin olmak üzere anlamlı artış görüldü.

Sonuç olarak, BOS örneğine gerek kalmadan kan örneğinden alınacak numunelerde bu genlerin ekspresyon düzeyleri bakılarak hastalığın progresyonunun takip edilmesine olanak sağlanabilir. Ancak SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F gen fonksiyonlarının MS ile ilişkisini ortaya koymak için daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Multipl skleroz, Gen ekspresyonu, Semaforin, Sirtuin

ABSTRACT

DETERMINATION OF SIRTUIN 7, SEMA 3A, SEMA 3F GENE EXPRESSIONS IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

In this study, we aimed to contribute to the pathogenesis of the disease by studying SIRT7, SEMA3A and SEMA3F gene expression levels in the cerebrospinal fluid (CSF) and blood samples of multiple sclerosis (MS) patients.

SIRTUIN7 (SIRT7) can help weaken DNA damage and therefore increase cellular survival under genetic stress conditions. In some cancer patients, SIRT7 is highly expressed, suggesting it may be an oncogene. Semaphorins are a family of intercellular signal proteins, most of which act as axonal guide molecules. Semaphorins are the most important oligodendrocyte progenitor cell (OPC) guide molecules.

Patients diagnosed with MS as the disease group and control group without MS disease were selected and ACTB, SEMA3A, SEMA3F and SIRT7 gene expression levels were studied by performing total RNA isolation from CSF and blood samples. The study included 59 volunteers as 31 patients and 28 control groups. Gene expression levels were obtained by RT-PCR method using SIRT7, SEMA3A and SEMA3F genes from RNA samples obtained from Cerebrospinal Fluid and blood samples, and ACTB gene for endogenous control.

When the SIRT7 gene expression levels in the blood samples taken from the patient and control groups were compared, 1.86-fold increase was observed in the patient group (up-regulated). When CSF samples were compared, it was found that there was a 5-fold increase (up-regulated) in SIRT7 gene expression in the patient group, a 36-fold increase in SEMA3A and a 17-fold increase in SEMA3F. Although gene expression levels in the blood samples of the patient group, 161 times increase in SEMA3A (up regulated) and 69 times increase in SEMA3F, it was found down-regulated compared to the control group. In this study, a significant increase was observed in the gene expression levels of SIRT7, SEMA3A and SEMA3F in MS patients, with a more pronounced blood sample.

As a result, the expression levels of these genes can be monitored in samples to be taken from the blood sample without the need for a CSF sample, and the

progression of the disease can be followed. However, larger studies are needed to reveal the relationship of SIRT7, SEMA3A and SEMA3F gene functions with MS.

Keywords: Multipl Sclerosis, Gene Expression, Semaphorin, Sirtuin



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	4
1.1.1. Multipl Skleroz ve Diğer Demiyelinizan Hastalıklar	4
1.1.1.1. Multipl Skleroz	5
1.1.1.2. Patolojik Bulgular	6
1.1.1.3. Etyoloji ve Epidemiyoloji	8
1.1.1.4. Patogenez	10
1.1.1.5. Demiyelinizasyonun Fizyolojik Etkileri	12
1.1.1.6. Klinik Manifestasyonlar	13
1.1.1.6.1. Erken Semptom ve Bulgular	13
1.1.1.6.2. Optik Nörit (Retrobülber nörit, Papillit)	14
1.1.1.6.3. Akut Tranvers Myelit	15
1.1.1.6.4. Akut Atağın Diğer Klinik Özellikleri	15
1.1.1.7. Klinik Olarak Yerleşmiş MS'in Semptom ve Bulguları	16
1.1.1.8. Akut Atağı Presipite Eden Faktörler	18
1.1.1.9. Multipl Sklerozun Çeşitleri	19
1.1.1.9.1. Akut ve Tümör Benzeri MS (Marburg formu)	19
1.1.1.10. Labaratuvar Bulguları	20
1.1.1.10.1. BOS Bulguları	20
1.1.1.10.2. Görüntüleme	21
1.1.1.10.3. Uyarılmış Potansiyeller ve Diğer Testler	21
1.1.1.11. Multipl Skleroz'un Tanı Kriterleri	22

1.1.1.12. Ayırıcı Tanı	22
1.1.1.13. Tedavi	23
1.1.1.13.1. Akut Atak Tedavisi	23
1.1.1.13.2. MS'in Biyolojik Aktivitesini Azaltıcı, Hastalığı Modifiye Edici Tedavi	24
1.1.1.13.3. Semptomatik Tedaviler	29
1.1.1.13.4. RRMS ve SPMS için Endikasyon Dışı Tedaviler	30
1.1.2. MS Hastalarının Beyin Omurilik Sıvısındaki Moleküler Biyomarkerlar	31
1.1.2.1. BOS'taki Moleküler Biomarkerlar	32
1.1.2.1.1. Antikorlar	32
1.1.2.1.2. Sitokinler/Kemokinler	33
1.1.2.1.3. Yapım ve Yıkım Molekülleri	34
1.1.2.1.4. Adezyon Molekülleri	35
1.1.2.1.5. mRNA ve miRNA	35
1.1.2.1.6. DNA	36
1.1.2.1.7. Diğer Proteinler	36
1.1.3. Remiyelinizasyon ve Bu Sürecin Başarılmasında	37
1.1.3.1. Remiyelinizasyonun Bloklanmasında İntraselüler Yollar	38
1.1.3.1.1. Notch 1 yolu	38
1.1.3.1.2. LINGO 1 yolu ve Nogo reseptörü	38
1.1.3.1.3. Wnt yolu	38
1.1.3.1.4. RXR- γ yolu	38
1.1.3.2. Remiyelinizasyon Modülatörü Olarak Estraselüler Matriks Komponentleri	39
1.1.3.3. OPC'lere Rehberlik Eden Faktörlerin Başarısız Remiyelinizasyona Katkısı	39
1.1.3.3.1. Semaforinler	39
1.1.3.4. Sirtuin 7	40
2. GEREÇ ve YÖNTEM	41
2.1. Gereç	41
2.1.1. Çalışma Grubu	41
2.1.2. Materyal	41

2.2. Çalışmada Kullanılan Ölçekler ve Yöntemler	42
2.2.1. BOS Sıvısı ve Kandan RNA İzolasyonu	42
2.2.1.1. BOS'tan RNA izolasyonu	42
2.2.1.2. Kandan RNA izolasyonu	44
2.2.2. Elde Edilen total RNA'ların Miktar ve Kalite Tayini	45
2.2.3. BOS ve Kandan cDNA Sentezi	46
2.2.4. Ekspresyon Analizi	47
2.2.5. Verilerin Analizi	47
2.2.6. Klinik Değerlendirme	47
3. BULGULAR	48
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	54
6. ÖZGEÇMİŞ	67

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. İnflamatuvar Demiyelizan Hastalıkların Sınıflandırılması	4
Tablo 2. MS’de Başlangıç Semptomları	14
Tablo 3. Multipl Skleroz Tanısında Klinik Tablolar	19
Tablo 4. Multipl Skleroz Tanı Ölçütleri (Revize McDonald kriterleri)	22
Tablo 5. MS Ayırıcı Tanısı	23
Tablo 6. Sema3A’nın MSS’deki ve İmmün Sistemdeki Roller	40
Tablo 7. Çalışmaya Alınma ve Dışlanma kriterleri	41
Tablo 8. RNA ekspresyonu için RT-PCR karışımının hazırlanması	46
Tablo 9. RNA ekspresyonu için qPCR reaksiyonunun hazırlanması	46
Tablo 10. RNA ekspresyonu için qPCR koşulları	46
Tablo 11. BOS Örneğine Göre Genel Özellikler	49
Tablo 12. Kan Örneğine Göre Genel Özellikler	49
Tablo 13. Hasta ile Kontrol BOS örneği karşılaştırıldığında	49
Tablo 14. Hasta ile Kontrol kan örneği karşılaştırıldığında	50

ŞEKİL LİSTESİ

Şekli 1. MS Hastalarında Demiyelinizan Plak Görüntüleri	8
Şekil 2. Tümör Benzeri Lezyon	20
Şekil 3. Hasta ile Kontrol BOS örneğinin karşılaştırılması	49
Şekil 4. Hasta ile Kontrol kan örneğinin karşılaştırılması	50



KISALTMALAR LİSTESİ

ALS	: Amiyotrofik Lateral Skleroz
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
EDSS	: Genişletilmiş Engellilik Durumu Ölçeği
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik asit
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
GIS	: Gastrointestinal Sistem
HHV	: İnsan Herpes Virüs
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
IFN	: İnterferon
IG G	: İmmunoglobulin G
IG M	: İmmunoglobulin M
IL	: İnterlökin
JCV	: John Cunningham Virüsü
KC	: Karaciğer
MAG	: Miyelin İlişkili Glikoprotein
MBP	: Miyelin Bazik Proteini
MHC	: Yüksek Düzeyde Majör Doku Uyuşum Kompleksi
MOG	: Miyelin Oligodentrosit Glikoprotein
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	: Mesajcı RNA
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NRP-1	: Neuropilin-1 (Sema Reseptörü)
OKB	: Oligoklonal Band
OPC	: Oligodentrosit Progenitör Hücre
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PML	: Progresif Multifokal Lökensefalopati
PPMS	: Primer Progresif Multipl Skleroz

RNA	: Ribo Nükleik Asit
RRMS	: Relapsing Remitting Multipl Skleroz
SEMA 3A	: Semaforin 3A
SEMA 3F	: Semaforin 3F
SIRT 7	: Sirtuin 7
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SPMS	: Sekonder Progresif Multipl Skleroz
TCR	: T Hücre Reseptörü
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör



1. GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS) inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize otoimmün bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Miyelin kılıflar, oligodendrositler ve daha az oranda akson ve sinir hücresinin kendisi hasarlanır. Hastalık sıklıkla genç yetişkinlerde ortaya çıkar. Prevalansı coğrafi özelliklere bağlı olarak 100.000'de 2 ile 200 arasında değişmektedir (1).

Multipl Sklerozin etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel risk faktörlerinin etkileşimiyle kompleks kalıtım paterninde ortaya çıktığı en yaygın görüştür. Genç erişkinlerde nontravmatik nörolojik hastalıklar arasında özürüllüğe yol açan en önemli hastalıktır. Kronik, nöroenflamatuvar, nörodejeneratif bir hastalık olarak tanımlanan Multipl skleroz'un, kompleks patogenezi ve farklı prognozları ile birlikte çeşitli klinik alt tipleri bulunmaktadır (1).

Aile çalışmaları, hastaların akrabalarında MS riskinin arttığı saptanmıştır (2). İkiz çalışmalarında monozigotik çiftlerde %26'luk uyum saptanırken, dizigotik çiftlerde bu oran %2,4'dür (3). Kromozom 6'nın kısa kolundaki MHC (Yüksek Düzeyde Majör Doku Uyuşum Kompleksi-Major Histocompatibility Complex) bölgesinin MS için genetik belirleyici olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Üzerinde çok çalışılan TNF genlerinin MHC içinde, kromozom 6'nın kısa kolunda kodlanıyor olması ise MS'in genetik yönüne dikkat çekmektedir (4).

Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NAD) + bağımlı sınıf III deasetilaz enzimler olarak bilinen sirtuin (SIRT) ailesi genleri ile ilgili olarak çeşitli hastalıklardaki potansiyel rolü üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Yayınlanmış literatüre dayanarak Sirtuinlerin; tip II diyabet, obezite, kanser, yaşlanma ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Son yapılan çalışmalar sonucu birçok sağlık probleminin tedavisine yönelik olumlu sonuçlar veren SIRT genlerinin biyolojik sistemlerdeki rolünü çalışabilmek için moleküler ve kimyasal yapısını anlamak çok önemlidir (5). İlk olarak sirtuinler mayada keşfedilmiştir, protein deasetilaz ve adenosin difosfat (ADP)-ribozil transferaz faaliyeti içerisindeki protein ailelerinden olduğu anlaşılmıştır. Sirtuin ailesinin yedi adet varyantı bulunmaktadır (SIRT 1-7) (6). Yaşlanma, transkripsiyon, apoptoz, inflamasyon gibi çok çeşitli hücrel fonksiyonu etkilemekle ilişkilendirilmiştir (7). Sirtuinlerin; tip II diyabet, obezite, kanser, yaşlanma ve çeşitli

nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (5). SIRT ailesi ile ilgili yapılan araştırmalara bakıldığında etki ettiği en önemli mekanizmaların başında gen ifadesinin düzenlenmesi gelir. Histonların deasetilasyonu kromatinin yoğunlaşmasını (heterokromatin), böylece de gen ifadesinin baskılanmasını sağlar (8). Sirtuin genlerinden SIRT1 ve SIRT7, p53'ü aktive etmeleri ile kanser oluşumunu engellemiş olurlar. Yapılan çalışmalarda SIRT7, bölünen hücrelerde ribozom biyogenezini yürütür, bu etkinin ise tiroid ve meme kanseri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (9). Çalışmayı planladığımız SIRT7 geni (17q25.3) üzerinde yer almakta olan bir gendir (10). SIRT7 geni, maya Sir2 proteine homolog proteinlerin sirtuin ailesinden bir üyeyi kodlar. Maya Sirtuin proteinleri, epigenetik gen susmasını düzenlediği ve rDNA rekombinasyonunu bastırdığı da bilinir. SIRT-7 geni tarafından kodlanan protein, sirtuin ailesinin IV. sınıfına dahildir (11). İnsan hücresinde SIRT7'nin sadece iki diğer molekül ile etkileşime girdiği gösterilmiştir: RNA polimeraz I (RNA Pol I) ve akış yukarı bağlanma faktörü (UBF). SIRT7, karaciğer ve dalak gibi metabolik olarak aktif dokularda daha fazla ve kalp ve beyin gibi proliferasyona uğramayan dokularda daha az ifade edilir (12). Memeli Sir2 homologu SIRT7, RNA polimeraz I transkripsiyonunun bir aktivatörüdür (13). SIRT7, DNA hasarını zayıflatmaya ve dolayısıyla genetik stres koşullarında hücre sel sağ kalımı artırmaya yardımcı olabilir (14). Bu genin, onkojenik transformasyonun sürdürülmesinde rol aldığı bulunmuştur (15). SIRT7, H3K18 deasetilasyonunu kanserojen dönüşümünden korumak için bağlar (16).

Semaforinler ilk olarak 1992 yılında omurgasızlarda tanımlanmıştır (17). Sema3A, bu ailenin vertebrata prototip üyesidir ve ilk olarak 1993 yılında kanatlı beyin ekstraktlarından saflaştırılmıştır. Semaforin ailesi, membrana bağlı bulunan ya da salgılanmış en az 20 üyeden oluşmaktadır ve sekizden fazla alt sınıfa ayrılmıştır. İlk iki sınıf omurgasız hayvanların, 3-7 arası sınıf omurgalı hayvanların semaforinleri ve 8. sınıf ise viral semaforinlerdir (18). Semaforinler hücreler arası bir sinyal proteini ailesi olup, çoğu aksonal rehber molekülü olarak görev yapmaktadır. Bunlardan biri immün sistemdeki sinyalizasyona katılsa da çoğunun biyolojik fonksiyonları hala bilinmemektedir (19). Üçüncü sınıf semaforinler, en iyi tanımlanmış olanlardır. Sema3A ve Sema3F gelişmekte olan sinir sisteminde spesifik

MSS yolları ve periferel sinirlerin rehberliğinde önemli roller oynadığı görülmüştür. Semaforinlerin nöronal hücre ölümünde görev aldıklarına dair bulgular bulunmaktadır. NRP-1'e (sema reseptörü) karşı oluşturulan antikorlar, hücre ölümünü zayıflatabilir. Sempatik nöronların Sema3A proteinine ya da bundan köken alan küçük bir peptide maruz kalması nöronal apoptozun indüksiyonu ile sonuçlanmıştır (18). SEMA3A (Semaforin 3A) geni 7q21.11 bölgesine lokalizedir (20).

Semaforinler, ilk önce sinir sisteminin gelişiminde ve sinir sistemi moleküllerini kodlayan genlerin bir ailesi olarak belirtilirken aynı zamanda, merkezi sinir sisteminde aksonal rehberliğin negatif araçları olarak tanımlandı (21). Sema3A, GC lamelli podium içindeki aktin filament ağının depolimerizasyonunu indükleyerek GC'nin tam bir itişmesine neden olabilir (22). Sema3A ve Semaforin 3F (Sema3F)'nin gelişmekte olan sinir sisteminde, spesifik MSS yolları ve periferel sinirlerin rehberliğinde önemli roller oynadığı görülmüştür. Semaforinlerin nöronal hücre ölümünde görev aldıklarına dair bulgular bulunmaktadır. NRP-1'e (Sema Reseptörü) karşı oluşturulan antikorlar, hücre ölümünü zayıflatabilir. Sempatik nöronların Sema3A proteinine ya da bundan köken alan küçük bir peptide maruz kalması nöronal apoptozun indüksiyonu ile sonuçlanmıştır (18). Sema3A'nın engellenmesinin nöron ölümüne karşı terapötik bir potansiyel sağlayabileceği açıktır (23). Alzheimer hastalığı, motor nöron dejenerasyonu, serebral iskemi ve nörodejeneratif hastalıklarda, bir dizi semaforinin rol oynadığı ortaya çıkmıştır, nöron ölümünde Sema3A aracılık gösteren doğrudan kanıt ise de sadece duyu nöronlarının gelişiminde kanıtlanabilmiştir (24, 25). Sema/NRP'nin gelişme sırasındaki işlevleri belirlenmiş olsa da beyindeki işlevleri henüz yeni yeni anlaşılmaya başlamıştır (24, 26-28). SEMA3F 3p21.3 kromozonunda lokalizedir (29). SEMA3F semaforin ailesinin bir üyesidir ve bu gen bir aday tümör baskılayıcı olarak görülmektedir (30).

Bu çalışmada amacımız; yeni tanı konulan, ilaç tedavisi almamış Multipl Sklerozlu hastaların ve kontrol grubu bireylerin BOS ve kanlarından izole edilen RNA'lerden (Sirtuin 7, Sema 3a, Sema 3f) ilgili gen bölgelerinde belirlenen ekspresyonların araştırılması ve bu ekspresyon değişikliklerinin MS ile ilişkisinin ortaya koyarak yeni çalışmalar için yol gösterici olmaktır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Multipl Skleroz ve Diğer Demiyelinizan Hastalıklar

Beyin ve spinal kordun miyelin yıkımı demiyelinizasyon ile karakterize hastalık grubu olarak uzun zamandan beri bilinmektedir. Miyelin kılıftaki patolojik değişikliğin spesifik olmayışı nedeniyle hastalığı tam olarak tanımlamak zordur. Demiyelinizan hastalık fikri bir grup patolojik sürecin daha çarpıcı ve belirgin özelliklerine odaklanmayı sağlayan bir soyutlamadır. Bu süreçlerin ortak bir özelliğide demiyelinizasyona yakın bir inflamatuvar reaksiyona katılmalarıdır. En sık görülen ve en önemli demiyelinizan hastalık multipl sklerozdur (31).

Demiyelinizan hastalıkların genel olarak kabul edilen kriterleri; (1) baskın olarak miyelin kılıfın yıkımı, diğer sinir dokularının ise rölatif olarak etkilenmesi, (2) inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, özellikle perivenöz bölgelerde, (3) lezyonlar primer olarak beyaz cevherdedir, ya multipl dissemine odaklar ya da bir veya daha fazla merkezde yayılmış daha geniş odaklar olmasıdır. Demiyelinizan hastalıkların çoğunda nöronal ve aksonal dejenerasyon olduğu bilinir fakat miyelin dejenerasyonun tanımlanması önceliklidir. Nöroloji dilinde demiyelinizasyon bundan dolayı özel bir anlam kazanmıştır (31). İnflamatuvar demiyelinizan hastalıkların sınıflandırılması Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. İnflamatuvar Demiyelinizan Hastalıkların Sınıflandırılması

-
1. Multipl Skleroz
 - A. Relaps-remitting form
 - B. Sekonder progresif form
 - C. Primer progresif form
 - D. Akut Multipl Skleroz
 - E. Diffüz Serebral Skleroz
 2. Nöromiyelitis optika
 3. Akut dissemine ensefelomyelit
 4. Otoimmün hastalıklarla ilişkili demiyelinizasyon
 5. Sarkoid ilişkili demiyelinizasyon
 6. Graft versus host hastalığı
-

Etyolojiye dayalı olmayan her sınıflandırmada kısıtlılıklar vardır. Örneğin nekrotizan hemorajik lökoensefalitlerde damar ve aksonu içeren bölgelerde yıkım meydana gelir, bundan dolayı demiyelinizan hastalık grubunda düşünülür.

Bir grup hastalıkta ise demiyelinizasyon baskın özelliğdir ve bu yüzden bu grupta olduğu düşünülür. Anoksik ensefalopatili hastaların bazılarında serebral korteksin derin katmanlarına uzanan sinir liflerinde ya da hastalık tanımlanmış katmanlarda ve santral beyaz maddede miyelin kılıflar yıkılır. Bazı küçük iskemik hadiselerde de selektif olarak miyelin kılıfın dejenerasyonu ortaya çıkabilir. Pernisiyöz anemi ile ilişkili spinal kordun subakut kombine dejenerasyonu ve tropikal spastik paraparezi de hastalığın erken dönemlerinde miyelin kılıf etkilenebilir. Progresif multifokal lökoensefalopati, osmotik demiyelinizasyon ve Marchiafava-Bignami hastalığı içinde aynı şey doğrudur. Bazı hastalıklar ise sürecin primer olarak miyelin üstünde gerçekleşmemesinden dolayı demiyelinizan grupta sınıflandırılmaz.

Şu anki bilgiler ışığında demiyelinizan hastalıklarda miyelin kılıfın biyokimyasal yapısı normaldir. Endojen faktörler ve/veya ekzojen faktörler oligodendrositi ve/veya miyelini etkileyerek hastalık tablosuna yol açmaktadır (31).

