

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

SUBAKUT SKLEROZAN PANENSEFALİT (SSPE)

HASTALARINDA KONAĞIN İMMÜN YANITI

(DOKTORA TEZİ)

SİBEL PENBE YENTÜR

**DANIŞMAN
PROF. DR. GÜHER SARUHAN-DİRESKENELİ**

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2006

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

05/12/2006



Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : İmmünoloji
Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
Anabilim Dalı : İmmünoloji

Tez Sahibi : Sibel Penbe Yentür
Tez Başlığı : Subakut Sklerozan Panensefalit (SSPE) Hastalarında Konağın İmmün Yanıtı
Sınav Yeri : İ.Ü.DETAE
Sınav Tarihi : 21 / 11 / 2006

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Danışman / Tez İzl.Kom.Üyesi / Üye) Üniversitesi, Fakültesi, ABD

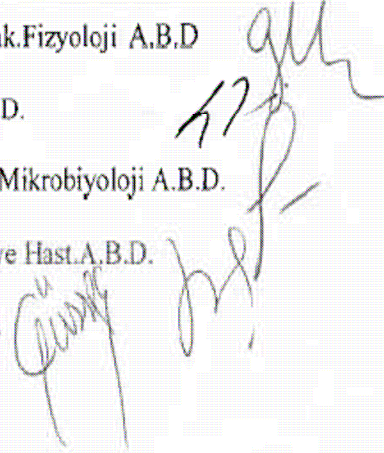
1.Prof.Dr.Güher Saruhan Direskeneli/Danışman/İ.Ü.İst.Tıp Fak.Fizyoloji A.B.D

2.Prof.Dr.Günnur Deniz/Tez İzl.Kom.Üyesi/İ.Ü.DETAE A.B.D.

3.Prof.Dr.Gülden Yılmaz /Tez İzl.Kom.Üyesi/İ.Ü.İst.Tıp Fak.Mikrobiyoloji A.B.D.

4.Prof.Dr.İşıl Barlan/Üye/Marmara Üniv.Tıp Fak.Çocuk Sağ.ve Hast.A.B.D.

5.Doç.Dr.Candan Gürses/Üye/İ.Ü.İst.Tıp Fak.Nöroloji A.B.D.



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Sibel Penbe Yentür

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımnda destek ve teşvikini gördüğüm değerli hocam Sayın Prof. Dr. Güher Saruhan-Direskeneli'ye, yardımları ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan arkadaşlarım Dr. Yıldız Tütüncü, Jülide Duymaz-Tozkır ve Vuslat Yılmaz'a, yardımlarını esirgemeyen Dr. Ümit Kuru ve Dr. Suzan Adın-Çınar'a teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca beni destekleyen, her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-291 ve T-192 no.lu proje ve Beyin Araştırmaları Derneği (BAD) 2002-Proje Destek Ödülü (Roche Ödülü) olarak desteklemiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	II
BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
SUBAKUT SKLEROZAN PANENSEFALİT (SSPE).....	2
KIZAMIK VİRÜSÜ.....	2
KIZAMIK İNFEKSİYONU.....	4
KIZAMIKTA İMMÜN YANIT.....	5
KIZAMIKTA HÜCRESEL İMMÜN YANIT.....	5
KIZAMIKTA SİTOKİN YANITI.....	6
KIZAMIK KOMPLİKASYONLARI.....	7
SSPE GELİŞİMİ.....	8
A. VİRÜSLE İLGİLİ FAKTÖRLER.....	8
MUTANT SUŞ.....	8
MUTANT PROTEİN.....	9
B. KONAKLA İLGİLİ FAKTÖRLER.....	10
KIZAMIK GEÇİRME YAŞI.....	10
AŞIYA RAĞMEN KIZAMIK GELİŞİMİ.....	10
ANTİKOR SENTEZİ BOZUKLUĞU.....	11

HÜCRESEL İMMÜN YANIT BOZUKLUĞU.....	11
GENETİK YATKINLIK.....	11
MSS'NİN LOKAL ÖZELLİĞİ.....	12
SOSYO-EKONOMİK DURUM.....	13
SSPE PATOLOJİSİ, İMMÜN YANIT ve SİTOKİN SALGISI.....	13
SSPE'DE MSS YANITI.....	15
C. KIZAMIK VİRÜS RESPTÖRÜ OLARAK CD46.....	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	19
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR.....	42
ETİK KURUL KARARI.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	50

TABLolar LİSTESİ

- Tablo 1 : SSPE hastaları ve K grubunda sitokin salgısı.
- Tablo 2 : $CD3^+CD46^{düşük}$ ve $CD3^+CD46^{yüksek}$ lenfosit oranları.
- Tablo 3 : $CD14^+CD46^{düşük}$ ve $CD14^+CD46^{yüksek}$ monosit oranları.
- Tablo 4 : Deneylerde kullanılan malzeme ve cihazların listesi.

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1 : Kızamık virüsünün yapısı.
- Şekil 2 : KV'nin CD46 bağlanma bölgesi.
- Şekil 3 : SSPE hastaları ve ÇK grubu arasında proliferasyon yanıtı karşılaştırması.
- Şekil 4 : SSPE hastaları ve ÇK grubunda proliferatif yanıtı.
- Şekil 5 : SSPE ve ÇK gruplarında anti-CD46 uyarısıyla İL-10 salgısı karşılaştırması.
- Şekil 6 : SSPE ve ÇK gruplarında anti-CD46 uyarısıyla İL-10 salgısı.
- Şekil 7 : Anti-CD46 uyarısıyla SSPE hastaları ve ÇK grubunda İL-12p70 salgısı.
- Şekil 8 : Anti-CD46 uyarısıyla SSPE hastaları ve ÇK grubunda İL-12p70 salgısı.
- Şekil 9 : Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-2 salgısı karşılaştırması.
- Şekil 10 : Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-2 salgısı.
- Şekil 11 : Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-12p40, İFN- γ ve TGF- β salgısı karşılaştırması.
- Şekil 12 : Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-12p40, İFN- γ ve TGF- β salgısı.
- Şekil 13 : SSPE hastaları ve ÇG grubunda toplam CD3+ lenfosit oranı.
- Şekil 14 : SSPE hastaları ve ÇK grubunda CD3+CD46+ lenfosit oranı.
- Şekil 15 : SSPE ve ÇG gruplarında toplam CD14+ monosit oranı.

- Şekil 16 : SSPE hastaları ve ÇK grubunda CD14+CD46+ monosit oranı.
- Şekil 17 : SSPE hastaları ve ÇK grubunda lenfositlerde toplam CD46 miktarı.
- Şekil 18 : SSPE ve ÇK gruplarında monositlerde toplam CD46 miktarı.
- Şekil 19 : Lenfositlerde CD46 ekspresyonu.
- Şekil 20 : Monositlerde CD46 ekspresyonu.

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

SSPE	:	Subakut sklerozan panensefalit
KV	:	Kızamık virüsü
BOS	:	Beyin-omurilik sıvısı
F proteini	:	Füzyon proteini
H proteini	:	Hemaglütinin proteini
M proteini	:	Matriks proteini
P proteini	:	Fosfoprotein
N proteini	:	Nükleoprotein
TLR-2	:	Toll benzeri reseptör-2
DH	:	Dendritik hücre
NK hücresi	:	Doğal öldürücü hücre
PPD	:	Purified peptide derivate
İL	:	İnterlökin
İFN	:	İnterferon
PKMH	:	Periferik kan mononükleer hücreleri
Th	:	Yardımcı tip T hücresi
ASH	:	Antijen sunucu hücre
MSS	:	Merkezi sinir sistemi
MIBE	:	Measles inclusion body encephalitis, kızamık inklüzyon cisimciği ensefaliti
HLA	:	İnsan lökosit antijenleri
MHC	:	Majör histokompabilite kompleksi
TNF- α	:	Tümör nekroz faktör- α

PHA	:	Fitohemaglütinin
MBP	:	Miyelin bazik protein
MOG	:	Miyelin oligodendrosit glikoprotein
sICAM-1	:	Çözünür adezyon molekül-1
İN hastalık	:	İnflamatuar nörolojik hastalık
NİN hastalık	:	Noninflamatuar nörolojik hastalık
SCR	:	Short consensus repeat
ÇK grubu	:	Çocuk kontrol grubu
PBS	:	Phosphate buffered saline
Sİ	:	Stimülasyon indeksi
TGF- β	:	Transforme edici faktör- β

ÖZET

Yentür, SP. Subakut Sklerozan Panensefalit (SSPE) Hastalarında Konağın İmmün Yanıtı. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul. 2006.

Anahtar Kelimeler: SSPE, İnterlökin-12, interlökin-10, CD46, kızamık virüsü.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-291 ve T-192 no.lu proje ile Beyin Araştırmaları Derneği (BAD) 2002-Proje Destek Ödülü (Roche Ödülü) olarak desteklemiştir.

Subakut sklerozan panensefalit (SSPE), etkeni kızamık virüsü (KV) olan, merkezi sinir sisteminin nadir görülen persistan bir infeksiyonudur. Persistansın sebebi bilinmemekte, bozuk bir konak immün yanıtının olası bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Yaygın olarak eksprese edilen ve komplemanı inhibe edici bir molekül olan CD46, KV için reseptör olarak tanımlanmıştır. Ayrıca CD4⁺ hücrelerin CD46 ile uyarıldıklarında, yüksek düzeyde İL-10 salgısıyla karakterize düzenleyici bir T hücre fenotipinin (Tr1) geliştiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada 20 SSPE hastası ve 18 çocuk kontrolün periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) anti-CD3/CD28, anti-CD3/CD46 ve anti-CD3/CD28/CD46 ile uyarılarak proliferatif ve sitokin yanıtları değerlendirildi. Uyarı sonrası interlökin (İL)-10, İL-2, interferon (İFN)- γ , İL-12p40, İL-12p70 and transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β düzeyleri kültür üst sıvılarında ELISA yöntemiyle, proliferatif yanıtlar ³H-Timidin inkorporasyonu, lenfosit ve monositler üzerindeki CD46 ekspresyonu ise akım sitometrisiyle ölçüldü.

PKMH'lerin proliferatif yanıtları anti-CD3/CD46 uyarısıyla SSPE'lilerde kontrollere göre daha düşük bulundu (p=0,02). Anti-CD28 olsun ya da olmasın Anti-CD3/CD46 uyarısıyla SSPE hastalarında İL-12p70 (p=0,03 ve 0,03) ve İL-10 salgısının düşük olduğu görüldü (p=0,01 ve 0,03). İL-12p40, İFN- γ ve TGF- β düzeylerinde hasta ve kontroller arasında bir fark bulunmadı. İL-2 salgısı ise anti-CD3/CD46 ve anti-CD3/CD28/CD46 uyarısıyla hastalarda yüksekti (p=0,02 ve 0,04). SSPE hastalarında CD3⁺ lenfosit oranında bir fark bulunmazken, CD14⁺ monosit oranının SSPE'lilerde azaldığı (p=0,01), lenfosit ve monositlerin CD46 taşıma oranının da hastalarda düşük olduğu gözlemlendi (p=0,15 ve 0,009).

Bulgular CD46 uyarısının SSPE hastalarında Tr1 yönünde bir fenotipi uyarmadığını gösterdi. KV'nin CD46'ya bağlanmasıyla monositlerde İL-12'nin SSPE'lilerde düşük düzeyde salgılandığı, bunun monositlerin azalması ya da lenfosit ve monositlerde CD46 ekspresyonunun düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. İL-2 salgısının SSPE'de yüksek bulunması, proinflamatuvar bir T hücre aktivasyonuna işaret etmektedir.

ABSTRACT

Yentür SP. Immune Response in Subacute Sclerosing Panencephalitis (SSPE). Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Immunology. PhD Thesis. İstanbul. 2006.

Key Words: SSPE, interleukin-12, interleukin-10, CD46, measles virus

This study was supported by The Research Support Unit of İstanbul University as the project no T-291 and T-192 and by Brain Research Society (BAD).

Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) is a rare, persistent virus infection of the central nervous system caused by measles virus (MV). Defective host immune response to MV has been proposed as a possible mechanism for the MV persistence in the CNS. On the other hand, ubiquitously expressed complement inhibitor CD46 molecule has been identified as a cellular receptor for MV. Activation of CD4⁺ cells with CD46 has been shown to induce a regulatory T cell phenotype (Tr1) with higher production of IL-10.

In this study, we analyzed the cytokine secretion and proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) stimulated with anti-CD3, anti-CD28 and/or anti-CD46 from 20 SSPE patients and 18 children as controls. Proliferation was measured by ³H-Thymidine incorporation and CD46 expression was evaluated by flow cytometric analysis. Interleukin (IL)-10, IL-2, interferon (IFN)- γ , IL-12p40, IL-12p70 and transforming growth factor (TGF)- β levels were determined in culture supernatants by ELISA.

Proliferative responses of PBMC stimulated with anti-CD3/CD46 were significantly lower in SSPE patients ($p=0,02$). PBMC stimulated with anti-CD46, with or without anti-CD28, produced significantly lower levels of IL12p70 (both $p=0,03$) and IL-10 in SSPE patients ($p=0,01$ and $0,03$, respectively). IL-12p40, IFN- γ and TGF- β levels did not differ between groups. IL-2 production was increased in patients, when cells were stimulated with anti-CD3/CD46 with or without anti-CD28 ($p=0,02$ and $0,04$, respectively). CD3⁺ lymphocytes did not differ between groups, whereas CD14⁺ monocytes were reduced in SSPE patients ($p=0,01$). CD46 expression on lymphocytes and monocytes was also down-regulated in patients ($p=0,15$ and $p=0,009$, respectively).

Our results demonstrated that activation by CD46 did not induce a regulatory Tr1 phenotype in SSPE. The lower secretion of IL-12p70 in SSPE patients may be due to the suppression of MV infected monocytes due to a CD46-MV interaction. The reduced number of monocytes or the lack of CD46 on infected monocytes may account for this finding. The increased production of IL-2 in SSPE still implicates a proinflammatory T cell activity not related to CD46.

GİRİŞ VE AMAÇ

Subakut sklerozan panensefalit (SSPE), etkeni kızamık virüsü olan çocukluk çağının fatal seyirli bir hastalıdır. Virüs merkezi sinir sisteminde persiste etmekte ve yıllar sonra aktiflenmektedir. Persistans gelişiminden hem viral, hem de konakla ilgili özellikler sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada SSPE gelişiminde etkili olabileceği düşünülen konakla ilgili faktörler değerlendirilmiştir. İmmün yanıtta rol oynayan sitokinlerin SSPE 'de olası değişikliklerini belirlemek, SSPE ve kontrol grupları arasında farkını ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu amaçla, bir düzenleyici T hücre alt grubunun uyarılması olasılığı ele alınmış ve bu uyarının CD46 molekülü aracılığı ile gelişimi araştırılmıştır. Kızamık virüsü reseptörlerinden CD46'nın sitokin salgısı ile etkili bir düzenleyici hücre grubu (Tr1) gelişimini uyardığı bildirilmiş ve bu çalışmada bu uyarının SSPE'deki rolü araştırılmıştır. CD46 molekülünün hastalardaki ekspresyonunu ve bu molekülünün İL-12 salgısını baskılayıcı özelliği de incelenmiştir.

SSPE'de gelişen immün yanıtın özelliklerini belirlemek, bu hastalığın oluşum mekanizmalarını anlamamıza, immün yanıtın sürekliliğinin ve etkinliğinin sağlanarak olası tedavi ve hastalıktan korunma yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

GENEL BİLGİLER

SUBAKUT SKLEROZAN PANENSEFALİT (SSPE)

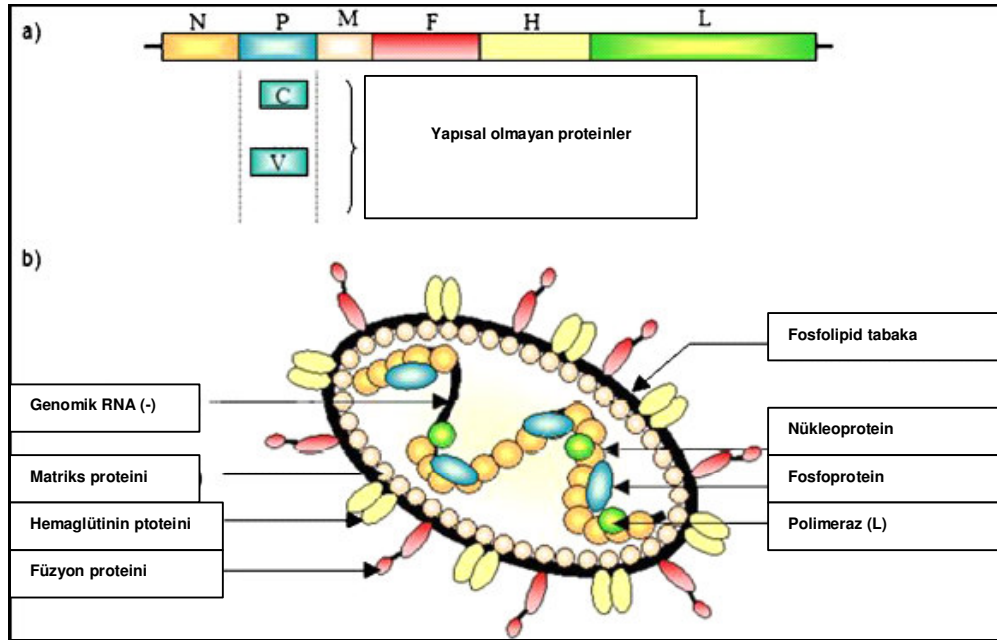
SSPE, etkeni kızamık virüsü (KV) olan progresif seyirli fatal bir nörolojik hastalıktır. KV, MSS'de nöronları infekte etmekte ve uzun süreli persistan bir enfeksiyona yol açmaktadır. Virüsün hangi mekanizma ile persiste ettiği henüz açıklanamamıştır. Dünyada SSPE prevalansının 1/10.000, 1/300.000 ve 1/1.000.000 (9) olduğunun bildiren yayınlar vardır. Bu oran İstanbul'da 2002-2004 yıllarında 2/1.000.000 (51), Türkiye genelinde 1975-1987 yıllarında 0,83/1.000.000 (65) ve 1997-1999 yıllarında 0,46/1.000.000 olarak bildirilmiştir (2). Hastalığın belirtileri akut enfeksiyondan ortalama 8 yıl sonra görülmeye başlamaktadır. Bu süre 9 aydan 30 yıla kadar değişebilmektedir (20, 54). Erkek çocuklarda kız çocuklarına göre yaklaşık 2,5/1 (20, 54) ya da 4/1 (14) oranında daha fazla görüldüğü bildirilirken, ülkemizde İstanbul için bu oran 2,3/1 olarak belirlenmiştir. Aşılınmaya rağmen SSPE gelişme riski 0,5-1,1/1.000.000 oranındadır (51).

