

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**SUBAKUT SKLEROZAN PANENSEFALİTTE
DEMİYELİNİZASYON MEKANİZMASI:
DENEYSEL BİR ÇALIŞMA**

Dr. Serdar BEKEN

UZMANLIK TEZİ

**ANKARA
2008**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**SUBAKUT SKLEROZAN PANENSEFALİTTE
DEMİYELİNİZASYON MEKANİZMASI:
DENEYSEL BİR ÇALIŞMA**

Dr. Serdar BEKEN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Banu ANLAR

**ANKARA
2008**

TEŞEKKÜR

Pediatric asistanlığım süresince gösterdiği sonsuz destek ve hoşgörü nedeni ile Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülsev Kale'ye, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Beril Talim'e, tez ile ilgili her türlü sorunda desteğini hep hissettiğim Dr. Aslı Kurne'ye, laboratuvar aşamasındaki destek ve katkılarından dolayı Dr. İlyas Onbaşlar'a ve şu anda aramızda olmayan Dr. Günfer Aydın'a, tezimin fikir aşamasından yazılmasına kadar geçen sürede bilgi birikimini, deneyimini ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen Prof. Dr. Banu Anlar'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Her zaman yanımda olduğunu bildiğim, bugünlere gelmemdeki en büyük desteğim olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Serdar Beken

ÖZET

Beken S., Subakut Sklerozan Panensefalit (SSPE)'de Demiyelinizasyon Mekanizması: Deneysel Bir Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. Ankara, 2008

Subakut sklerozan panensefalit (SSPE), santral sinir sisteminde kızamık virüsünün yol açtığı kronik, kesin bir tedavisi bulunmayan bir enfeksiyondur. Ülkemizde her yıl ortalama 50-80 yeni vaka bildirilmekte olup, sıklığı 100000 kızamık vakasında 4-11 olarak verilen klasik bilgidен çok daha fazladır. SSPE'de, viral etkenli demiyelinizasyon oluşmakta, ancak patogenezi bilinmemektedir. Demiyelinizasyon, miyelini yapan oligodendroglial hücrelerin ölümü, inflamatuvar hücreler tarafından miyelinin parçalanması, endojen metabolik toksinler, oksidatif hasar, antikor-kompleman aracılıklı yıkım gibi çeşitli mekanizmalarla oluşabilir. Bu çalışmada SSPE'de demiyelinizasyon mekanizması, ve beyin-omurilik sıvısında (BOS) bulunabilecek çözüner maddelerin (sitokin, antikor, kompleman,...) demiyelinizasyonda doğrudan rolünün olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla hastaların BOS örnekleri farelere enjekte edilerek santral ve periferik demiyelinizasyona yol açıp açmadıkları incelendi. Erişkin Swiss albino farelere SSPE (n=3) ve kontrol grubu (n=3) hastaların BOS örnekleri kan beyin bariyerini bozmak üzere pertusis toksini ile birlikte intraperitoneal olarak enjekte edildi. Altı gün (n=7) ve 21 gün izlenen (n=7) fareler klinik olarak (tonusta, hareketlerde bozulma, arka ayaklarda parezi ya da paralizisi) kontrol edildi. Sürenin sonunda dekapite edilerek beyinleri ve siyatik sinirleri hematoksilen-eosin ve miyelın boyası ile morfoloji ve demiyelinizasyon, TUNEL metodu ile de apoptoz açısından değerlendirildi. Toplam 21 günlük izlemde hayvanlarda herhangi bir klinik belirti gözlenmedi. Histopatolojik incelemede beyinde yapısal değişiklik, nöronal dejenerasyon, inflamasyon ve demiyelinizasyon saptanmadı, gruplar arasında fark gözlenmedi. Siyatik sinirlerde de histolojik bulgular ve miyelınizasyon açısından gruplar arasında fark yoktu. Apoptozda artış saptanmadı.

Bu çalışmada SSPE'li hastaların BOS'da demiyelinizasyona yol açabilen faktörlerin varlığını destekleyen bulgulara rastlanmamıştır. SSPE'de demiyelinizasyon, miyelın

yıkımından ziyade ilerleyen hastalık sürecinde oligodendrositlerin ölümünden kaynaklanabilir.

Anahtar kelimeler: SSPE, kızamık, demiyelinizasyon, oligodendrosit, histopatoloji

ABSTRACT

Beken S., Demyelination Mechanisms in Subacute Sclerosing Panencephalitis (SSPE): an Experimental Study, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Pediatrics, Ankara, 2008.

Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) is a chronic disease caused by measles virus. Approximately 50-80 new cases per year are reported in Turkey: this number is higher than the classically known figure of 4-11/100000 measles cases. Demyelination occurs in the course of SSPE: its pathogenesis is unclear and could be caused by inflammatory cells, endogenous metabolic toxins, oxidative damage, and antibody- or complement-mediated myelin breakdown. In this study the presence of demyelinating soluble substances (cytokine, antibody, complement...) in the cerebrospinal fluid of SSPE patients was investigated experimentally by injection of CSF samples from patients into mice. Adult Swiss albino mice received an intraperitoneal injection of 0,5 ml CSF from two patient groups: SSPE (n=3) and control (n=3), for two consecutive days. To disrupt the blood brain barrier, pertussis toxin was given intraperitoneally before the CSF injections. Total 14 mice were followed-up for 6 days (n=7), or 21 days (n=7). Daily examinations were done for tail tone, gait, and paralysis. After the follow-up period, the brain and sciatic nerves were studied histopathologically (hematoxyline-eosine, myelin stainings and TUNEL method) for peripheral or central demyelination and for apoptosis. None of the mice developed clinical signs during follow-up. On histopathological examination there was no difference in brain structures; neuronal degeneration, inflammation and demyelination was not seen in either group. Sciatic nerves revealed no difference in morphology, myelin thickness, myelin morphology between groups. No significant apoptosis was observed.

In this study we found no evidence that the CSF in SSPE contains substances causing demyelination. Demyelination in SSPE may be caused by oligodendrocyte death during progressing disease rather than myelin degradation.

Key words: SSPE, measles, demyelination, oligodendrocyte, histopathology

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| TEŞEKKÜR | ii |
| ÖZET | iii |
| ABSTRACT | v |
| İÇİNDEKİLER | vi |
| KISALTMALAR | viii |
| ŞEKİLLER | x |
| TABLolar | xi |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1 Subakut sklerozan panensefalit epidemiyolojisi | 2 |
| 2.2 SSPE’de tanı ve klinik bulgular | 5 |
| 2.3 Kızamık virüsü ve konakçı ile etkileşimi | 7 |
| 2.4 Kızamık enfeksiyonuna erken ve geç dönem immün yanıtlar | 10 |
| 2.5 Santral sinir sistemi hücrelerinde kızamık virüsü | 12 |
| 2.6 SSPE’de patogenez: nörodejeneratif mekanizmalar | 14 |
| 2.7 Miyelin ve SSPE’de demiyelinizasyon | 15 |
| 2.8 Kızamık virüsünün neden olduğu diğer demiyelinizan hastalıklar | 20 |

| | | |
|------|--|----|
| 2.9 | Morbilivirüs ailesinin demiyelinizasyon yapan diğer üyeleri | 21 |
| 2.10 | SSPE'nin deneysel modeli | 23 |
| 3. | GEREÇ ve YÖNTEM | 25 |
| 3.1 | Hastalar | 25 |
| 3.2 | Deneyler | 26 |
| 3.3 | Klinik izlem | 27 |
| 3.4 | Histopatolojik inceleme | 27 |
| 4. | BULGULAR | 30 |
| 4.1 | Kan-beyin bariyerinin bozulması | 30 |
| 4.2 | Farelerin klinik izlemi | 30 |
| 4.3 | Histopatolojik inceleme | 31 |
| 5. | TARTIŞMA | 40 |
| 6. | SONUÇLAR ve ÖNERİLER | 45 |
| 7. | KAYNAKLAR | 46 |

KISALTMALAR

| | |
|-------------|---------------------------------------|
| ADEM | : Akut demiyelinizan ensefalomyelit |
| BOS | : Beyin-omurilik sıvısı |
| CDV | : Canine distemper virus |
| DSÖ | : Dünya Sağlık Örgütü |
| EEG | : Elektroensefalografi |
| F | : F protein |
| F0 | : İnaktif F proteini |
| GBS | : Guillain Barre Sendromu |
| H | : Hemaglutinin protein |
| HE | : Hematoksilen-eozin |
| Ig | : İmmünglobulin |
| Ip | : İntraperitoneal |
| IFN | : İnterferon |
| IL | : İnterlökin |
| kD | : Kilodalton |
| L | : Polimeraz protein |
| M | : Matriks protein |
| MIBE | : Kızamık inklüzyon cismi ensefaliti |
| MBP | : Miyelin bazik protein |
| MOG | : Miyelin oligodendrosit glikoprotein |
| MRG | : Manyetik rezonans görüntüleme |

| | |
|--------------|--|
| MRS | : Manyetik rezonans spektroskopisi |
| MS | : Multipl skleroz |
| P | : Fosfoprotein |
| PDV | : Phocine distemper virus |
| PLP | : Proteolipid protein |
| PT | : Pertusis toksin |
| RNP | : Ribonükleoprotein |
| SLAM | : Signalling lymphocyte activation molecule |
| SSPE | : Subakut sklerozan panensefalit |
| SSS | : Santral sinir sistemi |
| Th | : Yardımcı T lenfosit |
| Ts | : Baskılayıcı T lenfosit |
| Tu | : Transkripsiyon ünitesi |
| TMEV | : Theiler's murine encephalitis virus |
| TNF | : Tümör nekrozis faktör |
| TUNEL | : The terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)-mediated dUTP nick end labelling |

ŞEKİLLER

| Şekil | Sayfa |
|--|-------|
| 2.1. SSPE’de erken ve geç dönem kraniyal MRG görüntüleri | 6 |
| 2.2. Kızamık virüsü hayat döngüsü, genom organizasyonu, virüs membranının şematik gösterimi | 9 |
| 2.3. SSS’deki hücrelerin dağılımı | 12 |
| 2.4. SSPE’de viral inlüzyonlar, perivasküler hücre infiltrasyonu demyelinizasyon | 13 |
| 2.5. Periferik sinir kesitinde miyelin kılıf yapısının şematik görünümü | 15 |
| 2.6. Periferik sinir kesitleri | 16 |
| 2.7. TNF’nin indüklediği demiyelinizasyon | 20 |
| 2.8. Morbillivirüs ailesinin demiyelinizasyonu | 22 |
| 3.2. Enjeksiyon grupları | 29 |
| 4.1. PT sonrası Evans mavisinin kan-beyin bariyerinden geçişi | 30 |
| 4.2. Altıncı gün değerlendirmesi (HE, 2x orijinal büyütme) | 32 |
| 4.3. Altıncı gün değerlendirmesi (HE, 20x orijinal büyütme) | 33 |
| 4.4. Altıncı gün değerlendirmesi (miyelin boyası) | 34 |
| 4.5. Yirmi birinci gün değerlendirmesi (HE, 2x orijinal büyütme) | 35 |
| 4.6. Yirmi birinci gün değerlendirmesi (HE, 20x orijinal büyütme) | 36 |
| 4.7. Yirmi birinci gün değerlendirmesi (miyelin boyası) | 37 |
| 4.8. Apoptoz boyaması | 38 |
| 4.9. Siyatik sinir değerlendirmesi | 39 |

TABLÖLAR

| Tablo | Sayfa |
|---|--------------|
| 2.1. Yıllara göre nüfus, SSPE ve kızamık vaka sayıları | 3 |
| 2.2. Yıllara göre kızamık aşı yüzdeleri, kızamık prevelansı ve SSPE insidansı | 3 |
| 2.3. Demiyelinizan virüsler | 17 |
| 3.1. SSPE hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri | 26 |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Subakut sklerozan panensefalit (SSPE), santral sinir sisteminde (SSS) persistan kızamık virüsünün yol açtığı kronik bir enfeksiyondur. İnsidansı 100000 kızamık vakasında 4-11 olarak bildirilmiştir. Kızamık enfeksiyonu geçirildikten sonra, 1-20 yıllık (ortalama 6-8 yıl) latent bir dönemin ardından klinik bulgu verir. Kesin bir tedavisi yoktur, ancak korunmanın en etkin yolu yaygın aşılama ile kızamığın eradikasyonudur.

Hastalığın başlangıç bulguları hafif olabilir, ancak SSPE ilerleyici, genellikle ölümcül bir hastalıktır. Hastalığın tanısı klinik bulgular, elektroensefalografi (EEG), ve serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) kızamık antikorunun saptanması ile konulur.