1.1.1.1. Multipl Skleroz

Multipl skleroz, doktorlar arasındaki adıyla MS, İngilizler tarafından dissemine skleroz, Fransızlar tarafından plakta skleroz olarak bilinir. Geniş natürlü bu yaygın lezyonlar 19. yüzyıldan beri patologlar tarafından bilinir. İlk olarak Jean Martin Charcot, hastalığın klinik ve patolojik tanınmasında ciddi rolü üstlenmiştir. Charcot 34 vakadan bilgi toplamış ayrıca hastalığın klinik spektrumu ve histolojik görünümünü de tanımlamış; inflamasyon ve miyelin kaybının temel histopatolojik görünüm olduğuna dikkat çekmiştir.

Multipl skleroz klinik olarak optik sinir, spinal kord ve beyinde fokal olarak bozulmalarla başlayan, çeşitli derecelerde iyileşen ve yıllar içinde tekrar meydana gelme ile karakterize genellikle progresif seyreden kronik bir durumdur. Nörolojik manifestasyonlar demiyelinizasyon odağının yaygınlığına ve lokalizasyonuna göre değişkendir. Lezyonlar hiçbir zaman merkezi sinir sisteminin belli bir bölgesini tercih etmez. Semptomlar ve görüntüleme bulguların görülmesindeki zorluklar MS için ayırt edici olarak tanımlanır.

Multipl Sklerozin tipik özellikleri kaslarda zayıflık, paraparezi, parestezi, görme kaybı, diplopi, nistagmus, dizartri, tremor, ataksi, derin duyunun bozulması ve

mesane fonksiyon bozukluklarıdır. Hastalığın başlangıcında ya da erken dönemlerinde eğer semptomlar sinir sisteminin bir bölgesini işaret ediyorsa kesin tanı konamayabilir. Daha sonra hastalık tekrarlar, yaygınlaşır ve tanı ancak o zaman kesin olarak konulabilir. Minör başlangıç semptomları ile tanı koydurucu daha karakteristik semptomlar arasında çok uzun yıllar olabilir (1-10 yıl). Çoğu vakada başlangıçta relaps-remitting karakteri vardır. Hastanın şikayetleri kısmen ya da tamamen düzelir, daha sonra takip eden bir periyotta sinir sisteminin başka bir bölgesinde meydana gelen anormallikten dolayı yeniden ortaya çıkar. Bununla birlikte hastaların yarısından fazlasında hastalık progresif formda başlar, özellikle 40 yaş üstü tanı almış hastalarda böyledir (Primer progresif MS). Bir grupta ise başlangıçta iyileşme olur daha sonra progresif forma dönüşür (Sekonder progresif MS) (31).

1.1.1.2. Patolojik Bulgular

Lezyonlar 1 milimetreden birkaç santimetreye kadar çeşitli büyüklüklerde olabilirler. Lezyonlar prensipte beyin ve spinal kordun beyaz cevherini etkiler, kranial ve spinal sinirlerin kök giriş zonlarının ötesine uzanamaz. Bunun nedeni lezyonların keskin sınırlı plaklar şeklinde olmasındandır.

Lezyonların topografisi dikkate değerdir. Periventriküler lokalizasyon karakteristikdir. Aynı zamanda subependimal ven çizgisinde olmasıda dikkate değerdir. Diğer favori tutulum alanları optik sinir, optik kiazma ve spinal korddur. Lezyonlar beyinsapı, spinal kord ve serebellar pedinküllerde gelişigüzel olarak dağılır fakat daima lezyonlar baskın olarak beyaz maddede bulunur. Serebral korteks, santral nükleer ve spinal yapılarda akut lezyonlarda miyelin kılıf yıkılır, etkilenen sinir hücresi genellikle sağlamdır. Şiddetli ve kronik lezyonlarda aksonlar ve nöronlar yıkılabilir fakat baskın lezyon şekli halen demiyelinizasyondur.

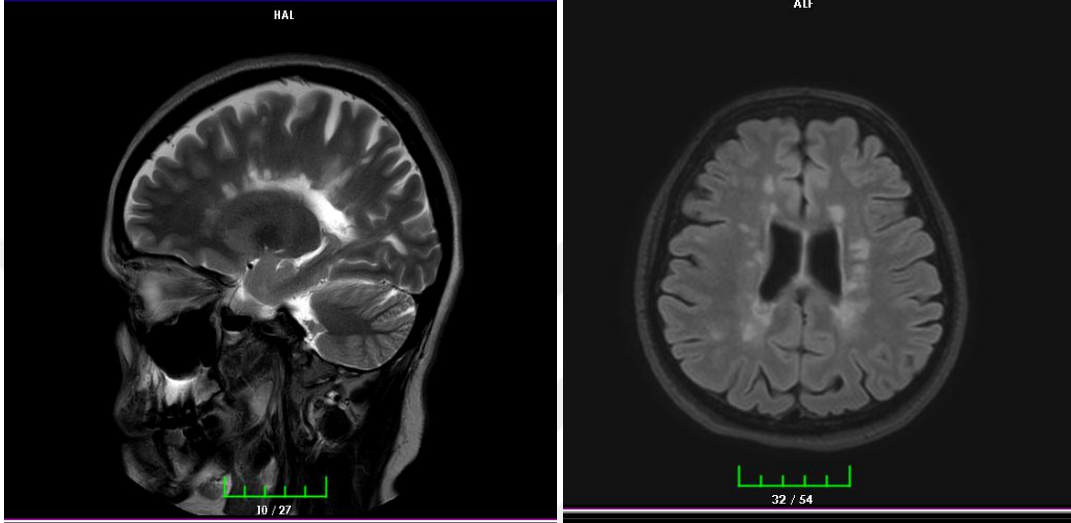
Lezyonların histolojik görüntüsü lezyonların yaşına bağlıdır. Yeni lezyonlar genellikle perivenöz yerleşimli, küçük bir zonda miyelin kaybı veya miyelinin kısmi ya da tam kaybı ile karakterizedir. Aynı bölgedeki aksonlar da etkilenir. Genellikle etkilenen bölgede açık bir oligodendroglia dejenerasyonu, astrositik reaksiyon, perivasküler ve para-advensiyal mononükleer hücre ve lenfosit infiltrasyonu vardır. Daha sonra makrofajlar lezyonu infiltre eder, lezyon içinde ve etrafında astrositler

sayı ve boyut olarak artar. Diğer taraftan yaşlı lezyonlar ince, matlaşmış, aselüler glial dokudan oluşur. Bazen lezyonda perivasküler lenfositler ve makrofajlar birkaç tanede sağlam akson görülebilir. Aksonu etkilenmiş yaşlı lezyonlarda, spinal kordun inen ve çıkan uzun yolak liflerinde wallerian dejenerasyonu görülebilir. Zarar görmemiş aksonların olduğu bölgelerde kısmi remiyelinizasyon meydana gelebilir. Tamamen demiyelinize olmadığı için bu alanlar, gölge yamalar olarak görülür. Bazı yaşlı lezyonlarda kavitasyonlar görülebilir, bu durum sadece miyelinin değil aynı zamanda aksonlarında etkilendiğini gösterir.

Multipl Skleroz plaklarındaki yetersiz remiyelinizasyon sonucu ince miyelinli aksonlar oluşur, bunlar gölge plak olarak adlandırılır. Histolojik kanıtlar aktif demiyelinizasyon alanlarındaki oligodentrositlerin yıkıldığını, çok az çoğalma yeteneğine sahip hücrenin kaldığını destekler. Gerçekte oligodendroglial prekürsör hücrelerin hücumu vardır, oligodentrositlere olgunlaşırlar ve yeni miyelinli aksonların miktarını artırmaya çalışırlar. Yetersiz iyileştirici sürecin muhtemel sebepleri, hasar gören bölgedeki astrositik hiperplazi ve persistan inflamasyondur.

Luchinetti ve ark. (32) 2000 yılında otopsi ve beyin biyopsileri üzerinde yaptığı analizlerle immünopatolojik karmaşıklığın iç yüzünü aydınlatmışlardır. Bunlar lezyonları 4 histolojik alt gruba ayırmışlardır. Bütün paternlerde yoğun makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu olması ortaktır. Paternlerin birbirinden ayrılması ile ilgili kriter olarak ise; kompleman ve immünglobulin varlığı ve oligodentrosit apoptozunun olup olmamasıdır. İnflamasyonun ne kadar yoğun olduğu, milimetreküpdeki ortalama hücre sayılarından net olarak anlaşılabilir. Buna göre aktif bir plak içinde milimetreküpde yaklaşık 1000 adet makrofaj, 100-150 adet T hücre, 5 adet plazma hücre bulunmaktadır. Oligodentrosit sayısı Patern I ve II'de 250/mm³, Patern III ve IV'te 50/mm³ tür. Patern I ve II'de T hücre ve makrofaj aracılı mekanizmalar ön planda olup, Patern II'de ise, Patern I'den farklı olarak kompleman aracılı sistem ve immünglobulinler bol miktarda tespit edilmektedir. Patern III'te plak çevresinde oligodentrosit apoptozu en önemli patoloji iken, immünglobulin, kompleman ve remiyelinizasyon görülmez. Patern IV'de ise oligodentrositler distroftiktir. Patern I ve II'ye uyan plaklar venüller etrafında görülürken, Patern III ve IV daha çok damarlardan uzakta, parenkim içerisinde saptanmıştır. Patern III'te plak sınırları belirsizdir. Hatta bazı plaklarda Balo-benzeri konsantrik demiyelinize/

miyelinize alanlar görülmüştür. Yine Patern III'te makrofajlarca, özgül olarak MAG proteinin yıkıldığı ve diğer miyelin proteinlerinin ise korunduğu bildirilmiştir. Diğer paternlerde ise bütün miyelin proteinleri beraber yıkılmaktadır (32). Paternlerin görülme sıklığına gelince, Lucchinetti ve ark. (32) göre Patern I MS hastalarının %15'inde, Patern II %58'inde, Patern III %26'sında, Patern IV ise %1'inde görülmektedir.



Şekli 1. MS Hastalarında Demiyelinizan Plak Görüntüleri

1.1.1.3. Etiyoloji ve Epidemiyoloji

Multipl Sklerozin insidansı kadınlarda erkeklere nazaran 2-3 kat daha fazladır. Bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Bunun için en iyi açıklama kadınların genel olarak otoimmün ve inflamatuvar hastalıklara daha yatkın olmasıdır. Çocuklardaki insidansı daha düşük olup, binde 3-4 civarındadır. Çocukluktan sonraki dönemde hastalığın semptomları adım adım artar ve 30 yaşlarında pik yapar, 4. dekada artar, sonra hızlı bir şekilde yavaşlar ve 6. dekada düşük bir düzeye gelir. Bu yönden bakılırsa MS yaş açısından unimodal bir dağılım gösterir, bu açıdan infeksiyöz ve konnektif doku hastalıklarına benzemektedir.

Daha küçük bir grupta, hastalık geç erişkin yaşta ortaya çıkar (60 yaş civarı). Bu gibi hastalarda erken dönem semptomları atlanabilir ya da hiç MS akla gelmeyebilir. Gilbert ve Sadler MS'in gerçek insidansının şu anda bilinenden 3 kat daha fazla olduğunu, yaptığı çalışmalar sonucunda belirtmiştir.

Multipl Skleroz'in tam nedeninin bilinmemesine rağmen bazı epidemiyolojik gerçekler vardır. Bu hastalığın prevalansı Ekvator bölgesinde yüzbinde 1'den daha

azdır, Güney Amerika ve Güney Avrupa bölgelerinde yüzbinde 6-14, Kanada, Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa bölgelerinde ise yüzbinde 30-80 arasındadır. Daha yüksek ve daha düşük enlemlerde MS gelişme riskindeki bu artış birçok epidemiyolojik çalışma ile teyit edilmiştir. Amerika'da, Afrika kökenli olanlarda risk bütün enlemlerde beyazlara nazaran daha düşüktür. Fakat her iki ırk aynı güney-kuzey enlemlerinde risk altındadır. Bulgular, genetik predispozanları dikkate almaksızın çevresel bir faktöre işaret etmektedir. Kuzey Atlantikteki Faroe adalarında MS'in epidemik olması bu görüşü desteklemektedir. Araştırmacılar hastalığın insidansını beklenenden çok daha yüksek buldular. 1943-1973 yılları arasındaki azalma miktarı sırasında üç ayrı salgın görülmüştür. En büyük salgındaki vaka sayısının 21 olduğuna dikkat etmek gerekir. Poskanzer ve ark.'larının belirttiği gibi hastalık, adayı işgal eden İngiliz'lerden bulaşan, tanımlanmamış bir enfeksiyonun sonucu oldu. Kurtzke (3) 1982'de savaş sonrasında adada bir salgın tanımladılar.

D vitamininin ve güneş maruziyetinin rolü de epidemiyolojik çalışma alanlarındandır. Bazı bilgiler, bu iki çevresel faktörün eksikliğinin MS için risk olduğunu desteklemektedir. Bu, enlemsel olarak artmış açıklanamayan riski biraz açıklamaktadır. MS lezyon aktivitesindeki mevsimsel dalgalanmalar da aynı temelde açıklanabilir.

Birkaç çalışmada, yüksek risk bölgesinden düşük risk bölgesine göç eden kişilerde, göçten sonraki 20 yıla kadar hastalık olsa bile görünür hale gelmediğine işaret edilmiştir. Benzer bir patern Güney Afrika ve İsrail'de gösterilmiştir. Kurtzke (3) şuna işaret etmektedir; 15 yaşından önce göç edenlerde risk Güney Afrika doğumlu olanlarla benzerdir, 15 yaşından sonra göç edenlerde ise risk doğduğu bölgedeki ile benzerdir. Avrupa kökenli olup İsrail'e göç eden kişilerde MS riskinin daha düşük, İsrail'de doğanlara benzer olarak bulunmuştur. Diğer bölgelerden göç eden kişilerde ise insidansı, kişilerin kendi bölgelerindeki ile benzer bulunmuşlardır. Göç etmek için kritik yaşın 15 olduğu görülmektedir. Bu eski epidemiyolojik çalışmalar ve diğerleri MS'in belirli coğrafi lokalizasyonlarla ilişkili olduğuna işaret eder fakat genetik şüpheleri dışlamaz. Bununla birlikte daha çok çalışma bunun tersini desteklemekte olup, toplumda genetik faktörlerin daha baskın olduğu görüşündedir.

Multipl Sklerozde ailesel bir kümelenmenin olduğu kabul edilmektedir. MS hastalarının %15'i etkilenmiş bir akrabaya sahiptir. En fazla risk hastanın kardeşlerinde görülmektedir. Toplum temelli bir çalışmanın sonuçlarına göre indeks vakaların yaklaşık %20'si etkilenmiş bir akrabaya sahiptir ve en riskli grup kardeşlerdir.

Hastalığın genetik geçişini göstermek için yapılan bir başka çalışmada ise bir yarı kardeş olanlar ile tam kardeş olanlar kıyaslanmıştır, görülmüştür ki tam kardeş olanlarda hastalık gelişme riski 2-3 kat artmıştır. Araştırmacılar bu sonuçları genetik geçiş lehine yorumladılar.

Genetik geçiş antitesi daha sonraki çalışmalar ile desteklenmiştir. Monozigotik ikizlerde risk %34, dizigotik ikizlerde risk %4 olarak bulunmuştur. Daha sonra yapılan iki monozigot ikiz grubu çalışmasında, bu ikizlerin klinik olarak normal olmasına rağmen MR görüntülemelerinde lezyon görülmüştür. Dizigotik ikizlerde risk ikiz olmayan kardeşlerdekine benzerdir. Bütün bu provakatif bulgulara rağmen mendeliyen bir genetik geçiş gösterilememiştir.

Multipl Sklerozin nedeni için genetik faktörlerin kanıtı, bazı HLA antijenlerinin MS hastalarında kontrol grubuna göre daha sık olarak bulunmasıdır. En sağlam ilişki 6. kromozomun DR lokusudur. Diğer HLA haplotipleri de MS'de fazla prezente edilmektedir (Örn. HLA-DR2 ve daha sıklıkta HLA-DR3, HLA-B7 ve HLA-A3). Bu markerlar MS için şüpheli immün genlerdir. Bu markerlardan birinin varlığı MS gelişim riskini artırır. Bu antijenlerin varlığı hastalığın frekansı ile ilişkili bir kanıt sağlar fakat antijenlerin varlığı sabit değildir ve kesin rolleri tam olarak açıklanamamıştır. Genom kapsamlı bir çalışma birkaç alel tanımlamıştır (Örn. IL-2R α ve IL-7R α). Bunlar MS için kalıtsal risk faktörleridir. Bu bulgular, MS için gelişim risklerinden birinde immün sistem disregülasyonunun olduğunu düşündürmektedir (31).

1.1.1.4. Patogenez

Bu epidemiyolojik bilgiler hastalığın gelişiminde hem çevresel faktörlerin hem de genetik faktörlerin etkili olduğunu göstermektedir. Etyolojide yıllarca enfeksiyon suçlandı, özellikle de viral bir ajan olduğu üstünde duruldu. Sayısız defa MS hastalarının lezyonlarında human retrovirus ailesi üyesi ajanlar arandı fakat başarılı

olunamadı. Deneysel olarak tatmin edici bir viral MS modeli oluşturulamadı. Borrelia Burgdorferi ve Klamidya Pnömonia gibi bakteriyel ajanlar ve HSV-6 gibi ajanlar MS plaklarında izole edilmiştir, fakat bunların hastalık yaptığına dair direkt kanıtlar şu an için yoktur.

Eğer bilinmeyen bir enfeksiyon MS'in başlamasına neden oluyorsa daha sonra da hastalığın tekrarlanmasında ve alevlenmesinde sekonder faktör olmalıdır. Bir görüşe göre ise, bu görüş sekonder mekanizma olarak bilinir; otoimmün bir mekanizma ile bütün dokularda aksonların da yıkıldığı miyelin kılıfa saldırı olur. Bu görüşü destekleyen birkaç argüman geliştirilmiştir. MS plakları ve dissemine ensefalomyelit plakları arasındaki analogi (benzerlik) gecikmiş hipersensitif tip bir otoimmün mekanizmayı işaret etmektedir. Bunun dışında bu görüşü destekleyici diğer bir bulgu, Miyelin Basic Proteinine (MBP) karşı oluşmuş antikorların hem serum hemde BOS'ta bulunmasıdır. Bu antikorlar MBP ve diğer miyelin proteolipidlerine karşı reaktiftir ve hastalık aktivitesi ile artar. Bunun yanında MBP, bazı kızamık virüsü antikorları ile çapraz reaksiyon gösterir. Kronik viral enfeksiyonların hastalığın reaktivasyonunda ve devam ettirilmesinde rol aldığı konusundaki argüman, "hastalığı virüsler başlatır" argümanından daha az ikna edicidir.

Humoral ve sellüler faktörlerin MS plaklarını oluşturmadaki rolleri tam olarak anlaşılamamıştır. Akut ve Relaps-Remitting MS'teki plaklarda immünglobülin birikimi mevcutken, Progresif MS'de bu birikim görülmez. Humoral sistemin bu işin içinde olduğunun kanıtı, BOS'ta oligoklonal immün protein antikorlarının olmasıdır. Bu antikorlar B lenfositler tarafından oluşturulur. Yeni doğmuş farelerde sinir sistemlerine kompleman konulmasının miyelinde hasar meydana getirdiği, remiyelinizasyonu inhibe ettiği ve aksonal iletimi blokladığı görülmüştür. Hastaların %90'ının serumunda oligodentrositlere karşı antikor olduğu bazı çalışmalarda görülmüştür.

Miyelin Oligodentrosit Glikoprotein (MOG) ve MBP'ye karşı oluşan antikorlar tutarsız olarak bulunmuştur. MBP'nin T hücrelerinin bir alt grubunu (CD41 Th2) aktive ettiği, MOG'un ise B hücrelerini uyardığı ve buna bağlı olarak da oligoklonal band ve membran atak kompleksi oluşumunu, TNF α , interferon gama gibi sitokin ve interlökinleri aktive ettiği görülmüştür. Bu inflamatuvar süreç kan

beyin bariyerini hasarlandırır ve eninde sonunda oligodendroglia ve aksonlara zarar verir. Diğer vakalarda, göze çarpan bir inflamasyonun olmayışından dolayı oligodendroglial ve aksonal dejenerasyonda bir uyuşma olabilir.

İmmünologlar miyelinin bazı komponentlerine karşı T hücre duyarlanması ile ilgili bir görüş ileri sürmüşlerdir. Bu görüşü destekleyici olarak, deneysel allerjik ensefalomiyelit lezyonlarının oluşmasını T hücrelerinin başlatması gibi farklı kanıtlar mevcuttur. Bir diğer kanıt ise, otoreaktif T hücrelerinin merkezi sinir sistemine girmesi ile perivasküler inflamasyonu başlatmasıdır, fakat bunun MS ile ilişkisi tam olarak açık değildir.

Yukarıda tartışılanlar göz önüne alındığında, MS plaklarının oluşumunda etkili olabilecek dört farklı mekanizma olduğu görülmektedir. Bunlardan birincisi otoimmünite, ikincisi genetik yatkınlık, üçüncüsü çevresel faktörler ve enfeksiyonlar ve dördüncüsü ise rastlantısal demiyelinizasyondur (31).

1.1.1.5. Demiyelinizasyonun Fizyolojik Etkileri

Demiyelinizasyonun ana fizyolojik etkisi Ranvier boğumlarındaki sıçrayıcı elektrik akımının kesintiye uğramasıdır. Hem periferel hem de merkezi demiyelinizasyon hastalıklarındaki fonksiyon bozukluklarının altında yatan mekanizma elektriksel iletimin başarılammamasıdır. Örneğin optik sinirdeki elektriksel iletimin gecikmesi demiyelinizasyon hakkındaki birçok noktayı açıklar. Hastalara vizüel stimülasyon yapılarak bu gecikme gösterilir.