SSPE tanısının konmasında laboratuvar testleri, EEG bulguları ve klinik bulgulardan yararlanılmaktadır. Hastaların beyin-omurilik sıvılarında (BOS) ve serumlarında yüksek oranda KV'ye özgül antikor tespit edilmektedir. Hastalığın ilk aşamasında virüse özgül IgM ve IgA, bunu takiben IgG (çoğunlukla IgG1 ve IgG4) antikorları sentezlenmektedir. IgE antikorları da sentezlenmesine rağmen bunların KV'ye özgül olduğuna dair kanıt yoktur. BOS'da KV'ye özgül antikorların gösterilmesi, tanı kriterleri arasında yer almaktadır (5). Ayrıca BOS'da ve genellikle serumda KV'ye özgül oligoklonal IgG bantlarının varlığı da gösterilmektedir (23, 54).

KIZAMIK VİRÜSÜ

KV, Paramiksovirus ailesinin Morbillivirus genusundan, yaklaşık 16 kilobaz uzunluğunda negatif sarmallı bir RNA virüsüdür. KV'nin tek doğal konağı insandır (13). KV zarflı bir virüsdür; lipid içerikli çift tabakalı bir yapıda olan zarf, konak hücrenin plazma membranından gelişmektedir (37, 54).

KV genomu yapısal olan 6 (füzyon, hemaglütinin, matriks proteinleri, fosfoprotein, nükleoprotein, large protein), aksesuar 3 protein (V, C ve R proteinleri) kodlar. Bunlardan üçü (N, P ve L) transkripsiyonel olarak aktif ribonükleoproteini (RNP) oluşturur. Füzyon (F) proteini virüsün zarfında yer alır. Virüs membranının konak hücre membranıyla füzyonunda, virüsün hücreye girişinde ve hemolizde görevlidir. F proteini, hemaglütinin (H) proteiniyle beraber füzyon kompleksini oluşturarak viral patogeneizde önemli rol oynar (13). H proteini hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak KV'nin konak hücreye girişinde görevlidir (58, 59). H proteini hücre yüzey reseptörlerine bağlandığında F-proteininde bir konformasyonel değişiklik olur ve füzyon süreci aktiflenir (54). Matriks (M) proteini, hücre mebranının iç kısmında yer alır. Bir ucuyla viral nükleokapsidle, diğer ucuyla F ve H proteinlerinin sitoplazmik bölümlü ile bağlantılıdır (37, 59). Aynı zamanda lipid tabakanın iç kısmıyla ilişkilidir. Virüs partiküllerinin plazma membranından tomurcuklanmasında önemli rol oynar (58, 54). Nükleoprotein (N) genomla sıkı ilişki içindedir (58). Bu proteinin muhtemel görevi viral genomik nükleik asidi paketlemek, korumak ve replikasyon kompleksinin oluşumuna katılmaktır (37). KV'nin yapısı Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1: Kızamık virüsünün yapısı. KV proteinlerinin yerleşimleri gösterilmektedir.

KV'nin hücreye giriş için CD46, CD150 (SLAM), Toll-benzeri reseptör-2 (TLR-2) ve Fcγ reseptör II (FcγRII, CD32) gibi molekülleri kullanabilmektedir (37). Bunlardan CD46 tüm çekirdekli hücrelerde eksprese olur, ancak CD46'ya yüksek afinite ile bağlanan ve hücreye giriş için bu molekülü kullanan KV suşları sınırlıdır. Bunlar aşı suşları ve Vero hücrelerde çoğalmak üzere uyarlanmış yabancı tip suşlardır (59, 54).

KIZAMIK İNFEKSİYONU

Kızamık dünyada çocuk ölümlerinden sorumlu en önemli hastalıklardan birisidir. Aşılınmayan insanların %90'ından fazlasını etkilemektedir. Dünyada 2002 yılında 30-40 milyon kızamık vakası bildirilmiş, bunlardan 777,000 vaka ölümle sonuçlanmıştır. Aşılama ve yetersiz beslenme gibi sorunlar nedeniyle, gelişmekte olan ülkelerde yaşayanların hastalığa yatkınlıkları daha fazladır. Kızamık sonucu ölümler, bu ülkelerde gelişmiş ülkelere oranla yaklaşık 300 kat fazla görülmektedir (13).

Kızamık en yaygın ve ölümcül 10 hastalıktan biri olarak sınıflandırılmasına rağmen, aşıyla önlenebilen en önemli hastalıklardan biri sayılır. Dünya çapında kızamık vakaları, zayıflatılmış canlı aşıların yaygın olarak kullanılmasıyla beraber dramatik olarak azalmıştır (21, 58). Fakat anneden geçen antikörlerin etkisiyle, aşılama sonrası antikor oluşmadığından bir yaşın altındaki çocuklar aşılanamamaktadır. Maternal antikörler ise çocukları yabancı tip KV infeksiyonundan koruyamamaktadır (59). Bu nedenle gelişmekte olan ülkelerde kızamık hastalığı hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.

Kızamık infeksiyonunda akut bir hastalık gelişmektedir. Kızamık hastalarının çoğu iyileşmekte ve ömür boyu süren bir bağışıklık kazanmaktadır. Bağışıklığın gelişebilmesi için hücresel ve humoral immün sistemin etkili bir şekilde çalışması gerekmektedir (21). Virüsün yok edilmesinde ve tekrarlayan bir infeksiyondan korunmada hücresel immünitinin humoral immüniteye göre daha önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Agammaglobulinemik çocukların KV infeksiyonu sonrası iyileşebilmesine ve KV'ye karşı bağışıklığın oluşmasına rağmen, T hücre anomalileri olan çocuklarda ağır komplikasyonlar gelişmektedir.

Bu bulgu KV patogenezinde hücrel immüitenin önemine işaret etmektedir (23, 47).

KV önce solunum yolunun epitel hücrelerini infekte etmekte ve burada çoğalmaktadır. Daha sonra doku makrofajları ve dendritik hücreler (DH) tarafından lokal lenfoid dokulara taşınmaktadır. Burada replike olan KV, hücrel viremi sonucu birçok lenfoid dokuya, deri, böbrek, gastrointestinal sistem ve karaciğer gibi organlara yayılmaktadır. Buralarda epitelyal ve endotelyal hücrelerde, monosit ve makrofajlarda çoğalmaktadır. Periferik kandaki infekte hücrelerin çoğu monositlerdir. Bunun yanında in vitro aktivasyondan sonra T ve B hücrelerinde ve DH'lerde de viral replikasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir. Deri döküntülerinden birkaç gün önce ve döküntü sırasında KV'ye özgü RNA ve proteinler, lenfosit ve monositlerin az bir kısmında gösterilebilmektedir (37, 59).

Kızamıkta İmmün Yanıt

Kızamık, immün sistemin baskılandığı gösterilen ilk hastalıktır. Haftalar veya aylar sürebilen bir immünosüpresyonla karakterizedir (21). İlk olarak von Pirquet tarafından 1908 yılında akut kızamık infeksiyonunda deri tüberkülin testinin baskılandığı gözlenmiştir (5, 39). Akut kızamık infeksiyonu geçiren kişilerde lenfositlerde tüberküline karşı in vitro proliferatif yanıtın azaldığı bildirilmiştir. Lenfositlerin KV ile in vitro kültüründe tüberkülin antijenine ve mitojene karşı proliferatif yanıtın baskılandığı gösterilmiş, bu baskılanmanın KV'den kaynaklandığı düşünülmüştür (5). KV ile indüklenen immünosüpresyon sonucu fırsatçı infeksiyonlar geliştiği takdirde, hastalık fatal seyredebilmektedir. Kızamıkta görülen ölümlerden genellikle bu ikincil infeksiyonlar sorumludur (58).

Kızamıkta Hücrel İmmün Yanıt

KV infeksiyonu sonrası hücrel immünitede bazı değişiklikler meydana gelmektedir. Kızamıkta immün sistemin tüm kompartmanlarında bozukluk görülmesine rağmen, klinik olarak en önemlilerinin hücrel immünitede yer aldığı ileri sürülmektedir (3). İmmünosüpresyon mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış değildir. KV, T ve B hücreleri gibi immün sistemin efektör hücrelerini etkileyerek, monosit, makrofaj, DH gibi aksesuar ve antijen sunucu

hücrelerin fonksiyonlarını değiştirerek immün yanıtın gelişimini baskılayabilmektedir (5).

KV'ye karşı gelişen doğal immün yanıtın aktivasyonu ve koruyucu rolünü açıklığa kavuşturmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Kızamıkta doğal öldürücü (NK) hücre sayısında artış bildiren çalışmalar olduğu gibi, NK hücresi ve nötrofil aktivitesinin azaldığını gösteren çalışmalar da vardır (59). Döküntünün başlaması edinsel immün yanıtın başladığına işaret etmektedir. Viral replikasyonun olduğu lokal bölgelerde mononükleer hücre infiltrasyonu görülmektedir. Çözünür T hücre yüzey moleküllerinden sCD4'ün plazmada (28), sCD8 ve β 2-mikroglobulinin, sIL-2 reseptörünün BOS ve serumda arttığı gösterilmiştir (43). Ayrıca kızamık sonrası komplikasyon olarak ensefalit gelişen hastaların BOS'larında çözünür CD8'in arttığı bildirilmiştir (26).

KV'ye özgü bir immün yanıt gelişmesine rağmen, akut kızamık süresince ve iyileşmeden haftalar sonra immün yanıtta genel bir baskılanma söz konusudur. Belirgin bir lenfopeni, gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtında azalma veya yanıtın tamamen kaybolması karakteristik bulgulardır (59). PPD (purified peptide derivate) deri testleri pozitif olan çocuklarda, kızamığın akut fazında PPD'ye yanıt anerjiktir. Pnömoni, otitis media, bronşit gibi komplikasyonları olan hastalarda bu baskılanma süresi uzamakta ve döküntülerden sonra da devam etmektedir (62). Kızamıktaki immün baskılanmanın akut enfeksiyondan 6 ay sonrasına kadar devam edebildiği bildirilmiştir (37). KV'nin indüklediği immünosüpresyonun en tipik bulgularından birisi, enfeksiyon süresince in vitro mitojen yanıtı ve antijene özgül immün yanıtta haftalar boyunca gözlenen azalmadır (21, 59). Periferik kan lenfositlerinin KV'ye in vitro proliferatif yanıtı baskılanmıştır (21). KV enfeksiyonunda görülen immünosüpresyon, zayıflatılmış canlı KV ile aşılanan çocuklarda da daha az şiddette görülebilmektedir (39).

Hücre sel immünitedeki bu genel baskılanmaya rağmen kızamık hastalarında KV'ye özgül antikor yanıtı gelişmekte, virüse özgül IgM, IgA, IgE ve IgG (IgG1 ve IgG4) antikorları sentezlenmektedir (24).

Kızamıkta Sitokin Yanıtı

KV enfeksiyonunda sitokin salgısı incelendiğinde, enfeksiyonun erken fazında tipik Th1 sitokinlerin salgılandığı görülmüştür. Sitokinlerden interlökin

(İL)-2, İL-4 ve interferon (İFN)- γ plazmada artmaktadır. Periferik kan mononükleer hücrelerinden (PKMH) spontan olarak İL-6 salgılandığı bildirilmiştir (28). Hastalığın başlangıcında görülen yardımcı tip 1 T hücre (Th1) yanıtı ilerleyen aşamalarda Th2 yanıtına dönüşmektedir. Döküntülerin görüldüğü hastalık fazında, plazmada Th1 efektör sitokini olan İFN- γ artmış bulunurken (27), ilerleyen dönemlerde Th2 belirteci olan İL-4 seviyelerinde artış, İL-2 ve İFN- γ salgısında azalma görülmektedir (21, 28). Özellikle döküntüler sırasında İFN- γ salgısının en yüksek düzeye ulaştığı bildirilmiştir (27). Kızamığın geç aşamalarında Th2 yanıtının aktiflenmesi, humoral immün yanıt aktivasyonunu ve hücrel immün yanıt baskılanmasını işaret etmektedir (28).

T ve NK hücrelerinden İFN- γ salgılatarak Th1 yönlenmesini sağlayan İL-12 salgısının KV etkisiyle azalması, KV'nin T hücrelerini Th2 yönünde çevirdiği hipotezini desteklemektedir. KV'nin monositleri infekte ederek bu hücrelerden İL-12 salgılanmasını azaltması immünoşüpresyonun sebeplerinden biri olarak ileri sürülmektedir (35). Antijen sunucu hücrelerden (ASH) DH ve Langerhans hücrelerinin KV'nin hem aşı suşuyla, hem de yabancı tip suşuyla infekte edilebildiği gösterilmiştir. İnfekte DH'ler, CD4⁺ T hücrelerinin proliferasyonunu uyaramamaktadır. KV ile infekte DH, infekte olmamış çok sayıda DH'de fonksiyon kaybına sebep olabilmekte, DH'nin antijen sunucu özelliği kaybolmaktadır (29). Başka bir çalışmada ise KV ile infekte DH ve T hücresinin etkileşmesi sonucu, KV'nin DH'de replikasyonunun arttığı ve DH'den İL-12 sentezinin azaldığı, T hücresinin ise proliferasyonuna engel olmadığı bildirilmiştir (15).

İL-12 salgısının baskılandığını bildiren bu bulguların aksine Schnorr ve arkadaşlarının çalışmasında ise KV'nin aşı suşu ve yabancı tip suşuyla infekte DH'lerde İL-12 salgısının arttığı bildirilmektedir (60).

Kızamık Komplikasyonları

Akut kızamığın komplikasyonları infeksiyondan hemen sonra erken dönemde gelişebilmektedir. Genellikle solunum ve barsak yolları etkilenmekte, en sık olarak otitis media, pnömoni, diyare ve ensefalit gelişmektedir. Erken gelişen merkezi sinir sistemi (MSS) komplikasyonlarından akut kızamık ensefalitinin, virüsle indüklenen otoimmün bir hastalık olduğu düşünülmektedir.

Geç gelişen komplikasyonlar arasında ise SSPE ve MIBE (measles inclusion body encephalitis, kızamık inklüzyon cisimciği ensefaliti) sayılabilmektedir. Her iki hastalık KV'nin akut infeksiyondan sonra MSS hücrelerinde persiste etmesi sonucu gelişmektedir. Hem SSPE, hem MIBE fatal seyirli hastalıklardır (59). MIBE subakut kızamık ensefalitidir. MIBE hastaları genellikle kemoterapi nedeniyle immün sistemleri baskılanmış lösemi veya lenfomalı çocuklardır. MIBE kızamıktan sonra 6 ay içinde hastalık belirtileri başlamaktadır. Oysa SSPE'de bu süre yılları bulmaktadır. MIBE'de kızamık öyküleri olmayan erişkin vakalar da bildirilmiştir (23).

SSPE GELİŞİMİ

SSPE'de KV'nin hastalık semptomları başlamadan önce MSS'de yerleştiği ve burada persiste ettiği kabul edilmektedir. Fakat MSS'ye giriş ve persistans mekanizması henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Çalışmalar çoğunlukla otopsi materyalinde yapıldığından, ancak hastalığın ileri aşamalarındaki durumu göstermekte, belirtilerin başlamasından önceki aşama hakkında bilgi vermemektedir. SSPE gelişiminde hem viral faktörlerin, hem de konakla ilgili faktörlerin rol oynadığına dair bulgular vardır.

A. Virüsle İlgili Faktörler

a) Mutant Suş

SSPE'nin nadir görülen bir hastalık olması, hastalık gelişiminden mutasyon ya da mutasyonların da sorumlu olabileceğini akla getirmektedir (23). SSPE'lilerin beyin materyalinden elde edilen virüsler incelendiğinde, bunların yabancı tip virüs suşu olduğunu bildiren çalışmalar yanında (9, 20), bunun aksini iddia eden çalışmalar da vardır (9). Deneysel olarak zarfla ilişkili genler (M, F, H) açısından mutant olan KV suşlarında, füzyonun etkilenmediği, fakat virüsün hücreyi infekte etme özelliğinin azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgu zarf proteinlerinin önemine işaret etmektedir (8). SSPE'lilerin beyin materyalinden izole edilen KV'de genellikle M proteininde bir bozukluk görülmektedir. M proteininde mutasyonun dayanıklı bir protein oluşumunu engellediği, mutant proteinin proteolitik parçalanmaya daha duyarlı hale geldiği ve kolayca degrade olduğu ileri sürülmektedir (9, 54). Cathomen ve arkadaşlarının bir çalışmasında M

proteinini daha düşük düzeyde eksprese eden virüs suşları elde edilmiştir. Bu suşun hücreleri infekte etme özelliği azaldığından akut patojenitesini kaybettiği, fakat hücre füzyonu oluşturma yeteneği daha etkili olduğundan yabancı tip KV'ye göre beyin parenkimine yerleşme özelliğinin daha fazla olduğu ileri sürülmektedir (7). Hirano ve arkadaşlarının çalışmasında SSPE Biken suşu ve bu suşun öncülü olan Nagahata suşunun M proteininin hücrede farklı yerleşim gösterdikleri bildirilmiştir. Bu bulgu, SSPE suşu M proteininin farklı olduğuna dair kanıt olarak gösterilmektedir (18). SSPE hastalarından elde edilen KV'de M geninde mutasyon oranı yüksek gösterilirken, H ve N genlerinde mutasyon oranı M genine göre daha düşük bulunmuştur. Bu suşların, aşı suşları olmadıkları da bildirilmiştir (32). SSPE suşlarının yabancı KV suşlarının mutantları olduğu olasılığı gözardı edilmemesine rağmen, SSPE'ye sebep olan özgül bir KV suşunun varlığı kanıtlanamıştır. Kai ve arkadaşları Japonya'da 1984-1993 yıllarında izole edilen KV suşlarının M geninde bulunan 7 mutasyonun, KV'nin labotaruvar suşlarındaki mutasyonlardan farklı olduğunu, fakat SSPE'deki bazı mutasyonlarla aynı olabildiğini göstermişlerdir (34). Bu bulgu mutasyonların SSPE ye özgü olmadığına işaret edebilir.

Nitekim SSPE gelişiminde mutant bir virüsün rol almadığını bildiren çalışmalar da vardır. SSPE'ye doğrudan sebep olan mutant bir virüs suşu gösterilmemiş, kişiden kişiye SSPE bulaştığı da bildirilmemiştir (9). Bu bulgular SSPE'de rastlanan KV mutasyonlarının, virüs MSS'ye yerleştikten sonra geliştiğini düşündürmektedir. SSPE'de virüsün farklı özelliklerine yönelik araştırmaların ortak noktası, SSPE'nin akut infeksiyondan sonra KV persistansı sonucu geliştiği yönündedir.

b) Mutant Protein

Hastalık gelişiminden sorumlu tutulan diğer bir mekanizma MSS'de M proteini sentezi ile ilgilidir. Bu yaklaşımla immün sistem tarafından tanınana kadar geçen süre içinde KV nin M proteini hızla degrade olmakta ya da M proteinine özgü immünolojik bir bozukluk nedeniyle bu proteinin immün sistem tarafından tanınamamaktadır (6, 54). SSPE hastalarında MSS'de M proteininin sentezlenmediği de ileri sürülmüştür. M proteininin olmaması nedeniyle virüs partiküllerinin hücreleri infekte etme özelliği kaybolmaktadır. Virüs hücrede

çoğalmakta, fakat M proteini bulunmadığından tomurcuklanma olmamakta ve virion oluşumunda bozukluk görülmektedir (9, 54). M proteini sentezindeki bozukluğun MSS'de bazı hücrelerin genel bir özelliği olduğu da ileri sürülmektedir (9, 38).