SSPE'nin patolojisinde erken dönemde inflamasyon, ilerleyen dönemlerde ise nöronal dejenerasyon, gliyozis, astrositlerde proliferasyon, perivasküler lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonu ile demiyelinizasyon mevcuttur.

Demiyelinizasyon, miyelin kılıfın bütünlüğünün bozulmasıdır. Demiyelinizan hastalıklarda miyelin birincil olarak etkilenebilir veya oligodendrositlerin hasarına ikincil olarak miyelin devamlılığı bozulabilir. SSPE de viral etkenli bir demiyelinizan hastalıktır, ancak demiyelinizasyonun patogenezi bilinmemektedir: miyelini yapan oligodendroglial hücrelerin ölümü, inflamatuvar hücreler tarafından miyelinin parçalanması, endojen metabolik toksinler, oksidatif hasar, antikor-kompleman aracılıklı yıkım gibi çeşitli mekanizmalar öne sürülmektedir.

Bu çalışmada SSPE'de demiyelinizasyonun mekanizması ve santral sinir sistemi BOS kompartmanında bulunabilecek çözünür inflamatuvar moleküllerin (sitokin, antikor, kompleman,...) doğrudan rollerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Demiyelinizasyon patogenezi saptanabilirse, etken moleküllerin ortadan kaldırılmaya çalışılması veya bloke edilmesi SSPE'nin tedavisinde yararlı olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Subakut sklerozan panensefalit epidemiyolojisi

Subakut sklerozan panensefalit (SSPE), santral sinir sisteminde persistan kızamık virüsünün yol açtığı, yavaş seyirli bir enfeksiyondur (1). İlk defa Dawson tarafından 1933 yılında, istemsiz hareketleri ve mental durumunda bozulma olan bir çocuğun beyin biyopsisinde gri cevherde görülen inklüzyon cisimleri nedeni ile “subakut inklüzyon cisim ensefaliti” olarak tanımlanmıştır (1). Bouteille'nin 1965 yılında beyinde virüsü düşündüren yapılar saptamasının ardından 1969 yılında, SSPE hastasından kızamık virüsü izole edilmiştir (1, 2).

Çoğunluğu gelişmekte olan ülkelerden olmak üzere, dünyanın çeşitli bölgelerinden SSPE vakaları bildirilmektedir. Ülkemizde, her yıl ortalama 50-80 yeni vaka bildirilmekte olup, sıklık 100000 kızamık vakasında 4-11 olarak verilen klasik bilgidan çok daha fazladır (3). Sağlık Bakanlığı'nca 2005 yılında, tüm hastanelerden ve üniversite kliniklerinden veri istenerek ülke genelinde SSPE verilerinin değerlendirmesi yapılmıştır (Tablo 2.1). Buna göre; erkek/kız oranı 2.7, tanı konma yaş ortancası 6 yaştır. Olguların %89'unda kızamık geçirme öyküsü vardır; kızamık geçirme yaş ortancası 12 ay, ve kızamık geçirilmesi ile SSPE tanısı konması arasındaki süre (latent periyod) ortancası 5 yıldır. Olguların sadece %29'una kızamık aşısının yapıldığı belirtilmiştir. Türkiye'de 2004 yılında ortalama SSPE insidansı tüm nüfusta milyonda 2.5, 20 yaş altı nüfusta milyonda 6.6 olarak bulunmuştur (4). İstanbul bölgesinde 2006 yılında yapılan bir çalışmada ise insidans şehir nüfusunda milyonda iki olarak bulunmuştur (5).

Türkiye'de kızamık aşısında 1985 yılından itibaren yaygın uygulamaya geçilmiştir: bu dönemde sadece 9. ayda tek doz aşı yapılırken 1998 yılından itibaren ilkökul 1. sınıfta ikinci doz aşı yapılmaya başlanmıştır. 2006 yılından itibaren ise aşının ilk dozu 12. aya çekilmiştir. 1990-2004 yılları arasındaki kızamık aşı yüzdeleri, kızamık prevelansları ve SSPE insidansları Tablo 2.2'de verilmiştir (4).

Tablo 2.1. Yıllara göre nüfus, SSPE ve kızamık vaka sayıları (4, 6)*.

| Dönem | Toplam nüfus | 20 yaş altı nüfus | SSPE vaka sayıları | Kızamık vaka sayıları |
|-----------|--------------|-------------------|--------------------|-----------------------|
| 1990-1994 | 296 570 597 | 129 809 105 | 92 | 116 537 |
| 1995-1999 | 320 283 510 | 131 326 480 | 149 | 107 766 |
| 2000-2004 | 350 266 394 | 135 834 570 | 740 | 69 115 |
| 2005 | 71 789 000 | 27 271 000 | 199 | 6023 |

*1990-1994 yılı verileri Anlar ve arkadaşlarının çalışmasından (6), diğer veriler Sağlık Bakanlığı SSPE inceleme komisyonu raporundan (4) alınmıştır.

Tablo 2.2. Yıllara göre kızamık aşı yüzdeleri, kızamık prevelansı ve SSPE insidansları (4).

| Dönem | Kızamık aşı yüzdesi | Kızamık prevelansı (1/10 ⁵) | | Kızamık geçirenlerde SSPE insidansı* (1/10 ⁵) | SSPE insidansı (1/10 ⁶) | |
|-----------|---------------------|---|-------------------|---|-------------------------------------|-------------------|
| | | Tüm nüfus | 20 yaş altı nüfus | | Tüm nüfus | 20 yaş altı nüfus |
| 1990-1994 | 72 | 39,3 | 0,1 | 127,8 | Veri yok | Veri yok |
| 1995-1999 | 77 | 33,6 | 0,1 | 686,6 | 0,5 | 1,1 |
| 2000-2004 | 81 | 19,7 | 0,5 | 138,2 | 2,1 | 5,4 |

*Latent periyod göz önüne alınarak hesaplanmıştır.

SSPE'de erken yaşlarda, özellikle 2 yaşın altında kızamık enfeksiyonu geçirme en önemli risk faktörüdür. Bir yaşın altında kızamık enfeksiyonu geçiren çocuklar, beş yaşın üzerinde geçirenlere göre 16 kat daha fazla olasılık taşır (1). Diğer risk faktörleri düşük sosyoekonomik düzey, kırsal kesimde yaşama, kalabalık ailede bulunma ve aşısız olmadır (3, 5, 7). Erkeklerde kızlara oranla 1,5-2 kat daha fazla görülür. Enfeksiyonun ardından 1-20 yıllık (ortalama 6-8 yıl) bir latent dönem sonrasında nörolojik belirtiler ortaya çıkar ve ilerler. Latent dönemi uzun bir hastalık olsa da çocukluk çağı hastalığıdır, ancak erişkin yaşta da görülmekte; literatürde en ileri olarak 49 yaşında SSPE hastası bildirilmektedir (8).

Aşılama sonrasında bazı ülkelerde SSPE insidansı belirgin oranda azalmıştır (1, 3, 5, 9). Aşılınmış çocuklarda SSPE'nin görülmesi, aşı öncesinde geçirilmiş subklinik kızamık enfeksiyonunu veya aşının taşınması sırasında soğuk zincir kurallarına uyulmadığını düşündürür. Aşı ile verilen atenüe virusun SSPE'ye neden olduğunu gösteren hiçbir vaka yoktur (3, 10, 11, 12, 13). Virolojik çalışmalar da bunu desteklemektedir.

Kızamık virüsünün sadece bir serotipi olmasına karşın, genotipi çeşitlilik gösterir. Kızamık virüsü, H ve N proteinlerinin amino asit sekanslarındaki değişikliklere göre gruplara ayrılır. Yirmibirten fazla genotip, 8 alt grubu (A-H) oluşturur. Kızamık aşısının tek suşu genotip A'dır (Edmonston suşu) ve bu genotipin izole edildiği hiçbir kızamık vakası bildirilmemiştir. SSPE hastalarından izole edilen kızamık virüsü genotip B-G gruplarındandır (3). Epidemiyolojik veriler, kızamık aşısının kızamık hastalığına, dolayısıyla SSPE hastalığına karşı koruyucu olduğunu göstermektedir. Aşılama ile kızamık hastalığının kontrolünün sağlanması ve kızamık insidansının azalmasından birkaç yıl sonra yeni SSPE olgularının da azalması beklenecektir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2005 yılında kızamık eradikasyon programını başlatmıştır (3, 14).

2.2. SSPE’de tanı ve klinik bulgular

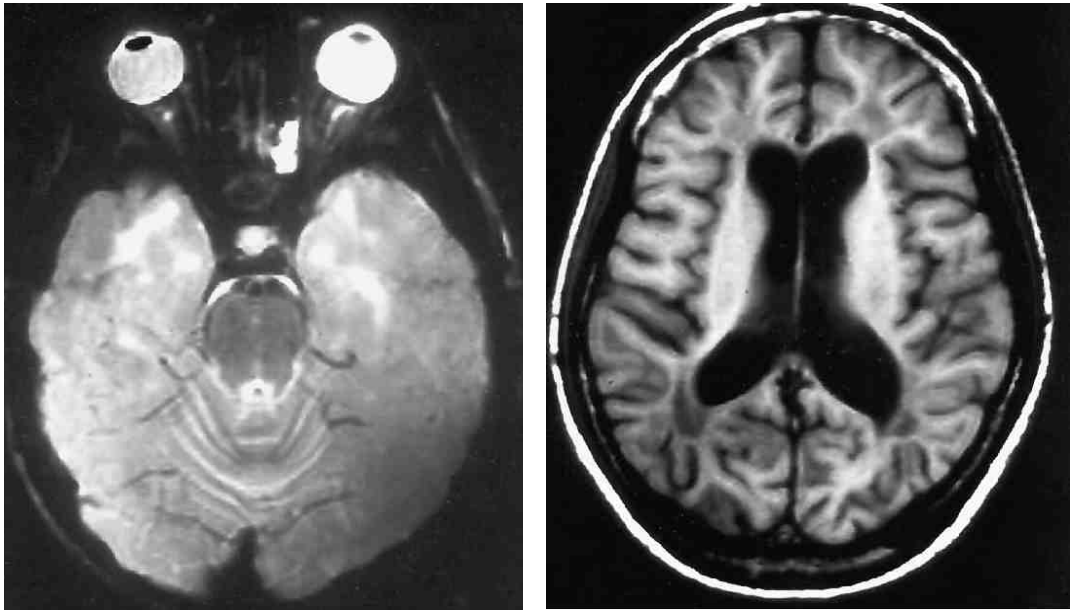
SSPE’de başlangıçta, bilişsel işlevlerde azalma ve davranış bozuklukları gibi çok belirgin olmayan değişiklikler ortaya çıkar. Bu dönemde nörolojik muayene tamamen normal bulunabilir. Hastalık ilerledikçe motor fonksiyonlarda azalma ve periyodik miyoklonik atımlar ortaya çıkar. Bu atımlar uykuda kaybolurken heyecan ile artar. Miyokloni kendini yürümede zorluk, kısa süreli baş düşürme ve düşme nöbetleri olarak gösterebilir. Daha sonra piramidal ve ekstrapiramidal bulgular gelişir. Hastalığın ileri dönemlerinde miyokloniler azalır, spastisite gelişir ve hasta kuadriparetik hale gelir, otonomik fonksiyonlarda bozulma başlar. Son döneminde ise deserebre ve dekortike rijiditesi ortaya çıkar; bu evrede hastalar genellikle ateş, solunum sıkıntısı, kardiyovasküler kollaps veya hipotalamik bozukluklar nedeni ile kaybedilirler (1, 15, 16).

Erken dönemlerdeki bozukluklar fark edilemeyecek derecede hafif olabilir, bu nedenle hastaların çoğu miyokloni ve konuşma-yürüme bozuklukları geliştiğinde başvururlar. SSPE düşünülen hastaların tanısında yararlanılan bulgular:

1. Klinik belirtiler
2. EEG (periyodik, stereotipik, yüksek voltajlı dalgalar)
3. Beyin-omurilik sıvısı incelemesi (immünglobülinlerde artma veya oligoklonal bant)
4. Beyin-omurilik sıvısında kızamık antikoru tayinidir.