Demiyelinizasyon süreci ilk birkaç gün içinde akut ve reverzibldir. Remiyelizasyon olmadan iyileşme pek olası değildir. İyileşme, muhtemelen lezyon etrafındaki ödem ve akut inflamatuvar değişikliklerin azalması sonucu oluşur. Remiyelinizasyon meydana gelir, fakat bu süreç yavaştır. Bu sürecin fonksiyonel etkisi merkezi sinir sisteminde sinir iletiminin yavaşlaması olarak görülür.

Multipl Skleroz için tipik bir diğer özellik ise egzersiz ya da sıcakla ortaya çıkan geçici kötüleşmedir [Örn. bulanık görmede artma (Uhthoff fenomeni), ya da ekstremitelerde zayıflık]. Uhthoff fenomeni deneysel olarak gösterilmiştir. Isıda 0.5 santigrad derecelik bir artış demiyelinize ya da ince miyelinli sinir liflerinde elektriksel iletimi bloklayabilir. Aynı şekilde hiperventilasyon da görsel uyarılmış cevabı yavaşlatabilir. Metabolik ya da çevresel değişiklikler MS semptomlarında

dalgalanmalara neden olabilir. Sigara içme, yorgunluk, hiperventilasyon ve çevresel sıcaklıkta artma nörolojik fonksiyonları kötüleştirir ve kolayca hastalığın atağı ile karıştırılabilir (31).

1.1.1.6. Klinik Manifestasyonlar

1.1.1.6.1. Erken Semptom ve Bulgular

Zayıflık ya da uyuşma semptomlarından bazen biri bazende her ikisi hastaların yaklaşık yarısının başlangıç semptomu olabilir. Ekstremitelerde karıncalanma ve gövde ya da uzuvlarda band benzeri karıncalanma muhtemelen posterior kord ile ilişkili bir patoloji sonucudur. Semptomlar genellikle saatler ya da günle riçinde azalır. Bazen bu şikayetlerin önemsenmemesi sonrasında daha daha büyük şikayetlerle hasta doktora gelebilir. Klinik sendrom hafif bir şikayetten bir ya da iki ekstremitenin zayıf kontrolünden spastik ya da ataksik paraparezisine kadar çeşitlidir. Tendon refleksleri kaybolmaz daha ekstansör plantar refleks hiperaktif olur. Bu durum derin ya da yüzeysel duyu kaybı ile ilişkili olabilir. MS hastası sadece bir bacağında semptom tarif etmesine rağmen her ikisinde bulgu olması, örneğin bacaklarda zayıflık, koordinasyon bozukluğu, uyuşma, alt ekstremitede Babinski bulgusu gibi bulgular bilateral kortikosinal veya posterior kolon patolojisine ait bulgulardır.

Ek olarak birkaç tane daha sendrom vardır, ki bu durumlar MS için başlangıç semptomları olabilir. Bunların başlıcaları; optik nörit, transvers miyelit, cerebellar ataksi, beyin kökü sendromları (vertigo, fasial ağrı, dizartri, diplopi)'dir. MS'e ait diğer özelliklerde tek başına bulunabilir, buna klinik olarak izole sendrom denir.

Boynun fleksiyonu ile omuzdan aşağı ve bacaklara doğru elektrik çarpmasına benzer bir karıncalanma meydana gelir. Buna Lhermitte bulgusu denir. Bu bir şikayetten çok bir bulgudur. İlk defa Babinski tarafından servikal travmalı hastalarda tanımlanmıştır. Bu bulgunun varlığı dikkatlerin MS'e çevrilmesine neden olur. Servikal fleksiyon sonrası demiyelinize liflerde meydana gelen basınç ve gerilmeye bağlı olarak bu bulgu ortaya çıkar. Bunun dışında servikal spondiloziste de ortaya çıkar. MS merkezi sinir sistemi dışında başka bir organı etkilemez. Tablo 2'de MS'in başlangıç bulguları verilmiştir.

Tablo 2. MS’de Başlangıç Semptomları

Semptom türü	%
Motor	50
Duyusal	30
Görme bozukluğu	22
Ataksi/tremor	20
Diplopi	12
Vertigo	7
Sfinkter kusuru	6
Diğer	5

Başlangıç monosemptomatik veya polisemptomatik olabilir.

1.1.1.6.2. Optik Nörit (Retrobulber nörit, Papillit)

Multipl Skleroz hastalarının %25’i başlangıç manifestasyonu olarak optik nörit ile gelir. Karakteristik olarak birkaç günlük periyotta bir gözde total ya da kısmi görme kaybı vardır. Çoğu hasta görme kaybından bir ya da iki gün önce orbitada ağrı hisseder. Ağrı palpasyon veya göz hareketi ile artar. Nadiren görme kaybı progresif olarak ilerler. Bazı hastalarda her iki optik sinir tutulabilir. Ya simultane olarak tutulur ya da daha yaygın formu olan haftalar içinde yeni bir optik nörit atağıyla hastanın gelmesi şeklinde olabilir.

Seri değerlendimelerle hastaların onda birinde optik sinir başındaki ödem gösterilebilir. Papillitin meydana gelme nedeni lezyonun demiyelinizasyonunun sinir başına yakın olmasıdır. Papillit, papil ödemden akut görme kaybına refakat eden artmış intrakranial basınç ile ayırt edilir. Optik sinir başı retrobulber nöritte normal ya da normale yakın olarak görülür.

Optik nörit gelişmiş yetişkin hastaların yarısına yakını başka bir MS bulgusu ile tekrar prezente olurlar. Prospektif bir çalışmanın sonuçlarına göre MS gelişmiş kadın hastaların %74’ü, erkek hastaların %34’ü 15 yıl içinde görme kaybı hadisesi ile karşılaşmaktadır. Bu risk çocukluk çağı MS’inde daha düşüktür. Bu hastaları %26’sı takip eden 40 yılda optik nörit atağı geçirmiştir.

Üveit ve retinal ven kılıfına ait diğer oftalmik sıkıntılar MS hastalarında beklenenden daha sıktır. Retinal vasküler kılıfda tıpkı plaklarda olduğu gibi T hücre infiltrasyonu vardır (31).

1.1.1.6.3. Akut Tranvers Myelit

Bu durum spinal kordun akut demiyelinize inflamatuvar lezyonunun en yaygın görünümüdür. Miyelitik lezyon optik nöritin analogudur. Transvers terimi ise lezyonun transvers kesitte ortaya çıkmasından dolayıdır. Aslında MS’de spinal kord bulgular asimetriktir ve tam değildir, inen ya da çıkan yolakların sadece bir kısmını içerir ve tam duyu kaybı beklenmez.

Klinik olarak hastalık hızlı gelişen simetrik ya da asimetrik paraparezi, parapleji, assending parestezi, ayaklarda derin duyunun kaybı, gövde seviyesinde duyu kaybı, sfinkter disfonksiyonu ve bilateral babinski bulguları ile karakterizedir. Hastalar genellikle nörolojik bulgular öncesinde geçirilmiş bir infeksiyon hastalığı rapor eder. MR’da genellikle spinal kordda kliniğe uygun seviyede gadolinyum tutulumunun olduğu lezyon görülür. Fakat bu bulguların hiçbiri sürekli değildir.

Başka bir spesifik problem rekürren miyelittir. Bu hastaların MR’larında ya da dikkatli yapılmış klinik muayenelerinde demiyelinizasyona ait bir bulgu görülmez. Hastaların bazılarında BOS’ta oligoklonal band görülebilir ki bu durum genellikle MS ile ilgilidir. Rekürren miyelit ya da miyelopatiler Sjögren Sendromu, SLE, Mikst bağ doku hastalıklarında, Antifosfolipid Antikor Sendromu gibi durumlarda görülür (31).

1.1.1.6.4. Akut Atağın Diğer Klinik Özellikleri

Multipl Skleroz ‘in erken dönem diğer semptomları yürümede zorluk, beyin sapı semptomları (diplopi, vertigo, kusma), parestezi, kol ve bacaklarda uyuşukluk, fasial ağrı, idrar sorunlarıdır. Örneğin hemipleji, ağrı sendromları, fasiyal paralizisi, sağırılık gibi münferit semptomlar vakaların çok az bir kısmını oluşturur. Bahsi geçen bu semptomların bir ya da birkaçı bir arada ortaya çıkar. Bir başka tablo olan izole sendrom sadece kadınlarda ortaya çıkar ve zayıflık ve ataksi ile karakterizedir. Bunu servikal spondilozisten ayırt etmek zordur.

Uzuvlarda zayıflık ve spastisite ile birlikte ya da bunlar olmaksızın nistagmus ve ataksi hastalığın sık görülen özelliklerinden değildir. Bu semptomlar genellikle serebellum veya kortikospinal yolakta sorun olduğuna işaret eder. Serebellar tip ataksi baş ve boyunda ritmik instabilite, kol ve bacaklarda tremor, istemli hareketlerde inkordinasyon ve konuşmanın bozulması ile tanımlanır. Nitagmus,

konuşmanın bozulması ve esansiyonel tremor Charcot triadı olarak bilinir. Serebellar ataksinin en şiddetli formu kol ve bacaklarda şiddetli kontrol edilemeyen ataksik tremordur. Genellikle uzun dönem MS hastalarında görülür. Bundan sorumlu olan lezyon muhtemelen orta beynin tegmentumunda ve dentatorubroalamik yolak yapılarındadır. Serebellar ataksi genellikle spinal kordun posterior kolonu ve beyinsapı medial lemniscus tutulumunu içeren duyuusal ataksi ile birlikte dir.

Diplopi bir başka yaygın şikayettir. Genellikle medial longitudinal fasikülün tutulumu sonucu ortaya çıkar. Bu semptomun nedeni medial rektus kasının parezsidir. Birlikte kaba nistagmus da görülür. Bu nistagmus unilateral internükleer oftalmoplejiden kaynaklanır. Sonuç olarak genç yetişkin birinde bilateral internükleer oftalmopleji varlığı MS için diagnostiktir. Bunun yanında geçici fasiyal hiperestezi ya da anestezi ya da trigeminal nevralsi genç bir hastada görülüyorsa bu durum MS’i destekler. Bacaklarda tanımlanamayan ağrı da yaygındır fakat bunun MS lezyonları ile ilişkisi kesin değildir (31).

1.1.1.7. Klinik Olarak Yerleşmiş MS’in Semptom ve Bulguları

Multipl Skleroz tanısı kesinleştikten sonra klinik sendromun birçok formu düzenli olarak ortaya çıkar. Yaklaşık olarak hastaların yarısı optik sinir, beyinsapı, serebellum ve spinal kordun içinde olduğu mikst ya da jeneralize tip bir klinikle prezente olurlar. Spina korda ait şikayetler genellikle posterior kord veya kortikosipnal yolağa ait semptomlardır. Özellikle spinal form hastalığı olan kişilerin içinde olduğu hastaların %30-40’ı değişen derecelerde spastik ataksi ve derin duyu değişiklikleri ile gelir. Diğer taraftan muhtemelen progresif MS’in en yaygın formu olarak eklemlerde pozisyon ve vibrasyon duyusunun bozulduğu asimetrik spastik paraparezi ile de hastalar gelebilir. Serebellar ya da serebellar-beyinsapı formu genellikle hastaların %5’inde ortaya çıkar.

Kognitif bozulmaya da bazı derecelerde rastlanır. Uzun dönem hastaların yarısında bu tür bozulmalar görülebilir. Bu proses dikkatin azalması, akıcı konuşma ve yönetici yeteneklerde azalma, hafıza azalması ve diğer entellektüel fonksiyonlarda bozulmadır. Buna subkortikal demans denir. Güçlü hafıza kaybı, global demans ve konfüzyonel-psikotik durumlar da ileri düzey hastalarda ortaya çıkabilir. Kognitif fonksiyon bozulmaları ile beyaz cevher miktarının kaybı arasında MR görüntülerinde

korelasyon mevcuttur. Bu bozulmaların nedeni korpus kallozum incelmesi ve beyin atrofisidir.

Geleneksel öğrendiklerimiz öforinin üstünde çok durur, patolojik bir neşe hali ve nörolojik defisite uygun olmayan yükselme hali olabilir. Buna morbid optisizm denir. Bazı hastalarda bu durum görülebilir, genellikle serebral bozulmanın bir bulgusudur. Bazı hastalar psödobulbar palsi sendromu ile gelebilir. Hastaların büyük bir kısmı deprese, irritabl ve sinirlidir. Hastaların depresyon insidansının %25-40 olduğu tahmin edilir. Yapılan bir çalışmada bir grup travmatik parapleji MS hastasında emosyonel bozuklukların sık olduğu bulunmuştur. Özellikle relaps dönemlerinde bu oran artmaktadır.

Mesane disfonksiyonuna ait semptomlar ise idrara acil çıkma hissi, sıkışma, idrar kaçırma gibi spinal kord lezyonlarına bağlı olarak ortaya çıkar. Genellikle sakral bölge lezyonlarına bağlı olarak ortaya çıkan üriner retansiyon sıklığı azdır. Bu semptomlar genellikle erektil disfonksiyon ile birlikte dir.

Paroksizmal ataksi bazen birkaç saniye, dakika, bazen gün zaman dilimi içinde ortaya çıkabilir. Fakat bu MS için tam olarak iyi tanımlanmış bir özellik değildir. Atak genellikle relaps-remitting fazı boyunda ortaya çıkar nadiren de başlangıç semptomu olabilir. Bu klinik fenomen santral sinir sisteminin herhangi bir bölgesine refere edilebilir fakat stereotipi gösterme eğilimindedir. En yaygın fenomenler genellikle dizartri, ataksi, paroksizmal ağrı ve uzuvlarda dizestezi, ışık flashingi, paroksizmal kaşınma, el-dirsek-bilek bölgelerinde tonik fleksiyon ve uzuvların alt kısımlarında ekstansiyon kasılmalarıdır. Paroksizmal semptomlar, özellikle tonik spazmlar hiperventilasyonla tetiklenebilir. Eğer bir vesile ile distonik bir el ya da ayak semptomu ilk bulgu ise aklımıza karşı internal kapsülde bir lezyon olduğu gelmelidir. İleri vakalarda spazm dört uzvu da içerebilir hatta opustotonus durumuna ilerleyebilir. Bunun nedeni lezyon içinde birbirine dokunan aksonların olmasıdır.

Geçici semptomlar aniden ortaya çıkar, sıklıkla birkaç gün ya da hafta devam edebilir ve tamamen iyileşir. Bazen bu semptomların bir atak mı, yeni bir lezyon mu olup olmadığını belirlemek zordur. Yıllar önce yapılan bir çalışmada 60 hastanın 105 atağı incelenmiş ve hastaların sadece %19'unda yeni semptomlar olduğu görülmüştür. Bir başka semptom orijinal lezyonun asemptomatik olmasıdır. Bu

özellikle görsel uyarılmış yanıtlarda görülür, yanıtları bozulmuştur fakat semptomatik görsel yakınmaları olmayabilir. Bundan dolayı semptom ve bulgular önceden oluşmuş fakat asemptomatik plakların manifestasyonu olabilir. Bazen yeni plak olmaksızın semptom ve bulgular ilerleyebilir. Karbamazepin genellikle bu tür spontan atakların kontrolünde etkilidir, asetozolamid de hiperventilasyona bağlı ağrılı tonik spazmları bloklamada etkilidir.

Nadiren şiddetli yorgunluk da MS'e özgü bir semptom olabilir. Sıklıkla geçicidir ve ateş olduğu zaman ortaya çıkar. Kaydedeğer bir distres varsa sürekli de olabilir. Yorgunluk haline depresyon da neden olabilir.

Bir diğer ilginç manifestasyon ise yüz nevraljisi. Genç hasta bilateral yüz nevraljisi olan bir kişide MS'den şüphelenmek gerekir.

Nöbet sıklığı MS hastalarında artmıştır fakat sıklığı yapılan çalışmalara göre değişkendir. Nöbet genellikle yıllar içinde gelişir ve serebral lezyonlarla ilişkilidir. Hastalığın erken dönemlerinde nöbet görülmesi sıklıkla önceki bir kafa yaralanması, idiyopatik epilepsi ya da uyku bozukluğu ile ilişkilidir fakat MS ile ilgili değildir.

Bir başka hasta grubunda başlangıç semptomu uyuklamadır. Bir başka nadir bulgu ise serebellar ataksi ile birlikte entellektüel azalmadır (31).

1.1.1.8. Akut Atağı Presipite Eden Faktörler

Bazı faktörler MS atağını ya da başlangıcını tetikleyebilir. En yaygın nedenler enfeksiyon, travma ve gebeliktir. Hastalığın akut alevlenmeleri öncesinde üriner, gastrointestinal ve solunumsal viral enfeksiyonların olduğunu gösteren ve %5-50 arasında değişen oranlarda bunun yaşandığını söyleyen çalışmalar mevcuttur. İnfluenza aşısının 1976 yılında Amerika'da Guillain-Barre'yi artırdığı gösterilmiştir fakat MS'i arttırmamıştır.

Travmanın MS'i presipite edici olası rolünü açıklamak oldukça zordur. McAlpine ve ark. yaptığı çalışmada MS gelişimi öncesindeki 3 aylık periyotta travma insidansının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bulmuştur. Travma ile MS arasındaki ilişki, diğer çalışmalar da incelendiğinde insidental olabilir (31).

1.1.1.9. Multipl Sklerozun Çeşitleri

Nörolojik bulguların sinsi ilerlemesi, merkezi sinir sisteminde tek bir bölgeye sınırlı olması multipl sklerozda görülebilir; fakat diğer olası nedenler araştırılmalıdır.

Multipl sklerozun seyri 4 grupta incelenebilir:

1. Relapsing-remitting (RR) (yineleyici)
2. Progresif “relapsing (PR) (ilerleyici yineleyici)
3. Primer progresif (PP) (birincil ilerleyici)
4. Sekonder progresif (SP) (ikincil ilerleyici)

İyi gidişli veya selim (benign) multipl skleroz terimi genellikle uzun süreden beri (>10 yıl) multipl sklerozu olan ve çok az özürllük gelişmiş (<3.5 EDSS) ya da hiç özürllüğü olmayan hastalar için kullanılır.

Kötü gidişli (malign) multipl skleroz bazen sık ve tam düzelmeyen ataklar geçirip, özürllüğü hızla ilerleyen, bazen de akut fulminan demiyelinizan sendromlu hastalar için kullanılır (33).

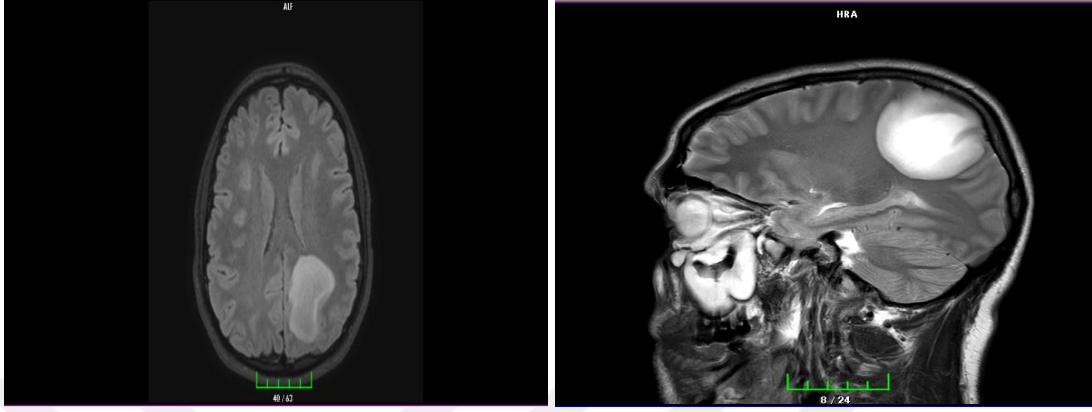
Tablo 3. Multipl Skleroz Tanısında Klinik Tablolar

Multipl sklerozu düşündüren klinik tablolar
15-50 yaşlar arasında başlama
MSS’de çok sayıda odağın etkilenme bulguları
Optik nöropati
Lhermitte bulgusu
İnternükleer oftalmopleji
Yorgunluk
Vücut ısısının artmasıyla kötüleşme
Multipl sklerozu düşündürmeyen klinik tablolar
10 yaşından önce 60 yaşından sonra başlangıç
Periferik sinir sisteminin tutulması
Hemianopsi
Rijidite, sabit distoni
Afazi, apraksi, agnozi, aleksi, ihmal (“neglect”) gibi kortikal bulgular
Erken demans

1.1.1.9.1. Akut ve Tümör Benzeri MS (Marburg formu)

Nadiren MS hızlı progresif ve yüksek malign bir forma dönüşebilir. Buna Marburg formu denir. Hastada serebral, beyinsapı ve spinal manifestasyonlar birkaç hafta içinde ortaya çıkar, hasta koma haline girer. Herhangi bir iyileşme olmaksızın birkaç hafta içinde ölüm meydana gelir. Otopsi sonuçlarında çok geniş akut plaklar

görülmüştür. Olağan MS formundan farkı, çoğu plağın aynı yaşta ve perivönöz zonda olmasıdır. BOS'ta oligoklonal band görülmez, genellikle hücresel cevap görülür (31).



Şekil 2. Tumor Benzeri Lezyon

1.1.1.10. Labaratuvar Bulguları

1.1.1.10.1. BOS Bulguları

Multipl Skleroz hastalarının yaklaşık üçte birinde özellikle akut alevlenme döneminde orta derecede mononükleer pleositozis olabilir (6-20 hücre/mm³). Hızlı progresif nöromiyelitis optika ve beyinsapının şiddetli demiyelinizan hastalıklarında total hücre miktarı 100 hücre/mm³, nadiren de hiperakut durumlarında 1000 hücre/mm³ civarında olabilir. Hücrelerin büyük bir kısmı polimorfonükleer lökosit olabilir. Bu pleositozis gerçekte, sadece hastalığın aktivitesi sırasında ölçülür.

Multipl Skleroz hastalarında, serebrospinal sıvıda gama globulin proteini görülebilir. Bu proteinler merkezi sinir sisteminde sentezlenir ve elektroforezde anormal toplanma gösterir. Bu yapılara oligoklonal bant denir. BOS'ta oligoklonal bant bakılması, tanının doğrulanmasında sıkça kullanılır. MS hastalarının %90'ından fazlasında oligoklonal IgG vardır.