SSPE'de virüsün nöronları infekte etmesinden belirtilerin başlangıcına kadar geçen süre, hastadan hastaya büyük farklılıklar göstermektedir. Virüsün beyinde infekte ettiği hücre tipi ve sayısına bağlı olarak da hastalığın gelişebileceği ileri sürülmektedir. KV'nin immün sistem hücrelerini infekte ederek immün yanıtı değiştirmesi ya da baskılaması da olası persistans sebeplerindedir (9, 38).

B. Konakla İlgili Faktörler

Her ne kadar virüsle ilgili bulgular varsa da, konağın bazı özelliklerinin de SSPE gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir.

a) Kızamık Geçirme Yaşı

Kızamık infeksiyonunun 2 yaşından küçük çocuklarda geçirilmesi SSPE gelişimi için risk faktörüdür (51, 23). İmmün sistem henüz tam olarak gelişmediğinden, bu çocuklarda virüsü yok edecek düzeyde antikor yanıtı ve hücresel immün yanıtın oluşmadığı ileri sürülmektedir (14). Ayrıca KV henüz olgunlaşmamış immün sistem tarafından yok edilemediğinden, bu çocuklarda KV'de mutasyon gelişme olasılığının daha fazla olduğu ileri sürülmüştür. Perinatal olarak KV ile infekte olan bir yenidoğanda, annede hiçbir hastalık belirtisinin görülmemesine rağmen, 11. ayda SSPE geliştiği bildirilmiştir. Olgun bir immün sistemi olan annede hastalığın gelişmemesi, aynı virüs suşuyla infekte olmasına rağmen immatür bir immün sistemi olan bebekte hastalık görülmesi, SSPE gelişiminde virüs ile konağın immün sistemi arasındaki dengenin önemine işaret etmektedir (69).

b) Aşıya Rağmen Kızamık Gelişimi

Çocukluklarında aşılanmış olan erişkinlerde de kızamık görüldüğü bildirilmiştir. Bu nedenle ilk aşılama da immünizasyon gelişmeyen veya yeterli düzeyde antikor titresi oluşmayan çocuklarda ikinci bir doz aşının yapılmasının gerekli olduğu anlaşılmıştır (40). Normalde iki doz aşı sonrası bağışıklık gelişme

oranı %99'dur (51). Aşılamanın başarısız olması anneden çocuğa geçen pasif antikorların varlığına, aşılardan saklanması, taşınması ve uygulanması esnasında soğuk zincirin kırılmasına ve henüz bilinmeyen diğer bazı sebeplere bağlanmaktadır (40).

c) Antikor Sentezi Bozukluğu

İmmün sistemde bir bozukluk ya da yetersizlik gösterilmediği halde bazı çocuklarda KV'nin her antijenine karşı antikor sentezi olmamaktadır (14). SSPE hastalarında H ve F proteinlerine karşı yüksek titrede antikor varlığı gösterilmesine rağmen, M proteinine karşı antikor yanıtının oluşmadığını bildiren çalışmalar vardır. Bu proteine karşı antikor yanıtı gelişmediğinde virüs yok edilemediği ve MSS'de persiste ettiği düşünülmektedir (9, 54). Ancak Dhib-Jalbut ve arkadaşlarının bir çalışmasında M proteinine karşı antikor yanıtı SSPE hastalarında kontrollere göre BOS ve serumda yüksek bulunmuştur. Hastalarda BOS ve serumda N proteinine karşı da antikor bulunmasına rağmen, bunların düzeyi M proteinine karşı gelişen antikorlardan daha düşüktür (11).

d) Hücresel İmmün Yanıt Bozukluğu

Bu konuda yapılan tek çalışmada toplam 4 hasta değerlendirilmiş ve KV'nin M, F, H ve N proteinlerine karşı gelişen lenfoproliferatif yanıtın SSPE hastalarında kontrollerden farklı olmadığı ileri sürülmüştür (11). Ancak bu çalışmada sitokin ölçümleri yapılmamıştır. İmmün sistem hücrelerinin enfeksiyonuyla immün yanıtın değişmesi veya baskılanması nedeniyle virüsün persiste etme olasılığı ve MSS'de infekte olan hücre tipi ya da sayısına bağlı olarak SSPE gelişme riski, virüsle ilgili faktörler olabileceği gibi konakla ilgili özellikler de olabilir (9, 38).

e) Genetik Yatkınlık

Kızamık geçirenlerin SSPE'ye yatkınlığı genetik farklılıklara dayanabilir. Japonya'da SSPE hastalarında yapılan bir çalışmada İL-4 geninin promotor bölgesinde gösterilen ve İL-4 sentezinde artışa neden olan bir polimorfizmin (-589T) SSPE için genetik bir yatkınlığa sebep olduğu ileri sürülmektedir. İL-4 yüksekliği nedeniyle Th2 yanıtının uzun süreli baskın kaldığı, bu nedenle virüsün yok edilemediği ve MSS'de persiste ettiği bu çalışmada ileri sürülmektedir (31).

HLA genlerinin KV ile ilişkisini gösteren çalışmalar da vardır. HLA sınıf I ve sınıf II genleri, kızamık aşısı sonrasında antikor yanıtının gelişmesiyle ilişkili bulunmuştur. Aşılamaya yanıt vermeyen kişilerin HLA-DRB1*13 alelini daha az sıklıkta taşıdıkları gösterilmiştir. Farklı HLA alellerinin varlığı ya da yokluğuna göre kişilerin kızamık aşısına farklı yanıt verdikleri ya da antikor yanıtının gelişmediği bildirilmiştir (53). Buna benzer olarak SSPE'lilerde HLA alelleriyle ilişki olduğunu ileri süren çalışmalar vardır. SSPE'de C4A (55), HLA-A2 ve HLA-A29 (33) ile ilişki gösterilmiştir. Bu bulguların aksine HLA-A, B ve C, HLA-DR ve HLA-DQ antijenlerinin SSPE ile ilişkili bulunmayan çalışmalar da vardır (10, 17).

İFN- α/β (tip I İFN) tarafından indüklenen anti-viral etkili MxA proteini de SSPE açısından incelenen bir moleküldür. Bu protein aralarında KV'nin de olduğu tek sarmalli RNA virüslerinin replikasyonunu inhibe eder. MxA proteininin promoter bölgesinde tespit edilen bir tek nükleotid polimorfizminin (-88 G / T) Japonya'da SSPE'ye yatkınlık sağladığı bildirilmiştir (64). Başka bir çalışmada SSPE beyin materyalinde MxA proteini ekspresyonu incelenmiş ve normal beyin materyaliyle karşılaştırılmıştır. KV antijeni pozitif lezyonların çevresinde MxA ekspresyonunun yüksek olduğu ve MxA'nın esas olarak astrositlerin sitoplazmasında gösterildiği bildirilmiştir. KV antijeninin oldukça fazla düzeyde bulunduğu lezyon merkezinde ise MxA ekspresyonu ya düşük düzeydedir, ya da hiç yoktur. Lezyonlardan uzak olan bölgelerde ve normal beyin materyalinde MxA bulunmamıştır. Bu bulgu, KV infeksiyonunun başlangıcında hücrelerin tip I İFN salgıladıklarını, bu şekilde etraflarında MxA salgılayan hücrelerden koruyucu bir bariyer oluşturduklarını düşündürmektedir. Böylece MxA proteini bir yandan KV'nin diğer hücreleri infekte etmesini yavaşlatırken, diğer yandan KV persistansına katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (49).

f) MSS'nin Lokal Özelliği

SSPE'ye özel olmamakla birlikte MSS'nin lokal özelliği de hastalık gelişimi açısından bir risk faktörüdür. KV'nin MSS'ye hangi mekanizma ile girdiği sorusuna ise henüz bir yanıt bulunamamıştır. SSPE'de MSS'de KV-RNA'sının varlığı gösterilmesine rağmen, hastalık belirtilerinin başlamasından önce virüsün MSS'nin hangi hücrelerinde persiste ettiği tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Diğer dokularla karşılaştırıldığında MSS ve nöronal doku immün aktivasyonun

sınırlı olduğu bir bölgedir. KV buraya yerleştikten sonra canlılığını sürdürebilmekte, persistans için yalnızca düşük düzeyde bir gen ekspresyonuna ve replikasyona ihtiyaç duymaktadır. Bu şekilde MSS'de immün sistemden saklanabilmesi diğer organlardan daha kolay olabilir (20, 54).

g) Sosyo-Ekonomik Durum

Hastalık gelişimi için düşük sosyo-ekonomik durum, büyük ailelerde ve kırsal bölgelerde yaşama diğer risk faktörlerindedir (51, 23). SSPE kırsal bölgelerde daha fazla görüldüğünden, hastalıktan ikincil bir infeksiyöz ajanın sorumlu olabileceği de düşünülmüştür (23). İmmün sistemin gelişiminin etkilenmesi, yetersiz hijyen ve beslenme şartları nedeniyle kızamık geçirme riskinin fazla olması, bazı çocukların hiç aşı olmamasının SSPE'ye yatkınlık sağlayabilme olasılığı vardır.

SSPE Patolojisi, İmmün Yanıt ve Sitokin Salgısı

SSPE yaygın beyin lezyonları ve inflamatuvar hücrelerin doku infiltrasyonu ile karakterize bir hastalıktır (48). Virüs MSS 'de yıllarca sessiz kaldıktan sonra aktiflendiğinde nöron ve glia hücrelerine saldırır. Akson ve miyelin yapıları etkilenir. İlk belirtiler serebral kortekste nöron ve glianın inflamasyonu nedeniyle ortaya çıkmaktadır (14). Patolojik değişiklikler hem ak maddede, hem gri maddede görülmektedir. Gliosis önemli bir bulgudur; gliosis nekroz ve serebral atrofiyle beraber nöron kaybı takip etmektedir. Subkortikal ak madde tutulumu, inflamatuvar demiyelinizasyonun başladığının işaretidir. SSPE'nin en önemli patolojik özelliklerinden biri intranükleer viral inklüzyon cisimciklerinin varlığıdır. Bunlar özellikle nöron ve oligodendroglia da yer almaktadır. Hasarın en fazla görüldüğü bölgelerde inklüzyon cisimcikleri de daha fazla bulunmaktadır. Oligodendrogliaların infeksiyonu ile yaygın demiyelinizasyon gelişmekte ve bu bölgelerde lipid yüklü makrofajlar bulunmaktadır. Hastalığın geç aşamalarında oligodendrosit ve astrositlerin harabiyeti sonucu ağır nörolojik bozuklukların görüldüğü ve hastalığın fatal seyirli olarak ilerlediği görülmektedir. (1, 14, 20, 46, 54). KV antijeninin genel olarak endotel hücrelerde, daha nadir olarak da bazı nöron, glia ve lenfositlerde eksprese olduğu bildirilmiştir (1, 23).

SSPE lezyonlarında yaygın parenkimal ve perivasküler lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu görülmektedir. Perivasküler bölgelerde ağırlıklı olarak T

hücreleri ve MHC sınıf II pozitif hücreler gösterilmiştir. MHC sınıf II pozitif hücrelerin endotelial ve glial hücreler olduğu bildirilmiştir. Parenkimal lezyonlarda B hücreleri, makrofajlar, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositleri görülmektedir (1, 20, 46). B lenfositlerin geniş perivasküler bölgelerde de yer aldığı, bu hücrelerin daha uzun ve yavaş seyirli hastalık patogeneziyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (1). MHC sınıf II pozitif hücreler tüm parenkim boyunca yaygın bir dağılım göstermektedir. Hem parenkimde, hem perivasküler bölgelerde CD4⁺ hücreler, CD8⁺ hücrelerden daha fazla bulunmaktadır. Bu bulgu SSPE patolojisinde CD4⁺ hücrelerin önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir (46). Hastalarda periferik kanda CD3⁺/HLA-DR⁺ aktif T hücreleri ve CD3⁺ T hücrelerin oranının azaldığı, CD8⁺ T hücre ve CD16⁺CD56⁺ NK hücrelerin oranının ise hafif düzeyde arttığı bildirilen diğer bulgulardandır (63).

SSPE'de KV 'ye özgül antikorların serum ve BOS 'daki varlığı, humoral immün yanıtın geliştiğini göstermektedir (23). Ayrıca KV'ye karşı lenfoproliferatif yanıtın geliştiği, fakat KV'ye özgül sitotoksik T lenfositlerinin gelişmediği bildirilmiştir (12). Aysun ve arkadaşlarının çalışmasında erken aşamadaki SSPE hastalarında tüm lenfosit ve T lenfositleri oranı ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtıyla ölçülen hücrel immün yanıtın bozulmadığı, fakat geç aşamadaki hastalarda yanıtın baskılandığı gösterilmiştir (4). SSPE hastalarının beyin dokuları incelendiğinde özellikle endotelial ve glial hücrelerde tümör nekroz faktör (TNF)- α ve İFN- γ 'nın varlığı görülmektedir (1, 20). TNF- α salgılayan hücreler morfolojilerine göre reaktif astrositler olarak değerlendirilmiştir. İFN- γ salgılayan hücrelerin ise makrofajlar olduğu düşünülmüştür. Düşük düzeyde İL-1 ve İL-2 salgılayan hücreler de gösterilmiştir (58).

Beyin dokusunda T hücre alt gruplarının ve proinflamatuvar sitokinlerin varlığı, SSPE'deki ilerleyici doku hasarının, immün sistemdeki bir aktivasyondan kaynaklandığı hipotezini desteklemektedir (20). Hara ve arkadaşlarının çalışmasında SSPE hastaları ve sağlıklı kontrollerin PKMH 'leri canlı kızamık aşısı ile uyarılarak sitokin yanıtı değerlendirilmiştir. İL-2, İL-12, İL-4 ve İL-10 salgısında fark bulunmamış, İFN- γ 'nın azaldığı gösterilmiştir. İFN- γ salgısının hastalık süresi ve şiddetini de etkilediği bildirilmiştir (16). SSPE hastalarında PKMH'lerde konkanavalin-A uyarısı ile İL-1 ve fitohemagglütinin (PHA) uyarısı ile

İL-2 salgısı ölçüldüğünde, yüksek düzeyde İL-1, düşük düzeyde İL-2 salgısı gösterilmiştir (6).

SSPE'de yandaş bir T hücre yanıtı ve sitokinlerin de MSS'deki hasarda etkili olabileceğinden yola çıkarak miyelin antijenleri, antijene özgül yanıtı olarak KV aşısı, bellek antijeni (PPD) ve ısı şoku proteini α B-kristaline karşı gelişen immün yanıtı SSPE hastalarında değerlendirdiğimizde, miyelin bazik protein (MBP), miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), α B-kristalin ve kızamık aşısına karşı proliferatif yanıt SSPE hastaları ve sağlıklı kontroller arasında farklı bulunmadı. Spontan ve PPD'ye karşı gelişen proliferatif yanıtın ise SSPE'lilerde daha düşük olduğu görüldü. Spontan sitokin salgısına bakıldığında, İL-10 düzeyinin SSPE'lilerde yüksek olduğu ve farkın anlamlılığa yakın olduğu gözlemlendi. SSPE hastalarında İL-12 salgısı MBP'ye yanıtta düşük bulunmasına rağmen bu fark anlamlılığa ulaşmak iken, kızamık aşısına yanıt olarak SSPE'lilerde düşüktü. İL-10 ve İFN- γ salgısında gruplar arasında fark yoktu. PPD uyarısından sonra ise İL-12, İL-10 ve İFN- γ salgısında SSPE grubunda azalma saptandı (67). Bu bulgular SSPE'de myelin antijenlerine karşı yandaş bir Th1 immün yanıtının gelişmediğine ve MSS'nin SSPE'de otoimmün bir yanıtın hedefi olmadığına işaret etmektedir.

SSPE'de MSS Yanıtı

SSPE hastalarının BOS'ları incelendiğinde İL-1 α düzeyinin arttığı, plazmada ise normal seviyede bulunduğu (63), İL-1 β ve çözünür adezyon molekül-1'in (sICAM-1) arttığı bildirilmiştir (44). Başka bir çalışmada SSPE'de BOS'da İL-10 salgısı gösterilmiş, İL-4 salgısı bulunmamış, sadece bir hastada İFN- γ salgısı tespit edilmiştir (45). Ichiyama ve arkadaşları ise SSPE'de serumda ve BOS'da İL-6 ve ayrıca serumda İL-10 düzeyinin sağlıklı kontrollere ve infeksiyöz olmayan afebril nörolojik hasta kontrollere göre arttığını bildirmişlerdir (30).

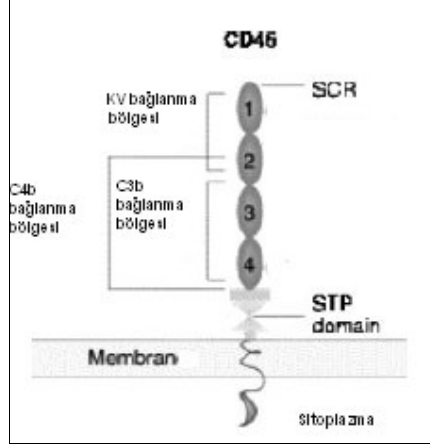
Yakın zamanda yaptığımız bir çalışmada yapılan bir çalışmada 60 SSPE hastası, infeksiyöz veya inflamatuvar bir nörolojik (IN) hastalığı olan ve noninflamatuvar nörolojik (NIN) bir hastalığı olan kişilerin BOS ve serumlarında İL-12, İL-10, İL-4, İL-17, İL-18, İFN- α ve İFN- γ , CXCL8 (IL-8), CXCL10 (IP-10), CCL2 (MCP-1) ve CCL5 (RANTES) ölçülmüştür. İL-12 (p40+p70) düzeyi

SSPE'de BOS ve serumda IN ve NIN gruplarından daha yüksek bulunurken, ayrıca incelenen İL-12 p70 alt ünitesinde bir fark bulunmadı ve artışın İL-12 p40 alt ünitesinden kaynaklandığı indirekt olarak gösterildi. İL-10 düzeyleri ise SSPE'de BOS'da NIN grubundan daha yüksek bulundu. İFN- γ salgısı SSPE'de BOS ve serumda IN grubundan daha düşük düzeyde salgılanmasına rağmen anlamlılığa erişmedi. Aynı gruplarda kemokin düzeyleri incelendiğinde SSPE'de BOS'da CXCL-10 düzeyi NIN grubundan, serumda CXCL-8 IN ve NIN gruplarından yüksek bulundu. BOS ve serumda CCL2, BOS'da CXCL-8 ve CCL5, serumda CXCL-10 salgıları düzeylerinde gruplar arasında fark görülmedi (57). BOS ve serumda bir İL-12 artışı olmasına rağmen, artan alt ünitenin p40 olma olasılığı nedeniyle, bu artışın etkili bir Th1 cevabı oluşturmada yeterli olmadığı düşünülmektedir (57).