Kraniyal görüntüleme tanıyı destekler, ancak SSPE için belirli bir tanı koydurucu bulgu yoktur. Bilgisayarlı tomografi tetkiki erken dönemde genellikle normaldir. Hastalık evresi ilerledikçe atrofik değişiklikler ve beyaz cevherde demiyelinizasyonu düşündürülen hipodens lezyonlar ortaya çıkar (17, 18, 19). Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), başlangıçta normal olabilir ya da oksipital ve frontal beyaz cevherde T2 ağırlıklı görüntülerde sinyal intensitesinde artış, ödem, ve seyrek olarak kontrast tutulumu izlenebilir. Gri cevher genellikle korunmuştur (1, 20). Takip eden dönemlerde bazal gangliya ve beyin sapı tutulumu izlenir (Şekil 2.1) (20). Demiyelinizasyon hastalığın ilk dönemlerinde kendini beyaz cevherde hipointens alanlar olarak gösterir, hastalık evresi ilerledikçe artar ve hastalığın son döneminde

yaygın beyaz cevher atrofi izlenir. İleri evrelerde beyaz cevherin büyük bir kısmı kaybolmuş, ventriküller ve ekstraserebral BOS mesafesi genişlemiş, korpus kallozum incelmış ve arka fossa yapıları atrofik hale gelmiştir (Şekil 2). Manyetik rezonans spektroskopisi (MRS) ile beyin metabolizması değerlendirildiğinde, SSPE için özgül bulgular vermese de erken evrede beyaz cevher metabolitlerinde bozukluklar gösterilebilir (17, 21). Beyaz cevherde kolin'in kreatinine oranında artış saptanması demiyelinizasyon ya da inflamasyon ile açıklanmaktadır. Bu metabolitlerin gözlenmesi hastalığın takibinde ve tedaviye yanıtını değerlendirmede faydalı olabilir (21, 22). Hastalığın süresi ile MRG bulguları değişmektedir. Lezyonlar hastalığın erken dönemlerinde subkortikal beyaz cevherden başlamakta, geç evrelerde ise periventriküler beyaz cevhere yayılmaktadır. Ancak radyolojik görüntü ile hastalığın klinik evresi arasında genellikle ilişki yoktur (1, 19).



A.

B.

Şekil 2.1. SSPE'de erken ve geç dönem kranial MRG görüntüleri A) Erken dönem: Sağ oksipital lob posteriorunda ve sol temporal lob anteriorunda azalmış beyaz cevher intensitesi dışında normal olarak görülmektedir. B) Geç dönem: Temporal loblarda daha belirgin olmak üzere yaygın serebral atrofi, periventriküler beyaz cevherde demiyelinizasyon alanları görülmektedir (20).

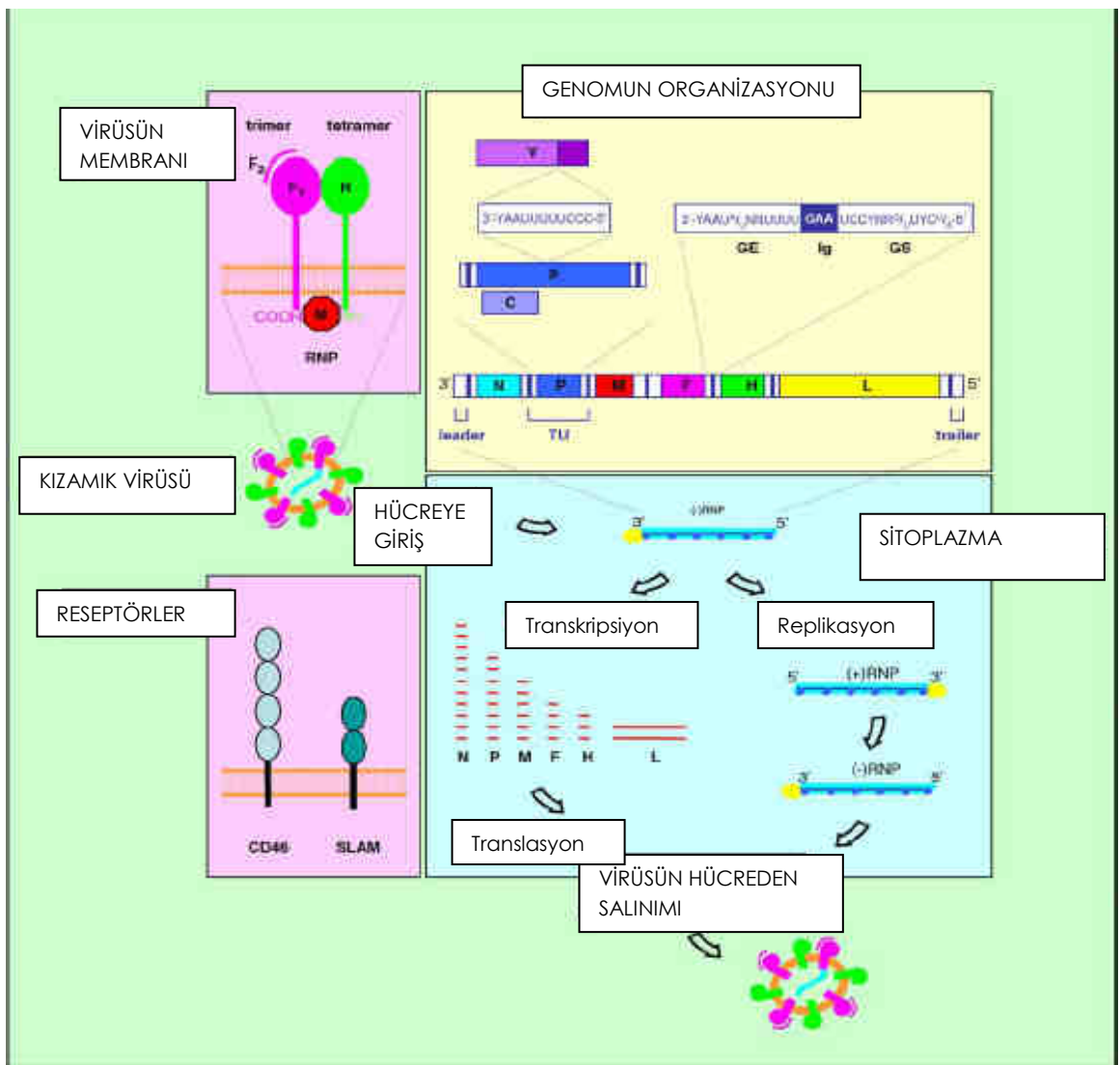
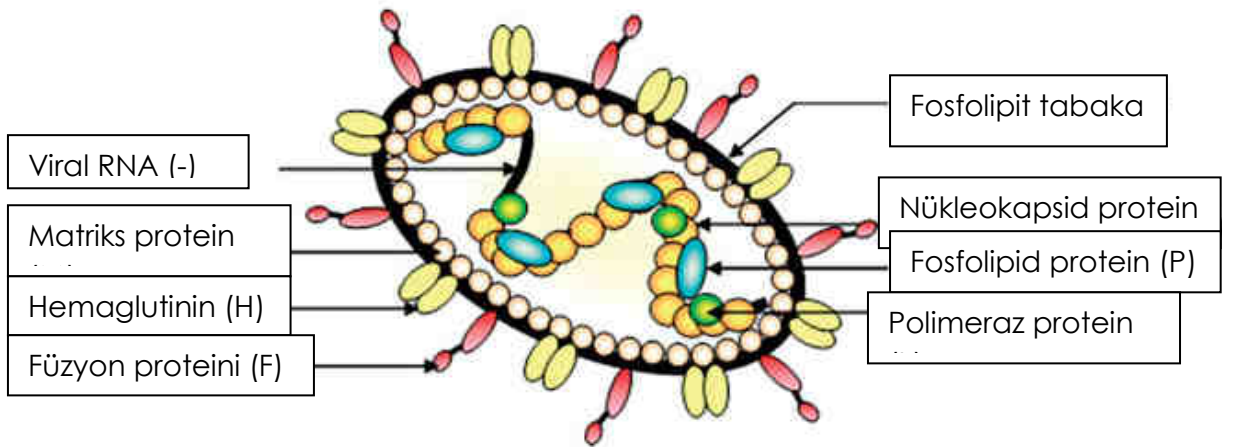
2.3. Kızamık virüsü ve konakçı ile etkileşimi

Kızamık virüsü (Şekil 2.2), paramiksovirus ailesinin alt grubu olan morbillivirus grubuna üye bir RNA virüsüdür. Kızamık virionu sferik, pleomorfik lipid zarflı, 100-250 nm çapında, içerisinde nükleokapsidi olan bir partiküldür. Dıştaki zarfın üzerinde transmembranöz yerleşimli iki glikoprotein bulunur. Bunlardan birincisi hemaglutinin (H), ikincisi de füzyon (F) proteindir. F proteini inaktif (F0) formundan proteolitik ajanlar aracılığı ile, birbirlerine disülfid bağı ile bağlı F1 ve F2'ye dönüşür ve biyolojik olarak aktif hale geçer. H proteinin hücre yüzeyine bağlanmasının ardından H ve F glikoprotein homooligomerleri birbirleri ile etkileşerek aktif füzyon proteini meydana getirir ve hücreye giriş olur. Bu proteinlerin sitoplazmik uzantıları ile ilişki halinde bulunan protein ise hidrofobik, sitoplazmik yerleşimli matriks (M) proteindir. M proteini virüsün plazma membranından tomurcuklanmasında (budding) rol oynar. Helikal nükleokapsid içerisinde ribonükleoprotein (RNP), fosfoprotein (P) ve polimeraz protein (L) bulunur. Kızamık virüs RNP'si 1µm uzunluğunda, 18-21 nm çapında, lineer, tek sarmallı ve negatif yüklüdür; 15894 nükleotid içerir (Şekil 2.2). Genomda intergenik-transkripte olmayan sekanslar (Ig) ile birbirinden ayrılan altı transkripsiyon ünitesi (TU) bulunur. Aynı zamanda genomun P proteini bölgesinden yapısal olmayan iki protein daha sentezlenir, ancak bu proteinlerin fonksiyonları bilinmemektedir (7).

Virüsün konakçıya bağlanmasını sağlayan bazı reseptörler tanımlanmıştır. Aşı virüsü için reseptör olan CD46, 57-67 kilodalton (kD) ağırlığında, eritrosit dışında tüm insan hücrelerinde ifade edilen bir proteindir (1, 7). Membran kofaktör protein olarak da bilinen bu molekül hücreleri kompleman lizisinden korumakla görevlidir (7). Normal şartlar altında immünomodülatör olarak görev yapan "Signaling lymphocyte activation molecule" (SLAM veya CD150)'nin de hem aşı virüsü, hem de vahşi tip kızamık virüsünün hücreye bağlanma ve girişinde rolü olduğu gösterilmiştir (7, 23, 24). SLAM ekspresyonu sadece lenfosit, monosit ve dendritik hücreler ile kısıtlıdır. Virus aktif enfeksiyon döneminde beyine inflamatuvar hücreler aracılığı ile veya endotelial hücrelerin enfeksiyonu ile ulaşır. Ancak nöronal hücrelerde SLAM ekspresyonu yoktur; vahşi kızamık virüsünün nöronları enfekte ederken başka reseptör/reseptörler kullanıp kullanmadığı henüz bilinmemektedir.

Kızamık virüsünün en sık yol açtığı klinik tablo akut kızamık enfeksiyonudur. İnkübasyon dönemi tipik olarak temastan sonra 8-12 gündür. Prodromal fazda ateş, öksürük, burun akıntısı ve fotofobinin eşlik ettiği konjonktivit izlenir. Daha sonra kızamığın makülopapüler vasıftaki döküntüsü ortaya çıkar. Döküntü üçüncü gün tüm vücuda yayılır, ardından altıncı günde hafif soyularak kaybolur ve klinik olarak da hasta düzelir. Kızamık virüsü, damlacık yolu ile alındıktan sonra hastalığın ilk döneminde üst solunum yolunda çoğalır, ardından immün sistem hücreleri enfekte olarak virüsün yayılmasına neden olur. Bu nedenle bir immün süpresyon oluşur; bu durum altı aya kadar uzayabilir (25, 26, 27, 28).

Bildirilen kızamık olgularının yaklaşık olarak %30'unda bir ya da daha fazla komplikasyon ortaya çıkmaktadır. DSÖ kaynaklarına göre komplikasyon hızları gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek olup vaka fatalite hızı %3-16 olmakla birlikte, bir yaşın altındaki çocuklarda %20-30'a kadar çıkmaktadır. En sık komplikasyonlar pnömoni: %16, gastrointestinal sorunlar: %14.1, ensefalit: %8 ve menenjit: %3.3 olarak verilmektedir (29). Bunların dışındaki en ciddi komplikasyonları santral sinir sisteminde (SSS) ortaya çıkar. Erken dönemde gelişen akut kızamık ensefalomiyeliti, bağışıklık sistemi normal olan bireylerde görülen otoimmün, postenfeksiyöz, demiyelinizan bir bozukluktur. SSPE ve kızamık inklüzyon cismi ensefaliti (measles inclusion body encephalitis "MIBE") daha geç dönemde ortaya çıkar. Subakut kızamık virüs ensefalopatisi olarak da bilinen MIBE, immün sistemi baskılanmış kişilerde görülür (30).