Bunun yanında hastaların %40'ında BOS'ta total protein miktarı artmıştır. Protein konsantrasyonu 100 mg/dL'nin üstündedir. Daha az kullanılan bir diğer diagnostik test ise BOS'ta IgG ve IgG indeksi bakılmasıdır.

Radyo-immünoassay yöntemi kullanılarak gösterilen diğer bir bulgu da akut atak hastalarında BOS'ta MBP konsantrasyonunun artmasıdır. Bu miktar normal

zamanlarda ya da yavaş seyirli MS'te daha düşüktür. Enfarkt gibi miyelin yıkımına neden olan durumlarda da serebrospinal sıvıda MBP artabilir.

Multipl Skleroz tanısı konmuş hastaların çoğunda hücre, total protein, gama globülin ve oligoklonal band anormallikleri büyük ihtimalle görülecektir. BOS'ta oligoklonal band tayini MS tanısı için yaygın şekilde kullanılmaktadır (31).

1.1.1.10.2. Görüntüleme

Manyetik Rezonans görüntülemesi MS tanısı koymak için yardımcı bir yöntemdir. Serebrum, beyinsapı, optik sinir ve spinal korddaki semptomatik ve asemptomatik plakların tespit edilmesinde kullanılır. MS tanısı almış hastaların %90'ından fazlasında, beyin ve spinal kordda demiyelinizan plak olduğu gösterilmiştir.

Birkaç MR görüntüsü MS lezyonları için karakteristiktir. Genellikle MS plakları T2-ağırlıklı ve T2-FLAIR görüntülerde hiperintensdir. T2 sekansı beyinsapı, serebellum ve spinal kordaki lezyonları tespitinde daha sensitiftir. Akut lezyonlar ödemden dolayı meydana gelen doku genişlemesinden dolayı T1 hipointens, T2 hiperintens olarak görülür. Kronik lezyonlar genellikle kontraktedir ve T2 sekansında hiperintens görünür. T1 hipointens görüntü varlığı, geniş remiyelinizasyon lezyonlarında görülür. Eğer remiyelinizasyon yoksa kronik lezyon siyah delik olarak görülür.

Akut dönem MS lezyonlarının bulgusu, gadolinyum uygulaması sonrası anormal T1 hiperintensitesidir. Bu hiperintensite inflamasyonun bulgusudur. Gadolinyum tutulumu haftalar boyunca devam edebilir. MS lezyonları için karakteristik patern, C-şekilli paterndir. Bu patern, MS lezyonlarını abse ve neoplazm lezyonlarından ayıran paterndir. İleri MS vakalarında periventriküler lezyonlar birleşik görülebilir (31).

1.1.1.10.3. Uyarılmış Potansiyeller ve Diğer Testler

Klinik bilgi merkezi sinir sisteminde sadece bir lezyon olduğunu söylerken, diğer sensitif birçok fizyolojik ve radyolojik test, ek asemptomatik lezyonların varlığını gösterebilirler. Bu testler görsel, işitsel, duyuşsal uyarılmış potansiyellerdir. Görsel anormallikler MS hastalarının %70'inde, olası MS hastalarının ise %60'ında görülür. Duyuşsal uyarılmış potansiyelde anormallikler ise %0-60 oranında görülür.

Beyinsapı uyarılmış potansiyelleri ise %20-40 oranında bozuk çıkar. Bu testler son zamanlarda sık olarak kullanılmıştır ve MR'da görüntülenemeyen demiyelinize lezyonların tespitinde kullanılır (31).

1.1.1.11. Multipl Skleroz'un Tanı Kriterleri

Multipl Skleroz tanı kriterleri Tablo 4'de gösterilmiştir (33).

Tablo 4. Multipl Skleroz Tanı Ölçütleri (Revize McDonald kriterleri)

Atak	Objektif klinik bulgulu lezyon sayısı	MS tanısı için gerekli ek veri
≥2 atak	≥2	Yok ^a
≥2 atak	1 + öyküde başka bir alandaki lezyona ait atak ^b	Yok ^a
≥2 atak	1	SSS'de farklı bir alandaki lezyona ait yeni bir atak veya MRG ^c ile mekanda yayılımın gösterilmesi
1 atak	≥2	Ek bir klinik atak veya MRG ^d ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS-spesifik OKB ^e varlığı
1 atak	1 lezyona ait objektif klinik bulgu	SSS'de farklı bir alandaki lezyona ait yeni bir atak veya MRG ^c ile mekanda yayılımın gösterilmesi ve ek bir klinik atak veya MRG ^d ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS-spesifik OKB ^e varlığı
Sinsi progresyon	1 yıl klinik progresyon (retrospektif veya prospektif, ataktan bağımsız olarak)	Aşağıdakilerin 2'si -MS tipik (periventriküler, kortikal / jukstakortikal veya infratentoryal alanlarda ≥1 lezyon -Spinal kordda ≥2 lezyon -BOS-spesifik OKB varlığı

^a : Mekanda ve zamanda yayılımı göstermek için ek bir teste gerek yoktur. Ancak beyin MRG tüm hastalara yapılmalıdır. Tanıyı destekleyecek yetersiz klinik ve MR bulguları olanlarda, tipik KİS olmayanlarda, atipik özellikleri olan hastalarda ek olarak spinal kord MRG ve BOS tetkiki yapılmalıdır. Bu tetkikler yapılmadıysa ya da negatifse MS tanısı koymadan önce dikkat edilmeli ve alternatif tanılar göz önünde bulundurulmalıdır.

^b : Atak için objektif nörolojik bulgular temelinde konulmuş klinik tanı en güveniliridir. Öyküdeki atağa ait dökümanite edilmiş objektif nörolojik bulgular yoksa, öykü enflamatuvar demiyelinizan olaya ait tipik semptom ve klinik gelişim özelliklerini içermelidir. Ancak en az bir atak objektif bulgularla desteklenmelidir. Objektif kanıtların yokluğunda dikkatli olunmalıdır.

^c : MRG'de alanda yayılım; MS tipik (periventriküler, kortikal / jukstakortikal, infratentoryal ve spinal kord) 4 alanın ≥2'sinde ≥1 lezyon olması.

^d : MRG'de zamanda yayılım; herhangi bir zamanda çekilen MRG'de kontrast tutan ve tutmayan lezyonların aynı anda bulunması veya takip MRG'sinde ilk MRG (çekildiği zamandan bağımsız olarak) referans alındığında yeni bir T2 hiperintens lezyonun ya da kontrast tutan lezyonun olması.

^e : BOS spesifik OKB varlığı zamanda yayılımı göstermez ama tanıdan onun yerine geçer.

MS: Multipl skleroz, SSS: Santral sinir sistemi, MRG: Manyetik rezonans görüntüleme, BOS: Beyin omurilik sıvısı, OKB: Oligoklonal band

1.1.1.12. Ayırıcı Tanı

Merkezi Sinir Sisteminde işlev kaybına yol açan ve geri düzelebilen az sayıda nörolojik durum vardır. MS, hastalığının heterojen yapısı yüzünden birçok hastalıkla

karışabilir. Aşağıdaki Tablo 5’te, MS ile karışabilecek hastalıklar gösterilmiştir. Ayırıcı tanıda bu hastalıkların düşünülmesi gerekir (33).

Tablo 5. MS Ayırıcı Tanısı

İnflamatuvar hastalıklar
Granülatöz anjiitis
Sistemik lupus eritematozus
Sjögren hastalığı
Behçet hastalığı
Poliarteritis nodosa
Paraneoplastik ensafalomyelopatiler
Akut dissemine ensefalomyelopati
Postinfeksiyöz ensefalomyelitler
Enfeksiyöz hastalıklar
Lyme hastalığı
İnsan T-hücre lenfotropik virus tip 1 enfeksiyonu (HTLV-I)
HIV enfeksiyonu
Progresif multifokal lökoensefalopati
Nörosifiliz
Granülatöz hastalıklar
Sarkoidoz
Wegener granülatozu
Lenfomatoid granülatozis
Genetik miyelin hastalıkları
Metakromatik lökodistrofi
Adrenolökodistrofi
Diğer
Spinocerebellar bozukluklar
Kraniyovertebral anomaliler
Vitamin B12 eksikliği

1.1.1.13. Tedavi

Multipl Skleroz tedavisi üç kategoride incelenir:

- 1- Akut atak tedavisi
- 2- MS’in biyolojik aktivitesini azaltıcı, hastalığı modifiye edici tedavi
- 3- Semptomatik tedavi

1.1.1.13.1. Akut Atak Tedavisi

Hastalarda, akut bir bozulmayla karşılaşıldığında ilk önce yapılması gereken kötüleşmenin ateş, sıcaklık artışı ve enfeksiyona bağlı bir psödo-atak olup olmadığını ayırt etmektir. Çünkü psödo-atakta glukokortikoid tedavisi gerekmez. Glukokortikoidler ya ilk atağı ya da akut alevlenmeyi yönetmede kullanılır.

Glukokortikoidler, kısa dönem klinik faydanın sağlanması, atakların şiddetinin ve süresinin kısaltılması için kullanılır. Bu tedavinin uzun dönemde fayda sağlayıp sağlamadığı konusu tam olarak açık değildir.

Glukokortikoid tedavisi genellikle intravenöz metilprednizolon olarak uygulanır. Günde 500-1000 mg/gün olarak 3-5 gün verilir. Tedavi sonlandırıldığında ya doz azaltılmadan kesilir ya da günde 60-80 mg oral prednizon verilir ve dereceli olarak azaltılarak 2 haftada kesilir.

Kısa dönem glukokortikoid tedavisinin yan etkileri; sıvı retansiyonu, potasyum kaybı, kilo alımı, gastrik yakınmalar, akne ve emosyonel labilitedir. Düşük doz tuz alımı ve potasyumdan zengin diyet önerilir, potasyum atıcı diüretiklerden ise kaçınılması uygun olur. Lityum karbonat, emosyonel labilitenin ve glukokortikoide bağlı insomnianın yönetilmesinde yardımcı olabilir. Gastrik yakınması olan kişilere proton pompa inhibitörleri, ranitidin, simetidin gibi ilaçlar verilebilir. Glukokortikoide cevap vermeyen hastalarda plazma değişimi faydalı olabilir. Bunun yanında bu tedavi pahalıdır ve sonuç verici etkinliği bulunmamaktadır (34).

1.1.1.13.2. MS'in Biyolojik Aktivitesini Azaltıcı, Hastalığı Modifiye Edici Tedavi

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi onayıyla 10'a yakın ilaç kullanılmaktadır; (1) IFN- β -1a (Avonex), IFN- β -1a (Rebif), (2) IFN- β -1b (Betaseron, Betaferon, Extavia), (3) glatiramer acetate (Copaxone), (4) natalizumab (Tysabri), (5) fingolimod (Gilenya, Fingya), (6) dimethyl fumarate (Tecfidera), (7) teriflunomide (Aubagio), (8) mitoxantrone (Novantrone), (9) ocrelizumab (Ocrevus) ve (10) alemtuzumab (Lemtrada). Bu ilaçların hepsi hem RRMS hem de SPMS formunda kullanılır. Mitoxantrone ise immünsüpresif toksik etkilerinden dolayı sadece progresif formdaki hastalarda kullanılır (34).

İnterferon- β : IFN- β sınıf 1 interferondur, orijinal olarak antiviral özelliği tanımlanmıştır. MS etkinliği muhtemelen immünmodülatör özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bunlar; (1) antijen sunan hücreler üzerinde MHC moleküllerinin ekspresyonunun down regülasyonu (2) proinflamatuvarları azaltmak, düzenleyici sitokinleri arttırmak (3) T hücre çoğalmasını inhibe etmek (4) BOS'taki inflamatuvar hücrelerin geçişini sınırlamaktır. IFN- β atak sıklığını azaltır, hastalık şiddetinin

progresyonunu yavaşlatır. IFN- β hem RRMS hem de SPMS'de üst üste atak gelişen hastalarda düşünülmelidir. SPMS olup relapsı olmayan hastalarda etkinliği gösterilmemiştir. Deneyimler yüksek doz IFN- β 'nın daha etkili olduğunu göstermektedir; muhtemelen nötralize edici antikorların üretimini indükler. IFN- β -1a (Avonex) 30 μ g haftada bir kez kas içine, IFN- β -1a(Rebif) subkutan 44 μ g haftada 3 kez yapılır. IFN- β -1b (Betaseron, Betaferon, Extavia) 250 μ g subkutan gūnaşırı yapılır.

İnterferonun yaygın yan etkileri, grip benzeri semptomlar (ateş, miyalji vb.) ve laboratuvar değerdendirmelerinde orta derece anormalliklerdir (yükselmiş karaciğer fonksiyon testleri ya da lenfopeni). Nadiren, daha şiddetli hepatotoksisite ortaya çıkabilir. Subkutan interferon, enjeksiyon yerlerinde reaksiyona neden olabilir. Yan etkiler genellikle beraberinde kullanılan NSAİİ ilaçlarla kompanse edilir. Depresyon, artmış spastisite ve kognitif değışiklikler tarif edilmiştir fakat bu yan etkiler hastalıktan kaynaklanıyor olabilir.

Yaklaşık olarak IFN- β -1a (Avonex) kullananların %2-10'u, IFN- β -1a (Rebif) kullananların %15-25'i, IFN- β -1b (Betaseron, Betaferon, Extavia) kullananların %30-40'ı IFN- β 'yı nötralize eden antikorlar geliştirir ama bu uzun zaman görülmez. 2000'in üstünde hastanın katıldığı bir çalışmada antikorların ilacın etkinliğini azalttığı, MR bulguları ile gösterilmiştir. Paradoksal olarak, aynı çalışmanın sonuçları klinik sakatlık ve relaps hızı üzerine etkisini göstermeyi başaramamıştır. Bu tartışma çözümsüzdür. Terapinin etkinliğinin azaldığı hastalarda ise antikor olmasa bile alternatif tedaviler düşünülmelidir (34).

Glatiramer acetate: Bu ilaç sentetiktir ve 4 aminoasitli bir polipeptiddir (L-glutamik asit, L-lisin, L-alanin ve L-tirozin). Bu ilacın mekanizması şunları içerir: (1) antijen spesifik süpressör T hücrelerini indüklemek (2) MHC moleküllerini bağlamak (3) proinflamatuvar ve regülatör sitokinler arasındaki dengeyi değıştirmek. Glatiramer asetate, RRMS'de atak sıklığını azaltır. Aynı zamanda hastalığın şiddetinin ve klinik sakatlığının azaltılmasında da faydalıdır. Fakat interferon kadar etkili değildir. İki tane büyük çalışmanın sonuçlarına göre ise glatiramer asetatin, relaps hızına ve sakatlığa etkisinin interferonla kıyaslanabilir olduğunu gösterdi. Bu yüzden glatiramer asetate RRMS hastalarında interferonun alternatifi olarak düşünülebilir. Bu ilacın progresif MS'deki faydası bilinmemektedir. Glatiramer asetate, ya hergün

günde 20 mg subkutan ya da haftada 3 defa 40 mg kullanılır. Enjeksiyon bölgelerinde reaksiyon ortaya çıkabilir. Bununla birlikte hastaların %15'inde bir veya daha fazla flashing epizodu, göğüste sıkışma, dispne, çarpıntı ve enjeksiyon sonrası anksiyete gelişebilir. Son olarak bazı hastalarda lipoatrofi gelişebilir. Bu durumlarda tedavi değiştirilmelidir (34).

Natalizumab: Lenfosit yüzeyindeki bir hücrel adhezyon molekülü olan $\alpha_4\beta_1$ integrine karşı oluşturulmuş yapay bir monoklonal antikordur. Bu ilaç lenfositlerin endotel hücrelere bağlanmasını engeller böylece lenfositlerin kan beyin bariyerini geçmesini engeller. Natalizumab etkili bir şekilde atak hızını azaltır, klinik ve MR görüntüleme önemli düzelme sağlar. Uygulama şekli, aylık intravenöz olarak verilir. Bunun yanında natalizumabla tedavi edilen hastaların %0,3'ünde, JC virüsü tarafından oluşturulan Progresif Multifokal Lökensefalopati (PML) gelişir. PML gelişme riski ilk yıl düşüktür fakat ikinci yıldan sonraki her yıl 1000 hastadan 2'sinde gelişir. Serumda JC virüsüne karşı oluşan antikor düzeyini ölçmek bu riski tanımlamada kullanılabilir. Antikor saptanmayan hastalarda bu risk çok azdır ya da hiç yoktur. Tersine antikor saptanan kişilerde ise risk %0,6 civarında artmıştır. Bu risk daha önce immünespresif almış kişilerde de yüksektir. Natalizumab, şimdilik diğer tedavilere cevap vermemiş, agresif seyreden ve JC virüs antikor negatif kişilere tavsiye edilmektedir. Birebir bilgiler doğrultusunda bakıldığında natalizumab RRMS hastalarında IFN- β -1a'dan daha üstündür. Fakat diğer ajanlarla etkinliği karşılaştırıldığında etkinliği açık değildir.

Natalizumab 300 mg dozunda ve aylık olarak intravenöz yolla verilir. Tedavi genellikle iyi tolere edilir fakat hastaların %10'undan azında anafaksi, %6'sında ise nötralizan antikorlar gelişir. Uzun dönem tedavide ise en önemli risk PML gelişimidir. Yetişkin popülasyonunun yaklaşık yarısında JC virüs antikor pozitifdir bu da bize kişilerin geçmişte asemptomatik enfeksiyon geçirdiğini göstermektedir. Natalizumab kullanan hastalarda ilk bir yıl JC virüs enfeksiyonu gelişme riski düşüktür bu yüzden ilk 12 ay güvenle kullanılabilir. Bundan sonraki yıllarda, antikor düzeyi pozitif olanlarda alternatif bir tedaviye geçilmesi düşünülmelidir. Bazen başta antikor negatif kişilerde, beklenmedik bir şekilde antikorun pozitifleşmesi görülür. Bu nedenle 6 aylık periyotlarla antikor varlığı bakılmalıdır (34).

Fingolimod: Fingolimod, bir sfingozin-1-fosfat inhibitörüdür. Lenfositlerin dalak, lenf nodu gibi sekonder lenfoid organlardan çıkmasını engeller. Bu ilacın muhtemel mekanizması, periferdeki lenfositleri yakalayarak onların santral sinir sistemine girişini engellemektir. Fingolomid etkili bir şekilde atak hızını azaltır, klinik ve MR görüntülemeye önemli düzelme sağlar. İyi tolere edilir ve günlük olarak oral şekilde alınır. Çalışmalar, fingolimodun düşük doz haftalık IFN- β -1a'dan daha üstün olduğunu göstermiştir. Fakat diğer ajanlarla karşılaştırıldığında etkinlik üstünlüğü kesin değildir.

Fingolimod 0.5 mg'lık dozu, oral olarak günlük bir defada alınır. Kontrollerde en yaygın anormallik Karaciğer (KC) fonksiyon testlerinde yükselme ve lenfopenidir. Bu durum tedavinin kesilmesine neden olabilir. Bazen tedavinin başlangıcında 1. veya 2. derece kalp bloğu ve bradikardi meydana gelebilir. Hastaların ilk dozu almasından sonraki 6 saatlik periyotta EKG monitorizasyonu tavsiye edilir. Fingolimod tedavisine başlanacak kişilerde kesinlikle kardiyak bir hastalık olmamalıdır. Diğer bir yan etki de, nadiren görülen maküler ödem ve yaygın varisella zoster enfeksiyonudur. Tedaviye başlamadan önce oftalmik değerlendirme ve seronegatif kişilere VZV aşısı yapılmalıdır (34).

Dimethyl fumarate (DMF): Etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin etkinliğini modüle etmesinden dolayı anti-inflamatuvar etkinliğinin olduğu düşünülmektedir. DMF, Nrf2 (nükleer faktör E2 ilişkili faktör)'yi inhibe eder. Bu faktör, DNA'da lokalize bazı antioksidan faktörleri bağlar. Bundan dolayı DMF birkaç tane antioksidan proteinin transkripsiyonunu indükler. DMF atak hızını azaltır, klinik ve MR görüntülemeye önemli düzelme sağlar. Bu ilaç günde iki defa oral olarak alınır. Bu kullanım şekli hastalar için çok uygun değildir fakat tek doz DMF de etkin değildir. Karşılaştırmalı çalışmalarda DMF'nin glatiramer asetattan bazı açılardan üstün olduğu görülmüştür.

Günde iki defa DMF 240 mg oral olarak alınır. Başlangıç tedavisinde gastrointestinal sistem (GİS) yan etkileri sık görülür. Bunun dışında nötrofil ve lenfosit sayısında orta derecede düşüş, karaciğer enzimlerinde hafif yükselme yapabilir. DMF tedavisi genelde iyi tolere edilir fakat tedavide kullanılmaya başlanmasından sonra 4 tane PML vakası rapor edilmiştir. Bu hastaların hepsi

lenfopenikti ve daha öncesinde immünsüpresif tedavi almıştı ve bu yüzden PML'nin DMF ile ilişkili olduğu kesin değildir.

Teriflunomide: Teriflunomid mitokondrial enzim dihidro-ororat dehidrojenazı inhibe eder. Bu enzim karbamoil fosfat ve aspartattan de-novo pirimidin biyosentezi için anahtar rol oynar. Teriflunomid, leflunomidin aktif metabolitidir ve hızlı bölünen T ve B lenfositleri sınırlar ve anti-inflamatuar etki gösterir. Teriflunomid atak hızını azaltır, klinik ve MR görüntüleme önemli düzelme sağlar.