C. Kızamık Virüs Reseptörü Olarak CD46

CD46 (membran kofaktör protein), kompleman aktivasyonunu düzenleyici bir hücre yüzey molekülüdür. İnsanda tüm çekirdekli hücrelerde eksprese olan 57-67 kilodaltonluk bir tip I transmembran glikoproteinidir. Kompleman faktörlerine bağlanarak hücreyi kompleman aracılı lizisten korumaktadır (13).

CD46 KV'nin Edmonston ve Halle suşları için reseptör işlevi gördüğünü tanımlanan ilk moleküldür. Dokulara özgü olarak farklı izoformları vardır (54, 59). CD46'nın insan ve farelerde çözünür ve membrana bağlı formları gösterilmiştir. Molekül yapısı 4 kısa tekrarlayan diziden (short consensus repeat, SCR), serin-treonin-prolin aminoasitlerinden zengin bir bölgeden, bir transmembran bölge ve sitoplazmik kuyruktan oluşmaktadır (13). KV'nin H proteini CD46'nın SRC1 ve SRC2 bölgelerine bağlanırken, doğal ligandları olan kompleman komponentlerinden C3b ve C4b, SCR2, SRC3 ve SRC4 bölgelerine bağlanmaktadır (35, 56, 59), (Şekil 2). SSPE'de CD46 ile ilişkili bir mekanizma arayışı ile CD46 molekülünde KV bağlanma bölgelerinin dizi analizi yapıldığında, SSPE hastalarında bağlanma bölgelerinde anlamlı olabilecek değişiklikler bulunmamış, SSPE gelişiminde konak faktörleri arasında CD46 genindeki değişikliklerin rol oynamadığı ileri sürülmüştür (38).



Şekil 2: KV'nin CD46 bağlanma bölgesi. Dhiman'dan uyarlandı (7).

CD46'ya patojen ya da kompleman bağlanması doğal ve edinsel immün yanıt arasında moleküler bir bağlantı oluşturmaktadır. İnfeksiyonlara karşı doğal immün yanıtın gelişmesi hem hızlı bir savunma mekanizmasını tetiklemekte, hem de edinsel immün yanıtın gelişimini etkilemektedir. CD46, KV antijenlerinin HLA sınıf I ve II molekülleriyle sunumunu arttırmaktadır (56). CD46'nın normal görevi konak hücreleri kompleman aracılı lizisten korumaktır. KV'nin H proteinini bağlandıktan sonra, CD46 hücre içine alınmakta ve hücre yüzeyinde ekspresyonu azalmaktadır. KV bağlanması sonucu hücre yüzeyinde CD46 azaldığında, lenfositlerin in vitro aktiflenmiş kompleman aracılı lize duyarlılığı artmaktadır. Böylece duyarlı hücreler lize edilir ve virüsün çoğalarak diğer hücreleri infekte etmesi engellenir (13, 59). Bu yolla, KV'nin konak hücre yüzeyinde yer alan CD46'ya bağlanmasıyla antiviral immün yanıt tetiklenmektedir. KV'nin CD46'ya bağlanarak İL-12 sentezini doğrudan azalttığı, bu şekilde hücrel immün yanıtın baskılanmasında önemli bir rolü olduğu ileri sürülmektedir (13, 35, 59).

MSS'de CD46 ekspresyonu incelendiğinde nöron ve oligodendrositlerde CD46 gösterilirken, astrositlerde CD46 ekspresyonunun zayıf olduğu bildirilmiştir (42). SSPE'li beyin materyalinde lezyonlar dışında KV'nin bulunmadığı bölgelerde, normal beyin materyali ile benzer bir CD46 dağılımı gösterilmiştir. Oysa lezyonlarda KV varlığı gösterilen hücrelerde CD46 ekspresyonu görülmemiş, KV infeksiyonu sonrasında nöral hücrelerde CD46 ekspresyonunun azaldığı ya da olmadığı ileri sürülmüştür (42, 48).

Tüm bunlardan bağımsız olarak CD46'nın immüno-regülatör bir molekül olduğuna dair yakın zamanda yayınlanmış bir çalışma vardır. Kemper ve arkadaşlarının çalışmasında CD4⁺ T hücreleri anti-CD3, anti-CD28 ve anti-CD46 ile uyarıldıklarında, CD46 uyarısının yüksek İL-10 salgısı ile karakterize Tr1 benzeri düzenleyici T hücrelerinin ortaya çıkmasına neden olduğu görülmüştür. Bu hücrelerin, farklı bir düzenleyici T hücre alt grubu olabileceği ve T hücre yanıtının bu yolla İL-10 aracılı olarak baskılandığı ileri sürülmektedir (36).

Bu verilere dayanılarak SSPE'de immün yanıt farklılığını ortaya koymak, hastalık gelişiminin anlaşılması için önemlidir. Bu amaçla çalışmamızda SSPE'de CD46 uyarısıyla gelişen immün yanıtı proliferatif yanıt, sitokin yanıtı ve düzenleyici T hücreleri açısından araştırdık ve kontrollerle karşılaştırarak inceledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Çalışma Grubu

Donörler SSPE hastaları ve çocuk kontrollerden (ÇK) seçildi. CD46 uyarısı ile yapılan testler ve akım sitometrisi deneyleri için, kısmen örtüşen farklı deney grupları kullanıldı. Donörlerden alınabilen kan, dolayısıyla da elde edilebilen hücre miktarı az olduğundan, her deney her donörde yapılamadı.

Proliferasyon ve sitokin testlerinde incelenen donörler, toplam 20 kişiden oluşan SSPE hasta grubu (8 kız, 12 erkek çocuğu) ve 18 kişiden oluşan ÇK grubundan (8 kız, 10 erkek çocuğu) oluştu. Yaş ortalaması hastalarda $7,8 \pm 4,7$ yaş, kontrollerde $9,8 \pm 3,7$ yaş olarak hesaplandı.

Akım sitometrisi deneylerinde ise 22 SSPE hastası (6 kız, 16 erkek çocuğu) ve 21 ÇK donöre yer verildi (8 kız, 13 erkek çocuğu). Hastaların yaş ortalaması $8,5 \pm 3,2$ yaş iken, ÇK grubunda $7,7 \pm 3,4$ yaş idi.

SSPE tanı kriterleri olarak hastalarda BOS ve serumda KV'ye özgül yüksek antikor pozitifliği, klinik bulgular, tipik EEG bulguları, BOS'da oligoklonal IgG bantlarının pozitifliği değerlendirildi. Laboratuvarımıza rutin tetkik amacıyla gönderilen hastalar, hasta bilgilendirme formu velilerine okutulup yazılı onay alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesinden Etik Kurul onayı alındı. Her donörden EDTA'lı tüplere 5-10 ml kan alındı.

2. Proliferasyon ve Sitokin Ölçüm Deneyleri

SSPE hastalarında sitokin yanıtını incelemek amacıyla yapılan deneylerde anti-CD3 (Diacclone), anti-CD28 (Ancell), anti-CD46 (C. Kemper hediyesi) ve bunların izotipi ile aynı olan kontrol anti-IgG1 (Diacclone) monoklonal antikorları kullanıldı. Düz tabanlı 96-kuyuluk steril kültür plakları (Nunc) antikorlar ile anti-CD3/CD28, anti-CD3/CD46, anti-CD3/CD28/CD46 ve anti-IgG₁ izotip kombinasyonlarında kaplandı. Her kombinasyon için dörder kuyu kullanıldı.

Antikor kaplı plaklar gece boyu $+4^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi. Periferik kandan fikol gradyanı yöntemi ile mononükleer hücreler izole edildi. Bunun için EDTA'lı kan tüpleri 3000 rpm'de 10 dakika çevrilerek lökositleri içeren interfazdan 1-2 ml

toplandı. Bu işlem iki kez yapıldı. Toplanan interfaz 1:1 oranında PBS (phosphate buffered saline) ile sulandırıldı ve ficol histopaque-1077 (Biochrome) üzerine yayılarak 3000 rpm'de 25 dakika çevrildi. Ayrılan PKMH'ler toplanarak 2 kez PBS ile yıkandı, buz içinde bekletildi ve tripan mavisi (Gibco) ile boyanarak canlı hücre sayısı tespit edildi. Hücreler, her kuyuya 200000 hücre gelecek şekilde 150 µl medyum içinde ekildi ve 37°C'de %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi. Kültür medyumunu RPMI-1640 (Sigma) içinde %10 AB insan serumu (Sigma), 2mM L-Glutamin (Gibco) ve 10000 IU/ml/10000 mg/ml penisilin / streptomisinden (Gibco) oluşmaktaydı. Kültürün 72. saatinde her kuyudan 120 µl üst sıvı toplandı ve -80°C'de saklandı. Kuyulara 80 µl taze medyum eklendi. Hücreler 1µCi ³H-Timidin ile işaretlendi, ertesi gün harmanlandı ve β-sayacında sayıldı. Uyarı verilen kuyuların ortalaması, uyarı verilmeyen kuyuların ortalamasına bölünerek stimülasyon indeksleri (Sİ) hesaplandı. Toplanan üst sıvılarda uyarılmış İL-10 (Biosource), İL-2 (Biosource), İFN-γ (Biosource), İL-12p40 (Beckton Dickinson), İL-12p70 (Beckton Dickinson) ve TGF-β (Biosource) düzeyleri ELİSA ile ölçülerek değerlendirildi.

3. Akım Sitometrisi Deneyleleri

Lenfosit ve monositler üzerinde CD46 ekspresyon düzeyini belirlemek amacıyla, fluoresan işaretli monoklonal antikordardan yararlanıldı. Lenfositleri göstermek için APC işaretli anti-CD3 (Dako), monositler için FITC işaretli anti-CD14 (Dako), CD46 için PE işaretli anti-CD46 (Ancell) kullanıldı. Test tüplerine konan antikordlar üzerine 100 er µl EDTA'lı kan eklendi. Tüpler oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildikten sonra, 20 dakika da 2,5 ml lizis solüsyonunda bekletildi ve eritrositlerin lize olması sağlandı. Daha sonra tüpler 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Yıkama işlemi için tüplerdeki üst sıvılar döküldükten sonra üzerlerine 2 ml PBS eklenerek tekrar 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Yıkama işlemi 2 kez yapıldıktan sonra tüplere 0,5 ml FACS izoton (Beckton Dickinson) ve 0,5 ml %2'lik paraformaldehit solüsyonu (Sigma) eklendi. Hücreler en geç bir gün içinde sayılıp değerlendirildi (FACSscalibur, Beckton Dickinson). Bu amaçla lenfosit ve monositler için ayrı kapılar alındı ve her tüpte kapı içinde 5000 hücre sayıldı. CD46 molekülünü taşıyan ve taşımayan hücre oranları

belirlendi. Ayrıca CD46'yı taşıyan hücreler, CD46'yı düşük ya da yüksek oranda taşıma oranlarına göre iki gruba ayrılarak ayrıca değerlendirildi.

Deneylerde kullanılan malzeme ve cihazların listesi Tablo 4'de verilmiştir.

4. İstatistiksel Değerlendirme

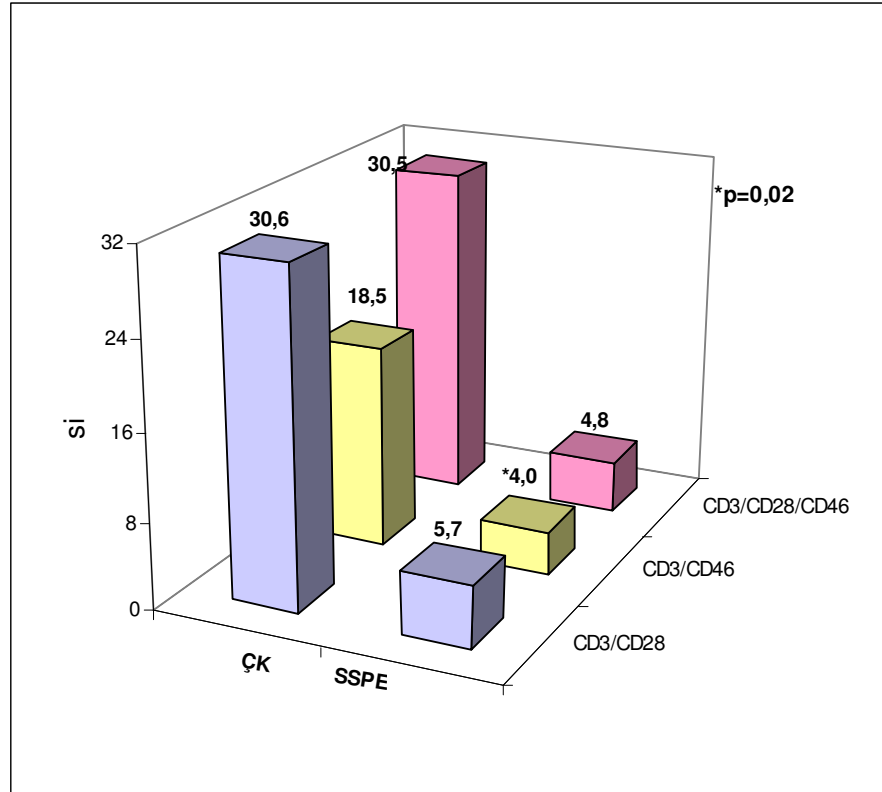
Proliferasyon, CD46 uyarısıyla sitokin salgısı ve CD46 ekspresyon deneylerinde gruplar arası karşılaştırmalar non-parametrik Mann-Whitney-U testi uygulanarak yapıldı. Sonuçlar medyan değerleri olarak bildirildi. Hasta ve kontrollerin yaşları, ortalama ve standart sapma olarak gösterildi. İstatistiksel anlamlılık, p değerinin 0,05'den küçük olması olarak tanımlandı.

BULGULAR

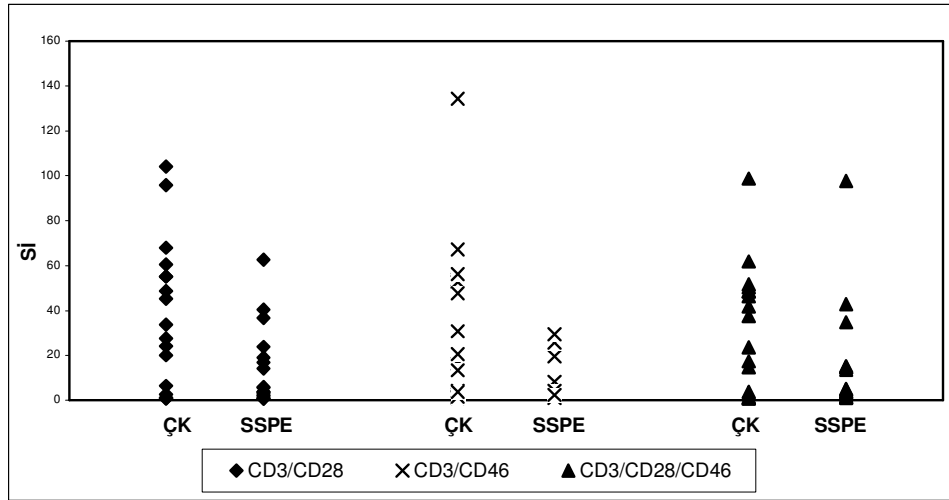
1. SSPE Hastalarında anti-CD46 Uyarısı Sonrası İmmün Yanıt

a. Anti-CD46 Uyarısı Sonrası Proliferatif Yanıt

Bu deney grubunda üç günlük proliferasyon testlerinden elde edilen Sİ değerleri karşılaştırıldı. Şekil 3'de görüldüğü gibi tüm uyaran kombinasyonlarında SSPE grubunda Sİ değerleri kontrollere göre düşük bulundu. Ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık anti-CD3/CD46 uyarısı ile gözlemlendi: SSPE grubunda ÇK grubuna göre Sİ değerleri düşüktü (Sİ = 4,0 ve 18,5; $p = 0,02$). Anti-CD3/CD28 ve anti-CD3/CD28/CD46 uyarısına verilen yanıtların SSPE'lilerde düşük olmasına rağmen, farkın anlamlılık düzeyine erişemediği görüldü (Sİ = 5,7 ve 30,6; $p = 0,054$ ile 4,8 ve 30,5, $p = 0,11$) (Şekil 3 ve 4).



Şekil 3: SSPE hastaları ve ÇK grubu arasında proliferasyon yanıtı karşılaştırması. Sonuçlar stimülasyon indekslerinin (Sİ) medyan değeri olarak verildi.

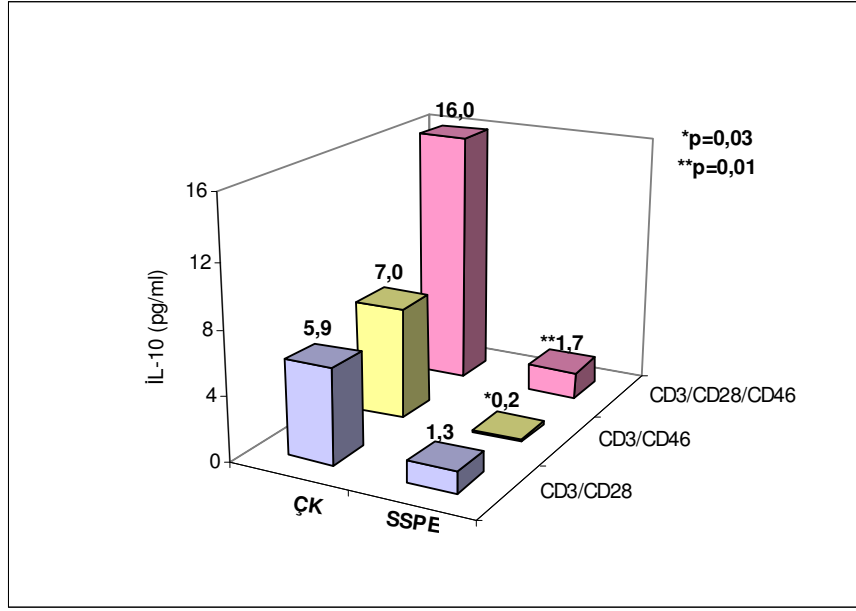


Şekil 4: SSPE hastaları ve ÇK grubunda proliferatif yanıtı.

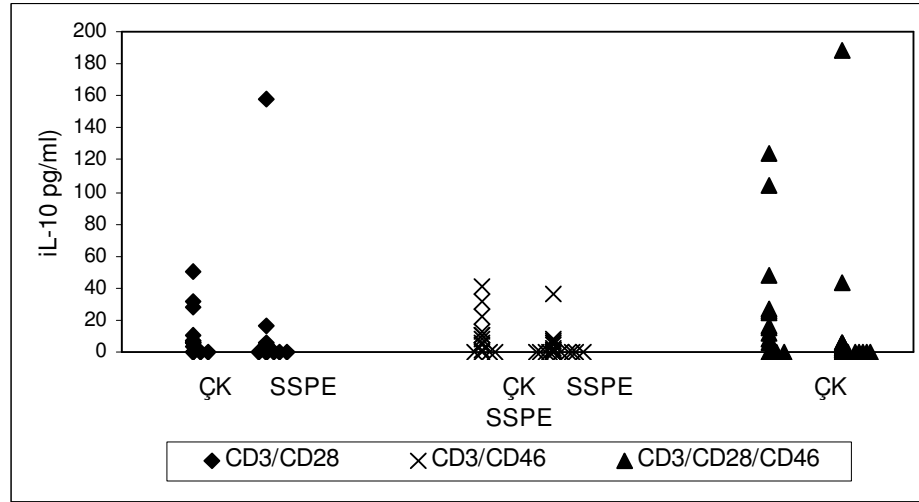
b. Anti-CD46 Uyarısı Sonrası Sitokin Yanıtı

SSPE hastalarında CD46 uyarısı sonrası sitokin yanıtını incelemek amacıyla yapılan deneylerde toplanan üst sınırlarda İL-10, İL-12p70, İL-12p40, İL-2, İFN- γ , ve TGF- β düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Bu grup deneyde 20 SSPE hastası ve 18 ÇK değerlendirildi. SSPE ve ÇK gruplarının sitokin salgı sonuçları Tablo 1'de toplu olarak gösterilmiştir.