Şekil 2.2. Kızamık virüsü, hayat döngüsü, genom organizasyonu, virüs membranı şematik olarak gösterilmiştir (7).

2.4. Kızamık enfeksiyonuna erken ve geç dönem immün yanıtlar

Kızamık virüsü, vücuda üst solunum yolu epiteli ile alınır ve çevredeki yerel lenf nodlarına mononükleer hücreler aracılığı ile aktarılır, burada replike olduktan sonra yine mononükleer hücreler ile vücudun diğer tüm bölgelerine taşınır. Hastalık immün yanıtta antiviral efektör mekanizmaları uyarırken aynı zamanda immün süpresyona da neden olur. Bu immün süpresyonun, virüsün doğrudan etkisinden çok, sitokinlerin etkisi (özellikle IL-12'nin inhibisyonu) sonucunda virüs ile enfekte olmayan mononükleer hücrelerin baskılanmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (24). Bu görüşü destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Sonuçta hastalık boyunca ve sonrasında altı ay kadar uzayabilen hücresel aracılıklı immünsüpresyon izlenir (25, 26, 27, 28, 31).

Akut enfeksiyon geçiren bireylerde latent bir dönemin ardından SSPE'nin nasıl ortaya çıktığı halen tartışmalıdır. Virüsün proteinlerinde, özellikle M proteininde, insan vücuduna girdikten sonra yapısal değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bunların sonucunda mutant virüsün immün sistemden kaçarak SSS'de kaldığı düşünülmektedir (7). Ayrıca hastalığın latent döneminde virüsün hücre içinde kaldığı ve transsinaptik yolla hücreden hücreye geçtiği düşünülmektedir. BOS'ta virüsün saptanamaması da bu hipotezi desteklemektedir. Kızamık virüsü ile küçük yaşta karşılaşma, yaş, beslenme durumu, ya da aynı dönemde geçirilen diğer viral enfeksiyonlar nedeniyle yetersiz kalan immün yanıt, latent dönemi kısalttıkları düşünülen etmenlerdir (6). Ancak latent virüsün hangi nedenle aktive olduğu halen bilinmemektedir. İmmün sistemin baskılanması, travma, stres, hormonal değişiklikler ya da araya giren enfeksiyonların virüsün reaktivasyonuna sebep olduğu öne sürülmektedir, ancak kesin bir neden gösterilememiştir (1).

Kızamık virüsünün persistan kalmasında da birçok immünolojik faktörün rol aldığı düşünülmektedir (1, 7, 32). Bu nedenle SSPE'de immün durum birçok çalışmaya konu olmuştur. Kızamık enfeksiyonunu iki yaşın altında geçiren kişilerde SSPE geliştirme riskinin fazla oluşu, immün sistemin yaşa bağlı yetersizliğinden dolayı kızamık virüsünü ortadan kaldıramamasına bağlı olabilir (33). SSPE'deki ilk immünolojik çalışmalarda T lenfosit sayımı ve deri testi yanıtında hastalık ilerledikçe azalma bulunmuştur, ancak periferik kanda yardımcı T hücreleri (Th) ve baskılayıcı

T hücreleri (Ts) oranında bir özellik gösterilememiştir (34, 35). Diğer çalışmalarda hastalığın erken dönemlerinde baskılayıcı T hücrelerinde ve B hücrelerinde artış, yardımcı T hücrelerinde ve CD3+ hücrelerde azalma, ya da CD8+ hücrelerde artış saptanmıştır. Anlar ve arkadaşları ise hızlı ilerleyen hastalıkta CD4+ hücre oranlarının diğer hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak SSPE’de, lenfosit alt gruplarının değişimi ile hastalığın evresi, seyri ve patogenezi arasında kesin bir ilişki bulunmamıştır (32, 34). Araştırma sonuçları arasındaki bu farklılıklar çalışmaya alınmış hastaların evrelerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir (32, 35, 36). Hastaların serum ve BOS’unda mevcut olan kızamık antikorları humoral immün sistemin korunduğunu gösteren en iyi bulgudur. Ancak mevcut yüksek titredeki antikorların SSPE’deki koruyucu etkisi tartışmalıdır. Örneğin kültür ortamına kızamık virüsüne karşı antikor eklenmesi viral gen ekspresyon paternini değiştirmektedir ve persistansı kolaylaştırmaktadır (37). Bu gözlem erken yaştaki kızamık enfeksiyonunda, kanda halen maternal antikorlar mevcutken, kızamık virüs persistansının ve dolayısı ile SSPE riskinin artmış olmasını açıklayabilir (1, 38).

Kızamık virüsünün organizmadan temizlenmesi interferon gama (IFN γ) ve Th1 tipi lenfosit yanıtına bağlıdır. Kızamık virüsüne özgül hücrel immün yanıtta baskılanmanın nedeni olarak Th1 fonksiyonunun azalması ile Th2’lerin baskın hale gelmesi ve sitokin üretiminde bozulma öne sürülmektedir (31, 32). Sonuçta SSPE hastalarında gösterilmiş özgün bir immün sistem bozukluğu bulunmamasına rağmen immün yanıtın geç ve yetersiz olduğu düşünülmektedir (31).

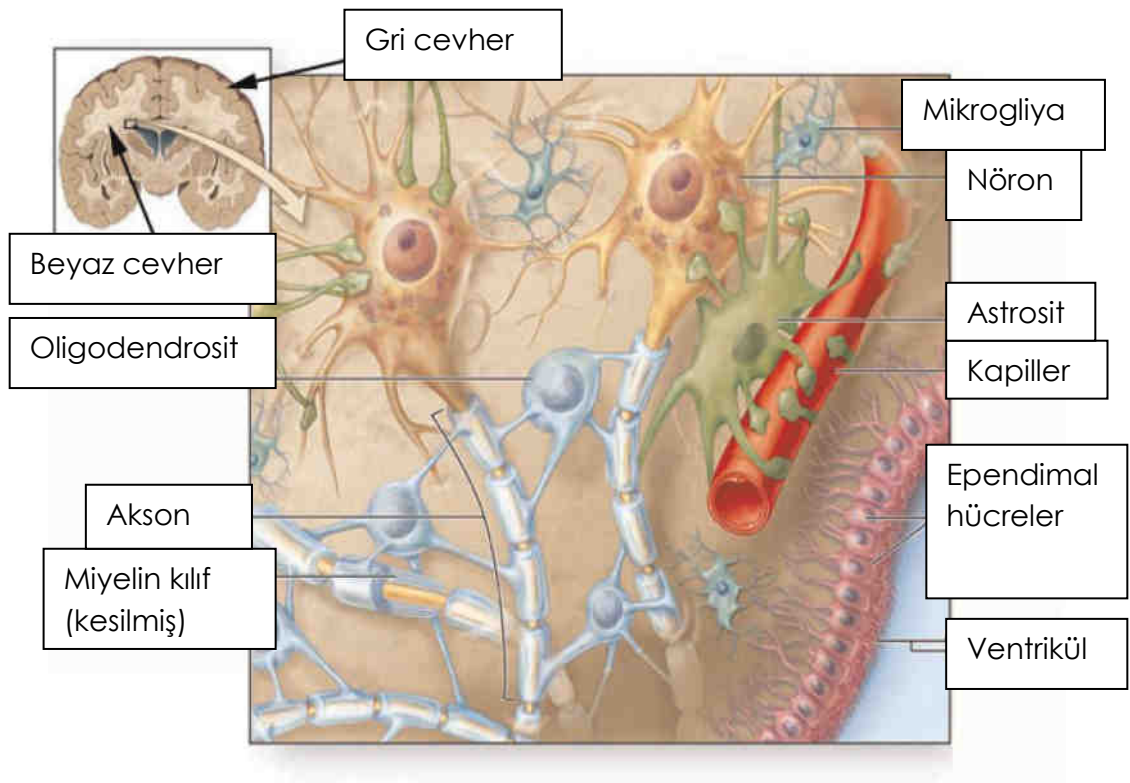
SSPE hastalarının beyin dokularında IFN γ ve IFN α , interlekin (IL)-1 β , IL-2 ve IL-6 gibi inflamasyonda görevli mediyatörlerin buldukları gösterilmiştir (32, 39, 40, 41, 42, 43). Serum ve BOS’ta tümör nekrozis faktör (TNF)- α düzeyi yüksekliğinin hastalığın seyrini hızlandıracağını düşündüren çalışmalar mevcuttur (44, 45). Bu mediyatörler çalışan bir immün sistemin varlığını destekler: kızamık virüsünün SSPE hastalarının beyinlerinde persiste etmesi ve klinik bulgu oluşturmaması bu yolla olabilir. İmmün sistemin bu faktörler aracılığı ile SSS’de bu hastalığı kontrol altında tutmaya çalışmasına karşın özellikle reaktivasyondan sonra kontrolün neden sürdürülemediği halen bilinmemektedir.

2.5. Santral sinir sistemi hücrelerinde kızamık virüsü

SSS hücreleri iki grupta incelenebilir: nöronlar ve glial hücreler.

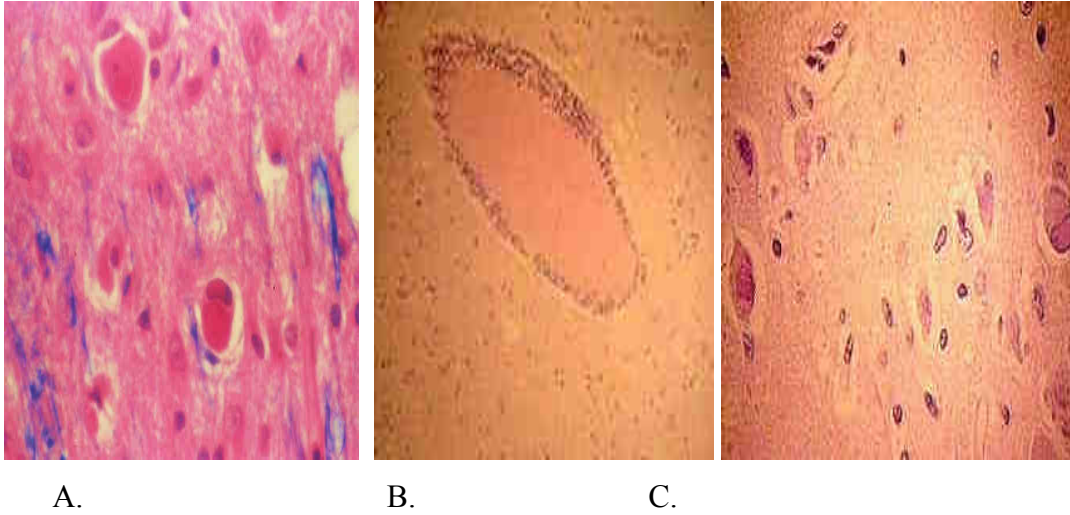
Nöronlar hücre gövdesi, dendrit ve aksondan oluşur. Dendrit ve aksonlar aracılığı ile diğer nöronlar ile sürekli ilişki halindedir. Nöronal gövdeler kortekste veya diğer adı ile gri cevherde yer alır. Nöronların serebrum ve spinal kord ile bağlantısını sağlayan aksonlar ise korteksin altında yer alan beyaz cevheri oluşturur.

Glial hücrelerin dört alt tipi vardır: ventrikül tabanını döşeyen ependim hücreleri, miyelin kılıfın yapımından ve devamlılığında sorumlu oligodendrositler, SSS'nin fagositer hücreleri olan mikroglialar ve destek ve homeostaz sağlayan astrositler (24) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. SSS'deki hücrelerin dağılımı

SSPE'nin histopatolojik bulguları hastalığın evrelerine göre farklılıklar gösterir. Erken evrelerde yapılmış olan beyin biyopsilerinde meninkslerde, kortikal ve subkortikal gri ve beyaz cevherde hafif inflamasyon izlenir. Bunun yanı sıra nöronal dejenerasyon, gliyozis, astrosit proliferasyonu, perivasküler lenfosit (ağırlıklı olarak CD4+ T hücreler) ve plazma hücre infiltrasyonu ve demiyelinizasyon mevcuttur (Şekil 2.4) (1, 46, 47). Daha ileri evrelerde ise serebral kortekste nöronlarda yaygın dejenerasyon ve kortikal yapılarda bozulma saptanır. İnflamatuvar yanıt genellikle pariyeto-okspital bölgeden başlar, rostrale doğru ilerleyerek serebral hemisferlerin ön kısımları, bazal gangliyonlar, beyin sapı ve spinal kord tutulur. Nöronların ve glial hücrelerin sitoplazma ve nükleuslarında inklüzyon cisimleri görülebilir (7). Hızlı seyirli fatal hastalığı olan hastaların nöron ve oligodendrositlerinde izlenen homojen eosinofilik inklüzyonlara Cowdry-A inklüzyon cismi adı verilir. Diğer bir inklüzyon cismi olan Cowdry-B ise genelde beyin sapında görülür (1). Nöron ve oligodendrositlerde nörofibriler yumak (tangle) izlenebilir. Bu bölgelerde viral genomun saptanmış olması yumak oluşumunda viral enfeksiyonun sorumlu olduğunu düşündürmektedir (48,49). Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ise inflamasyon bulguları veya inklüzyon cisimleri görülemeyebilir. Bu dönemde histopatolojik olarak belirgin parankimal nekroz ve gliyozis saptanır (1).