İyi tolere edilir ve günlük olarak oral alınması, hastalar açısından da uygunluk sağlar. Karşılaştırmalar teriflunomidin IFN- β -1a'ya üstün olmadığını, etkisinin eşit olduğunu göstermektedir. 7 mg ve 14 mg olan her iki formu da oral olarak kullanılır. Yan etkileri orta dercede saç incilmesi ve GİS semptomlarıdır, fakat genel olarak iyi tolere edilir. Diğer yeni ajanlar gibi uzun dönem etkinliği kısa dönem sonuçlarla garanti edilemez. Asıl büyük etkisi gebelik kategorisinin X olmasıdır. Teriflunomid kanda 2 yıl boyunca kalabilir, bu ilacı kullanan kadın ve erkekler ilacı vücuttan hızlı bir şekilde elimine edecek kolestiramin gibi ilaçlar alabilirler (34).

Mitoxantrone: Mitoksantron bir androstenedion türevidir. Antineoplastik etkinlik gösterir. Etki mekanizması şunları içerir (1) DNA'nın içine girer, kollarda ve kollar arasında kırıklar oluşturur (2) RNA sentezini engeller (3) topoizomeraz 2'yi inhibe eder. FDA bu ilacın MS için kullanımına onay vermiştir. Öte yandan ilacın etkinliğine dair veriler zayıftır. Bu ilaç kardiyotoksiktir ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu azaltır ve geri dönüşsüz konjestif kalp yetmezliği yapar. Sonuç olarak kümülatif dozunun $<140 \text{ mg/m}^2$ olması tavsiye edilir. Şu anda her 3 ayda bir 12 mg/m^2 olarak verilmektedir. Tedavi süresi maksimum 2-3 yıl olmalıdır. Kadınların %40'ından fazlasında amenore gelişmiştir. Mitoksantron tedavisine bağlı akut lösemi gelişme riski vardır. Risk bütün yaşam boyunca %1 civarındadır ve birkaç MS hastasında bu durum rapor edilmiştir (34).

Alemtuzumab: Alemtuzumab hem monosit hem de lenfositlerde bulunan CD52 antijenlerine karşı geliştirilmiş monoklonal antikordur. Bu ilaç T ve B lenfosit sayısını azaltır hem de lenfosit subgruplarının kompozisyonunu değiştirir. Özellikle lenfosit altgruplarında yaptığı değişiklikler uzun sürelidir. Alemtuzumab atak hızını azaltır, klinik ve MR görüntüleme önemli düzelme sağlar. Avrupa ve Kanada ilaç

şirketlerine göre bu ilacın RRMS için kullanımı uygundur. Fakat yapılan çalışmalarda, bu ilacın klinik sakatlık şiddetini azaltması açısından ikna edici sonuçları bulunamamıştır. Bu nedenle ikna edici sonuçların olmaması ve potansiyel toksik etkilerinden dolayı başlangıç tedavisi olarak kullanılması uygun değildir. Olası toksik etkileri (1) otoimmün tiroidit, Graves hastalığı, trombositopeni, hemolitik anemi, pansitopeni, antiglomerüler bazal membran hastalığı, membranöz glomerülonefrit (2) tiroid kanseri, melanoma, meme kanseri, HPV ilişkili kanserler (3) ciddi enfeksiyonlar (4) infüzyon reaksiyonudur (34).

Okrelizumab: Okrelizumab B hücreleri yüzeyine bağlanır. Vücudunuzdaki tüm B hücrelerine bağlanmaz, MS'de rol oynayabilen spesifik B hücrelerini hedefleyerek uzaklaştırır. Okrelizumabın interferon beta-1a ile kıyaslamalı etkinliğini değerlendiren iki paralel faz 3 çalışmada; okrelizumab kolunda yıllık relaps oranının 0,16 ve diğer kolda 0,29 olduğu, okrelizumabın yeni MR lezyonu olasılığını %99, dizabilite progresyonunu %40 azalttığı ve beyin atrofisi riskinde de azalma sağladığı gösterilmiştir. Akabinde PPMS grubunda gerçekleştirilen plasebo kontrollü çalışmada, 3 aylık disabilite progresyonunda %24'lük bir risk azalması sağladığı ve pek çok parametrede plaseboya üstünlük sağladığı gösterilmiştir. EDSS skoru 7 ve altında olan primer progresif MS hastalarında, EDSS skoru 7 ve altında olan ve ataklarla seyreden RRMS ve/veya SPMS hastalarında; en az bir yıl süre ile INF- β veya teriflunomid veya dimetil fumarat veya glatiramer asetat tedavisine yanıtızsız olduğunun gösterilmiş olması halinde kullanılabilir (34).

1.1.1.13.3. Semptomatik Tedaviler

- Hastalar için yaşam kalitesinin artırılması önemlidir, bu yüzden hastalar yaşam tarzı değişiklikleri yönünde eğitilmelidir. Örneğin sağlıklı diyet, optimistik bakış açısı, tolere edilebilir egzersiz (soğuk suyun soğutucu etkisinden dolayı yüzme iyi tolere edilir) hastalara tavsiye edilebilir. D vitamini ve omega-3 takviyesi hastalarda faydalı olabilir.
- Ataksi/tremor sıklıkla inatçıdır. Klonazepam, pirimidone, propranolol ya da ondansetron faydalı olabilir.

- Spastisite ve spazmlar için fizik tedavi ve düzenli egzersizler faydalı olabilir. Tetikleyicilerden kaçınmak önemlidir. Etkili ilaçlar ise baklofen, diazepam, tizanidin, dantrolen, siklobenzopirin kullanılabilir.
- Ağrı antikonvülzanlar, antidepresanlar ya da antiaritmiklerle tedavi edilebilir. Antikonvülzan olarak karbamazepin, fenitoin, gabapentin, pregabalin; antidepresan olarak amitriptilin, nortriptilin, desipramin ya da venlafaksin, antiaritmik olarak ise meksiletin kullanılabilir.
- Mesane disfonksiyonu için ise sıvı kısıtlaması, sık istekli idrara çıkma, detrüsr hiperrefleksisine yardımcı olabilir.
- Üriner yol enfeksiyonları hızlı bir şekilde tedavi edilmelidir.
- Kabızlık tedavisi, yüksek lifli diyet ve sıvı alımını içerir.
- Laksatifler yardımcı olabilir.
- Depresyon varsa tedavi edilmelidir.
- Yorgunluk halinin tedavisine amantadine, metilfenidat ya da modafinil kullanılabilir.
- Kognitif sorunlar için donepezil hidroklorid kullanılabilir.
- Paroksizmal semptomlar düşük doz antikonvülzanlara dramatik olarak cevap verir.
- Isı duyarlılığı için sıcaktan kaçınmak gerekir.
- Seksüel disfonksiyona genital kayganlaştırıcılar kullanılabilir
- Erektile disfonksiyon için sildenafil, tadalafil, vardenafil cinsel ilişkinin 1-2 saat öncesinden alınabilir (34).

1.1.1.13.4. RRMS ve SPMS için Endikasyon Dışı Tedaviler

Azatiopirin (2-3 mg/kg, hergün): Primer olarak SPMS'de kullanılır. Yayınlanmış metaanalizler atak hızını marjinal olarak azalttığını desteklemektedir. Aynı zamanda hastalığın progresyonunu da yavaşlattığı gösterilmiştir (34).

Metotreksat (7.5-20 mg/hafta): Bir çalışmada SPMS'de üst ekstremitelerdeki progresyonu yavaşlattığı gösterilmiştir. İrreversibl karaciğer hasarı yapmasından dolayı, uzmanlar tedavi sonrasında 2 yılda biopsi önermektedir (34).

Siklofosamid (700 mg/m² bir ay atlayarak): Başka bir tedaviden fayda görmemiş, 40 yaşından sonra başlamış kişilerde faydalı olabilir (34).

İntravenöz İmmunglobulin (IVIg): Aylık olarak 1 g/kg olarak verilebilir. Beklenmedik atakları azaltır. Fakat kullanımı sınırlıdır, çünkü çok pahalıdır (34).

Metilprednizolon: Aylık yüksek doz İV uygulamalar progresyonu ve sakatlığı azaltır (34).

1.1.2. MS Hastalarının Beyin Omurilik Sıvısındaki Moleküler Biyomarkerlar

Multipl Skleroz genellikle gençlerde görülen merkezi sinir sisteminin kronik hastalığıdır (35, 36). Bu hastalık MSS'de inflamasyon, demiyelinizasyon ve aksonal hasarla karakterizedir. MS bir taraftan histopatolojik değişikliklerle tanınabilirken diğer taraftan klinik olarak da tanınabilir (37). MR görüntülemesi şu anda tanı kriterlerinde kullanılmaktadır (38). Bazen bu kriterleri karşılamak, tanı koymak için hayli zor olabilir. Moleküler biyomarkerlar tanının doğrulanması, hastalığın progresyonunun ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde destekleyici olabilirler (39).

Bir biyomarker; normal biyolojik süreçlerde, patolojik süreçlerde ya da farmakolojik bir tedaviye cevaben objektif olarak yükselen bir belirteç olarak tanımlanır (40). Biyomarkerlar tanı koymak amaçlı, hastalığın evresinin belirlenmesi amacıyla, prognozun takibinde ve tedavi sonuçlarını monitörize etmek için kullanılabilirler (40). Bir diğer gereklilik ise biyomarkera kolay ulaşılmasıdır. Örnek olarak, MS için ulaşım yeri vücut sıvılarıdır. Bu sıvılar BOS, kan, idrar ve gözyaşı olabilir.

Multipl Skleroz gelişimi ve progresyonunda üç ana özellik vardır; (1) miyelin üretiminin bozulduğu moleküler doku hasarı ve çeşitli intrasellüler proteinlerin nöroflaman ve tau gibi proteinlerin ekstrasellüler sıvıya salınımı (2) BOS'ta, santral sinir sisteminde inflamatuvar lezyona bağlı olarak seviyesi yükselen mRNA ve microRNA (miRNA), intratekal antikor sentezi, yükselmiş adhezyon ve sitokin molekülleri (3) kan-beyin bariyerinin bozulduğunun göstergesi, BOS'ta albümin yükselmesi, endotel hücrelerinden, astrositlerden ve çeşitli immün hücrelerden sentezlenen adhezyon moleküllerinin seviyelerindeki değişikliklerdir (41-44).

1.1.2.1. BOS'taki Moleküler Biomarkerlar

1.1.2.1.1. Antikorlar

Multipl Skleroz immün sistemle ilgili bir hastalık olduğundan BOS'ta birçok anormal antikor üretimi tanımlanmıştır.

Bunlardan en çok bilineni oligoklonal banttır. Hastaların yaklaşık %95'inde pozitifdir (45). OKB pozitifliği tanının konfirme edilmesinde hala kullanılan önemli bir parametredir. Klinik olarak izole olan hastalarda OKB varlığı MS gelişimi için önemli bir göstergedir (39, 43, 45-47). Küçük bir grup hastada ise antikor varlığı görülmez. Spesifik immünglogülin izotipleri bize, belki daha iyi prognostik faktörler olarak yardımcı olabilir. IgG indeksi bize intratekal IgG sentezi hakkında bilgi sağlar.

$$\text{IgG indeksi} = (\text{IgG}_{\text{BOS}} / \text{IgG}_{\text{serum}}) / (\text{ALBUMİN}_{\text{BOS}} / \text{Albumin}_{\text{serum}})$$

Yüksek IgG seviyesi daha yüksek hastalık aktivitesi ile ilişkilidir. Aynı zamanda intratekal IgM seviyeside kötü prognostik faktördür (48-50). Fakat başka çalışmalarda MS progresyonu ve IgM OKB arasında korelasyon bulunamamıştır (51). Bu yüzden IgM OKB'nin prediktif değerini gösteren daha standartize çalışmalara ihtiyaç vardır.

Multipl Sklerozda daha tahmin gücü yüksek bir faktör olarak BOS'ta Ig'nin subünitesi olan serbest kappa hafif zincir bakılabilir. Kappa hafif zincir MS için daha spesifiktir, OKB'si negatif hastalar uzun yıllar stabil olarak kalırlar (52-55). Nöroflamanlara karşı oluşan antikorlar daha çok hastalığın patolojik mekanizması hakkında bilgi verir. Bazı çalışmalarda anti-NF düzeyleri ve nörodejenerasyon arasında korelasyon gösterilmiştir (56-58). Bir başka çalışmada ise klinik olarak izole MS için anti-NF düzeyinin tahmin ettirici olduğu göstermiştir (59).

Özellikle proteolipid protein 1 (PLP1), miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG) VE major basic protein'e (MBP) karşı oluşan antikorlar MS'de önemlidir. Çünkü bunlara karşı gelişmiş antikorların hayvan deneylerinde otoimmün ensefalomyelit gelişimine neden olduğu gösterilmiştir. Klinik olarak faz 1 ve faz 2 çalışmalarında MBP proteinini kodlayan DNA kullanılarak üretilen DNA aşısı BH-3009'un, anti-MBP antikorlarını azaltması beklenmektedir. Bu aşının MS hastalarında anti-PLP1, anti-MOG, anti- α B kristalin düzeylerini hem BOS'ta hem de

serumda önemli derecede düşürmesi umulmaktadır. Bununla birlikte plasebo tedavilerle BH-3009 ile tedavi edilen hastalarda klinik olarak farklılık görülmemiştir. Tedavi öncesinde en yüksek anti-MBP konsantrasyonuna sahip MS hastaları MR görüntülerinde önemli bir iyileşme gösterdiler. MBP'ye karşı oluşmuş antikorların BOS konsantrasyonları, DNA aşısına gösterilecek tedavi etkinliğinin tahmin edilmesinde kullanılabilir (60, 61). Beyin Omurilik Sıvısında oluşan diğer IgG ya da IgM'ler daha çok aksonal hasarı gösterir (62).

Bunların dışında nöromiyelitis optica hastalarının serumlarında anti-aquaporin 4 antikorları bulunmuştur. Bu antikor MS hastalarında bulunamamıştır (62). Bir başka antikor ise MS hastalarının %60'nda gösterilen anti-KIR4.1 antikorudur (63).

Multipl Skleroz hastalarının %90'ında farklı virüslere karşı tanımlanmış antikorlar mevcut olup bu antikorlar MS için OKB'den daha spesifiktir. EBV, rubella, herpes zoster ve HHV-6 karşı oluşmuş antikorlar MS hastalarında saptanır (64-66). MS hastalarında OKB pozitif olmasa bile kızamık, rubella, herpes zoster ve herpes virüslerine karşı antikorlar ölçülebilir (67).

Natalizumab ile tedavi edilen hastalarda JC virüs antikorları önemli miktarda artmıştır. Bu ilaç ile tedavi edilen hasta grubunda PML riski artmıştır (68).

1.1.2.1.2. Sitokinler/Kemokinler

Birçok çalışmada çeşitli proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin MS'de seviyelerinin değiştiği gösterilmiştir. MS hastalarında proinflamatuvar faktörlerin (TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-6, CXCL10, CXCL13) yükseldiği, anti-inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin (IL-4, IL-10, CCL2, CCL5) ise düştüğü görülmüştür (43, 69).

Multipl Skleroz hastalarında proinflamatuvar faktörlerinden CXCL13 proteininin BOS seviyesi, MS hastalarında hastalık aktivitesi ile korelasyon gösterir. Bunun yanında CXCL13 seviyesi daha yüksek olan klinik izole hastalar, daha fazla klinik MS'e evrilirler. BOS CXCL seviyeleri metilprednizolon, natalizumab ve rituksimab tedavileri ile düşürülür (69).

Deneyisel otoimmün ensefalomyelit bulguları, Th17 hücresinin MS'de merkezi bir rolü olduğunu göstermektedir. MS lezyonlarında IL-17 üreten çok sayıda

T hücresi bulunmuştur (70, 71). MS hastalarından izole edilmiş T hücreleri sağlıklı kontrol grubundaki hücrelerden uyarı sonrasında daha fazla IL-17 salgılamıştır (72). BOS'ta Th17 hücre seviyesi, RRMS hastalarının atak dönemlerinde remisyon dönemlerinden daha yüksek bulunmuştur (73).

Bu sitokin ve kemokinlerin kullanımı; MS hastalarının heterojenite göstermesi ve bu faktörlerin enfeksiyon, stres gibi faktörlerde de seviyesinin değişmesi gibi sebeplerden dolayı sınırlıdır (43).

1.1.2.1.3. Yapım ve Yıkım Molekülleri

Multipl Sklerozin ayırıcı özelliklerinden biri MSS'nin yıkımı olup bu yıkım hastaları sakat bırakır. Yıkımın ardından gelişen yapım mekanizması remiyelinizasyon ve rejenerasyondur. Bu yapım ve yıkım mekanizması diğer nörodejenaratif hastalıklarda da görülür. Nöroflamanlar hasar sonrasında BOS'a salınır. Birkaç çalışmada nöroflaman subünitleri H ve L'nin atak sonrasında artmış olduğu bulunmuştur (74, 75).

Multipl Skleroz hastalarında artmış bir diğer yapısal protein, glial fibriller asidik protein (GFAP)'dir. BOS GFAP seviyesi nöromiyelitis optika hastalarında daha yüksek olarak bulunmuştur. Bundan dolayı GFAP seviyesi MS tanısı için güvenilir değildir (76).

Remiyelinizasyonu yansıtan nöral hücre adhezyon molekülü (NCAM), beyin türevli nörotrofik faktör, sinir büyüme faktör, nörotrofin-3 gibi faktörler ise tamir mekanizmasında etkili ilaçların çeşitlendirilmesinde daha faydalı olabilir (42).

Fetuin-A ise kan dolaşımında maddelerin taşınmasına aracılık eden protein bağlayıcı grubundandır. Birkaç çalışma bu proteinin tanı, prognoz ve tedaviye cevapta kullanılabilecek bir biyomarker olduğunu göstermiştir. RRMS hastalarında kontrol grubundan daha düşük fetuin-A seviyeleri ölçülmüştür. Tersine SPMS hastalarında daha yüksek seviyeler ölçülmüştür. MS ataklarında ise fetuin-A seviyesinin arttığı bulunmuştur. Natalizumab tedavisinden sonraki 6-12. aylarda fetuin-A seviyesinde ciddi düşüşler tespit edilmiştir (77-80).

Bu 14-3-3 proteini hücre sinyali ve iletişimde görevli bir proteindir. Santral sinir sisteminde hasar göstergesidir. BOS'ta yüksek seviyeleri hızlı progresyon ile ilişkilidir (81, 82).

1.1.2.1.4. Adezyon Molekülleri

Hücre adezyonu doku şekillenmesinde ve immün hücrelerin dokulara geçişinde önemlidir. CAM_s molekülleri hücre-hücre iletişimde önemlidir. MS'de bu proteinlerin bozulmuş regülasyonu sonucunda kan-beyin bariyerinin geçirgenliği artabilir ve immün hücrelerin santral sinir sistemine geçişi kolaylaşabilir. MS hastalarının BOS'larında E-selektin ve solübl VCAM-1 seviyelerinin arttığı görülmüştür (83). Bununla birlikte RRMS hastalarının hastalık aktivitesi ile BOS solubl CAM ve solubl intersellüler CAM-1 indeksi arasında korelasyon bulunmuştur. MS ile kıyaslandığında nöromiyelitis optika hastalığında, BOS sICAM-1 ve sVCAM-1 seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (84). Ayrıca bu moleküller hastalığın progresyon takibinde de kullanılabilir.

1.1.2.1.5. mRNA ve miRNA

Gelişen teknolojik gelişmeler transkripsiyon seviyelerini ölçmeyi mümkün kılmaktadır. Şu ana dek sadece birkaç çalışma, MS hastalarında BOS'da mRNA ve miRNA seviyelerine bakmıştır. Brynedal ve ark. (85) BOS'un mRNA biyomarkerlerinin önemli bir kaynağı olduğunu vurgulamıştır. Bu çalışmada BOS'da farklı mRNA ekspresyonları belirlenmiştir fakat periferik kandaki mononükleer hücrelerde bu ekspresyonlar bulunamamıştır. Özellikle immünglobülinleri kodlayan gen segmentlerinin, MS hastalarında dramatik olarak daha yüksek olarak eksprese edildiği görülmüştür. Tersine, RRMS evrelerinde (relaps ve remisyon) BOS'ta mRNA ekspresyonunda farklılık yokken, periferik kandaki mononükleer hücrelerde farklı ekspresyonlar görülmüştür (85). Bu bilgi MS araştırmalarında BOS'un önemini göstermektedir. Farklı vücut sıvılarında biyomarkerlerin farklı seviyeleri ölçülebilir. Keşfedilen RNA moleküllerinin çoğu, kandan göç eden immün sistem hücrelerinden izole edilir. Bunlardan bazıları MS'in tanısını ve monitörizasyonunu destekleyici olabilir. Kana göre BOS'da IL-17 mRNA eksprese eden monosit tespit edilmesi MS tanısını destekleyebilir (86). Ayrıca BOS hücrelerinde IL-10 mRNA ekspresyonu non-inflamatuvar nörolojik hastalıklarla kıyaslandığında relaps dönemlerinde azalmış olarak bulunmuştur. Natalizumab tedavisinden sonra ise IL-10 mRNA ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur. Bu nedenle IL-10 mRNA, natalizumab tedavisinin etkinliğinin izlenmesinde kullanılabilir (87, 88).

Bir başka yaklaşım ise BOS'da T hücre klonlarından TCR (T cell receptor) subünit gen ekspresyonunun karakterizasyonudur. Bir MS hastasında yapılan değerlendirmede remisyon döneminde çeşitlilik artmışken atak döneminde sadece bir TCR alt ünitesi bulunmuştur. Bu oligoklonal T hücre çoğalmasını yansıtmaktadır. Bu bize TCR listesinin, MS hastalarında kana kıyasla BOS'da daha az olduğunu ve natalizumabla tedavi edilenlerde edilmeyenlere kıyasla TCR heterojenitesinin daha kısıtlı olduğunu göstermektedir (89). Natalizumab TCR çeşitliliğinde azalmayı tetikler ve hafıza T hücelerinin kaybına yol açar. Bu durum bize natalizumabla tedavi edilen hastalarda neden PML geliştiğini açıklamada yardımcı olabilir (89). TCR çeşitlerinin karakterizasyonu bize MS'in patofizyolojisinin açıklanmasında, immünmodülatör tedavilerin yan etkilerinin açıklanmasında ve ek olarak TCR temelli immünoterapilerin geliştirilmesinde yol gösterici olabilir (89-91).