Anti-CD3/CD46 ile uyarılan PKMH'lerde, ek olarak anti-CD28 ile uyarılın ya da uyarılmasın, SSPE hastalarında ÇK grubuna göre daha düşük düzeyde İL-10 ve İL-12p70 salgılandığı görüldü. Anti-CD3/CD46 uyarısı SSPE hastalarında İL-10 salgısının medyan değeri 0,2 pg/ml iken, ÇK grubunda 7,0 pg/ml olarak bulundu ($p = 0,03$). Uyarı, anti-CD3/CD28/CD46 kombinasyonunda verildiğinde İL-10 salgısının medyan değeri SSPE'lilerde 1,7 pg/ml, ÇK grubunda 16,0 pg/ml olarak hesaplandı ve SSPE hastalarında daha düşük olduğu görüldü ($p = 0,01$). Anti-CD3/CD28 uyarısı ile de SSPE de İL-10 salgısı düşük gözlenirken, anlamlı bir fark olmadığı bulundu (1,3 ve 5,9 pg/ml). İL-10 salgısının sonuçları Şekil 5 ve 6'da gösterilmiştir.

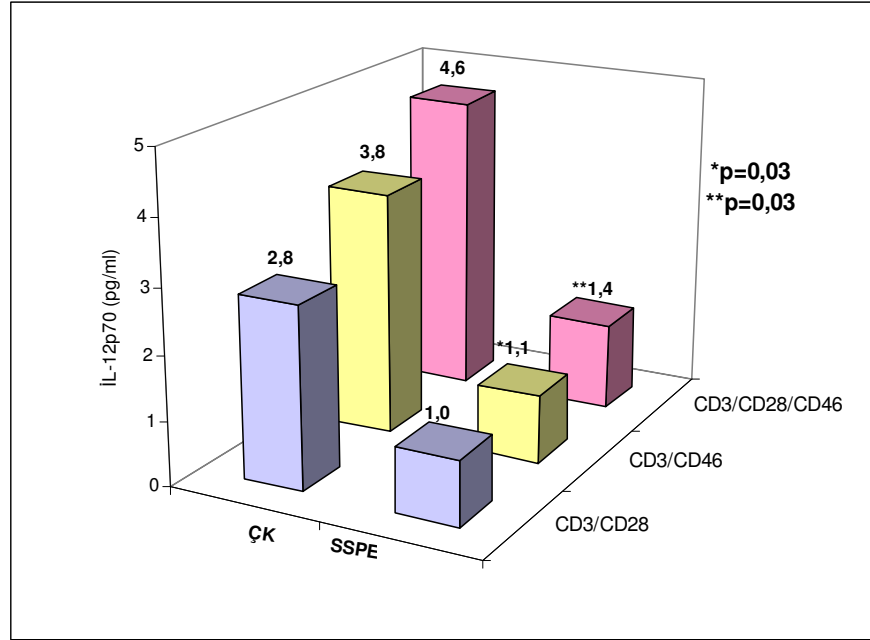


Şekil 5: SSPE ve ÇK gruplarında anti-CD46 uyarısıyla İL-10 salgısı karşılaştırması. Sonuçlar medyan değeri olarak verildi.

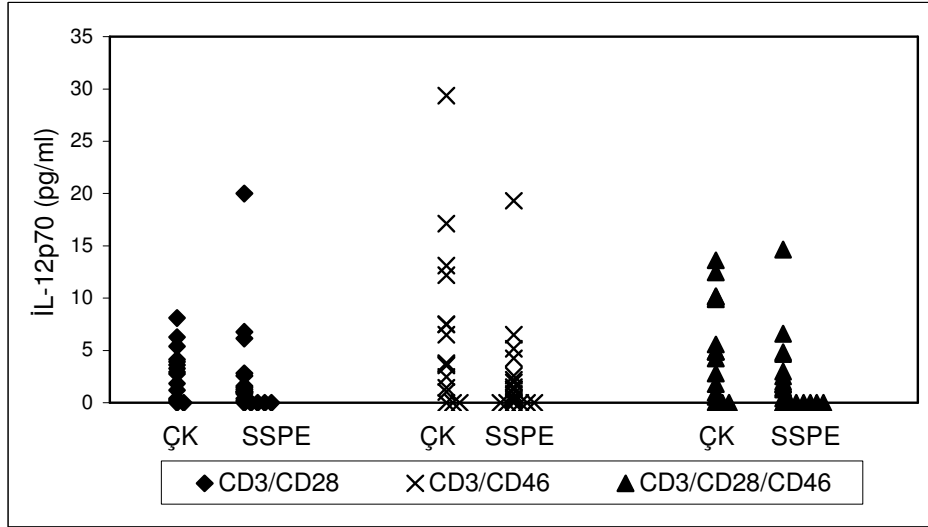


Şekil 6: SSPE ve ÇK gruplarında anti-CD46 uyarısıyla İL-10 salgısı.

Gruplar arasında İL-12p70 düzeyi karşılaştırıldığında, anti-CD3/CD46 uyarısıyla İL-12p70 salgısı SSPE grubunda 1,1 pg/ml ve ÇK grubunda 3,8 pg/ml ($p=0,03$) olarak bulunurken, anti-CD3/CD28/CD46 uyarısıyla SSPE hastalarında 1,4 pg/ml ve ÇK grubunda 4,6 pg/ml ($p=0,03$) olduğu gösterildi. Yine anti-CD3/CD28 uyarısıyla gruplar arasında anlamlı bir fark gösterilmedi (Şekil 7 ve 8).

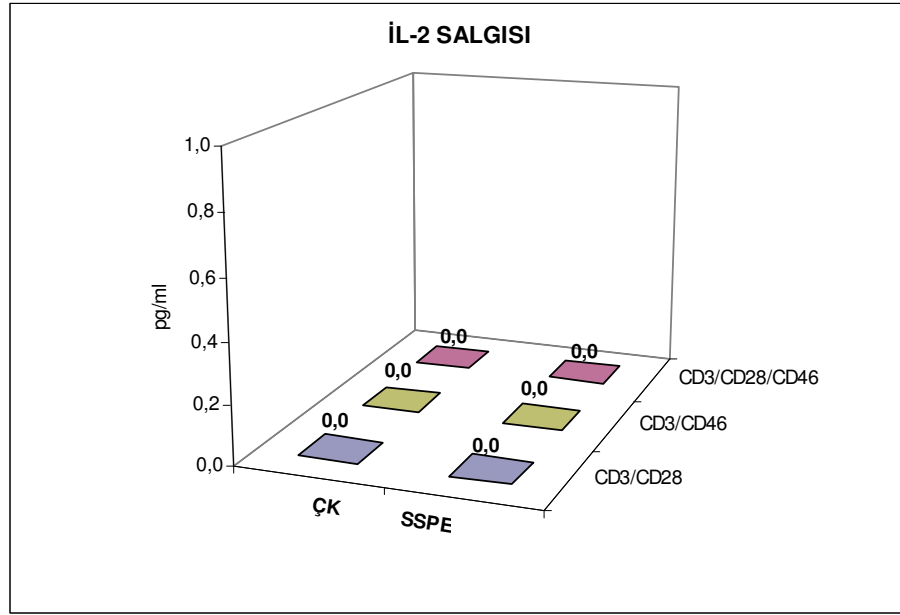


Şekil 7: Anti-CD46 uyarısıyla SSPE hastaları ve ÇK grubunda İL-12p70 salgısı. Sonuçlar medyan değeri olarak verildi.

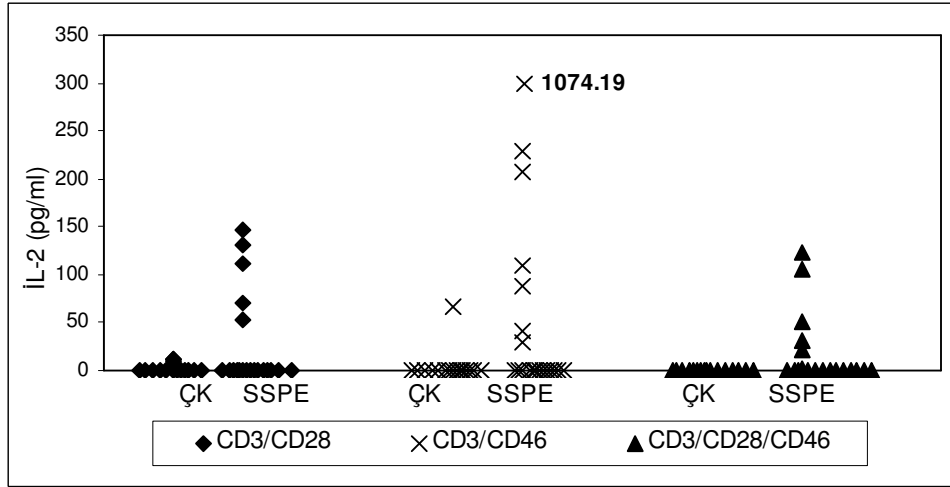


Şekil 8: Anti-CD46 uyarısıyla SSPE hastaları ve ÇK grubunda İL-12p70 salgısı.

SSPE hastaları İL-2 salgısı açısından ÇK grubuyla karşılaştırıldığında hem anti-CD3/CD46 (medyan = 0,0 pg/ml), hem anti-CD3/CD28/CD46 (medyan = 0,0 pg/ml) uyarısında İL-2 salgısının SSPE hastalarında daha yüksek olduğu görüldü ($p = 0,04$ ve $p = 0,02$). Anti-CD3/CD28 uyarısıyla İL-2 salgısında bir fark görülmedi. İL-2 salgısı sonuçları Şekil 9 ve 10'da gösterilmiştir.

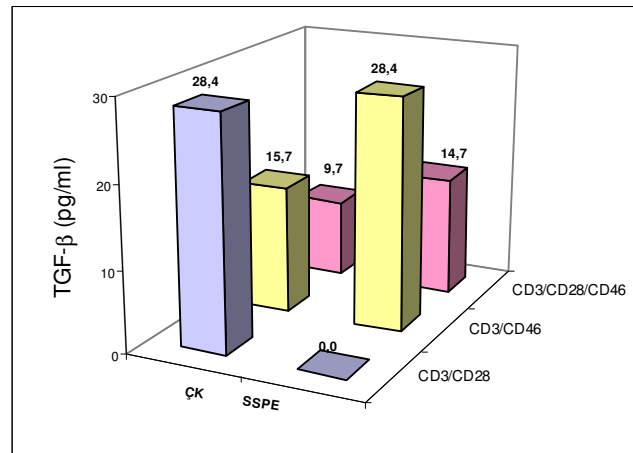
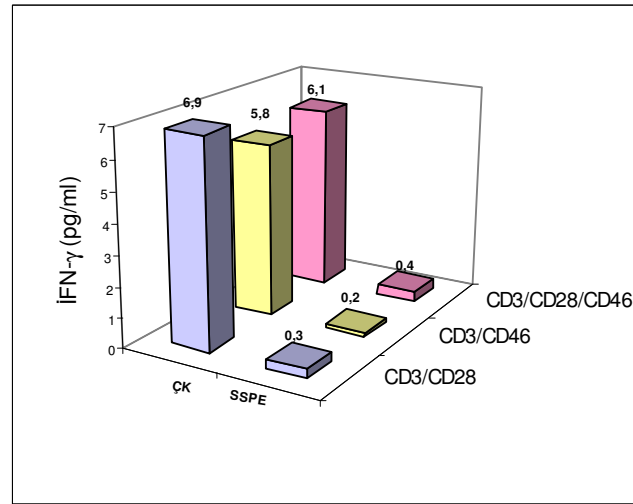
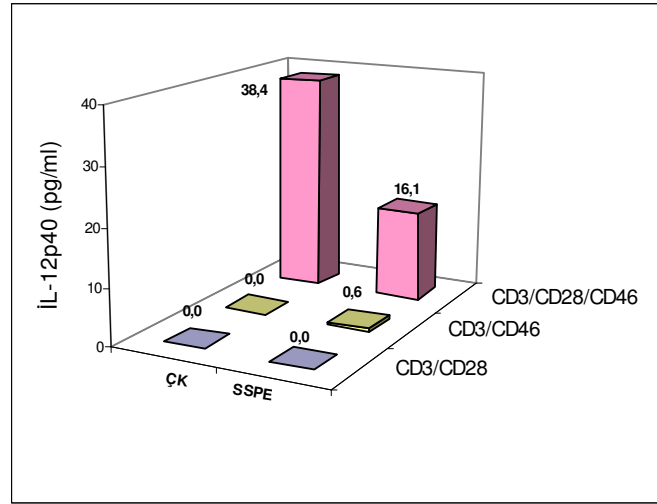


Şekil 9: Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-2 salgısı karşılaştırması. Sonuçlar medyan değeri olarak verildi.

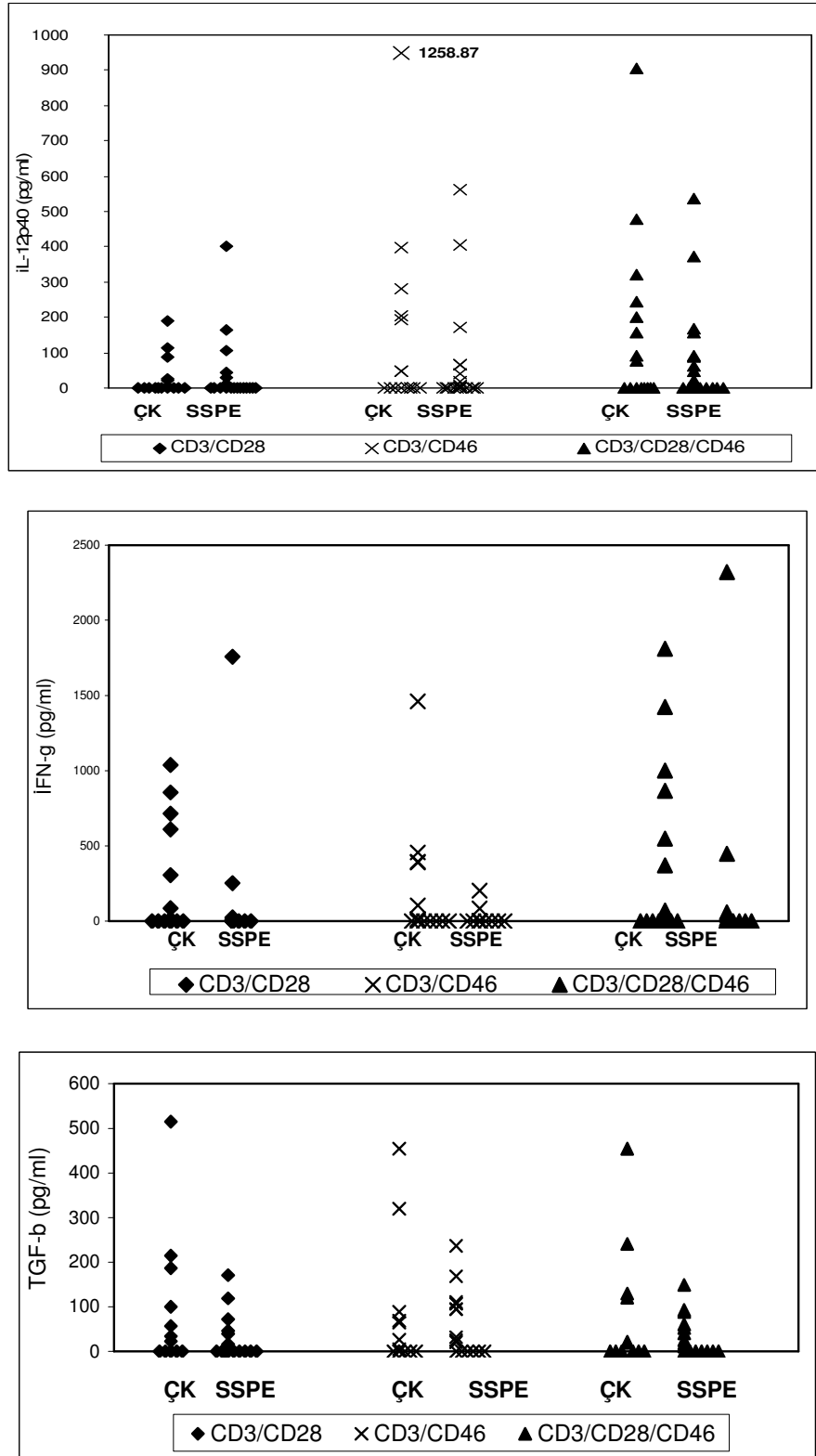


Şekil 10: Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-2 salgısı.

Hem SSPE, hem ÇK gruplarında uyarı sonrası PKMH'lerin İL-12p40, İFN- γ ve TGF- β salgı düzeyleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bu sitokinlerin gruplar arasındaki karşılaştırması Şekil 11 ve 12'de gösterilmiştir.



Şekil 11: Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-12p40, İFN- γ ve TGF- β salgısı karşılaştırması. Sonuçlar medyan değeri olarak verildi.



Şekil 12: Anti-CD46 uyarısıyla SSPE ve ÇK gruplarında İL-12p40, İFN- γ ve TGF- β salgısı.

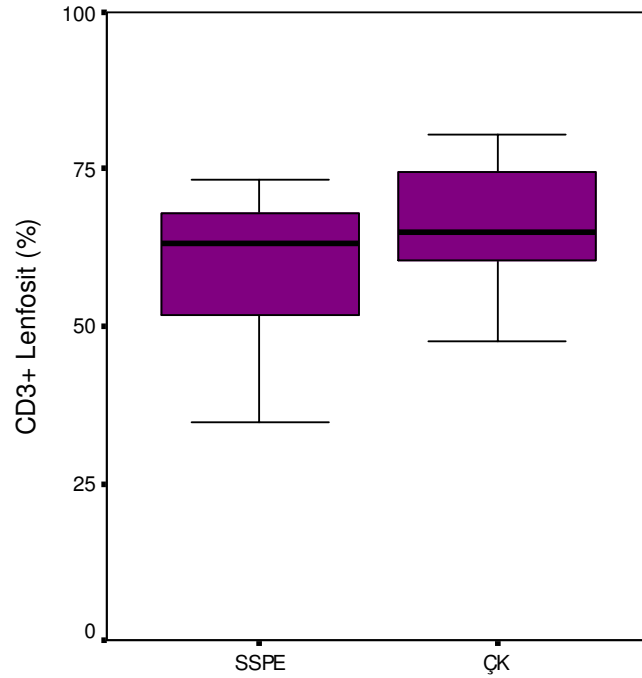
Tablo 1: SSPE hastaları ve ÇK grubunda anti-CD46 uyarısıyla sitokin salgısı. Sonuçlar medyan değeri olarak verildi. Parantez içinde, ölçülen en alt ve en üst değerler gösterildi.