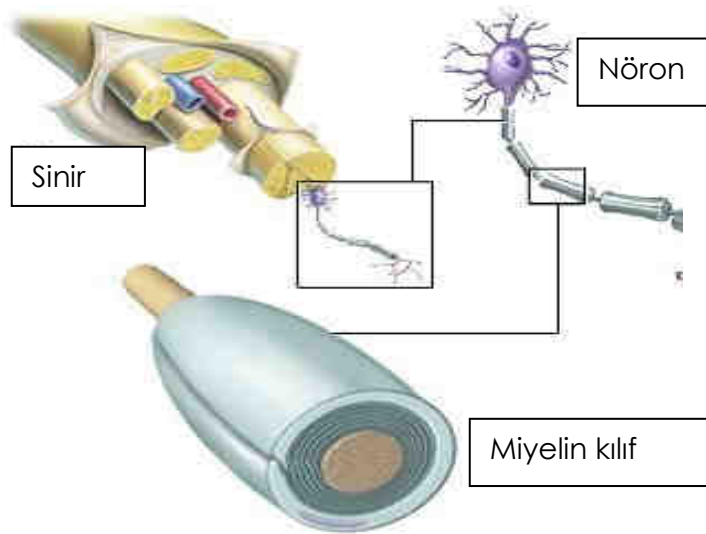
Şekil 2.4. SSPE'de A) Viral inklüzyonlar B) Perivasküler hücre infiltrasyonu C) Demiyelinizasyon (50)

2.6. SSPE'de patogenez: nörodejeneratif mekanizmalar

Oligodendroglial ve nöronal ölümün olası mekanizmaları arasında virüsün doğrudan etkisi, sitokin aracılıklı hücre hasarı ve apoptoz yer alır (51, 52). Ondokuz vakalık bir seride erken dönemde belirgin nöronal kayıp ve inflamasyon olmadan nöronal apoptozisin olduğu gösterilmiş, patogenezde sorumlu olabileceği öne sürülmüştür. Aynı çalışmada oligodendroglialardaki apoptoz ile demiyelinizasyon arasında bir ilişki olmadığı da gösterilmiştir (53). Benzer çalışmalarda, apoptozis erken nöronal hasardan sorumlu tutulurken, devam eden hasarda oksidatif strese bağlı oluşan serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu ve bozulmuş glutamat transportunun rol aldığı düşünülmüştür. Hastalığın geç döneminde glial glutamat taşıyıcılarının ekspresyonu azalır ve nörofibriler yumak oluşumu için zemin hazırlayabilir. Çalışmalarda viral yük, apoptozisin derecesi ve hücre infiltrasyonu arasında bir ilişki saptanamamıştır (51, 53, 54). Apoptozisin kızamık virüsü tarafından doğrudan indüklenebilmesinin yanısıra enfekte olmayan hücrelerde IL-2, TNF- α , TNF- β gibi sitokinler tarafından da başlatılabileceği düşünülmektedir (54, 55, 56). Papua Yeni Gine'li hastalarda yapılan bir çalışmada serumda IL-6, IL-10 ve BOS'ta IL-6 düzeyi yüksek bulunmuş; diğer bir çalışmada TNF- α ile IL-4 düzeylerinin hastalık seyri ve tedaviye yanıt ile ilişkisi bulunamamıştır (32, 40). Bu çalışmalar belirli bir sitokine veya sitokin grubuna işaret etmemekle birlikte akut kızamık enfeksiyonu sırasında ve sonrasında ortaya çıkarak hücre hasarını ve demiyelinizasyonu devam ettirebileceklerini düşündürmektedir. Shimizu ve ark. SSPE'li hastalarda BOS'da B-hücre ve antikör yanıtları arasından anti-CD9'u yüksek titrelerde saptamıştır. CD9 miyelin ve nöronal hücrelerde bulunan, hücre adezyonu, hareketi ve sinyal yolları açısından önemli rol oynayan bir molekül olup buna karşı gelişen antikörler inflamasyon süreci ile ortaya çıkmakta ve serebral atrofının derecesi ile korelasyon göstermektedirler (57). Anti-CD9'un demiyelinizasyonda kilit rolü olmasa da, devam eden demiyelinizasyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Demiyelinizasyonun hastalığın geç dönemlerinde görülmesinin bir diğer nedeni de hastalığın ilerleyen dönemlerinde artmış olan lipid peroksidasyonunun beyaz cevher hasarına yol açması olabilir (51).

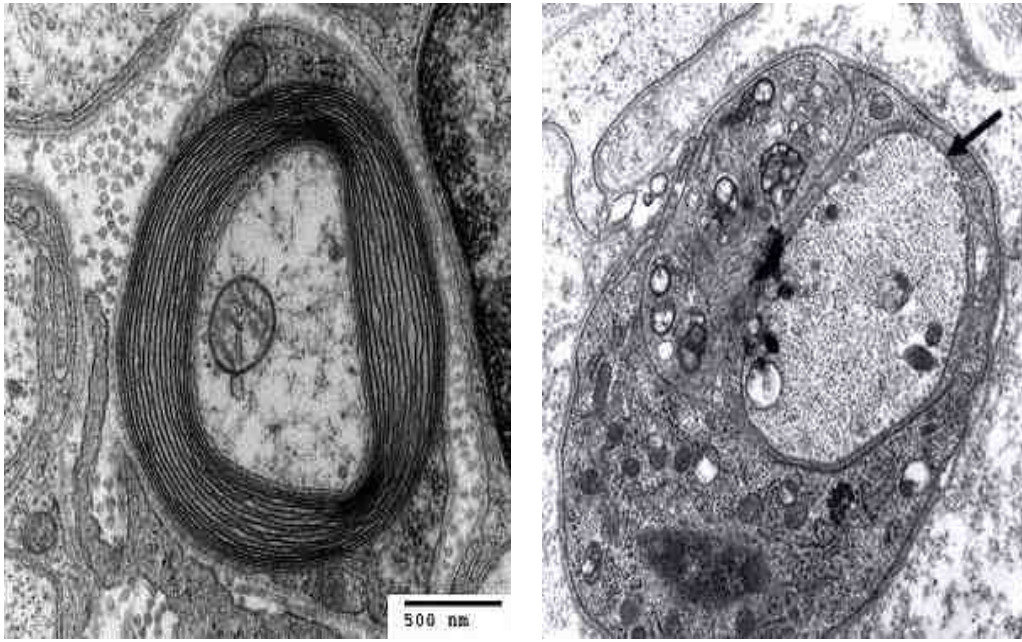
2.7. Miyelin ve SSPE'de demiyelinizasyon

Miyelin hem santral hem de periferik sinir sisteminde birçok nöronun aksonunu çevreleyen ve nöronun elektriksel yalıtımını sağlayan fosfolipit bir tabakadır. İlk kez 1878'de Louis-Antoine Ranvier tarafından tanımlanmıştır. Miyelin yapımından santral sinir sisteminde oligodendrositler, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücreleri sorumludur (Şekil 2.3 ve 2.5). Miyelinin % 80'i lipid, % 20'si de proteindir. Miyelini oluşturan lipid yapıda kolesterol % 25, galaktolipid % 29, fosfolipidler % 46 oranında bulunur. Galaktoserebrozid miyelindeki majör galaktolipiddir. Miyelini oluşturan bazı önemli proteinler: miyelin bazik protein (MBP), miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG) ve proteolipid protein (PLP)'dir. Miyelin hemen bütün iyonların akımını engelleyen mükemmel bir yalıtıktır. Bu sayede sinirin iletim hızı miyelinsiz liflere oranla katlanarak artar.



Şekil 2.5. Periferik sinir kesitinde miyelin kılıf yapısının şematik görünümü.

Demyelinizasyon, miyelin kılıfın bütünlüğünün bozulmasını ifade eder (Şekil 2.6). Buna birçok neden yol açabilir. Viral etkenler, enfeksiyon sırasında ortaya çıkan immün yanıtın bir parçası olan sitotoksik CD8+ T hücre aktivitesi ile demiyelinizasyona yol açar. SSPE de viral etkenli demiyelinizan bir hastalıktır. Memelilerde demiyelinizasyon yapan viral etkenler Tablo 2.3'te sıralanmıştır (50).



A.

B.

Şekil 2.6. Periferik sinir kesitleri, A) Normal miyelin yapısı B) Demiyelinize olmuş akson (51)

Tablo 2.3. Demiyelinizan virüsler

| Virüsler | Aile | Konak |
|----------------------------|----------------|--|
| Semliki Orman Virüsü | Togaviridae | Fare |
| Ross Irmak Virüsü | | Fare |
| Venezuela Ensefalit Virüsü | | Fare |
| Fare Hepatit Virüsü | Coronaviridae | Fare, sıçan, insan olmayan primatlar |
| Herpes Simpleks Virüs | Herpesviridae | Fare, insan |
| Kızamık | Paramiksovirus | Kemirgenler, insan |
| Canine Distemper Virus | | Köpek |
| JC Virus | Papovaviridae | İnsan |
| Theiler Virüs | Picornaviridae | Fare |
| Maedi-visna Virüs | Retrovirida | Koyun |
| HTLV-1 | | İnsan |
| HIV | | İnsan |
| Veziküler Stomatitis Virüs | Rhabdoviridae | Fare |
| Chandipura Virüs | | Fare |

Demyelinizasyonun mekanizması etiyolojiye göre değişkenlik gösterebilir. Patogenez için öne sürülen mekanizmalardan biri virüs enfeksiyonunun doğrudan demiyelinizasyon yapmasıdır. Virüsler, genellikle sitotoksik CD8+ T hücrelerini aktive ederek enfekte hücrelerin lizisine neden olur. Aksonal kayba bağlı demiyelinizasyon da oluşabilir, ancak viral kaynaklı durumlarda genellikle miyelin kaybı ön plandadır. SSS enfeksiyonu yapan her virüs demiyelinizasyona yol açmaz: kuduz virusu buna örnektir (25, 59). Viral hastalıklardaki demiyelinizasyonda aşığıdaki mekanizmalar öne sürülmektedir:

Oligodendrosit kaybına bağlı miyelin dejenerasyonu:

Oligodendrositlerin ölümü enfeksiyon sonucunda veya enfeksiyona bağlı olarak hücre içi homeostazın bozulması sonucunda gerçekleşmektedir. Beyin hücrelerinde latent kalan virüsün veya virüs ürünlerinin oligodendrositlerin ölümüne neden olduğu öne sürülmektedir (50, 59, 60). Bunun sonucunda enfekte hücreler yavaş ama sürekli biçimde kaybedilir. Çalışmalarda enfekte hücrelerin apoptoza gitmesi ve bu hücrelerde kızamık virüs partiküllerinin saptanması bu görüşü desteklemektedir.