Bir çalışmada, MS hastalarının BOS'unda Homo Sapiens microRNA-922 (hsa-miR-922), hsa-miR-181c, hsa-miR-633 seviyelerinde diğer nörolojik hastalıklarla kıyaslandığında önemli farklılıklar bulunmuştur. Hsa-miR-181c, hsa-miR-633 seviyeleri RRMS hastalarında SPMS hastalarına kıyasla önemli derecede upregüle olarak bulunmuştur (92). Bu miRNA'ların ikili kombinasyonları; hsa-miR-181c ve hsa-miR-633 MS'in alt tiplendirmesi için, hsa-miR-922 ve hsa-miR-633 ise MS tanısı için spesivite ve sensitiviteyi arttırmıştır.

1.1.2.1.6. DNA

Bugün BOS'ta DNA tayini ana olarak bakteriyel ve viral DNA'ların tayini için kullanılmaktadır. En iyi bilinen oportunistik MSS enfeksiyonu natalizumab sonrası gelişen PML'dir. MS hastalarında PML nörolojik değerlendirme ya da MR ile tespit edilemez, bu yüzden yüksek sensitiv PCR analizi tavsiye edilir (93).

1.1.2.1.7. Diğer Proteinler

Son çalışmalarda Bri2-23 ve chitinase 3-like 1 (CHI3L1)'in MS'de potansiyel biyomarker olduğuna yönelik sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında SPMS ve PPMS hastalarında bu proteinlerin BOS seviyelerinde düşme olduğu görülmüştür (88).

1.1.3. Remiyelinizasyon ve Bu Sürecin Başarılamaması

MS merkezi sinir sisteminin en aygın demiyelinizan hastalığıdır. MS'in patolojik göstergeleri inflamasyon, kan beyin bariyerinin bozulması, demiyelinizasyon, remiyelinizasyon, multifokal lezyonlar ve aksonal dejenerasyondur. Bazı hastalarda remiyelinizasyon hastalığın erken döneminde meydana gelir fakat hastaların çoğunda iyileşme süreci dereceli olarak başarılamaz. Bu süreç devam ederse aksonal dejenarasyon meydana gelir ve sonuçta nöron ölümü ile sonuçlanır. Klinik sakatlık gözlenen hastalarda, nöron kaybının altında kronik olarak devam eden demiyelinizasyon süreci yatmaktadır. Günümüzde tedavide kullanılan ilaçlar ya immün modülatör ya da antiinflamatuvar ilaçlardır. Bu ilaçlar primer olarak immün sistemi veya inflamasyonu ya modüle eder ya da baskırlar. Bunlar, demiyelinizasyonu azaltır ve klinik olarak kötüye gidişi yavaşlatır. Endojen remiyelinizasyonu arttıran tedavi yaklaşımları hala eksiktir.

Remiyelinizasyon olgun oligodentrosit progenitör hücreler (OPCs) tarafından yürütülmektedir. OPC'ler sinir sistemine yayılmıştır ve gri maddenin yaklaşık %3-4 hücresi, beyaz maddenin ise %7-8 hücresini kaplarlar (94). Bununla birlikte subventriküler zonda bulunan olgun nöral prekürsör hücreler, oligodentrositlerin rejenerasyonuna ve remiyelinizasyonuna önemli derecede katkı sunarlar (95). Nöronların tersine OPCs'ler önemli derecede proliferere olma ve olgun oligodentrosit oluşturma kapasitesine sahiptirler. O zaman bu rejenerasyon kapasitesine rağmen neden MS hastalarında çoğu akson demiyelinize olarak kalmaktadır (96). Endojen remiyelinizasyonun neden gerçekleştirilemediği, etkili remiyelinizasyon tedavilerinin geliştirilmesi için çok önemlidir.

Remiyelinizasyonun meydana gelmesi için OPCs çoğalmalı ve olgun oligodendrositlerin lezyon bölgesine taşınmaları gereklidir. Matür oligodendrositler aksonlara doğru ilerlemeye meyilli olup onlarla kontakt kurarlar ve aksonların etrafını konsantrik miyelin tabaka ile kuşatırlar. Teoride remiyelinizasyon süreci herhangi bir noktada bloke edilebilir. Örneğin OPCs'lerin proliferasyonun durdurulması, OPC'lerin lezyon bölgesine gitmelerinin engellenmesi, oligodentrosite olgunlaşmalarının engellenmesi ve aksone tutunma aşamalarının herhangi birinde bu süreç bloklanabilir (97).

Aşağıda remiyelinizasyon sürecinin başarılammaması ile ilgili bazı nedenler ileri sürülmüştür.

1.1.3.1. Remiyelinizasyonun Bloklanması İntraselüler Yollar

1.1.3.1.1. Notch 1 yolu

Notch 1 reseptörü oligodendrositlerden eksprese edilir ve santral sinir sisteminde OPC matürasyonunun regülatörü olarak bilinir. Notch 1, membran bağımlı ligand Jagged1 ve Delta ile etkileşime girer ve bu etkileşim Hes5'i aktive eder. Hes5 ise OPC farklılaşmasını inhibe eder, OPC olgunlaşmayı başaramaz (98).

1.1.3.1.2. LINGO 1 yolu ve Nogo reseptörü

LINGO-1 merkezi sinir sistemine spesifik tek transmembran glikoproteinidir ve nöron ile oligodendrositlerde sentezlenir, astrositlerde bulunmaz (99). Yapılan hayvan çalışmalarında LINGO-1'in OPC farklılaşmasının ve miyelinizasyonun negatif düzenleyicisi olduğu görülmüştür (103). LINGO-1'in overekspresyonu, RhoA'nın aktivasyonuna ve oligodendrosit farklılaşmasının ve miyelinizasyonun inhibisyonuna neden olur (100).

1.1.3.1.3. Wnt yolu

Wnt yoluda iyi tanımlanmış, gelişim boyunca miyelinizasyonu engelleyen bir yoldur. Bu yol, OPCs'in hücre döngüsünden çıkmasını engeller ve hücrenin farklılaşmasını durdurur (101).

1.1.3.1.4. RXR- γ yolu

Bu RXR- γ sinyalinin, remiyelinizasyonu içeren bir yol olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. RXR- γ nükleer bir reseptördür ve diğer reseptörlerle dimer yapar. Örneğin retinoik asit reseptörü, tiroid hormon reseptörü, vitamin D reseptörü ve PPARs reseptörleri ile dimer yapar (102). Farelerde yapılan mikroarray analizler, RXR- γ 'nın endojen remiyelinizasyonun pozitif bir regülatörü olduğu göstermektedir (103).

1.1.3.2. Remiyelinizasyon Modülatörü Olarak Estraselüler Matriks Komponentleri

Multipl Skleroz hastalarında hem aktif lezyonlarda hem de kronik lezyonlarda ekstraselüler matriks değişiklikleri meydana gelir. Bu komponentlerin aşırı birikimi kan beyin bariyerinin zayıflamasına ve reaktif glial hücrelerin sekresyonunun değişmesine neden olur. Lezyon çevresinde ECM moleküllerinin aşırı birikimi, oligodendrosit artışı ve aksonal remiyelinizasyonu inhibe edici etki gösterir ve böylece nöronal hasarda ve hastalığın progresyonunda artışa yol açar (104).

1.1.3.3. OPC'lere Rehberlik Eden Faktörlerin Başarısız Remiyelinizasyona Katkısı

Demyelinizasyon sahalarında OPC iyileştirmelerindeki başarısızlık, OPC migrasyonuna öncülük eden işaretlerin bozukluğundan kaynaklanabilir. Birçok OPC rehber işareti, itici ya da çekici, MS remiyelinizasyonu ve gelişimsel miyelinizasyonda OPC migrasyonunun düzenleyicisi olarak görev almaktadır (105). En önemli rehber işaretler semaforinler, netrinlerdir. Kemokinlerde başlıca astrositlerde üretilir ve glial hücrelerin migrasyonu ve matürasyonunda görev alırlar (105). Burada sadece semaforinlerden bahsedilecektir.

1.1.3.3.1. Semaforinler

Semaforinler en önemli OPC rehber molekülleridir. Semaforinlerin iki üyesi; semaforin 3A (sema3A) ve semaforin 3F (sema3F)'nin OPC migrasyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (106). OPCs'ler nörofilin1 (NF1) ve nörofilin2 (NF2) eksprese ederler, bunlar sırasıyla sema3A ve sema3F reseptörüdürler. Gelişim boyunca sema3A'nın NF1 reseptörüne bağlanması OPCs migrasyonunun tekrarlanmasını sağlarken, tersine sema3F'nin NF2'ye bağlanması bu hücrelerin çekiciliğine yol açar (107).

Yetişkinlik döneminde sema 3A ve sema3F mRNA ekspresyonu beyaz maddede görülmez. Toksinle indüklenmiş demiyelinizasyon modellerinde yapılan çalışmalar sonucunda, bunların yeniden eksprese edilebilecekleri ve demiyelinizasyon alanlarında OPC migrasyonunu regüle edebilecekleri gösterilmiştir. MS lezyonlarında her iki semaforin yeniden eksprese edilir.

Bunların ekspresyonu lezyon tipi ve inflamasyon derecesine göre farklılık gösterir. Aktif lezyonlarda (sürmekte olan remiyelinizasyon ve daha çok inflamasyon) kemoatraktant sema3F sema3A'dan daha fazla bulunur, kronik lezyonlarda (daha az inflamasyon ve daha az remiyelinizasyon) ise kemorepellent sema3A sema3F'den daha çok bulunur (108). İlginç bir şekilde bu reseptörlerin ekspresyonu plak ve periplak alanlarında bulunan hücrelerle sınırlıdır. Tersine nörofilin1/2 pozitif hücreler, normal beyaz maddede görülmez (109). Sema3A ayrıca reverzibl doz bağımlı OPC farklılaşmasının inhibisyonunu indükler. Bundan dolayı sema3A'nın fazla üretilmesi potansiyel olarak OPCs'lerin demiyelinize alana gitmesini ve orada miyelin sentezleyen oligodendrosite farklılaşmasını engeller. Demiyelinize lezyonlarda sema3A varlığı, remiyelizasyonun bozulması ile ilişkilidir (110).

Tablo 6. Sema3A'nın MSS'deki ve İmmün Sistemdeki Rollerini

	MSS	İmmün Sistem
	Glial skar bölgelerinde akson rejenarasyonunu sekteye uğratar.	Dendritik hücrelerin lenf nodlarına migrasyonunu artırır.
Sema3A	OPC migrasyonunu inhibe eder	BOS'tan derive edilen makrofajların apoptozisini indükler.
	İnflamasyon sürecinde nöronal stesten dolayı mikrogliya apoptozisini indükler	İmmün cevabı sonlandırır.

Merkezi sinir sisteminde ise sema3A'nın inhibisyonu, demiyelinize alanlara OPC migrasyonunu sağlayabilir ve remiyelinizasyon sürecini kolaylaştırabilir. Bu yüzden yeni yaklaşımlara ihtiyaç vardır.

1.1.3.4. Sirtuin 7

Son çalışmalarda SIRT7'nin onkojenik aktivite gösterdiği bulunmuştur. SIRT7'nin overekspresyonu birçok kanser türü ile ilişkilidir (111, 112). SIRT7 çekirdekçikte lokalizedir ve ribozom biyogenezi için merkezidir (113-115). Ayrıca SIRT7, rDNA transkripsiyonunu Pol 1 kompleksinin deasetilasyonu ile regüle eder (116). SIRT7'nin ribozom biyogenezindeki tam olarak tanımlanmamış rolü, tümör hücrelerinin proliferasyonuna katkı sağlayabilir. Hücrenin büyümesi ve bölünmesi arasındaki koordinasyon, ribozom biyogenezinde içeren birtakım moleküler yollarla sağlanır. SIRT7, rDNA transkripsiyonunu düzenler ve azalmış SIRT7 seviyesi tümör büyümesini inhibe eder. Bu antitümör etkisi azalmış Pol1 aktivitesi ve karışık ribozom biyogenezinden kaynaklanıyor olabilir (117).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma, T.C. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde (F.Ü. Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 26.10.2017 tarihli 14 sayılı karar no ve 06.02.2020 tarihli 2020/03-18 oturum sayılı karar ile onay alınarak), Helsinki Deklarasyonu Kurallarına uygun olarak yapıldı. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda, hasta grubu olarak revize McDonald 2017 kriterlerini karşılayan ve yeni tanı almış RRMS hastalardan 31 birey, kontrol grubu olarak Benign Kafa İçi Hipertansiyon tanısı alan 28 birey olmak üzere toplam 59 birey çalışmaya dahil edildi. Bireylerden alınan 5 ml BOS ve 2 ml kan numuneleri Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda ileri analizler ile değerlendirildi. Çalışmaya katılan her birey çalışmanın tüm detayları konusunda bilgilendirildi ve bireylerden yazılı onaylar alındı. Çalışmaya alınma ve çalışmadan dışlanma kriterleri tabloda belirtilmiştir.

Tablo 7. Çalışmaya Alınma ve Dışlanma kriterleri

Çalışmaya Alınma Kriterleri
<ul style="list-style-type: none">• Revize McDonald 2017 kriterlerine göre RRMS tanısı konulması• Öyküsünde başka nörolojik/otoimmün hastalığın olmaması• Benign Kafa İçi Hipertansiyon tanısı almış olması
Çalışmadan Dışlanma Kriterleri
<ul style="list-style-type: none">• Son 40 gün içinde RRMS atak öyküsü olması• Son 40 gün içinde herhangi bir nedenle enfeksiyon tedavisi almış olması• Son 40 gün içinde herhangi bir nedenle yüksek doz antiinflamatuvar tedavi almış olması• Benign Kafa İçi Hipertansiyon tanısı dışında, ek olarak Santral sistemi ile ilişkili olabilecek hastalığının olması

2.1.2. Materyal

Çalışma grubu bireylerinden biyokimya tüplerine 5 cc BOS alındı ve BOS örnekleri 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine bölünerek -80 °C'de çalışma tarihine kadar muhafaza edildi.

Çalışma grubu bireylerinden EDTA (Etilendiamin Tetraasetikasit)'lı tüpe 2 ml periferik kan alındı, tüp 5-10 kez alt üst ederek iyice karışması sağlandı, tüp içinden 1.2 ml kan bir ependorf tüpe saklanması için aktarıldı, EDTA'lı tüp içinde

kalan 0.8 ml kan üzerine 2 ml RNA Later eklendi, tüp alt üst edilerek iyice karışması sağlandı ve -20 °C’de muhafaza edildi.

Onaltı Multipl Sklerozlu hasta ve 14 Benign Kafa İçi Hipertansiyonu olan kontrol grubu olgularından beyin omurilik sıvıları alındı.

Onbeş Multipl Sklerozlu hasta ve 14 Benign Kafa İçi Hipertansiyon kontrol grubu olgularından kan örnekleri alındı.

2.2. Çalışmada Kullanılan Ölçekler ve Yöntemler

2.2.1. BOS Sıvısı ve Kandan RNA İzolasyonu

2.2.1.1. BOS’tan RNA izolasyonu

Beyin Omurilik Sıvısından ve total kandan RNA izolasyonu gerçekleştirmek için EXTRACTME Total RNA Kit (BLIRT, EM09.1) kullanıldı. Kit protokolüne göre total RNA izolasyon işleminin hepsi oda sıcaklığında sürdürüldü. Protokol aşağıda sıralanmıştır.

- BOS örneklerinin oda sıcaklığında buz üzerinde erimesi sağlandı.
- 10.000xg ve 5 dakika süre ile örnekler santrifüj edildi.
- Üst sıvı faz alttaki pelet dağıtılmadan tamamen uzaklaştırıldı.
- Pelet üzerine 600 µl lizis tamponu (B-merkaptotanol içerir) ve 20 µl AF reaktifi eklenerek hücrelerin parçalanması sağlandı.
- 1 dakika vorteks yapıldı.
- 12.000xg’de 2 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında oluşan üst fazın % 80’i yeni ependorf tüpe aktarıldı.
- Üzerine 600 µl etanol eklendi.
- 20 saniye vorteks yapıldı.
- 700 µl örnek toplama tüplerine eklenmiş RNA saflaştırma kolonuna aktarıldı.
- 12.000xg’de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- Kalan örnek tekrar RNA toplama tüpüne eklendi.

- 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW2 yıkama çözeltisi eklendi.
- 12.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- RNA saflaştırma kolonu içine 95 µl DNase I karışımı (90 µl 10x RNase I reaksiyon tamponu ve 10 µl DNase I) eklendi.
- 5 dakika inkübe edildi.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW1 yıkama çözeltisi eklendi.
- 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW2 yıkama çözeltisi eklendi.
- 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW2 yıkama çözeltisi eklendi. 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- 12.000xg'de 90 saniye santrifüj edildi.
- 2 dakika kurumaya bırakıldı.
- RNA saflaştırma kolonuna 50 µl nükleaz içermeyen su eklendi.
- 12.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Elde edilen RNA'ların optik dansiteleri ve konsantrasyonları 260/280 nm dalga boyunda UV-Vis Spektrofotometre/Nano Drop (Beckman Coulter, ABD) ile ölçüldü ve RNA örnekleri RNA ekspresyon analizleri yapılincaya kadar -20°C de saklandı.

2.2.1.2. Kandan RNA izolasyonu

- RNA Later içeren kan örneklerinin oda sıcaklığında erimesi sağlandı.
- 500 µl kan örneği 14.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Tüp dibindeki pelet dağıtılmadan bütün sıvı uzaklaştırıldı.
- Pelet üzerine 600 µl Lizis tamponu (B-merkaptoetanol içerir) ve 20 µl AF reaktifi eklenerek hücrelerin parçalanması sağlandı.
- 1 dakika vorteks yapıldı.
- 12.000xg'de 2 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında oluşan üst fazın % 80'i yeni ependorf tüpe aktarıldı.
- Üzerine 600 µl etanol eklendi.
- 20 saniye vorteks yapıldı.
- 700 µl örnek toplama tüplerine eklenmiş RNA saflaştırma kolonuna aktarıldı.
- 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- Kalan örnek tekrar RNA toplama tüpüne eklendi.
- 12.000xg 'de 20 saniye santrifüj edildi.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW2 yıkama çözeltisi eklendi.
- 12.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- RNA saflaştırma kolonu içine 95 µl DNase I karışımı (90 µl 10x RNase I reaksiyon tamponu ve 10 µl DNase I) eklendi.
- 5 dakika inkübe edildi.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW1 yıkama çözeltisi eklendi.
- 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW2 yıkama çözeltisi eklendi.

- 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- RNA saflaştırma kolonuna 500 µl RW2 yıkama çözeltisi eklendi. 12.000xg'de 20 saniye santrifüj edildi.
- Toplama tüpü içindeki sıvı boşaltılıp RNA saflaştırma kolonu tekrar toplama tüplerine takıldı.
- 12.000xg'de 90 saniye santrifüj edildi.
- 2 dakika kurumaya bırakıldı.
- RNA saflaştırma kolonuna 50 µl nükleaz içermeyen su eklendi.
- 12.000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Elde edilen RNA'ların optik dansiteleri ve konsantrasyonları 260/280 nm dalga boyunda UV-Vis Spektrofotometre/Nano Drop (Beckman Coulter, ABD) ile ölçüldü ve RNA örnekleri RNA ekspresyon analizleri yapılmaya kadar -20°C de saklandı.

2.2.2. Elde Edilen total RNA'ların Miktar ve Kalite Tayini

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon özelliği gösterirler. Bu nedenle 260 nm dalga boyunda ölçülen absorpsiyon değerleri oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin ng/µL veya µL/ml düzeyinde miktarlarının belirlenmesinde kullanılır. RNA'nın konsantrasyonunun saptanmasında kullanılan spektrofotometrik yöntemler DNA'nın spektral analizi ile tamamen aynıdır. Sadece tek zincirli RNA'nın miktarının belirlenmesinde kullanılan formül farklıdır (Total RNA (ng/µl) =260 nm'deki absorbans x 50 x Dilüsyon faktörü). RNA molekülleri için 1 optik dansitenin 40 µl/ml'de karşılık geldiği bilinmektedir. Bununla birlikte 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran nükleik asitlerin saflığı hakkındabilgi vermektedir. Proteinlerde bilindiği gibi 280 nm'de absorpsiyon özelliği gösterirler. Bu nedenle 280 nm'de ölçülen bir değerdeki artış A260/A280 oranında düşmeye neden olur. İzole edilen total RNA örneklerinin saflığından bahsetmek için bu oranın 2,00 olması gerekmektedir.

Çalışmamızda izole edilen RNA örneklerinin miktar ve kalitesi nanodrop cihazında ölçülerek ekspresyon analizleri için uygunluğu değerlendirildi.

2.2.3. BOS ve Kandan cDNA Sentezi

Ribo Nükleik Asitten cDNA sentezlemek için cDNA Synthesis Kit (High-capacity) (WIZ Biosolutions, W2211) kullanıldı. Kit protokolüne göre RT reaksiyonu belirtilen koşullarda hazırlandıktan sonra 25 °C’de 10 dakika, 37 °C’de 120 dakika, 85 °C’de 5 dakika ve 4 °C’de inkübe edildikten sonra cDNA’lar elde edildi. cDNA’lar -20 °C’de saklandı.