	İL-10			İL-12p70			İL-2		
	SSPE	ÇK	p	SSPE	ÇK	p	SSPE	ÇK	p
CD3/CD28	1,3 (0,0-147,7)	5,9 (0,0-50,0)		10,0 (0,0-200,0)	28,0 (0,0-81,0)		0,0 (0,0-147,3)	0,0 (0,0-12,7)	
CD3/CD46	0,2 (0,0-36,6)	7,0 (0,0-40,5)	0,03	10,5 (0,0-193,0)	37,5 (0,0-294,0)	0,03	0,0 (0,0-1074,2)	0,0 (0,0-66,2)	0,04
CD3/CD28/CD46	1,7 (0,0-188,7)	16,0 (0,0-124,1)	0,01	13,5 (0,0-146,0)	46,0 (0,0-136,0)	0,03	0,0 (0,0-124,1)	0,0 (0,0-0,0)	0,02
N	20	14		20	16		20	16	

	İL-12p40		İFN- γ		TGF- β	
	SSPE	ÇK	SSPE	ÇK	SSPE	ÇK
CD3/CD28	0,0 (0,0-401,0)	0,0 (0,0-191,4)	3,0 (0,0-17569,0)	68,5 (0,0-10374,0)	0,0 (0,0-1707,0)	284,0 (0,0-5152,0)
CD3/CD46	0,6 (0,0-562,5)	0,0 (0,0-1258,9)	1,5 (0,0-2014,0)	57,5 (0,0-14613,0)	284,0 (0,0-2367,0)	157,0 (0,0-4545,0)
CD3/CD28/CD46	16,1 (0,0-537,6)	38,4 (0,0-903,6)	3,5 (0,0-23191,0)	61,0 (0,0-18107,0)	146,5 (0,0-1486,0)	97,0 (0,0-4545,0)
N	20	16	20	16	16	12

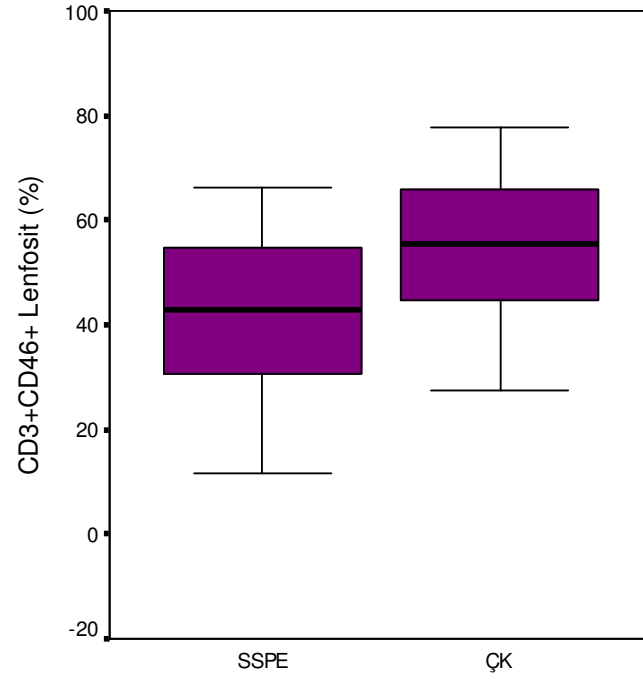
2. CD3⁺ Lenfosit ve CD14⁺ Monositlerde CD46 Ekspresyonu

Periferik kan hücrelerinde CD3⁺ lenfositler ve CD14⁺ monositlerde, olası KV reseptörü olarak CD46 taşıyan hücrelerin oranı, akım sitometrisi yöntemiyle değerlendirildi. Toplam CD3⁺ lenfositlerin oranı SSPE hastalarında % 63,1 ve ÇK grubunda %65,1 bulundu ve gruplar arasında bir fark görülmedi (Şekil 13) SSPE hastalarında CD3⁺ lenfositlerin CD46 molekülünü taşıma oranı ÇK grubu ile karşılaştırıldığında, CD3⁺CD46⁺ hücrelerin oranı SSPE grubunda düşük bulundu (%43,0 ve %55,5; p = 0,02). Şekil 14'de iki grubun karşılaştırılması gösterilmektedir.

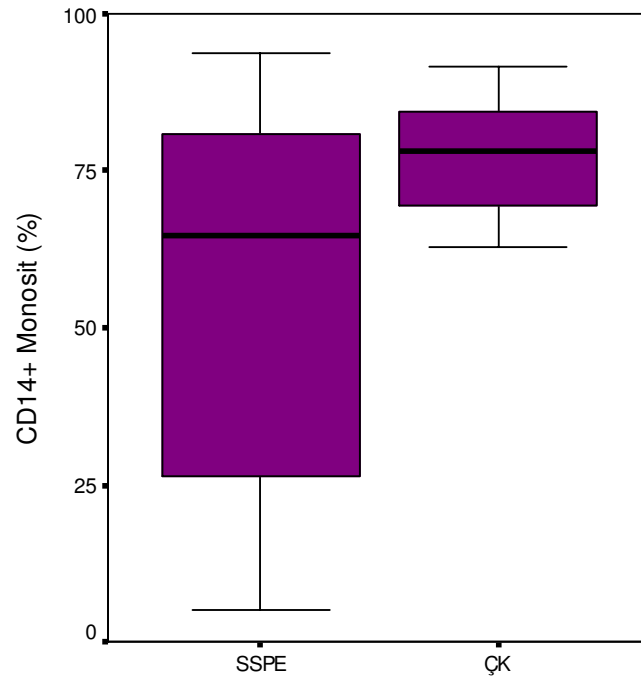


Şekil 13: SSPE hastaları ve ÇG grubunda toplam CD3⁺ lenfosit oranı.

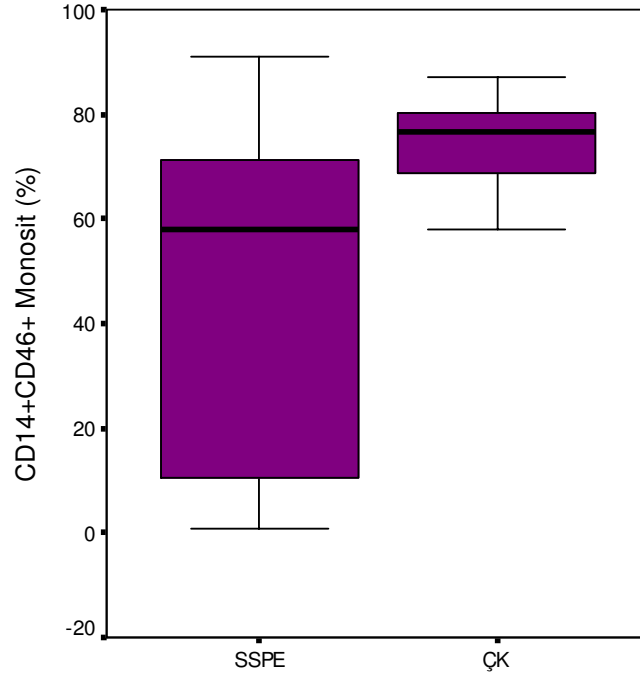
Gruplarda CD14⁺ monositlerin toplam oranı değerlendirildiğinde SSPE'liler monositlerin oranı ÇK grubundan daha düşük bulundu (%64,7 ve %78,0), (Şekil 15). SSPE hastaları ve ÇK grubunda CD14⁺ monositlerin CD46 molekülünü taşıma oranı incelendiğinde, hastalarda CD14⁺CD46⁺ monositlerin oranı ÇK grubundan daha düşük bulundu (%57,9 ve %76,5; p = 0,009). SSPE ve ÇK gruplarının CD46 taşıyan CD14⁺ monosit oranları Şekil 16'da gösterilmektedir.



Şekil 14: SSPE hastaları ve ÇK grubunda CD3⁺CD46⁺ lenfosit oranı.



Şekil 15: SSPE ve ÇG gruplarında toplam CD14⁺ monosit oranı.



Şekil 16: SSPE hastaları ve ÇK grubunda CD14⁺CD46⁺ monosit oranı.

Lenfosit ve monositler üzerinde toplam CD46 taşıma oranları değerlendirildikten sonra, CD46'yı yüksek ve alçak düzeyde taşıyan lenfosit ve monositler ayrı gruplar olarak incelendi. Taşıdıkları CD46'nın yoğunluğuna göre CD3⁺ lenfositlerde CD46 molekülünü yüksek ya da düşük taşıyan hücrelerin oranına bakıldığında, SSPE hastaları ve ÇK grubu arasında bir fark görülmedi. Tablo 2'de her iki grubun sonuçları medyan değeri olarak verilmiştir.

Tablo 2: CD3⁺CD46^{düşük} ve CD3⁺CD46^{yüksek} lenfosit oranları (Parantez içinde en düşük ve en yüksek değerler verilmiştir).

	CD3 ⁺ CD46 ^{düşük}	CD3 ⁺ CD46 ^{yüksek}
SSPE	41,9 (17,8 - 87,7)	34,3 (3,0 - 72,1)
ÇK	43,3 (20,6 - 85,8)	39,3 (4,0 - 72,2)

Aynı inceleme CD14⁺ monositlerde yapıldığında, CD46 molekülünü düşük ya da yüksek düzeyde taşıyan hücreler, SSPE hastaları ve ÇK grubunda farklı bulunmadı. Tablo 3'de her iki grubun sonuçları medyan değeri olarak verilmiştir.

Tablo 3: CD14⁺CD46^{düşük} ve CD14⁺CD46^{yüksek} monosit oranları (Parantez içinde en düşük ve en yüksek değerler verilmiştir).

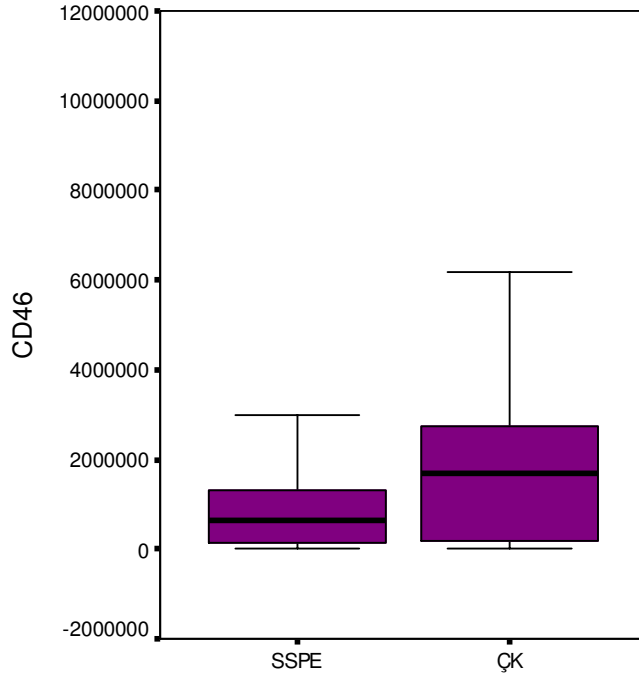
	CD14 ⁺ CD46 ^{düşük}	CD14 ⁺ CD46 ^{yüksek}
SSPE	47,1 (17,0 – 96,0)	63,6 (27,8 – 92, 4)
ÇK	32,6 (11,0 – 89, 9)	77,8 (10,0 – 86,9)

CD46 taşıyan hücre oranları yanında toplam CD46 yüzey molekülü miktarını belirlemek için ayrıca CD3⁺CD46⁺ ve CD14⁺CD46⁺ hücrelerdeki CD46 toplam yoğunluğu değerlendirildi. Bu amaçla CD46 ekspresyonu yoğunluğuna göre hücreler gruplandı ve her grubun içerdiği hücre sayısı o grubun ortalama floresan miktarına göre hesaplandı ve grupların sonuçları toplandı:

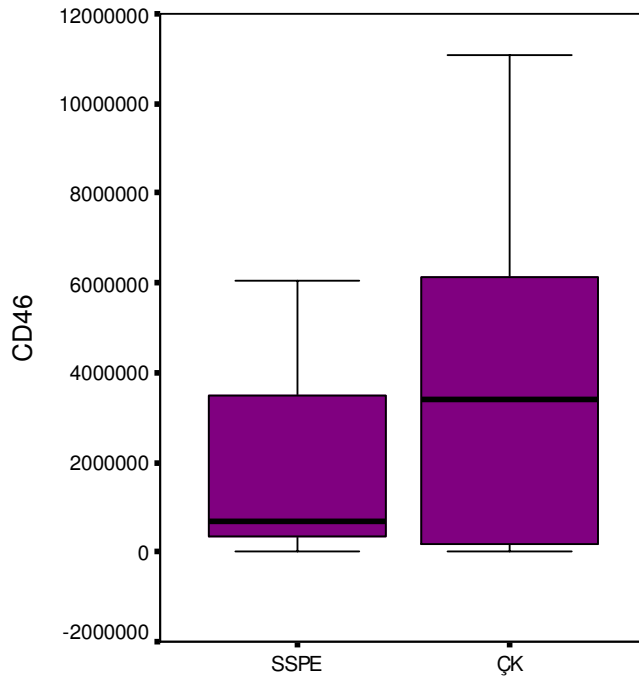
$$\begin{aligned} & \text{Yüksek grup (CD46 taşıyan hücre sayısı X Ortalama floresan yoğunluğu)} \\ & + \\ & \text{Düşük grup (CD46 taşıyan hücre sayısı X Ortalama floresan yoğunluğu)} \end{aligned}$$

Elde edilen değerler hasta ve kontrollerde karşılaştırıldığında, gruplar arasında CD46 molekülünün toplam miktarı açısından fark anlamlılığa ulaşmadı, ancak şekil 17 ve 18 'de görüldüğü gibi, hastalarda toplam CD46 ekspresyonu da azalmış idi.

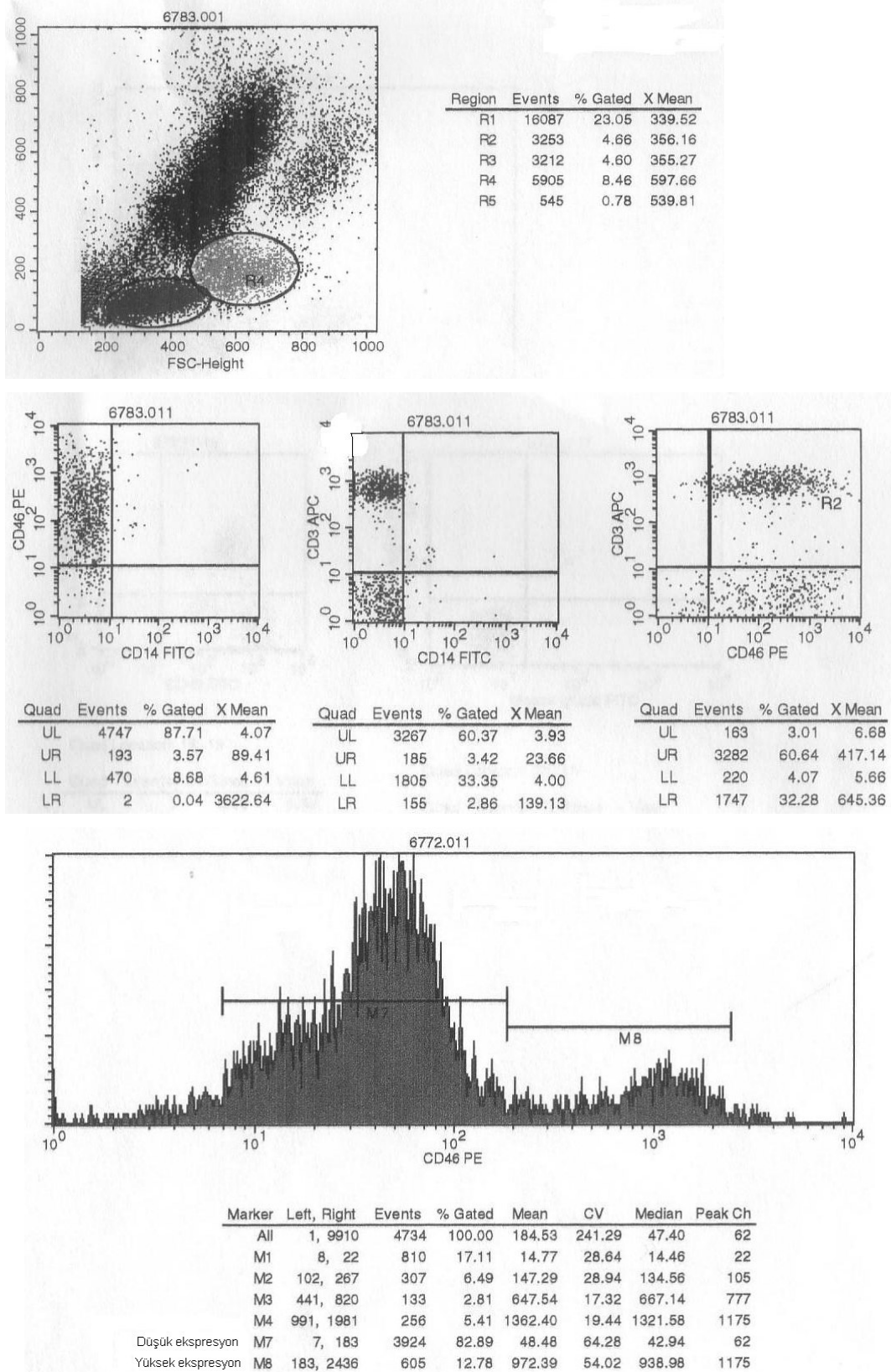
Şekil 19 ve 20'de lenfosit ve monositlerde CD46 ekspresyonuna birer örnek verilmiştir.