Virüse özgü inflamatuvar immün yanıtın: sitokin ve antikorların miyelin ya da oligodendrositlere hasar vermesi:

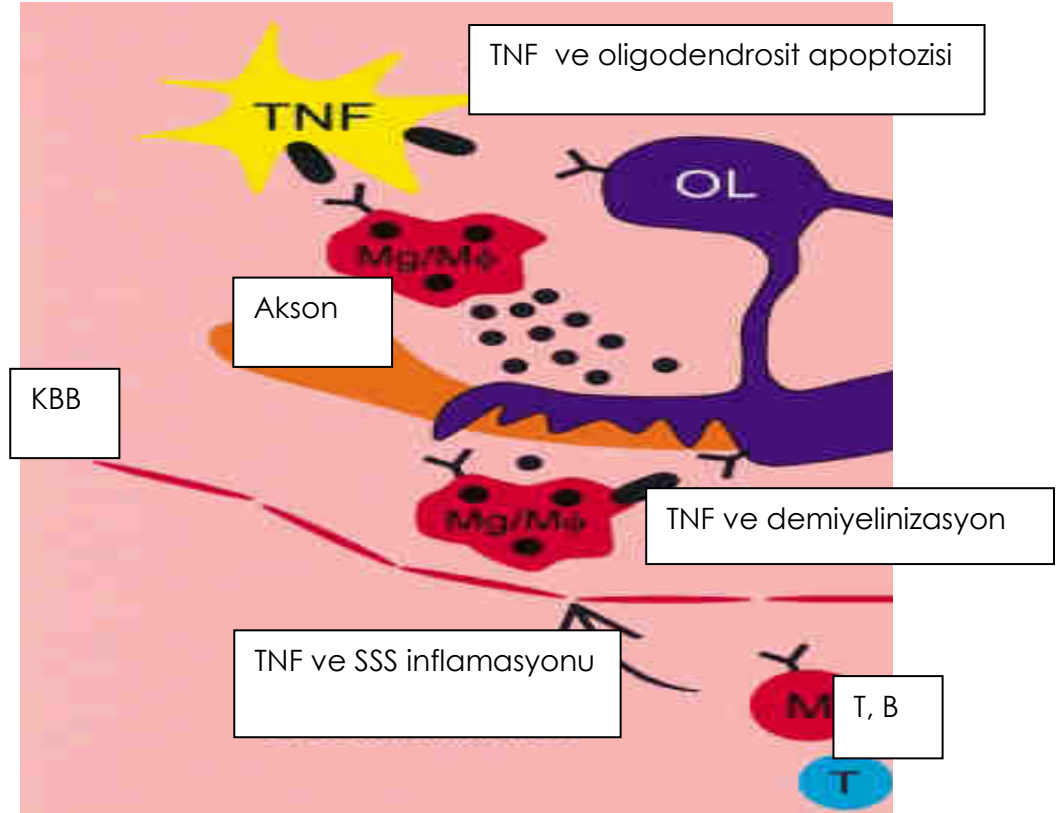
SSPE'de yüksek miktarlarda sentezlenen kızamık antikorlarının hücreler üzerine litik etkisi olabilir. Oldstone ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SSPE hastalarının oligodendrosit hücre kültürlerinde kızamık antikorlarının lizise yol açtığı saptanmıştır (60). Antikorların rolü hayvan deneylerinde de gösterilmiş, miyeline özgü CD4+ lenfositler sıçanlara verildiğinde çok az miktarda demiyelinizasyon izlenirken, bu lenfositler anti-MOG antikorları ile birlikte verildiğinde demiyelinizasyon belirginleşmiştir (61).

CD4+ ve CD8+ T hücre infiltrasyonu ve bunların salgıladığı TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin artması, hücre aracılıklı hasarı düşündürmektedir (59). Enfekte hücrelerin bu şekilde ortadan kaldırılması da demiyelinizasyondan sorumlu

olabilir. İnflamatuvar demiyelinizan hastalıklarda (örneğin multipl skleroz) ve bunların hayvan modellerinde TNF- α 'nın demiyelinizasyondaki rolü büyüktür (62).

TNF- α , 26 kDa ağırlığında membrana bağlı bir proteindir ve bazı özgün proteinazlar aracılığı ile çözünür halde plazmada taşınır. Membrana bağlı ve çözünür haldeki formlar birleşerek biyolojik olarak aktif molekülü oluşturur. TNF- α inflamasyonda hücrelerin proliferasyonundan, göçünden ve apoptozisinden sorumludur. Demiyelinizasyonu indüklemesinin yanısıra hücrel infiltrasyonu da uyarır (Şekil 2.7). SSPE'de bu sitokinin ekspresyonunun arttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (32, 62). TNF- α ayrıca in vitro deneylerde oligodendrositlere sitotoksiktir ve hayvan modellerinde miyelin hasarına neden olduğu gösterilmiştir (62, 63, 64, 65, 66). Ancak bu bulgu tedavide uygulandığında anti-TNF- α antikoru hayvan modellerinde hastalığın aktive olmasına neden olmuştur (67).

Bunun yanısıra halen tanımlanmamış bazı endojen veya ekzojen toksinler, antikor-kompleman aracılıklı yıkım gibi çeşitli mekanizmalar da demiyelinizasyon oluşturabilir. Sonuçta, bu faktörlerin her biri tek başına demiyelinizasyon yapabilmekle birlikte bu süreçte birden fazlasının olaya katkıda bulunduğu düşünülmektedir.



Şekil 2.7. TNF'nin indüklediği demiyelinizasyon. Mg/M ϕ : Mikroglia/makrofaj, M: Monosit, T, B: T ve B lenfosit, KBB: Kan-beyin bariyeri, OL: Oligodendrosit

2.8. Kızamık virüsünün neden olduğu diğer demiyelinizan hastalıklar

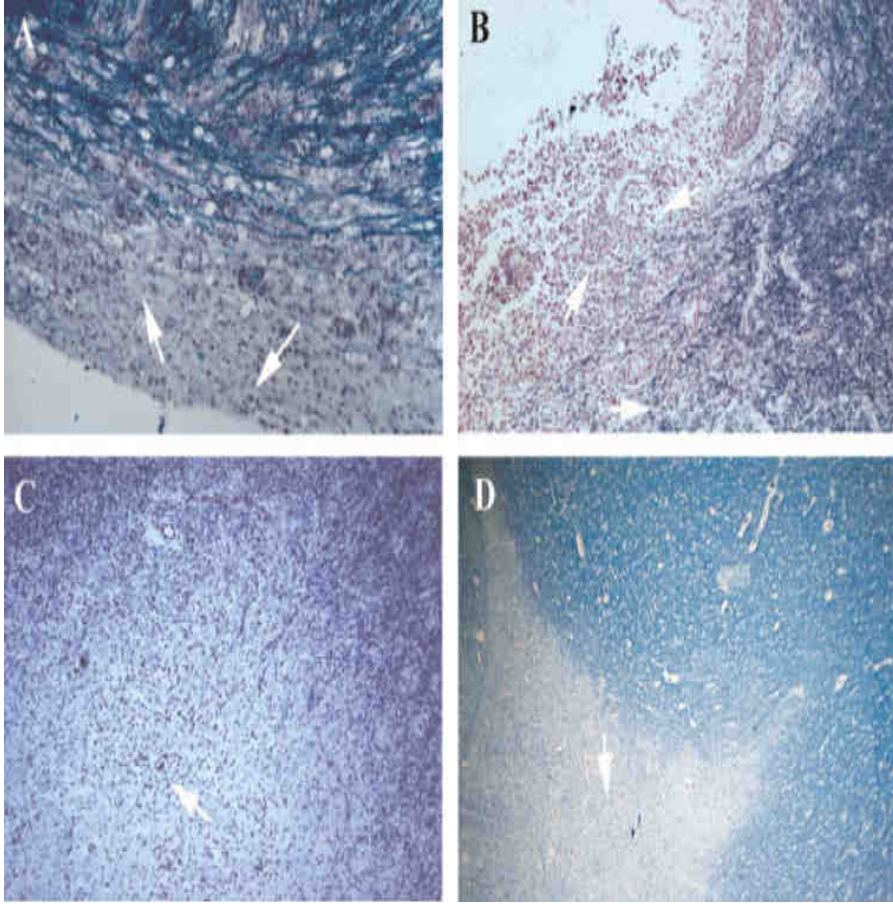
Kızamık virüsünün neden olduğu diğer SSS hastalıklarında da demiyelinizasyon izlenebilir.

Akut disemine ensefalomyelit (ADEM), kızamık enfeksiyonunun erken dönem komplikasyonlarından biridir ve mortalite riski %5-20'dir. Patolojik bulguları perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu ve demiyelinizasyon oluşturur. Histolojik olarak demiyelinizasyonun hayvan modeli olan deneysel alerjik ensefalomyelite benzer. Demiyelinizasyonda oto-immün mekanizmalar suçlanmaktadır, ancak kesin etiyoloji belli değildir.

Kızamık inklüzyon cismi ensefaliti (MIBE) bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda kızamık enfeksiyonunu takiben 2-6 ay sonra ortaya çıkar. Tanısı ancak biyopsi veya post-mortem inceleme ile konabilir. Burada karakteristik patoloji glial hücre proliferasyonu, fokal nekroz ve perivasküler demiyelinizasyondur (25, 68). Kızamık virüsünü ortadan kaldıracabilecek etkin bir immün sistemin olmaması hastalığın ilerleyici ve fatal seyretmesine neden olur. Demiyelinizasyonda virüsün oligodendrositlerde hücre içi homeostazı bozması sonucunda hücrenin ölümüne neden olduğu öne sürülmektedir, ancak bu hastalıklarda da demiyelinizasyonun patogenezi kesin değildir (25, 69, 70).

2.9. Morbillivirus ailesinin demiyelinizasyon yapan diğer üyeleri

Morbillivirus ailesinden “Canine distemper virus” (CDV), köpeklerde virülan olup gri ve beyaz cevherde multifokal demiyelinizasyona yol açar. Hastalığın hem akut, hem de kronik fazlarında görülen demiyelinizasyonun erken dönemde virüsle enfekte oligodendrositlerin ölümüne, kronik fazda ise viral persistans ve oto-immün olaylara bağlı olduğu düşünülmektedir (25). “Phocine distemper virus” (PDV), deniz memelilerinde virulandır. Enfekte hayvanlarda bildirilen histopatolojik değişiklikler demiyelinizasyon, fokal gliyozis, nöronal dejenerasyon ve nekrozdur (71) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Morbillivirüs ailesinin demiyelinizasyonu

- A) “Canine distemper virus” (CDV) ile enfekte olmuş köpeğin erken dönem demiyelinizasyonu (pons)
- B) CDV ile enfekte olmuş köpeğin altı hafta sonra izlenen inflamatuvar demiyelinizasyonu,
- C) CDV ile enfekte olmuş köpeğin geç dönem demiyelinizasyonu (serebellum),
- D) “Phocine distemper virus” (PDV) ile enfekte olmuş fokta demiyelinizasyon (25).

2.10. SSPE'nin deneysel modeli

Kızamık virüsünün reseptörleri olan CD46 ve SLAM farelerde ifade edilmediği için fareler kızamık virüsüne doğal olarak dirençlidir. SSPE hastalığı için transjenik fare modelleri üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Deneysel modellerde kullanılan

farelerin öncelikli olarak CD46 eksprese etmeleri sağlanmıştır. Bu CD46+ transjenik farelere yenidoğan döneminde kızamık virüsü intraserebral olarak inoküle edilmiş ve fareler klinik olarak izlenmişlerdir. Tüm farelerde üç hafta içinde hareketlerde azalma, kuyruk tonusunda azalma, arka ayaklarını sürüyerek yürüme ve tremor saptanmıştır. Bu belirtilerin ortaya çıkışından sonra üç gün içinde tüm fareler ölmüştür. Enfekte olan farelerin beyinleri incelendiğinde ekstraselüler alanda kızamık virüsü saptanamamış, nöronal yapıların içinde ise kızamık virüs nükleokapsidleri bulunmuş ve virüsün tüm sinir sistemine yayıldığı izlenmiştir. Erişkin fareler benzer işlemlerden geçirildiğinde ise klinik olarak hastalık oluşmamış, immün sistem hastalığı sınırlamıştır (72). Diğer bir çalışmada bu bulgulara ek olarak beyinlerin histopatolojik incelemesinde lenfomononükleer hücre infiltrasyonu, apoptoz, astrositlerde proliferasyon saptanmıştır. Bu farelerin sitokin düzeylerine bakıldığında da, TNF- α düzeyinin kontrollere göre 17 kat artmış olduğu bulunmuştur (73). Oldstone ve arkadaşları immün sistemin SSPE'de baskılandığından yola çıkarak fareleri önce lenfositik koryomenenjenit virüs ile enfekte edip immün sistemi baskılamışlardır. Bu işlemde on gün sonra fareleri kızamık virüsü ile enfekte ederek nöronlarında persistan enfeksiyon sağlamışlardır. Enfekte farelerin beyinleri incelendiğinde kızamık virüs M geninde mutasyonlar saptanmıştır. Bu bulgular kızamık virüsünün hücre içine girdikten sonra mutasyona uğradığı hipotezini desteklemektedir. Bu sayede immüniteden kaçtığı ve persistansını sağladığı da düşünülmektedir (33). Fareler enfeksiyondan bir hafta önce aşılandığında ise hastalığa karşı korundukları ve persistansın önlendiği bulunmuştur (73). Bu çalışmalar aynı zamanda SSPE hastalığı için kızamık enfeksiyonu döneminde immün sistemin baskılanmasının SSPE geliştirme riskini arttırdığı hipotezini desteklemektedir (72, 73, 74). Ancak bu modellerde oligodendrositlerin enfekte olma oranı çok düşük bulunmuş ve demiyelinizasyon saptanmamıştır (59).