Tablo 8. RNA ekspresyonu için RT-PCR karışımının hazırlanması

RT-PCR karışımı	
10x Reaksiyon buffer	2.0 µL
Nukleaz içermeyen su	8.5 µL
RT Enzimi	1.0 µL
20x dNTP karışımı	1.0 µL
RNase inhibitör	0.5 µL
Random hexamer	2.0 µL
RNA	5.0 µL
Toplam hacim	20 µL

Tablo 9. RNA ekspresyonu için qPCR reaksiyonunun hazırlanması

1 reaksiyon	
AMPLIFYME SYBR Universal Mix	10 µl
Primer Forward	0.6 µl
Primer Reverse	0.6 µl
Dilüe cDNA	2 µl
50x High ROX boyası	0.4 µl
Nukleaz içermeyen su	6.4 µl
Toplam hacim	20 µl

Tablo 10. RNA ekspresyonu için qPCR koşulları

Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Süre
Polimeraz Aktivasyonu/ Denatürasyon	95	3 dk
Amplifikasyon (40 döngü)	95	5 sn
	60	30 sn
Erime eğrisi analizi	95	15 sn
	60	1 dk
	60 →95 (0,3 artışla)	
	95	15 sn

2.2.4. Ekspresyon Analizi

Gene Expression Assay (GENEX-250, Suarge Biyoteknoloji, TÜRKİYE) içindeki SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F genlerine özgü Forward ve Reverse Primerler, AMPLIFYME SYBR Universal Mix (AM02, BLIRT, Polonya) protokolüne göre qPCR deneyleri hazırlanarak StepOnePlus™ Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific, USA) cihazında RNA ifade düzeyleri ölçüldü. RNA ifade düzeyleri ACTB endojen kontrol ile yapılan normalizasyona göre $\Delta\Delta C_t$ yöntemi ile belirlendi.

2.2.5. Verilerin Analizi

Vakalara ait veriler, gen ekspresyon skorları, “SPSS® for Windows computing program, Version 21,0” ile gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama \pm standart deviasyon kullanıldı. Gruplardan elde edilen veriler arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için varyans analizi ile değerlendirildi. Analizler RT² Profiler Data Analysis Software-Qiagen’ın data analysis ile ve 2’Average delta CT değerleri kullanıldı. Relative Gen ekspresyonu için $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu kullanıldı. P değerinin <0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

2.2.6. Klinik Değerlendirme

Elde edilen RNA ekspresyon düzeyleri çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş ve cinsiyet parametreleri ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edildi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda hastalık grubu olarak MS tanısı almış hastalar ile MS hastalığı olmayan kontrol grubu kişiler seçilmiş olup bu kişilerin BOS ve kan örneklerinden total RNA izolasyonu yapılarak ACTB, SEMA3A, SEMA3F ve SIRT7 gen ekspresyon düzeyleri çalışıldı. Çalışmaya 31 hasta, 28 kontrol grubu olarak gönüllü 59 birey dahil edilmiştir.

Otuzbir hastanın 16'sından BOS ve geriye kalan 15 hastanın da kan örneklerinden çalışılırken, kontrol grubundan 14 bireyden BOS örneği ve geriye kalan 14 bireyden de kan örneği çalışıldı.

Toplam 31 hastanın yaşları 16-50 arasında değişirken, yaş ortalamaları 31,19 olarak hesaplandı. Erkek kadın dağılımı (E/K) 4/27 idi.

Kontrol grubu 28 hastanın yaşları 19-82 arasında değişirken, yaş ortalamaları 50,17 olarak hesaplandı. Erkek kadın dağılımı (E/K) 9/19 idi.

Hasta ve kontrol grubunun BOS örneğine göre genel özellikleri tablo 11'de verilmiştir. Kan örneğine göre genel özellikleri ise Tablo 12'de verilmiştir.

Beyin Omurilik Sıvısı ve kan örneklerinden elde edilen RNA örneklerinden SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F genleri ve endojen kontrol içinde ACTB geni kullanılarak gen ekspresyon düzeyleri RT-PCR yöntemi ile elde edildi.

Hasta ile kontrol BOS örneği karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar tablo 13'de, Hasta ile kontrol BOS örneğinin karşılaştırılması ise Şekil 3 de gösterilmiştir. BOS örneklerine ait SEMA3A, SEMA3F ve SIRT7 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; hasta grubunda SEMA3A 36 kat, SEMA3F için 17 kat ve SIRT7 için ise 5 kat artış gözlemlendi (up- regulation).

Hasta ile kontrol kan örneği karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar tablo 14 de, Hasta ile kontrol kan örneğinin karşılaştırılması ise Şekil 4 de gösterilmiştir.

Hasta kan örneklerine ait SEMA3A, SEMA3F ve SIRT7 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; kontrol grubunda SEMA3A 151 kat artış görülürken hasta grubunda 161 kat artış görülmüştür (up- regulation), kontrol grubunda SEMA3F için 212 kat artış, hasta grubunda 69 kat artış görülmüştür (down-regulation), kontrol grubunda SIRT7 için 0,59 kat artış, hasta grubunda 1,86 kat artış gözlemlendi (up-regulation).

Tablo 11. BOS Örneğine Göre Genel Özellikler

	Hasta (n:16)	Kontrol (n:14)
Yaş	31,62 (19-43)	44 (19-82)
Erkek	1 (%6)	4 (%29)
Kadın	15 (%94)	10 (%71)

Tablo 12. Kan Örneğine Göre Genel Özellikler

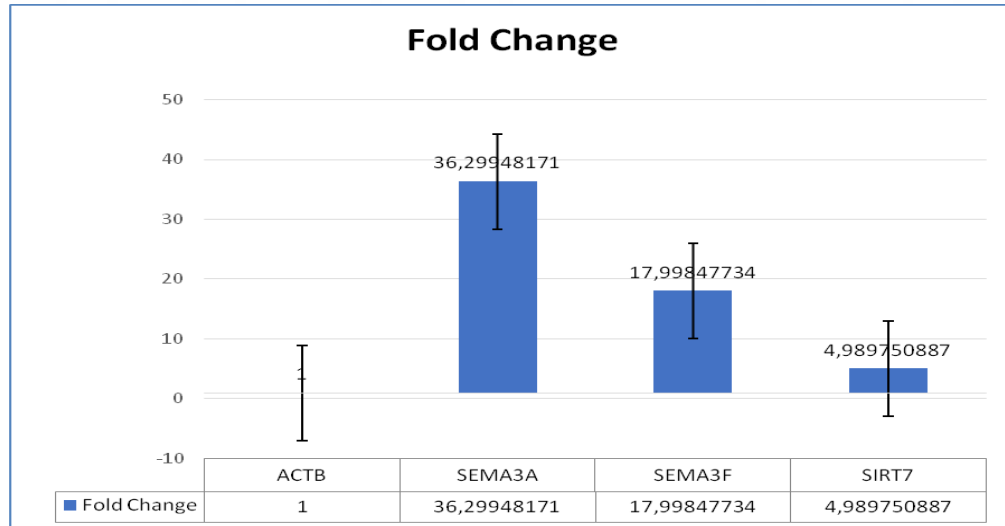
	Hasta (n:15)	Kontrol (n:14)
Yaş	30,73 (16-50)	56,35 (25-82)
Erkek	3 (%20)	5 (%36)
Kadın	12 (%80)	9 (%64)

Tablo 13. Hasta ile Kontrol BOS örneği karşılaştırıldığında

Gen	Kontrol Grubu	Hasta	
		2 ^{Δ(-Avg. (Delta(Ct))}	Fold Change
SEMA3A	0	-5,1818	36,299 ^Δ
SEMA3F	0	-4,1698	17,998 ^Δ
SIRT7	0	-2,3189	4,989 ^Δ

Δ, up-regulation

∇, down-regulation

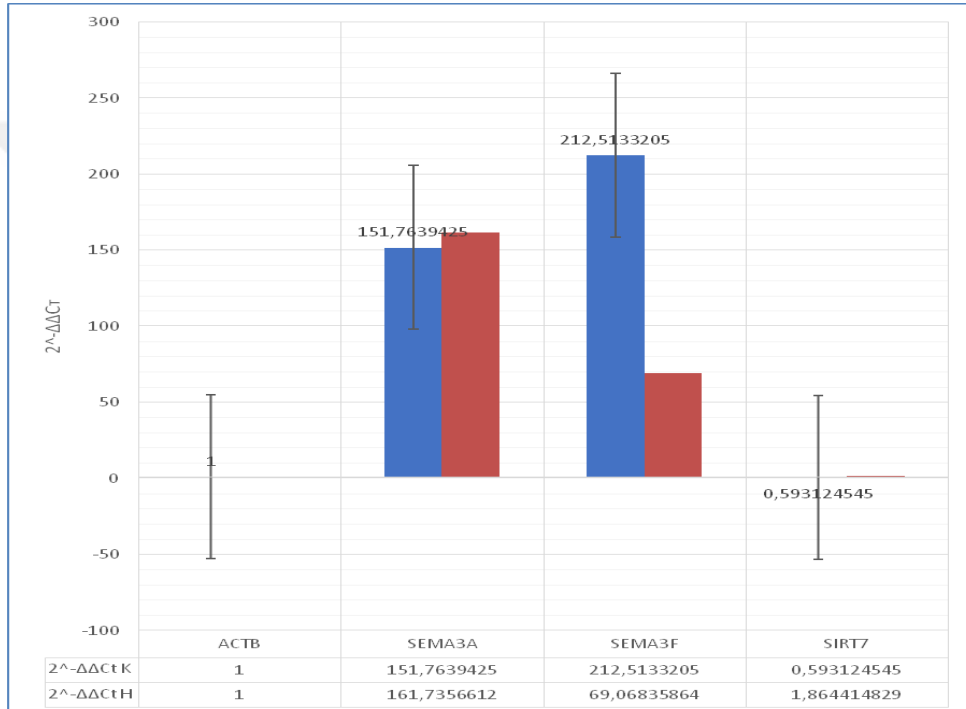
**Şekil 3.** Hasta ile Kontrol BOS örneğinin karşılaştırılması

Tablo 14. Hasta ile Kontrol kan örneği karşılaştırıldığında

Gen	Kontrol Grubu	Hasta	
	$2^{(-Avg. (Delta(Ct))}$	$2^{(-Avg. (Delta(Ct))}$	Fold Change
SEMA3A	-7,2456	-7,3374	161,735 [^]
SEMA3F	-7,7314	-6,1099	69,068 ^v
SIRT7	0,7535	-0,8987	1,864 [^]

[^], up-regulation

^v, down-regulation



Şekil 4. Hasta ile kontrol kan örneğinin karşılaştırılması

4. TARTIŞMA

Multipl Skleroz merkezi sinir sisteminin en yaygın demiyelinizan hastalığı olup patolojisinde inflamasyon, demiyelinizasyon, remiyelinizasyon, kan beyin bariyerinin bozulması, multifokal lezyonlar ve aksonal dejenerasyonlar görülmektedir. MS insidansı dünya çapında artış göstermektedir ve bu hastalıktan etkilenen yaklaşık 2,1 milyon kişi vardır (118). Lezyonlar başlıca beyin ve spinal kordun beyaz cevherini etkilemektedir.

Klinik semptomlar lezyonların bulunduğu yere göre değişiklik gösterir ve sıklıkla demiyelinizasyon ve ödem ile sonuçlanan kan-beyin bariyeri boyunca enflamatuvar hücrelerin invazyonu ile ilişkilidir (119).

Multipl Sklerozun insidansı, nedeni tam olarak bilinmemekle beraber kadınlarda erkeklere oranla 2-3 kat daha fazla görülmektedir (120). Ancak ileri sürülen hipotez kadınların genel olarak otoimmün ve inflamatuvar hastalıklara daha yatkın olmasıdır (121). Çalışmamızda da kadın oranı yüksek bulunmuştur (E/K:4/27). Hasta yaş ortalaması 31,19 (16-50) olarak bulundu.

Multipl Skleroz, hem genetik yatkınlığın hem de çevresel faktörlerin sonucu oluşmaktadır, yani multifaktoriyel bir hastalıktır.

Çalışmamızda, MS'li hastaların BOS ve kan örneklerinde SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F gen ekspresyon düzeylerini çalışarak hastalığın patogenezisine olan katkısını amaçladık.

Sirtuin gen ailesinin fonksiyonu, çoğunlukla protein asilasyonu ile ilişkilidir. Proteinin asilasyonu, translasyondan sonraki modifikasyonlardan biridir ve proteinlerin yüzey yükünü değiştirir, protein konformasyonunu veya fosforilasyona benzer protein-protein etkileşimini düzenler. Sirtuin gen etkilerinin diyabet, metabolik sendrom, kanser, inflamasyon, nörodejeneratif hastalıklar ve benzeri kronik hastalıklarda ortaya çıkarılmış olması bu gen ailesinin bu alanlarda araştırılmasına neden olmuştur (122). Şimdiye kadar sirtuinlerin memeli hücrelerinde yedi izoformu (SIRT1-7) tanımlanmıştır. SIRT1 sitoplazma ve çekirdekte; SIRT 6 ve 7 çekirdekte; SIRT 3, 4 ve 5 mitokondride lokalizedir. SIRT2 ise fizyolojik şartlarda sitoplazmada bulunurken bazı durumlarda çekirdeğe transloke olabilmektedir. SIRT'ların hücre içinde birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Oksidatif stres, hücrel immünite, otofaji indüksiyonu, apoptosis, inflamasyon ve sinir hasarının inhibisyonu

başta olmak üzere (123), fibrozisin ve metabolizmanın düzenlenmesinde, mitokondri biyogenezinde, glukoz metabolizmasında, insülin duyarlılığında, kan basıncının düzenlenmesinde ve sinir hücresi yenilenmesinde önemli rolleri bulunmaktadır (124).

Sirtuin 7, sirtuin izoformlarının en esrarengiz olanıdır. Nükleolusta lokalize olup, RNA polimeraz I yoluyla ribozomal gen ekspresyonunun düzenlenmesinde, hücre proliferasyonunda ve ribozom sentezinde rol oynadığı görülmektedir. SIRT7'nin aşırı ekspresyonu, RNA polimeraz-1 aracılı transkripsiyonu artırır. Meme ve karaciğer kanserinde aşırı eksprese edilir. Bu aşırı ekspresyonun azaltılması kanser hücrelerindeki apoptozisi uyarır ve hem epitelyal hem de mezenşimal tümörlerde metaztazi tersine çevirir (125). SIRT7 ayrıca katlanmamış proteinlerin neden olduğu endoplazmik retikulum stresi, genotoksik stres ve oksidatif stres gibi stres altındaki hücreleri de korur (126). SIRT7 özellikle kalp, beyin ve iskelet kaslarında daha az bulunurken; testis, dalak ve karaciğer gibi proliferatif dokularda daha yüksek oranda bulunmaktadır (127). Bazı kanser hastalarında, SIRT7 yüksek oranda eksprese edilir, bu da onun bir onkogen olabileceğini düşündürmektedir. SIRT7 ekspresyon düzeyleri normal hücrelerle karşılaştırıldığında over ve meme kanseri hücrelerinde daha yüksek bulunmuştur (125). Ancak MSS'deki rolü konusunda bilgiler kısıtlıdır. SIRT7 gen ekspresyonu, apoptozisin artması ile karakterize olan yaşlı insan kök hücrelerinde azalır. SIRT7 gen ekspresyonunun azalması çeşitli hastalıklar, apoptozis ve DNA hasarında artışla ilişkilidir (128).

Çalışmamızda, hasta ve kontrol grubundan aldığımız kan örneklerindeki SIRT7 gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda 1,86 kat artış gözlemlendi (up-regüle) (Tablo 14). Hasta ve kontrol grubu BOS örnekleri karşılaştırıldığında ise hasta grubunda SIRT7 gen ekspresyonunda 5 kat artış gözlemlendi (up-regüle) (Tablo 13).

Semaforinlerin, santral sinir sistemindeki nöronlarda patogenezis sırasında anormal şekilde eksprese edildiği gösterilmiştir. Örneğin, Sema3A Amiyotrofik Lateral Sklerozda (ALS) nöromusküler kavşakta ve Alzheimer hastalığında nöronlarda eksprese edildiği gösterilmiştir (129).

Sema3A ve Sema3F'nin OPC migrasyonunda rol oynadığı ve MS lezyonlarının çevresinde ekspresyonlarının artmış olduğu gözlenmiştir.

Multipl Sklerozlu hastaların santral sinir sistemi nöronlarında Sema3A'nın anormal bir şekilde eksprese olması (130), Sema3A'nın oligodendrositlerin veya aksonların rejenerasyonunda rol oynadığını düşündürmektedir.

Biz de MS hastalarında bu genlerin ekspresyon düzeylerine bakarak hastalığın patogeneze olan katkısını ortaya koymayı amaçladık.

Yaptığımız çalışmada hasta ve kontrol grubundan aldığımız BOS örneklerinde SEMA3A ve SEMA3F gen ekspresyon düzeylerini kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda; hasta grubunda SEMA3A için 36 kat, SEMA3F için ise 17 kat artış olduğunu saptadık (Tablo 13).

Hasta ve kontrol grubundan aldığımız kan örneklerinde ise SEMA3A ve SEMA3F gen ekspresyon düzeyleri, hasta grubunda SEMA3A'da 161 kat artış (up regüle), SEMA3F'de ise 69 kat artış olsa da kontrol grubuna göre down regüle olarak bulundu (Tablo 14).

Bu çalışmada dikkat çeken diğer bir konu ise gen ekspresyon artışlarının kanda daha fazla gözlenmiş olması. Daha geniş çalışmalarla bu artışın desteklenmesi önemli olacaktır.

Hastalardan girişimsel bir yöntemle alınan BOS örneğine gerek kalmadan, kan örneğinden alınacak numunelerde bu genlerin ekspresyon düzeyleri bakılarak hastalığın progresyonunun takip edilmesine olanak sağlayabilir.

Multipl Skleroz, multifaktoriyel bir hastalık olduğu için genetik yönden patogenezesinin açıklanması hastalığın progresyonu ve tedavi yaklaşımlarına katkı sağlanması açısından önemlidir. MS hastalarında SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F'nin gen ekspresyon yönünden artış göstermesi anlamlıydı. Ancak SIRT7, SEMA3A ve SEMA3F gen fonksiyonlarının MS ile ilişkisini ortaya koymak için daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5. KAYNAKLAR

1. Turanlı, ET, Avşar, T. Multipl Skleroz Klinik Alt Tiplerinde Moleküler Yolakların ve Biyobelirteçlerin Araştırılması. İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Bölümü, 2019.
2. Confavreux C, Aimard G, Devic M. Course and prognosis of multipl sclerosis assessed by the computerized data processing of 349 patients. *Brain* 1980; 103: 281-300.
3. Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Parts I and II. *Acta Neurol Scand Vols Scand* 1975; 51: 110-157.
4. Ebers GC, Sadovnick AD. *Epidemiology. Multiple Sclerosis* 1997: 5-28.
5. Bayram A, İğci M. *Fırat Tıp Derg* 2013; 18(3): 136-140.
6. Bitterman KJ, Anderson RM, Cohen HY, Latorre-Esteves M, Sinclair DA. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. *J Biolog Chem* 2002; 277: 45099-45107.
7. Preyat N, Leo O. Sirtuin deacylases: a molecular link between metabolism and immunity. *J Leuk Biol* 2013; 93(5): 669-680.
8. Glozak AM, Sengupta N, Zhang X, Seto E. Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene* 2005; 363: 15-23.
9. De Nigris F, Cerutti J, Morelli C, Califano D, Chiariotti L, Viglietto G, et al. Isolation of a SIR-like gene, SIR-T8, that is overexpressed in thyroid carcinoma cell lines and tissues. *Br J Cancer* 2002; 86: 917-923.
10. Voelter-Mahlknecht S, Letzel S, Mahlkecht U. Fluorescence in situ hybridization and chromosomal organization of the human Sirtuin 7 gene. *Int J Oncology* 2006; 28: 899-908.
11. Schiedel M, Robaa D, Rumpf T, Sippl W, Jung M. The current state of NAD⁺ dependent histone deacetylases (sirtuins) as novel therapeutic targets. *Med Res Rev* 2018; 38(1): 147-200.

12. Suvarna BS. Sirtuins: the future insight. *Kathmandu University Med J* 2012; 10(2): 77-82.
13. Ford E, Voit R, Liszt G, Magin C, Grummt I, Guarente L. Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes & Development* 2006; 20(9): 1075-1080.
14. Mohrin M, Shin J, Liu Y, Kahverengi K, Luo H, Xi Y, et al. Stem cell aging. A mitochondrial UPR-mediated metabolic checkpoint regulates hematopoietic stem cell aging. *Science* 2015; 347(6228): 1374-1377.
15. Jin Q, Yu LR, Wang L, Zhang Z, Kasper LH, Lee JE, et al. Distinct roles of GCN5/PCAF-mediated H3K9ac and CBP/p300-mediated H3K18/27ac in nuclear receptor transactivation. *EMBO J* 2011; 30(2): 249-262.
16. Barber MF, Michishita-Kioi E, Xi Y, Tasselli L, Kioi M, Moqtaderi Z, et al. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature* 2012; 487(7405): 114-118.
17. Kolodkin AL, Matthes DJ, O'Connor TP, Patel NH, Admon A, Bentley D. Fasciclin IV: sequence, expression, and function during growth cone guidance in the grasshopper embryo. *Neuron* 1992; 9: 831-845.
18. de Wit J, Verhaagen J. Role of semaphorins in the adult nervous system. *Prog Neurobiol* 2003; 71(2-3): 249-267.
19. Raper JA. Semaphorins and their receptors in vertebrates and invertebrates. *Current Opinion in Neurobiology* 2000; 10: 88-94.
20. Luzón-Toro B, Fernández RM, Torroglosa A, de Agustín JC, Méndez-Vidal C, Segura DI, et al. Mutational spectrum of semaphorin 3A and semaphorin 3D genes in Spanish Hirschsprung patients. *PLoS One* 2013; 8(1): e54800.
21. Luo Y, Raible D, Raper JA. Collapsin: a protein in brain that induces the collapse and paralysis of neuronal growth cones. *Cell* 1993; 75: 217-227.
22. Hong K, Hinck L, Nishiyama M, Poo MM, Tessier-Lavigne M, Stein E. A ligand-gated association between cytoplasmic domains of UNC5 and DCC family receptors converts netrin-induced growth cone attraction to repulsion. *Cell* 1999; 97: 927-941.