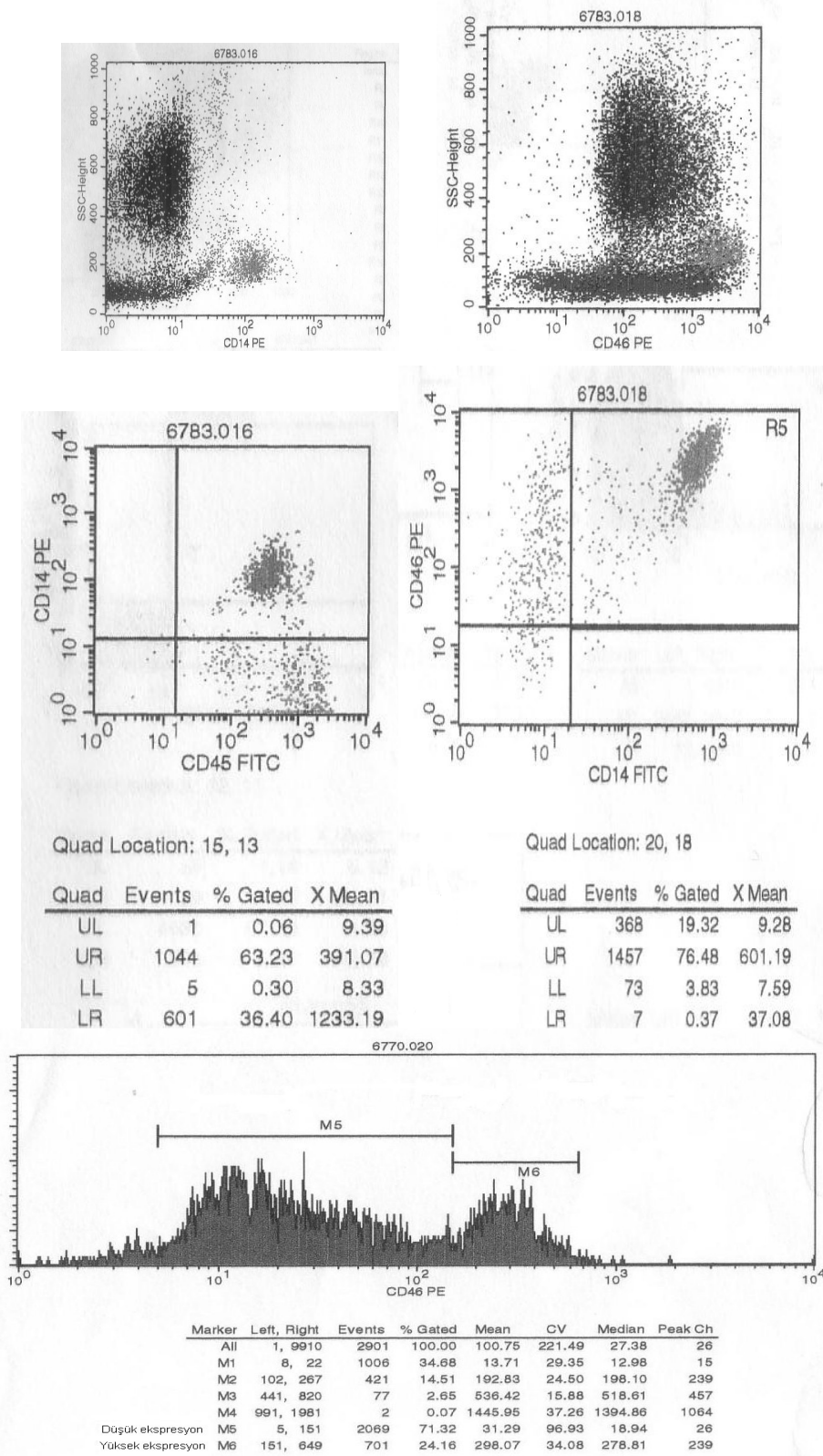
Şekil 17: SSPE hastaları ve ÇK grubunda lenfositlerde toplam CD46 miktarı.



Şekil 18: SSPE ve ÇK gruplarında monositlerde toplam CD46 miktarı.



Şekil 19: Lenfositlerde CD46 ekspresyonu.



Şekil 20: Monositlerde CD46 ekspresyonu.

Tablo 4: Deneylerde kullanılan malzeme ve cihazların listesi.

Malzeme	Marka
Anti-IgG1 antikoru (İzotip kontrolü)	Diaclone
Anti-CD3 antikoru	Diaclone
Anti-CD28 antikoru	Ancell
Anti-CD46 antikoru	C.Kemper hediyesi
Kültür plağı (96-kuyulu, düz tabanlı)	Nunc
Fikol-1077	Biochrom
Tripan mavisi	Gibco
RPMI-1640 medyum	Sigma
İnsan AB serumu	Sigma
L-glutamin	Sigma
Penisilin/Streptomisin	Sigma
³ H-Timidin	ARC-American Radiolabeled Chemicals
İL-10 ELİSA kiti	Biosource
İL-2 ELİSA kiti	Biosource
İFN- γ ELİSA kiti	Biosource
İL-12p40 ELİSA kiti	Beckton Dickinson
İL-12p70 ELİSA kiti	Beckton Dickinson
TGF- β ELİSA kiti	Biosource
APC işaretli anti-CD3 antikoru	Dako
FITC işaretli anti-CD14 antikoru	Dako
PE işaretli anti-CD46 antikoru	Ancell
FACS izoton	Beckton Dickinson

Cihaz	Marka
β -sintilasyon sayacı	Packard β -scintillation Counter
ELİSA okuyucusu	μ -Quant, Bio-Tek Instruments
Akım sitometrisi cihazı	FACScalibur, Beckton Dickinson

TARTIŞMA

Bu çalışmada SSPE hastalarında KV reseptörlerinden biri olarak tanımlanan CD46 ile uyarıya yanıt olarak PKMH'lerde proliferasyon ve sitokin salgısı incelendi, gelişen yanıtın kontrollere göre farkı değerlendirildi. CD46 molekülünün SSPE hastalarında lenfosit ve monositlerdeki ekspresyonu kontrollerle karşılaştırıldı. Bu yolla SSPE hastalarında CD46 uyarısıyla gelişen olası düzenleyici T hücreleri incelenip, kontrollere göre farkı araştırıldı.

Kemper ve arkadaşlarının (36) bulgularına göre CD46 düzenleyici bir mekanizmada yer alarak Tr1 fenotipinde hücreleri uyarmakta idi. Bu fenotipte CD46 uyarısıyla hücrelerin yüksek düzeyde İL-10, orta düzeyde İFN- γ , TGF- β , ve İL-12p40, düşük düzeyde İL-2 salgıladığı görülmüş, İL-4'ün ise hiç salgılanmadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda yer verdiğimiz kontrollerde ise CD46 uyarısıyla İL-10 salgısı yüksek bulunmadı. İL-10 salgısının ancak CD28'in kostimülatör etkisiyle arttığı gözlenirken, İL-2 ve İFN- γ salgısındaki uyarı bildirilen bulgularla uyumlu idi. TGF- β salgısında ise CD46 uyarısıyla bir fark gözlenmedi. Oysa adı geçen çalışmada CD46 etkisiyle TGF- β salgısı artmış bulunmuştur (36). İL-12p40 salgısı aynı çalışmada her uyarı kombinasyonunda salgılanırken, bizim çalışmamızda CD46'ya bağımlı olarak değil, ancak eş zamanlı CD28 kostimülasyonu ile uyarılabildi. Diğer çalışmadan farklı olarak bu çalışmada İL-12'nin düzenleyici alt birimi p40 yanında biyolojik aktif molekül de incelediğimizde, İL-12p70 salgısının CD46 uyarısıyla arttığı görüldü. Bu sonuçlar Kemper ve arkadaşlarının CD46 ile geliştirdikleri yüksek İL-10 salgısı ile karakterize Tr1 hücrelerinin indüklenmediğini düşündürmektedir. CD46 uyarısının düzenleyici bir sitokin salgısına yol açması ile ilgili bulgular oldukça sınırlıdır ve CD46'nın düzenleyici rolü henüz açıklığa kavuşturulmaya çalışılmaktadır.

SSPE hastalarında ise, yanında CD28 uyarısı olsa da, olmasa da CD46 uyarısıyla in vitro İL-10 salgısının kontrol grubuna göre düşük olduğu görüldü. CD3/CD28 uyarısıyla da İL-10 salgısı hastalarda düşük bulunmasına rağmen, bu azalma anlamlılığa erişmedi. Bu bulgu CD46 aracılı İL-10 indüksiyonunun

SSPE'de kontroller gibi gelişmediğini göstermiş ve CD46'nın SSPE'de rolünü düşündürmüştür.

SSPE'de proinflamatuvar olarak aktif olan İL-12p70 salgısı da kontrollere göre zayıf uyarılabildi. Bu in vitro zayıf İL-12p70 salgısı hastalarda CD46'yı içeren tüm uyarı kombinasyonlarında gözlenirken, CD3/CD28 uyarısıyla İL-12p70 salgısındaki farkın anlamlılığa ulaşmadığı görüldüğü. CD3/CD28 uyarısıyla İL-12p70 salgısında anlamlı bir baskılanmanın gözlenmemesi, SSPE'de CD3 üzerinden uyarı mekanizmasında bir fark olmadığını düşündürmektedir. Doğal ve edinsel bağışıklık arasında bir bağlantı molekülü olan İL-12, T ve NK hücrelerinden İFN- γ salgısını uyarması nedeniyle Th1 yanıtının gelişiminde gerekli bir sitokindir. ASH'ler olan monosit, makrofaj ve DH'ler in vivo İL-12 salgılayan hücrelerdir. Bu hücreler aynı zamanda KV'nin primer hedefidir (3, 35). Monositlerin KV ile infeksiyonu sonucu İL-12p40 ve p70 salgısının azaldığı Atabani ve arkadaşlarının çalışmasında bildirilmiştir (3). Karp ve arkadaşlarının çalışmasında ise İL-12'nin yanı sıra, İL-12'nin bir inhibitörü olan İL-10'da da azalma gösterilmiştir. Bu bulguya dayanarak KV ve CD46 arasındaki doğrudan bir etkileşim nedeniyle İL-12 sentezinin doğrudan azaltılarak hücre immünitenin baskılandığı ileri sürülmüştür (35). Yine aynı çalışmada KV ile infekte monositlerin sitokin profilleri, anti-CD46 uyarısı verilen monositleriyle aynı bulunmuştur (35). Ayrıca İL-10 ve İL-12'de gösterilen baskılanmanın KV suşuna bağımlı olmadığı bildirilmiştir. Bu durumda olası SSPE suşlarının CD46'ya bağlanma olasılığı varsa, hedef hücreler olan ASH'lerden İL-12 sentezinin baskılanabileceği düşünülebilir.

SSPE'de lenfosit ve monosit oranları incelendiğinde, CD3⁺ lenfosit oranı farklı bulunmaz iken, CD14⁺ monosit oranının azalmış olduğu görüldü. SSPE'de İL-12 salgısındaki azalmanın bir sebebi de monosit oranının düşük bulunması olabilir. Olası diğer bir mekanizma hücre yüzeyinde ekspresyonu düşük bulunan CD46 moleküllerinin Tr1 yönündeki uyarısının yeterli bir yanıt geliştirememesidir.

SSPE hastalarının CD3⁺ T lenfositleri ve CD14⁺ monositlerinin CD46 taşıma oranlarının kontrollere göre daha düşük bulunması, KV'nin CD46'ya bağlandığına ve hücreleri infekte ettiğine işaret edebilir. KV-CD46 etkileşmesi sonucu, CD46 hücre içine alınıp hücre yüzeyindeki ekspresyonu azalıyor

olabilir. Nitekim McQuaid ve arkadaşları (42) ile Ogata ve arkadaşlarının (48) çalışmaları bu düşüncüyü destekler niteliktedir. Her iki çalışmada da SSPE'li beyin materyalinde lezyonlar dışında normal bir CD46 ekspresyonu gösterilirken, lezyonlarda KV ile infekte hücrelerde CD46 ekspresyonu görülmemiştir. SSPE'de CD46 ekspresyonunun mu azaldığı, yoksa KV'nin bağlanmasıyla CD46'nın hücre içine mi alındığı araştırılacaktır.

Çalışmamızda SSPE hastalarında CD3/CD46 uyarısıyla proliferatif yanıtta bir azalma görüldü. CD3/CD28 uyarısıyla da SSPE'de proliferasyonda düşüş görülmesine rağmen, bu bulgu anlamlılık düzeyine erişmedi. CD3/CD28 uyarısıyla SSPE'de proliferasyonun baskılanması, önceki çalışmamızda bildirdiğimiz PPD uyarısıyla ve spontan gelişen proliferatif yanıtta baskılanma (67) ile uyumlu bulundu.

SSPE'de, kızamıkta gösterildiği gibi, immün yanıtta bir düzenlenme bozukluğu olduğunun bulguları vardır. Hastaların BOS ve serumlarında KV'ye özgül antikor ve oligoklonal bantların gösterilmesi, humoral immün yanıtın geliştiğini göstermektedir. Önceki çalışmamızda SSPE'de PPD uyarısıyla İFN- γ salgısında görülen azalma (67), bu çalışmamızda da tüm uyarı kombinasyonlarında gösterilmiş, fakat anlamlılığa ulaşamamıştır. Bu bulgu SSPE'de İFN- γ salgısında genel bir baskılanmanın olduğunu düşündürür. İL-10 ve İL-12'nin ise SSPE'de düşük düzeyde sentezlenmesi, Th2 yanıtının baskın olmamasına rağmen etkili bir Th1 yanıtının gelişmediğini düşündürür. Th1 yönlendirmesini sağlayan İL-12 salgısının baskılanması, Th1 yanıtının en önemli sitokini olan İFN- γ salgısını da etkilediği ve Th1/Th2 sitokin dengesinin bozulduğu ileri sürülebilir.

Bulgularımızdan biri de tüm uyarı kombinasyonlarıyla SSPE hastalarında İL-2 salgısının artmış olmasıdır. İL-2 salgısında da CD3/CD28 uyarısıyla görülen artma, anlamlılık düzeyine erişmemiştir. SSPE'de İL-2 salgısında artışın gösterilmesi genel bir T hücre aktivasyonuna ve inflamatuvar bir yanıtın geliştiğine işaret etmektedir. Fakat bu yanıtın KV'yi yok etmede yetersiz kaldığı düşünülmektedir.

Çalışmanın yöntemi ile ilgili sınırlılıklar da vardır. CD46 uyarı için Kemper ve arkadaşlarının çalışmasında (36) ayrıştırılmış CD4⁺ T hücrelerin kullanılmış

olmasına rağmen, biz çalışmamızda hasta ve kontrollerin PKMH'lerini, CD4⁺ hücrelerini ayırmadan kullandık. Hücre ayrımı için yeterli miktarda kan alınamadığından bu yöntemin değiştirilerek uygulanması farklı bulguların nedeni olabilir.

CD46 ile uyarılan Tr1 hücrelerinden farklı düzenleyici T hücre alt gruplarının SSPE hastalarında kontrollere göre farklılığı olasılığı bu çalışmada ele alınmamıştır. Ancak CD4⁺CD25⁺ düzenleyici hücre işlevleri de araştırılacak, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre alt gruplarını oluşturan farklı düzenleyici T hücre tipleri de incelenecektir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, SSPE'de gelişen yanıtın virüsü yok etmede yetersiz kaldığı ileri sürülebilir. SSPE suşlarının, KV reseptörü olarak tanımlanan CD46 molekülünü kullandıkları yönünde şüpheler olmasına rağmen, CD46'nın KV ile etkileşmesi sonucu baskılayıcı tipte veya Th2 yönünde bir immün yanıtın gelişebileceği ya da yetersiz bir Th1 yanıtının olduğu düşünülebilir. SSPE'de, CD46'nın yanı sıra hastalık gelişiminden sorumlu olabileceği düşünülen diğer olası reseptörler de incelenmelidir.

SSPE'de gelişen immün yanıtın özelliklerini belirlemek, bu hastalığın gelişme mekanizmalarını anlamamıza, immün yanıtın sürekliliği ve etkinliğinin sağlanarak olası tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Diğer olası KV reseptörlerini ve SSPE gelişimindeki rollerini de incelemek, hastalık patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunabilir.

KAYNAKLAR

1. Anlar B, Söylemezoğlu F, Aysun S, Köse G, Belen D Yalaz K. Tissue inflammatory response in subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). *J Child Neurol*, 2001;16:895-900.
2. Anlar B, Köse G, Gürer Y, Altunbaşak Ş, Haspolat S, Okan M. Changing epidemiological features of subacute sclerosing panencephalitis. *Infection*, 2001;29:192-195.
3. Atabani SF, Byrnes AA, Jaye A, Kidd IM, Magnusen AF, Whittle H, Karp CL. Natural measles causes prolonged suppression of interleukin-12 production. *J Infect Dis*, 2001;184:1-9.
4. Aysun S, Sanal Ö, Renda Y, Berkel İ, Yalaz K, Ersoy F, Özdirim E. Cell mediated immunity in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Brain Dev*, 1984;6:391-396.
5. Borrow P, Oldstone MBA. Measles virus-mono-nuclear cell interactions. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1995;191:85-100.
6. Brajczewska-Fischer W, Iwinska B, Kruszewska J, Korlak J, Czlonkowska A. Interleukin 1 and 2 production by peripheral blood mononuclear cells in subacute sclerosing panencephalitis and exacerbation of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*, 1989;80:390-393.
7. Cathomen T, Mrkic B, Spehner D, Drillien R, Naef R, Pavlovic J, Aguzzi A, Billeter MA, Cattaneo R. A matrix-less measles virus is infectious and elicits extensive cell fusion: consequences for propagation in the brain. *EMBO J*, 1998;17:3899-3908.
8. Cathomen T, Naim HY, Cattaneo R. Measles virus with altered envelope protein cytoplasmic tails gain cell fusion competence. *J Virol*, 1998;72:1224-1234.
9. Choppin PW, Richardson CD, Merz DC, Hall WW, Scheid A. The function and inhibition of the membrane glycoproteins of Paramyxoviruses and Myxoviruses and the role of measles virus M protein in subacute sclerosing panencephalitis. *J Infect Dis*, 1981;143:352-363.
10. Cztonkowska A, Klos M, Iwinska B. Lack of relationship between the HLA system and subacute sclerosing panencephalitis. *Acta Neurol Scand*, 1986;73:304-305.

11. Dhib-Jalbut S, McFarland HF, Mingioli ES, Sever JL, McFarlin DE. Humoral and cellular immune responses to matrix protein of measles virus in subacute sclerosing panencephalitis. *J Virol*, 1988;62:2483-2489.
12. Dhib-Jalbut S, Jacobson S, McFarlin DE, McFarland HF. Impaired human leukocyte antigen-restricted measles virus-specific cytotoxic T-cell response in subacute sclerosing panencephalitis. *Ann Neurol*, 1989;25:272-280.
13. Dhiman N, Jacobson RM, Poland GA. Measles virus receptors: SLAM and CD46. *Rev Med Virol*, 2004;14:217-229.
14. Dyken PR. Neuroprogressive disease of post-infectious origin: A review of a resurging subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 2001;7:217-225.
15. Fugier-Vivier I, Servet-Delprat C, Rivaller P, Rissoan M-C, Liu Y-J, Roubardin-Combe C. Measles virus suppresses cell-mediated immunity by interfering with the survival and functions of dendritic and T cells. *J Exp Med*, 1997;186:813-823.
16. Hara T, Yamashita S, Aiba H, Nihei K, Koide N, Good RA, Takeshita K. Measles virus-specific T helper 1/T helper 2-cytokine production in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurovirol*, 2000;6:121-126.
17. Harada F, Onisawa S, Suzuk, K, Matsumoto H, Sasazuki T. HLA and C4 in subacute sclerosing panencephalitis. *Tissue Antigens*, 1987;30:73-75.
18. Hirano A, Wang AH, Gombart AF, Wong TC. The matrix proteins of neurovirulent subacute sclerosing panencephalitis virus and its acute measles virus progenitor are functionally different. *PNAS*, 1992;89:8745-8749.
19. Hirsch RL, Griffin DE, Johnson RT, Cooper SJ, Lindo de Soriano I, Roedenbeck S, Vaisberg A. Cellular immune responses during complicated and uncomplicated measles virus infections of man. *Clin Immunol Immunopathol*, 1984;31:1-12.
20. Hofman FM, Hinton DR, Baemayr J, Weil M, Merrill JE. Lymphokines and immunoregulatory molecules in subacute sclerosing panencephalitis. *Clin Immunol Immunopathol*, 1991;58:331-342.