Günümüze dek elde edilen veriler SSPE'de demiyelinizasyon mekanizmasının halen kesin olarak bilinmediğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, SSPE'deki demiyelinizasyonda daha önceki bulgular ışığında hastaların BOS'nda bulunabilecek çözünür maddelerin (sitokin, antikor, kompleman,...) doğrudan rollerinin olup olmadığını araştırmak amacı ile planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar

Çalışmada, üç SSPE hastasının ve üç kontrol vakasının BOS'u kullanılmıştır (Etik Kurul onay no: HEK 01/52-11). Tüm hastalarda aşağıdaki SSPE kriterleri mevcuttur:

1. Klinik belirtiler
2. EEG (periyodik, stereotipik, yüksek voltajlı dalgalar)
3. Beyin-omurilik sıvısı incelemesi (immünglobülinlerde artma veya oligoklonal bant)
4. Beyin omurilik sıvısında kızamık antikorunu tayini

- Y.T: 5 yaşında erkek hasta. Bir aydır yürümede zorluk ve baş düşürme şikayeti ile başvurdu. Nörolojik muayenesinde dört ekstremitede tonüs artışı dışında bulgusu yoktu. EEG'sinde yüksek voltajlı periyodik deşarjları görüldü. BOS'ta kızamık IgG antikorlarının pozitif saptanması ile SSPE tanısı kesinleştirildi.

- A.A: 8 yaşında erkek hasta. Son üç aydır olan ders başarısızlığı ve baş düşürme şikayetleri ile başvurdu. Nörolojik muayenesinde sayı sayamadığı, derin tendon reflekslerinde artış olduğu, EEG'sinde diazepamla baskılanamayan yüksek voltajlı periyodik deşarjların bulunduğu görüldü. BOS'ta kızamık IgG pozitif saptanan hastaya SSPE tanısı konuldu.

- M.E: 7 yaşında erkek hasta. Bir aydır yürümede bozulma ve aralıklı sıçramalar şikayetleri ile başvurdu. Nörolojik muayenede dört ekstremitede tonüs artışı, EEG'sinde yüksek voltajlı periyodik deşarjları görüldü. BOS'ta kızamık IgG yüksek olarak saptandı.

Bu hastalar daha önce ünitemizde yapılmış olan bir çalışma sırasında periferik kan lenfositlerindeki intraselüler TNF α düzeyleri ölçülmüş olan SSPE hastaları arasından seçildi (32). Hastaların özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Kontrol grubu olarak ise 6, 8 ve 9 yaşlarında dirençli nöbet nedeniyle araştırılmakta olan hastalardan alınmış BOS örnekleri kullanılmıştır.

Tablo 3.1. SSPE hastalarının klinik ve labaratuvar özellikleri.

| Hasta adı | Tanı yaşı | Hastalık evresi (3) | BOS kızamık antikor (IgG) (RU/ml) | Serum kızamık antikor (IgG) (RU/ml) | Lenfosit TNF α düzeyi (%) | Kraniyal MRG |
|-----------|-----------|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|--------------|
| Y.T | 5 yaş | 2 | 7,3 | 7,0 | 14,08 | Normal |
| A.A | 8 yaş | 2 | 8,5 | 7,8 | 0,05 | Normal |
| M.E | 7 yaş | 2 | 10,2 | 10,8 | 0,0 | Normal |

3.2. Deneyler

Ön çalışmada, pertusis toksininin (PT) kan-beyin bariyerini bozmadaki etkisi incelendi. Bu amaçla bir fareye 10 ng PT intraperitoneal olarak (ip) enjekte edildi. Ardından kuyruk veninden 0,3 ml %4'lük Evans mavisini (Sigma-Aldrich) intravenöz olarak verildi. Enjeksiyondan 24 saat sonra fare dekapite edilerek beyin diseksiyonu yapıldı. Frontal bölgeden 5 μ kalınlığında alınan kesitler, floresan mikroskop (Nikon Eclipse E600) altında incelendi. Mikroskopik incelemede Evans mavisinin vasküler alandan çıktığı ve parankimde kırmızı röfle verdiği gösterildi (Şekil 4.1). Ardından çalışmaya geçildi (Deney Hayvanları Etik Kurul onay no: 2005/54-5).

Hastaların tanı anında alınmış BOS örnekleri ve kontrol vakalarının klinik izlem sırasında ayırıcı tanı amaçlı olarak alınan ve -80 $^{\circ}$ C'de saklanmış olan BOS örnekleri erişkin Swiss albino farelere enjekte edilerek santral ve periferik demiyelinizasyona yol açıp açmadığı incelendi. SSPE (n=3) ve kontrol (n=3) grubu BOS örnekleri (0,5 ml) van den Berg ve arkadaşlarının protokolüne uygun olarak iki

gün arka arkaya ip yoldan enjekte edildi (75). BOS enjeksiyonları öncesinde tüm farelere kan beyin bariyerini bozmak için 10 ng (0.1 ml) PT ip olarak yapıldı. İki fareye ise sadece PT enjeksiyonu yapıldı. Toplam 14 fare kullanıldı. Altı ve 21 günlük izlemlerinin ardından fareler anestezi verilmeden dekapite edilerek histopatolojik olarak incelendi. Şekil 3.2’de gruplar ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.3. Klinik izlem

Enjeksiyon sonrasında farelerin klinik bulguları deneysel alerjik ensefalomyelit klinik skor tablosuna uygun biçimde günlük olarak değerlendirildi (76). Farelerin hareketleri gözönüne alınarak skorlama 1’den 5’e kadar yapıldı.

1. Kuyruk tonusunun kısmi kaybı veya yürümede bozulma
2. Kuyruk tonusunun kısmi kaybı ile birlikte yürümede bozulma veya yürümede bozulma olmaksızın kuyruk tonusunun tamamen kaybı
3. Kuyruk tonusunun tamamen kaybı ile yürümede bozulma
4. Arka bacaklarda kısmi parezi
5. Arka bacaklarda tam parezi

3.4. Histopatolojik inceleme

Yedi fare altıncı günde, 7 fare de 21. günde dekapite edildi. Beyin ve siyatik sinir çıkarılarak %10’luk formaldehid solüsyonunda en az 48 saat tespit edildi. Beyin dokusundan frontal, pariyetal, temporal ve oksipital lobları, beyin sapı ve periventriküler bölgeyi ve serebellumu içerecek şekilde kesitler alınarak, siyatik sinirle birlikte tüm dokulardan rutin yöntemler ile parafin bloklar hazırlandı. Farelerin siyatik siniri periferik, beyinleri de santral demiyelinizasyon ve apoptoz açısından histopatolojik olarak incelendi.

Histopatolojik değerlendirmede beyin dokusunda meninkslerde, kortikal, subkortikal bölge veya beyaz cevherde inflamasyon, nöronal dejenerasyon, demiyelinizasyon

veya gliyozis varlığı araştırıldı. Ayrıca nekroz, kanama, ventriküler dilatasyon veya diğer yapısal değişiklikler belirlendi.

Histopatolojik incelemede hemotoksilen eozin (HE) boyası, miyelin değerlendirmesi için miyelin boyası ve apoptoz için de TUNEL metodu kullanıldı.

Hematoksilen eozin ile boyama:

Parafin bloklardan 4µ kalınlığında alınan kesitler üç defa 15'er dakika ksilol ve ardından iki defa 15'er dakika alkol solüsyonunda tutularak deparafinize edildikten sonra hematoksislen solüsyonunda beş dakika tutuldu ve %5'lik asid alkolden geçirilerek hematoksislen boyası soldurulduktan sonra su ile yıkandı. %5'lik amonyak solüsyonundan geçirilerek eozinde iki dakika tutulduktan sonra su ile yıkanıp alkolden geçirilerek fikse edildi.

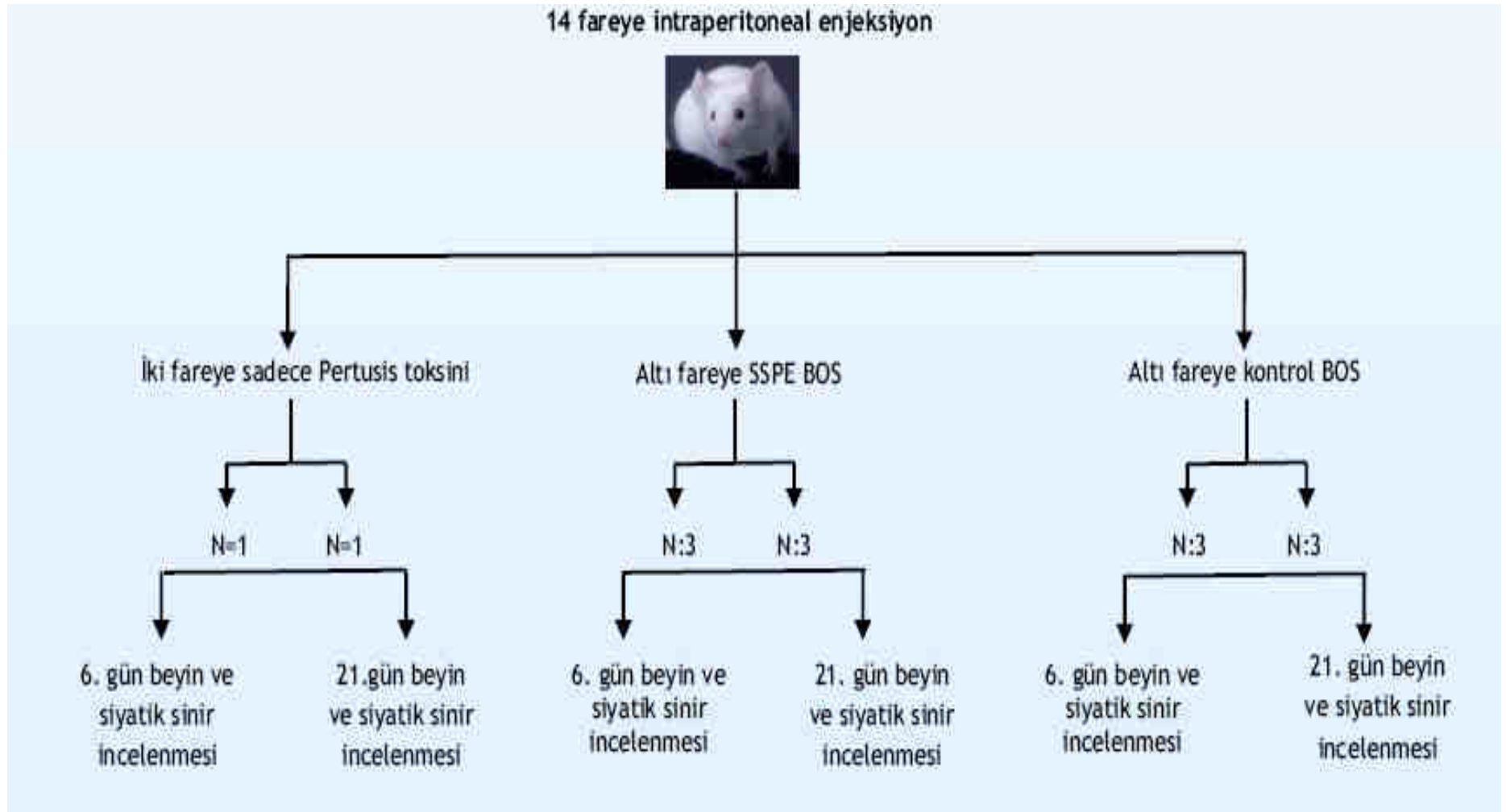
Miyelin boyası:

Parafin bloklardan 4µ kalınlığında alınan kesitler alkol ve ksilol ile deparafinize edildi. %2'lik celloidine ile muamele edildikten sonra distile su ile yıkanıp %2,5 ferrik alumda oda sıcaklığında 24 saat bekletildi. Ardından lityum karbonatlı solüsyonda bekletildikten sonra distile su ile yıkanıp alkolden geçirilerek fikse edildi.

Apoptoz için TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)-mediated dUTP nick end labelling) metodu (Chemicon Apoptosis Detection Kit-S7100) kullanıldı.

TUNEL metodu:

Parafin bloklardan 4µ kalınlığında alınan kesitler, alkol ve ksilol ile deparafinize edildi. Ardından 30 dakika oda sıcaklığında 20 µg/ml proteinaz K ile inkübe edildikten sonra TdT ve digoksinin işaretli dUTP içeren tamponda 1 saat 37°C'de bekletildi. En son olarak anti-peroksidaz ve anti-digoksinin ile muamele edilip diaminobenzidin ve metil yeşili ile görüntülenme sağlandı.