23. Jiang SX, Whitehead S, Aylsworth A, Slinn J, Zurakowski B, Chan K, et al. Neuropilin 1 directly interacts with Fer kinase to mediate semaphorin 3A-induced death of cortical neurons. *J Biol Chem* 2010; 285(13): 9908-9918.
24. Pasterkamp RJ, Giger RJ. Semaphorin function in neural plasticity and disease. *Curr Opin Neurobiol* 2009; 19: 263–274.
25. De Winter F, Holtmaat AJ, Verhaagen J. Neuropilin and class 3 semaphorins in nervous system regeneration. *Adv Exp Med Biol* 2002; 515: 115–139.
26. Chen G, Sima J, Jin M, Wang KY, Xue XJ, Zheng W, et al. Semaphorin-3A guides radial migration of cortical neurons during development. *Nat Neurosci* 2008; 11: 36–44.
27. Polleux F, Morrow T, Ghosh A. Semaphorin 3A is a chemoattractant for cortical apical dendrites. *Nature* 2000; 404: 567–573.
28. Ding S, Luo JH, Yuan XB. Semaphorin-3F attracts the growth cone of cerebellar granule cells through cGMP signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 857–863.
29. Nasarre P, Constantin B, Drabkin HA, Roche J. Semaphorins and cancers: an updating. *Med Sci (Paris)* 2005; 21(6-7): 641-647.
30. Gao X, Tang C, Shi W, Feng S, Qin W, Jiang T, Sun Y. Semaphorin-3F functions as a tumor suppressor in colorectal cancer due to regulation by DNA methylation. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(10): 12766–12774.
31. Ropper HA, Samuels SA, Klein PJ (eds). *Adams and Victor's Principles of Neurology*. 10th Edition. New York: Medicine & Health Sciences, 2018.
32. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47: 707-717.
33. Eraksoy M, Demir GA. Merkezi Sinir Sisteminin Miyelin Hastalıkları (<http://www.itfnoroloji.org/MS/MS.htm>). Erişim Tarihi 20.12.2019.
34. Dennis L. Kasper, Antony S. Harrison's *Principles of Internal Medicine*. 19th Edition. New York: Medicine & Health Sciences, 2018: 1815.

35. Oreja-Guevara C, Wiendl H, Kieseier BC, Airas L. Specific aspects of modern life for people with multiple sclerosis: considerations for the practitioner. *Ther Adv Neurol Disord* 2014; 7: 137–149.
36. Milo R, Miller A. Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 518–524.
37. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 2014; 83: 278–286.
38. Gajofatto A, Calabrese M, Benedetti MD, Monaco S. Clinical, MRI, and CSF markers of disability progression in multiple sclerosis. *Dis Markers* 2013; 35: 687–699.
39. Tumani H, Deisenhammer F, Giovannoni G, Gold R, Hartung HP, Hemmer B, et al. Revised McDonald criteria: the persisting importance of cerebrospinal fluid analysis. *Ann Neurol* 2011; 70: 520–521.
40. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89–95.
41. Giovannoni G, Nath A. After the storm: neurofilament levels as a surrogate endpoint for neuroaxonal damage. *Neurology* 2011; 76: 1200–1201.
42. Tumani H, Hartung HP, Hemmer B, Teunissen CE, Deisenhammer F, Giovannoni G, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2009; 35: 117–127.
43. Harris VK, Sadiq SA. Disease biomarkers in multiple sclerosis: potential for use in therapeutic decision making. *Mol Diagn Ther* 2009; 13: 225–244.
44. Ziemann U, Wahl M, Hattingen E, Tumani H. Development of biomarkers for multiple sclerosis as a neurodegenerative disorder. *Prog Neurobiol* 2011; 95: 670–685.
45. Link H, Huang YM. Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness. *J Neuroimmunol* 2006; 180: 17–28.

46. Zettl UK, Tumani H. The development of sayk's cell sedimentation chamber: a historical view on clinical cerebrospinal fluid diagnostics. *Multiple Sclerosis & Cerebrospinal Fluid*. 1st ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.
47. Dobson R, Ramagopalan S, Davis A, Giovannoni G. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: a meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84: 909–914.
48. Mandrioli J, Sola P, Bedin R, Gambini M, Merelli E. A multifactorial prognostic index in multiple sclerosis. Cerebrospinal fluid IgM oligoclonal bands and clinical features to predict the evolution of the disease. *J Neurol* 2008; 255: 1023–1031.
49. Villar LM, Masjuan J, González-Porqué P, Plaza J, Sádaba MC, Roldán E, et al. Intrathecal IgM synthesis predicts the onset of new relapses and a worse disease course in MS. *Neurology* 2002; 59: 555–559.
50. Villar LM, Masjuan J, González-Porqué P, Plaza J, Sádaba MC, Roldán E, et al. Intrathecal IgM synthesis is a prognostic factor in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2003; 53: 222–226.
51. Schneider R, Euler B, Rauer S. Intrathecal IgM-synthesis does not correlate with the risk of relapse in patients with a primary demyelinating event. *Eur J Neurol* 2007; 14: 907–911.
52. Arneth B, Birklein F. High sensitivity of free lambda and free kappa light chains for detection of intrathecal immunoglobulin synthesis in cerebrospinal fluid. *Acta Neurol Scand* 2009;119: 39–44.
53. Goffette S, Schlupe M, Henry H, Duprez T, Sindic CJM. Detection of oligoclonal free kappa chains in the absence of oligoclonal IgG in the CSF of patients with suspected multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 308–310.
54. Presslauer S, Milosavljevic D, Brücke T, Bayer P, Hübl W. Elevated levels of kappa free light chains in CSF support the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neurol* 2008; 255: 1508–1514.
55. Rinker JR, Trinkaus K, Cross AH. Elevated CSF free kappa light chains correlate with disability prognosis in multiple sclerosis. *Neurology* 2006; 67: 1288–1290.

56. Bartos A, Fialová L, Soukupová J, Kukul J, Malbohan I, Pit'ha J. Elevated intrathecal antibodies against the medium neurofilament subunit in multiple sclerosis. *J Neurol* 2007; 254: 20–25.
57. Eikelenboom MJ, Petzold A, Lazeron RHC, Silber E, Sharief M, Thompson EJ, et al. Multiple sclerosis: neurofilament light chain antibodies are correlated to cerebral atrophy. *Neurology* 2003; 60: 219–223.
58. Silber E, Semra YK, Gregson NA, Sharief MK. Patients with progressive multiple sclerosis have elevated antibodies to neurofilament subunit. *Neurology* 2002; 58: 1372–1381.
59. Fialová L, Bartos A, Svarcová J, Zimova D, Kotoucova J, Malbohan I. Serum and cerebrospinal fluid light neurofilaments and antibodies against them in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2013; 262: 113–120.
60. Garren H, Robinson WH, Krasulová E, Havrdová E, Nadj C, Selmaj K, et al. Phase 2 trial of a DNA vaccine encoding myelin basic protein for multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2008; 63: 611–620.
61. Bar-Or A, Vollmer T, Antel J, Arnold DL, Bodner CA, Campagnolo D, et al. Induction of antigen-specific tolerance in multiple sclerosis after immunization with DNA encoding myelin basic protein in a randomized, placebo-controlled phase ½ trial. *Arch Neurol* 2007; 64: 1407–1415.
62. Jarius S, Franciotta D, Paul F, Ruprecht K, Bergamaschi R, Rommer PS, et al. Cerebrospinal fluid antibodies to aquaporin-4 in neuromyelitis optica and related disorders: frequency, origin, and diagnostic relevance. *J Neuroinflammation* 2010; 7: 52-56.
63. Srivastava R, Aslam M, Kalluri SR, Schirmer L, Buck D, Tackenberg B, et al. Potassium channel KIR 4.1 as an immune target in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 115–123.
64. Owens GP, Gilden D, Burgoon MP, Yu X, Bennett JL. Viruses and multiple sclerosis. *Neuroscience* 2011; 17: 659–676.

65. Lindsey JW, Khan U, Ansari W, Powell T, Wang YH, Guirguis MS. The antibody response to Epstein-Barr virions is altered in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2013; 254: 146–153.
66. Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E. Intrathecal antibody (IgG) production against human herpes virus type 6 occurs in about 20% of multiple sclerosis patients and might be linked to a polyspecific B-cell response. *J Neurol* 2005; 252: 968–971.
67. Brecht I, Weissbrich B, Braun J, Toyka KV, Weishaupt A, Buttmann M. Intrathecal, polyspecific antiviral immune response in oligoclonal band negative multiple sclerosis. *PLoS One* 2012; 7: e40431.
68. Lin J, Bettin P, Lee JK, Ho JK, Sadiq SA. Cerebrospinal fluid and serum JC virus antibody detection in multiple sclerosis patients treated with natalizumab. *J Neuroimmunol* 2013; 261: 123–128.
69. Khademi M, Kockum I, Andersson ML, Iacobaeus E, Brundin L, Sellebjerg F, et al. Cerebrospinal fluid CXCL13 in multiple sclerosis: a suggestive prognostic marker for the disease course. *Mult Scler* 2011; 17: 335–343.
70. Chen SJ, Wang YL, Fan HC, Lo WT, Wang CC, Sytwu HK. Current status of the immunomodulation and immunomediated therapeutic strategies for multiple sclerosis. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 9707-9709.
71. Tzartos JS, Friese MA, Craner MJ, Palace J, Newcombe J, Esiri MM, 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: 146–155.
72. Cao Y, Goods BA, Raddassi K, Nepom GT, Kwok WW, Love JC, et al. Functional inflammatory profiles distinguish myelin-reactive T cells from patients with multiple sclerosis. *Sci Transl Med* 2015; 7: 287-274.
73. Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, Wolthausen J, Tolosa E. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132: 3329–3341.
74. Malmeström C, Haghighi S, Rosengren L, Andersen O, Lycke J. Neurofilament light protein and glial fibrillary acidic protein as biological markers in MS. *Neurology* 2003; 61: 1720–1725.

75. Teunissen CE, Iacobaeus E, Khademi M, Brundin L, Norgren N, Koel-Simmelink MJA, et al. Combination of CSF N-acetylaspartate and neurofilaments in multiple sclerosis. *Neurology* 2009; 72: 1322–1329.
76. Takano R, Misu T, Takahashi T, Sato S, Fujihara K, Itoyama Y. Astrocytic damage is far more severe than demyelination in NMO: a clinical CSF biomarker study. *Neurology* 2010; 75: 208–216.
77. Lehmensiek V, Süßmuth SD, Tauscher G, Brettschneider J, Felk S, Gillardon F, et al. Cerebrospinal fluid proteome profile in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2007; 13: 840–849.
78. Ottervald J, Franzén B, Nilsson K, Andersson LI, Khademi M, Eriksson B, et al. Multiple sclerosis: identification and clinical evaluation of novel CSF biomarkers. *J Proteomics* 2010; 73: 1117–1132.
79. Harris VK, Donelan N, Yan QJ, Clark K, Touray A, Rammal M, et al. Cerebrospinal fluid fetuin-A is a biomarker of active multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013; 19: 1462–1472.
80. Tumani H, Lehmensiek V, Rau D, Guttman I, Tauscher G, Mogel H, et al. CSF proteome analysis in clinically isolated syndrome (CIS): candidate markers for conversion to definite multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2009; 452: 214–217.
81. Martínez-Yélamos A, Rovira A, Sánchez-Valle R, Martínez-Yélamos S, Tintoré M, Blanco Y, et al. CSF 14-3-3 protein assay and MRI as prognostic markers in patients with a clinically isolated syndrome suggestive of MS. *J Neurol* 2004; 251: 1278–1279.
82. Martínez-Yélamos A, Saiz A, Sanchez-Valle R, Casado V, Ramón JM, Graus F, et al. 14-3-3 protein in the CSF as prognostic marker in early multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 57: 722–724.
83. Correale J, de los Milagros Bassani Molinas M. Temporal variations of adhesion molecules and matrix metalloproteinases in the course of MS. *J Neuroimmunol* 2003; 140: 198–209.

84. Uzawa A, Mori M, Masuda S, Kuwabara S. Markedly elevated soluble intercellular adhesion molecule 1, soluble vascular cell adhesion molecule 1 levels, and blood–brain barrier breakdown in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 2011; 68: 913–917.
85. Brynedal B, Khademi M, Wallström E, Hillert J, Olsson T, Duvefelt K. Gene expression profiling in multiple sclerosis: a disease of the central nervous system, but with relapses triggered in the periphery? *Neurobiol Dis* 2010; 37: 613–621.
86. Matusiewicz D, Kivisäkk P, He B, Kostulas N, Özenci V, Fredrikson S, et al. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999; 5: 101–104.
87. Romme CJ, Börnsen L, Hesse D, Krakauer M, Sørensen PS, Søndergaard HB, et al. Cellular sources of dysregulated cytokines in relapsing–remitting multiple sclerosis. *J Neuro Inflammation* 2012; 9: 215–219.
88. Khademi M, Börnsen L, Rafatnia F, Andersson M, Brundin L, Piehl F, et al. The effects of natalizumab on inflammatory mediators in multiple sclerosis: prospects for treatment-sensitive biomarkers. *Eur J Neurol* 2009; 16: 528–536.
89. Muraro PA, Cassiani-Ingoni R, Chung K, Packer AN, Sospedra M, Martin R. Clonotypic analysis of cerebrospinal fluid T cells during disease exacerbation and remission in a patient with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2006; 171: 177–183.
90. Warnke C, Mausberg AK, Stettner M, Dehmel T, Nekrich L, Horste GMZ, et al. Natalizumab affects the T-cell receptor repertoire in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2013; 81: 1400–1408.
91. Matsumoto Y, Yoon WK, Jee Y, Fujihara K, Misu T, Sato S, et al. Complementarity determining region 3 spectra typing analysis of the TCR repertoire in multiple sclerosis. *J Immunol* 2003; 170: 4846–4853.
92. Haghikia A, Hellwig K, Baraniskin A, Holzmann A, Décard BF, Thum T. Regulated micro RNAs in the CSF of patients with multiple sclerosis. A case–control study. *Neurology* 2012; 79: 2166–2170.
93. Kappos L, Bates D, Edan G, Eraksoy M, Garcia-Merino A, Grigoriadis N, et al. Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient selection and monitoring. *Lancet Neurol* 2011; 10: 745–758.

94. Horner PJ, Power AE, Kempermann G, Kuhn HG, Palmer TD, Winkler J, et al. Proliferation and differentiation of progenitor cells throughout the intact adult rat spinal cord. *J Neurosci* 2000; 20(6): 2218–2228.
95. Xing YL, Roth PT, Stratton JA, Chuang BH, Danne J, Ellis SL, et al. Adult neural precursor cells from the subventricular zone contribute significantly to oligodendrocyte regeneration and remyelination. *J Neurosci* 2014; 34(42): 14128–14146.
96. Moyon S, Dubessy AL, Aigrot MS, Trotter M, Huang JK, Dauphinot, et al. Demyelination causes adult CNS progenitors to revert to an immature state and express immune cues that support their migration. *J Neurosci* 2015; 35(1): 4–20.
97. Miron VE, Kuhlmann T, Antel JP. Cells of the oligodendroglial lineage, myelination, and remyelination. *Biochimica et Biophysica Acta* 2011; 2: 184–193.
98. John GR, Shankar SL, Shafit-Zagardo B, Massimi A, Lee SC, Raine CS, et al. Multiple sclerosis: re-expression of a developmental pathway that restricts oligodendrocyte maturation. *Nature Medicine* 2002; 8(10): 1115–1121.
99. Mi S, Lee X, Shao Z, Thill G, Ji B, Relton J, et al. LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. *Nature Neuroscience* 2004; 7(3): 221–228.
100. Lee X, Yang Z, Shao Z, Rosenberg SS, Levesque M, Pepinsky RB, et al. NGF regulates the expression of axonal LINGO-1 to inhibit oligodendrocyte differentiation and myelination. *J Neurosci* 2007; 27(1): 220–225.
101. Mi S, Miller RH, Lee X, Scott ML, Shulag-Morskaya S, Shao Z, et al. LINGO-1 negatively regulates myelination by oligodendrocytes. *Nature Neuroscience* 2005; 8(6): 745–751.
102. Mi S, Miller RH, Tang W, Lee X, Hu B, Wu W, et al. Promotion of central nervous system remyelination by induced differentiation of oligodendrocyte precursor cells. *Ann Neurol* 2009; 65(3): 304–315.
103. Germain P, Chambon P, Eichele G, Evans RM, Lazar MA, Leid M, et al. International union of pharmacology. LXIII. Retinoid X receptors. *Pharmacol Rev* 2006; 58(4): 760–772.

104. Huang JK, Jarjour AA, Oumesmar BN, Kerninon C, Williams A, Krezel W, et al. Retinoid X receptor gamma signaling accelerates CNS remyelination. *Nature Neuroscience* 2011; 14(1): 45–53.
105. Wheeler NA, Fuss B. Extracellular cues influencing oligodendrocyte differentiation and (re)myelination. *Exp Neurol* 2016; 283: 512-530.
106. Boyd A, Zhang H, Williams A. Insufficient OPC migration into demyelinated lesions is a cause of poor remyelination in MS and mouse models. *Acta Neuropathologica* 2013; 125(6): 841–859.
107. Spassky N, de Castro F, Le Bras B, Heydon K, Queraud-LeSaux F, Bloch-Gallego E, et al. Directional guidance of oligodendroglial migration by class 3 semaphorins and netrin-1. *J Neurosci* 2002; 22(14): 5992–6004.
108. Cohen RI, Rottkamp DM, Maric D, Barker JL, Hudson LD. A role for semaphorins and neuropilins in oligodendrocyte guidance. *J Neurochem* 2003; 85(5): 1262–1278.
109. Williams A, Piaton G, Aigrot MS, Belhadi A, Theaudin M, Petermann F, et al. Semaphorin 3A and 3F: key players in myelin repair in multiple sclerosis? *Brain* 2007; 130: 2554–2565.
110. Syed YA, Hand E, Mobius W, Zhao C, Hofer M, Nave KA, et al. Inhibition of CNS remyelination by the presence of semaphorin 3A. *Journal Neurosci* 2011; 31(10): 3719–3728.
111. Barber MF, Michishita-Kioi E, Xi Y, Tasselli L, Kioi M, Moqtaderi Z, et al. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature* 2012; 487: 114–118.
112. Kim JK, Noh JH, Jung KH, Eun JW, Bae HJ, Kim MG, et al. SIRT7 oncogenic potential in human hepatocellular carcinoma and its regulation by the tumor suppressors mir-125a-5p and mir-125b. *Hepatology* 2012; 57: 1055–1067.
113. Gotta M, Strahl-Bolsinger S, Renauld H, Laroche T, Kennedy BK, Grunstein M, et al. Localization of Sir2p: the nucleolus as a compartment for silent information regulators. *EMBO J* 1997; 16: 3243–3255.

114. Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barrett JC, Horikawa I. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Mol Biol Cell* 2005; 16: 4623–4635.
115. Mayer C, Grummt I. Ribosome biogenesis and cell growth: mTOR coordinates transcription by all three classes of nuclear RNA polymerases. *Oncogene* 2006; 25: 6384–6391.
116. Ford E, Voit R, Liszt G, Magin C, Grummt I, Guarente L. Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes Dev* 2006; 20: 1075–1080.
117. White RJ. RNA polymerases I and III, growth control and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6: 69–78.
118. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2002; 359: 1221–123.
119. Nylander A, Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2012; 122: 1180–1188.
120. Trojano M, Lucchese G, Graziano G, Taylor BV, Simpson SJ, Lepore V, et al. Geographical variations in sex ratio trends over time in multiple sclerosis. *PLoS One* 2012; 7(10): e348078.
121. Voskuhl R, Gold, S. Sex-related factors in multiple sclerosis susceptibility and progression. *Nat Rev Neurol* 2012; 8: 255–263.
122. Wang Y, He J, Liao M, Hu M, Li W, Ouyang H, et al. An overview of Sirtuins as potential therapeutic target: structure, function and modulators. *Eur J Med Chem* 2019; 161: 48-77.
123. Ajami M, Pazoki-Toroudi H, Amani H, Nabavi SF, Braidly N, Vacca RA, et al. Therapeutic role of sirtuins in neurodegenerative disease and their modulation by polyphenols. *Neurosci Biobehav Rev* 2017; 73: 39-47.
124. Ma L, Fu R, Duan Z, Lu J, Gao J, Tian L, et al. Sirt1 is essential for resveratrol enhancement of hypoxia-induced autophagy in the type 2 diabetic nephropathy rat. *Pathol Res Pract* 2016; 212(4): 310-318.

- 125.** Malik S, Villanova L, Tanaka S, Aonuma M, Roy N, Berber E, et al. SIRT7 inactivation reverses metastatic phenotypes in epithelial and mesenchymal tumors. *Sci Rep* 2015; 5: 9841.
- 126.** Gu S, Ran S, Liu B, Liang J. miR-152 induces human dental pulp stem cell senescence by 21 inhibiting SIRT7 expression. *FEBS Lett* 2016; 590: 1123-1131.
- 127.** Chen S, Seiler J, Santiago-Reichelt M, Felbel K, Grummt I, Voit R. Repression of RNA polymerase I upon stress is caused by inhibition of RNA-dependent deacetylation of PAF53 by SIRT7. *Mol Cell* 2013; 52: 303-313.
- 128.** Blank MF, Grummt I. The seven faces of SIRT7. *Transcription* 2017; 8: 67–74.
- 129.** Suzuki K, Kumanogoh A, Kikutani H. Semaphorins and their receptors in immune cell interactions. *Nat Immunol* 2008; 9: 17–23.
- 130.** Williams A, Piaton G, Aigrot MS, Belhadi A, Théaudin M, Petermann F, et al. Semaphorin 3A and 3F: key players in myelin repair in multiple sclerosis? *Brain* 2007; 130: 2554–2565.

6. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Tunceli/Hozat'ta doğdum. İlk ve Orta eğitim-öğrenimimi Tunceli'de, Lise Eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 1998 yılında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimine başladım ve 2004 yılında mezun oldum. 2004 yılından itibaren Sağlık Bakanlığı Muş İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı çeşitli birimlerde 12 yıl görev yaptım. 2016 yılında F.Ü. Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak başladım ve halen görevime devam etmekteyim. Evli, 2 çocuk babasıyım.