21. Howe RC, Dhiman N, Ovsyannikova IG, Polan G. Induction of CD4⁺ T cell proliferation and in vitro Th1-like responses to measles virus. *Clin Exp Immunol*, 2005;140:333-342.
22. Gans HA, Maldonado Y, Yasukawa LL, Beeler J, Audet S, Rinki MM, DeHowitz R, Arvin AM. IL-12, IFN- γ , and T cell proliferation to measles in immunized infants. *J Immunol*, 1999;162:5569-5575.
23. Graves MC. Subacute sclerosing panencephalitis. *Neurologic Clinics*, 1984;2:267-280.
24. Griffin DE, Cooper SJ, Hirsch RL, Johnson RT, Lindo de Soriano I, Roedenbeck S, Vaisberg A. Changes in plasma IgE levels during complicated and uncomplicated measles virus infections. *J Allergy Clin Immunol*, 1985;76:206-213.
25. Griffin DE, Moench TR, Johnson RT, Lindo de Soriano I, Vaisberg A. Peripheral blood mononuclear cells during natural measles infection: Cell surface phenotypes and evidence for activation. *Clin Immunol Immunopathol*, 1986;40:305-312.
26. Griffin DE, Ward BJ, Jauregui E, Johnson RT, Vaisberg A. Immune activation in measles. *N Engl J Med*, 1989;320:1667-1672.
27. Griffin DE, Ward BJ, Jauregui E, Johnson RT, Vaisberg A. Immune activation during measles: Interferon- γ and neopterin in plasma and cerebrospinal fluid in complicated and uncomplicated disease. *J Infect Dis*, 1990;161:449-453.
28. Griffin DE, Ward BJ. Differential CD4 T cell activation in measles. *J Infect Dis*, 1993;168:275-281.
29. Grosjean I, Caux CC, Bella C, Berger I, Wild F, Banchereau J, Kaiserlian D. Measles virus infects human dendritic cells and blocks their allostimulatory properties for CD4⁺ T cells. *J Exp Med*, 1997;186:801-812.
30. Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Reeder J, Takasu T, Miki K, Maeba S, Furukawa S. Analysis of serum and cerebrospinal fluid cytokine levels in subacute sclerosing panencephalitis in Papua New Guinea. *Cytokine*, 2006;33:17-20.

31. Inoue T, Kira R, Nakao F, Ihara K, Bassuny WM, Kusuhara K, Nihei K, Takeshita K, Hara T. Contribution of the interleukin 4 gene to susceptibility to subacute sclerosing panencephalitis. *Arch Neurol*, 2002;59:822-827.
32. Jin L, Beard S, Hunjan R, Brown DWG, Miller E. Characterization of measles virus strains causing SSPE: A study of 11 cases. *J Neurovirol*, 2002;8:335-344.
33. Kahana E, Brautbar C. HLA antigens in subacute sclerosing panencephalitis patients in Israel. *Acta Neurol Scand*, 1991;83:367-369.
34. Kai C, Yamanouchi K, Sakata H, Miyashita N, Takahashi H, Kobune F. Nucleotide sequences of the M gene of prevailing wild measles viruses and a comparison with subacute sclerosing panencephalitis virus. *Virus Genes*, 1996;12:85-87
35. Karp CL, Wysocka M, Wahl LM, Ahearn JM, Cuomo PJ, Sherry B, Trinchieri G, Griffin DE. Mechanism of suppression of cell-mediated immunity by measles virus. *Science*, 1996;273:228-231.
36. Kemper C, Chan AC, Green JM, Brett KA, Murphy KM, Atkinson JP. Activation of human CD4⁺ cells with CD3 and CD46 induces a T-regulatory cell 1 phenotype. *Nature*, 2003;421:388-392.
37. Kerdiles YM, Sellin CI, Druelle J, Horvat B. Immunosuppression caused by measles virus: role of viral proteins. *Rev Med Virol*, 2006;16:49-63.
38. Kusuhara K, Sasaki Y, Nakao F, Ihara K, Hattori H, Yamashita S, Nihei K, Koide N, Aiba H, Takeshita K, Hara T. Analysis of measles virus binding sites of the CD46 gene in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Infect Dis*, 2000;181:1447-1449.
39. Marie JC, Kehren J, Trescol-Biemont M-C, Evlashev A, Valentin H, Walzer, Tedone R, Loveland B, Nicolas J-F, Rabourdin-Combe C, Horvat B. Mechanism of measles virus-induced suppression of inflammatory immune responses. *Immunity*, 2001;14:69-79.
40. Markowitz LE, Preblud SR, Fine PEM, Orenstein WA. Duration of live measles vaccine-induced immunity. *Pediatr Infect Dis J*, 1990;9:101-110.

41. McChesney MB, Altman A, Oldstone MBA. Suppression of T lymphocyte function by measles virus is due to cell cycle arrest in G1. *J Immunol*, 1988;140:1269-1273.
42. McQuaid S, Cosby SL. An immunohistochemical study of the distribution of the measles virus receptors, CD46 and SLAM, in normal tissues and subacute sclerosing panencephalitis. *Lab Invest*, 2002;82:403-409.
43. Mehta PD, Kulczycki J, Mehta SP, Sobczyk W, Coyle PK, Sersen EA, Wisniewski HM. Increased levels of β 2-microglobulin, soluble interleukin-2 receptor, and soluble CD8 in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Clin Immunol Immunopathol*, 1992;65:53-59.
44. Mehta PD, Kulczycki J, Mehta SP, Coyle PK, Wisniewski HM. Increased levels of interleukin-1 β and soluble intercellular adhesion molecule-1 in cerebrospinal fluid of patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Infect Dis*, 1997;175:689-692.
45. Mistchenko AS, Fornari MC, Viegas M, Barrero PR, Diez RA. Detection of interleukin 10 in cerebrospinal fluid of patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurovirol*, 2005;11:66-69.
46. Nagano I, Nakamura S, Yoshioka M, Kogure K. Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in brain lesions in subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology*, 1991;41:1639-1642.
47. Nanan R, Rauch A, Kaempgen E, Niewiesk S, Kreth HW. A novel sensitive approach for frequency analysis of measles virus-specific memory T-lymphocytes in healthy adults with a childhood history of natural measles. *J Gen Virol*, 2000;81:1313-1319.
48. Ogata A, Czub S, Ogata S, Cosby SL, McQuaid S, Budka H, ter Meulen V, Schneider-Schaulies J. Absence of measles virus receptor (CD46) in lesions of subacute sclerosing panencephalitis brains. *Acta Neuropathol*, 1997;94:444-449.
49. Ogata S, Ogata A, Schneider-Schaulies S, Schneider-Schaulies J. Expression of the interferon- α/β -inducible MxA protein in brain lesions of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). *J Neurol Sci*, 2004;223:113-119.

50. Oldstone MBA, Dales S, Tishon A, Lewicki H, Martin L. A role for dual viral hits in causation of subacute sclerosing panencephalitis. *J Exp Med*, 2005;202:1185-1190.
51. Önal AE, Gürses C, Saruhan Direskeneli G, Yılmaz G, Demirbilek V, Yentür SP, Özel S, Yapıcı Z, Tümerdem Y, Gökyiğit A. Subacute sclerosing panencephalitis surveillance study in Istanbul. *Brain & Development*, 2006;28:183-189.
52. Ovsyannikova IG, Reid KC, Jacobson RM, Oberg AL, Klee GG, Poland GA. Cytokine production patterns and antibody response to measles vaccine. *Vaccine*, 2003; 21:3946-3953.
53. Poland GA. Immunogenetic mechanisms of antibody response to measles vaccine: the role of the HLA genes. *Vaccine*, 1999;17:1719-1725.
54. Rima BK, Duprex WP. Molecular mechanisms of measles virus persistence. *Virus Research*, 2005;111:132-147.
55. Rittner C, Meier EM, Stradmann B, Giles CM, Kochling R, Mollenhauer E, Kreth HW. *Immunogenetics*, 1984;20:407-415.
56. Russell S. CD46: A complement regulator and pathogen receptor that mediates links between innate and acquired immune function. *Tissue Antigens*, 2004;64:111-118.
57. Saruhan-Direskeneli G, Gürses C, Demirbilek V, Yentür SP, Yılmaz G, Önal E, Yapıcı Z, Yalçınkaya C, Çokar Ö, Akman-Demir G, Gökyiğit A. Elevated interleukin-12 and CXCL10 in subacute sclerosing panencephalitis. *Cytokine*, 2005;32:104-110.
58. Schneider-Schaulies S, Niewiesk S, Schneider-Schaulies J, ter Meulen V. Measles virus induced immunosuppression: Targets and effector mechanisms. *Current Molecular Medicine*, 2001;1:163-181.
59. Schneider-Schaulies S, ter Meulen V. Modulation of immune functions by measles virus. *Springer Semin Immunopathol*, 2002;24:127-148.
60. Schnorr J-J, Xanthakos S, Keikavoussi P, Kaempgen E, ter Meulen V. Induction of maturation of human blood dendritic cell precursors by measles virus is associated with immunosuppression. *PNAS*, 1997;94:5326-5331.

61. Slifka MK, Homann D, Tishon A, Pagarigan R, Oldstone MBA. Measles virus infection results in suppression of both innate and adaptive immune responses to secondary bacterial infection. *J Clin Invest*, 2003;111:805-810.
62. Tamashiro VG, Perez HH, Griffin DE. Prospective study of the magnitude and duration of changes in tuberculin reactivity during uncomplicated and complicated measles. *Pediatr Infect Dis J*, 1987;6:451-454.
63. Tekgül H, Tütüncüoğlu S, Kütükçüler N, Dizdarer G, Hüseyinov A. Lymphocyte subsets and inflammatory mediators in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Child Neurol*; 1999;14:418-421.
64. Torisu H, Kusuhara K, Kira R, Bassuny WM, Sakai Y, Sanefuji M, Takemoto M, Hara T. Functional *MxA* promoter polymorphism associated with subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology*, 2004;62:457-460.
65. Yalaz K, Anlar B, Renda Y, Aysun S, Topcu M, Özdirim E. Subacute sclerosing panencephalitis in Turkey: epidemiological features. *J Trop Pediatr*, 1988;34:301-305.
66. Yanagi Y, Cubitt BA, Oldstone MBA. Measles virus inhibits mitogen-induced T cell proliferation but does not directly perturb the T cell activation process inside the cell. *Virology*, 1992;187:280-289.
67. Yentür SP, Gürses C, Demirbilek V, Yılmaz G, Önal AE, Yapıcı Z, Yalçınkaya C, Çokar Ö, Gökyiğit A, Saruhan-Direskeneli G. Alterations in cell-mediated immune response in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neuroimmunol*, 2005;170:179-185.
68. Wong-Chew RM, Beeler JA, Audet S, Santos HI. Cellular and humoral immune responses to measles in immune adults re-immunized with measles vaccine. *J Med Virol*, 2003;70:276-280.
69. Zwiauer K, Forstenpointner E, Popow-Kraupp T, Hauser E, Jellinger KA. Rapid progressive subacute sclerosing panencephalitis after perinatally acquired measles virus infection. *Lancet*, 1995;345:1124.

8.16.434

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
Yerel Etik Kurulu

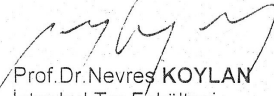
Sayı: 473

Tarih: 3.10.2002

Sayın Prof.Dr.Güher Saruhan Direskeneli
Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz "Subakut Sklerozan Panensefalit Hastalarında Kızamık Proteinlerine Karşı T Hücre ve Antikor Yanıtları" isimli tek merkezli çalışma etik kurulumuzda incelenerek, etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü.Gerekli destek sağlandığı takdirde uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr.Nevres KOYLAN
İstanbul Tıp Fakültesi
Etik Kurul Başkanı

Eki:Tutanak

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sibel Penbe	Soyadı	Yentür
Doğum Yeri	Üsküdar-İstanbul	Doğum Tarihi	05/08/1973
Uyruğu	T.C.		
Tel	0212 414 22 53	Email	syentur@gmail.com

Eğitimi

Eğitim Düzeyi	Lise / Fakülte, Üniversite	Meznet Yılı
Doktora	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji AD	2006
Yüksek Lisans	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji AD	1999
Fakülte/Yük.Okul	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü	1995
Lise	Üsküdar Anadolu Lisesi	1991

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Laborant Yardımcısı	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü Tıbbi Biyoloji AD	1998-2001
2. Laborant	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji AD	2001-
3.		-

Yabancı Dilleri

	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	Orta	Orta
Almanca	Çok iyi	İyi	İyi
Fransızca	-	-	-

Çok iyi, iyi, orta, zayıf, - olarak değerlendirin

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word, Excell, PowerPoint	Çok iyi
SPSS istatistik programı	İyi

Yayınlar

- Çelet B, Akman-Demir G, Serdaroğlu P, Yentür SP, Taşcı B, van Noort JM, Eraksoy M, Saruhan-Direskeneli G. Anti α B-crystallin immunoreactivity in inflammatory nervous system diseases. *J Neurol*, 2000;247:935-939.
- Yentür SP, Akman-Demir G, Eraksoy M, Saruhan-Direskeneli G. Autoreactivity To Myelin Antigens Related To HLA Associations With Multiple Sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 2002;8:278-283.
- Saruhan-Direskeneli G, Yentür SP, Akman-Demir G, Işık N, Serdaroğlu P. Cytokines and Chemokines in Neuro-Behçet's Disease Compared to Multiple Sclerosis and Other Neurological Diseases. *J Neuroimmunol*, 2004;145:127-134.
- Yılmaz V, Yentür SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. *Cytokine*, 2005;30:188-194.
- Saruhan-Direskeneli G, Gürses C, Demirbilek V, Yentür SP, Yılmaz G, Önal E, Yapıcı Z, Yalçınkaya C, Çokar Ö, Akman-Demir G, Gökyiğit A. Elevated interleukin-12 and CXCL10 in subacute sclerosing panencephalitis. *Cytokine*, 2005;32:104-110.
- Yentür SP, Gürses C, Demirbilek V, Yılmaz G, Önal AE, Yapıcı Z, Yalçınkaya C, Çokar Ö, Gökyiğit A, Saruhan-Direskeneli G. Alterations in cell-mediated immune response in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neuroimmunol*, 2005;170:179-185.
- Önal AE, Gürses C, Saruhan-Direskeneli G, Yılmaz G, Demirbilek V, Yentür SP, Özel S, Yapıcı Z, Tümerdem Y, Gökyiğit A. Subacute sclerosing panencephalitis surveillance study in Istanbul. *Brain & Development*, 2006;28:183-189.

Tebliğler

Sözel Sunumlar

- İşgör-Tilki E, Yentür SP, Gürses C, Demirbilek V, Yılmaz G, Çokar Ö, Önal E, Gökyiğit A, Saruhan-Direskeneli G. Subakut Sklerozan Panensefalit Hastalarında İnsan İnterferon- γ Genindeki Tek Nükleotid

Polimorfizmi. 2. Ulusal Nörobilim Kongresi, 16-20 Nisan 2003, Bursa, Türkiye.

- Yentür SP, Gürses C, Demirbilek V, Yılmaz G, Çokar Ö, Önal AE, Saruhan-Direskeneli G. Proliferative responses to myelin antigens in subacute sclerosing panencephalitis patients. 15th European Immunology Congress (EFIS 2003), 8-12 Haziran 2003, Rodhes, Greece.
- Yentür SP, Demirbilek V, Uysal V, Gürses C, Adın-Çınar S, Kuru Ü, Yılmaz G, Çokar Ö, Önal E, Yapıcı Z, Gökyiğit A, Saruhan-Direskeneli G. Subakut Sklerozan Panensefalit Hastalarında Düzenleyici T Hücre ve Doğal Öldürücü Hücre (Nk) Dağılımı. XVIII. Ulusal İmmünoloji Kongresi, 7-10 Eylül 2005, Bursa, Türkiye.

Poster Sunumları

- Yentür SP, Akman-Demir G, Eraksoy M, Saruhan-Direskeneli G. Multipl Skleroz Hastalarında Özgün Antijenlere T Hücre Yanıtlarının HLA ile İlişkisi. XV. Ulusal İmmünoloji Kongresi, Antalya, 1999.
- Yentür SP, Akman-Demir G, Eraksoy M, Saruhan-Direskeneli G. Proliferasyon Ölçümünde ³H-Timidin ve 5-Bromo-2'-Deoxy-Uridine (BrdU) Yöntemlerinin Karşılaştırması. XV. Ulusal İmmünoloji Kongresi, Antalya, 1999.
- S.P.Yentür, G.Akman-Demir, M.Eraksoy, G.Saruhan-Direskeneli: Antigen Specific T Cell Responses In Multiple Sclerosis (MS) Patients Related To MS-Associated HLA Types, 11th International Congress of Immunology, 22-27 Temmuz 2001, Stockholm.
- Yentür SP, Akman-Demir G, Eraksoy M, Saruhan-Direskeneli G. Antigen Specific T Cell Responses In Multiple Sclerosis (MS) Patients Related To MS-Associated HLA Types. 6th International Congress of Neuroimmunology, 4-7 Eylül 2001, Edinburgh.
- Yentür SP, Akman-Demir G, Işık N, Serdaroğlu P, Saruhan-Direskeneli G. Differential Release of Cytokines and Chemokines in Neuro-Behçet's

Disease. 10th International Conference on Behcet's Disease, 27-29 Haziran 2002, Berlin.

- Yentür SP, Gürses C, Demirbilek V, Yılmaz G, Önal E, Yapıcı Z, Çokar Ö, Gökyiğit A, Saruhan-Direskeneli G. No Response Against Myelin Basic Protein (MBP), Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG) and Alpha-B-Crystallin in Subacute Sclerosing Panencephalitis (SSPE). 7th International Congress of Neuroimmunology, 28 September-2 October 2004, Venice, Italy.
- Yentür SP, Demirbilek V, Gürses C, Uysal S, Yılmaz G, Çokar Ö, Önal E, Kuru Ü, Yapıcı Z, Gökyiğit A, Saruhan-Direskeneli G. Responses to CD3 And CD46 Stimulation In Subacute Sclerosing Panencephalitis (SSPE) Patients. 16th European Congress of Immunology, 6-9 September, 2006, Paris,France.

Sertifikalar/Ödüller

- TÜBİTAK-Beyin Araştırmaları Derneği (BAD) 2002 yılı Roche Proje Destek Ödülü (Subakut Sklerozan Panensefalit Hastalarında Kızamık Proteinlerine Karşı T Hücre ve Antikor Yanıtları)

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Bale, opera ve sinema izlemek, müzik dinlemek, kitap okumak (Anadolu ve Yakındoğu tarihi, biyografi, söyleşi, gezi).