Tablo 3.2. Enjeksiyon grupları

4. BULGULAR

4.1. Kan-beyin bariyerinin bozulması

Kan-beyin bariyerinin PT ile bozulduğu ve mikroskopide Evans mavisinin vasküler bölgeden çıkarak tüm parankimde kırmızı röfle verdiği gösterildi (Şekil 4.1) (77, 78, 79).



Şekil 4.1. PT sonrası Evans mavisinin kan-beyin bariyerinden geçip parankime ekstravaze olduğu görülmektedir (frontal korteks, 20x orijinal büyütme, Nikon Eclipse E600).

4.2. Farelerin klinik izlemi

Farelerin hiçbirinde takip süresince kuyrukta tonüs kaybı, yürümede bozulma, hareketlerde azalma, beslenmede azalma gibi klinik bulgular izlenmedi.

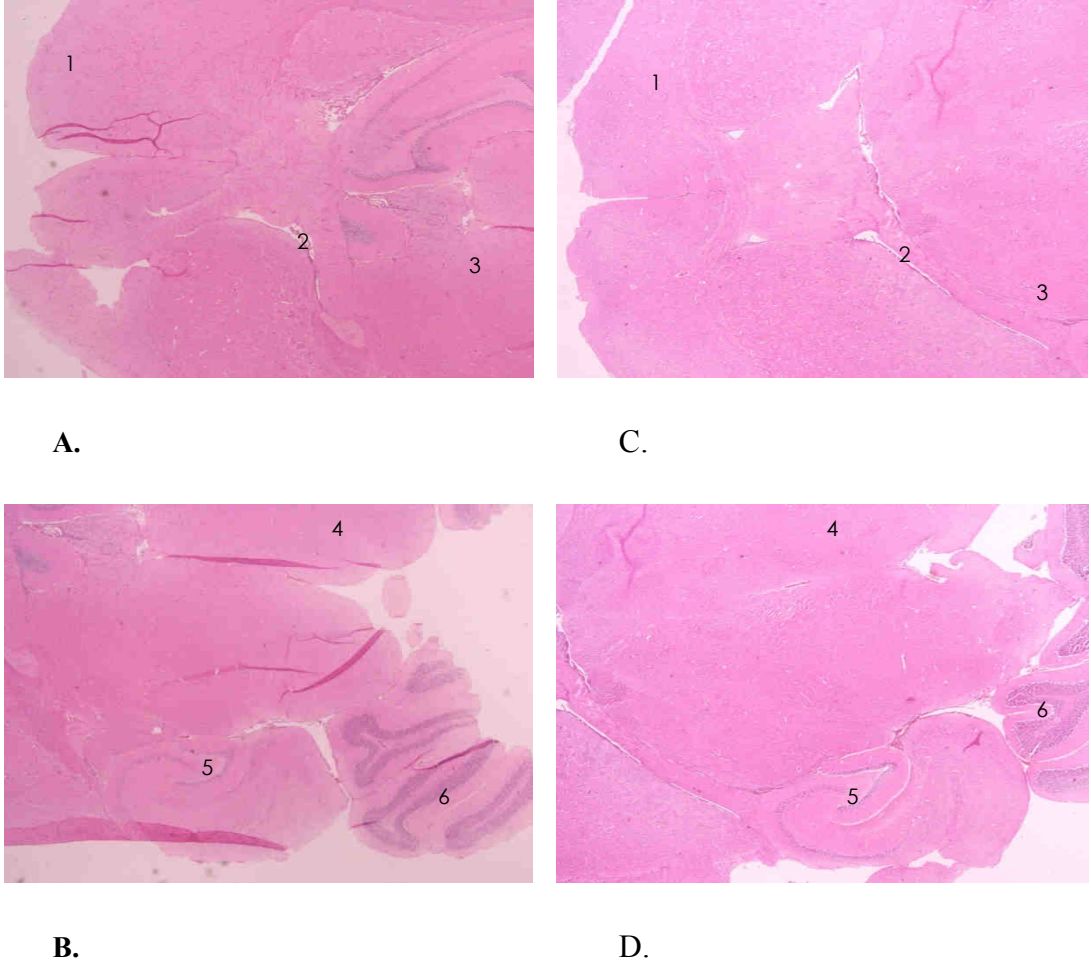
4.3. Histopatolojik inceleme

4.3.1. Beyin:

Beyin dokusunun histopatolojik incelemesinde 6. ve 21. günlerde meninkslerde veya parankimde inflamasyon saptanmadı. Nöronal dejenerasyon veya demiyelinizasyon

bulgusu gözlenmedi. SSPE ve kontrol grubu arasında morfolojik bulgular açısından bir fark bulunmadı.

Şekil 4.2’de her iki grubun serebral yapıları görülmektedir. Histopatolojik olarak morfolojik yapıda bozulma, kanama, nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcut değildir.

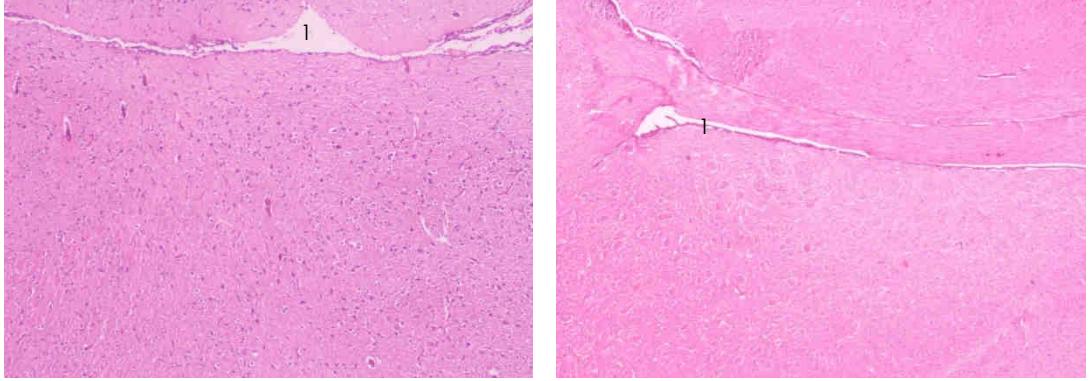


1: Frontal korteks, 2: Lateral ventrikül 3: Talamus ve bazal gangliyalara, 4: Pariyeto-oksipital lob, 5: Hipokampus, 6: Serebellum

Şekil 4.2. Altıncı gün değerlendirmesi (HE, 2x orijinal büyütme). SSPE ve kontrol grubunda yapısal değişiklik mevcut değil.

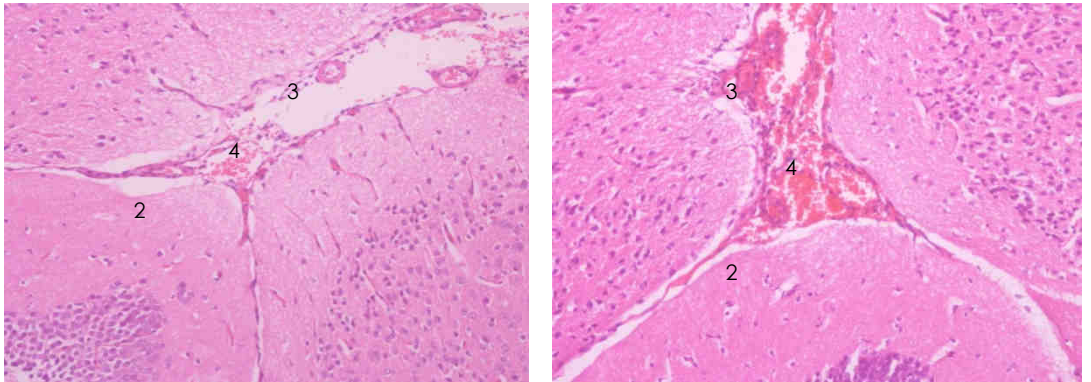
- A. SSPE grubu frontal lob ve orta hat yapıları
- B. SSPE grubu pariyeto-oksipital lob ve serebellum
- C. Kontrol grubu frontal lob ve orta hat yapıları
- D. Kontrol grubu pariyeto-oksipital lob ve serebellum

Şekil 4.3.A (SSPE) ve 4.3.C'de (kontrol) periventriküler bölge izlenmektedir. SSPE'de bu alanda da nöronal yapıların korunduğu görülmektedir. Nöronal dejenerasyon, inflamasyon, demiyelinizasyon veya kontrol grubuna göre farklı bir patolojik bulgu saptanmamıştır. 4.3.B (SSPE) ve 4.3.D'de (kontrol) meningeal vasküler yapılar izlenmektedir. Herhangi bir inflamatuvar hücre reaksiyonu mevcut değildir. Minimal subaraknoid kanama görülmektedir.



A.

C.



B.

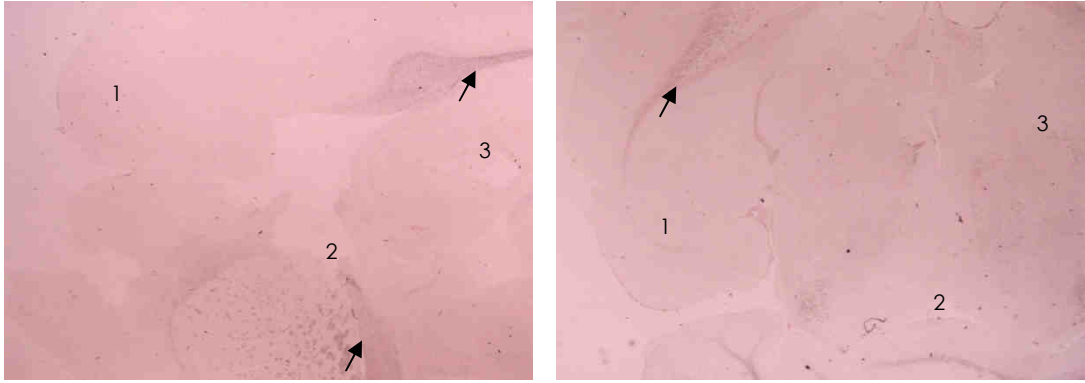
D.

1: Lateral ventrikül, 2: Pia mater, 3: Araknoid mater, 4: Subaraknoid mesafe

Şekil 4.3. Altıncı gün değerlendirmesi (HE, 20x orijinal büyütme). SSPE ve kontrol grubunda inflamasyon, nöronal dejenerasyon, demiyelinizasyon mevcut değil.

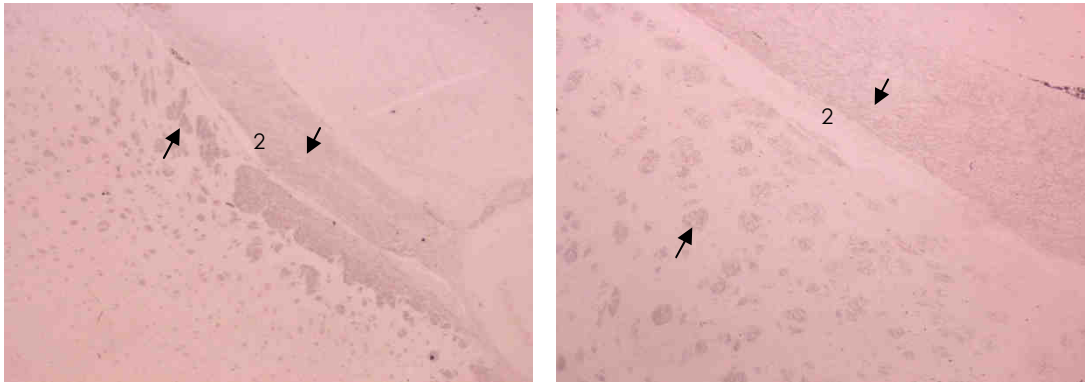
- A. SSPE grubu periventriküler bölge
- B. SSPE grubu meninks
- C. Kontrol grubu periventriküler bölge
- D. Kontrol grubu meninks

Miyelin boyası ile Şekil 4.4.A (SSPE) ve 4.4.C'de (kontrol) serebral yapılar, 4.4.B (SSPE) ve 4.4.D'de (kontrol) periventriküler alanlar görülmektedir. Periventriküler bölgede miyelinli liflerin dağılımında ve boyanma yoğunluğunda farklılık veya boyanmayan demiyelinize alan izlenmemiştir. Serebral yapıların miyelin dağılımında bozulma bulunmamıştır. Miyelinli alanlar kahverengi olarak izlenmektedir ve oklarla işaretlenmiştir.



A.

C.



B.

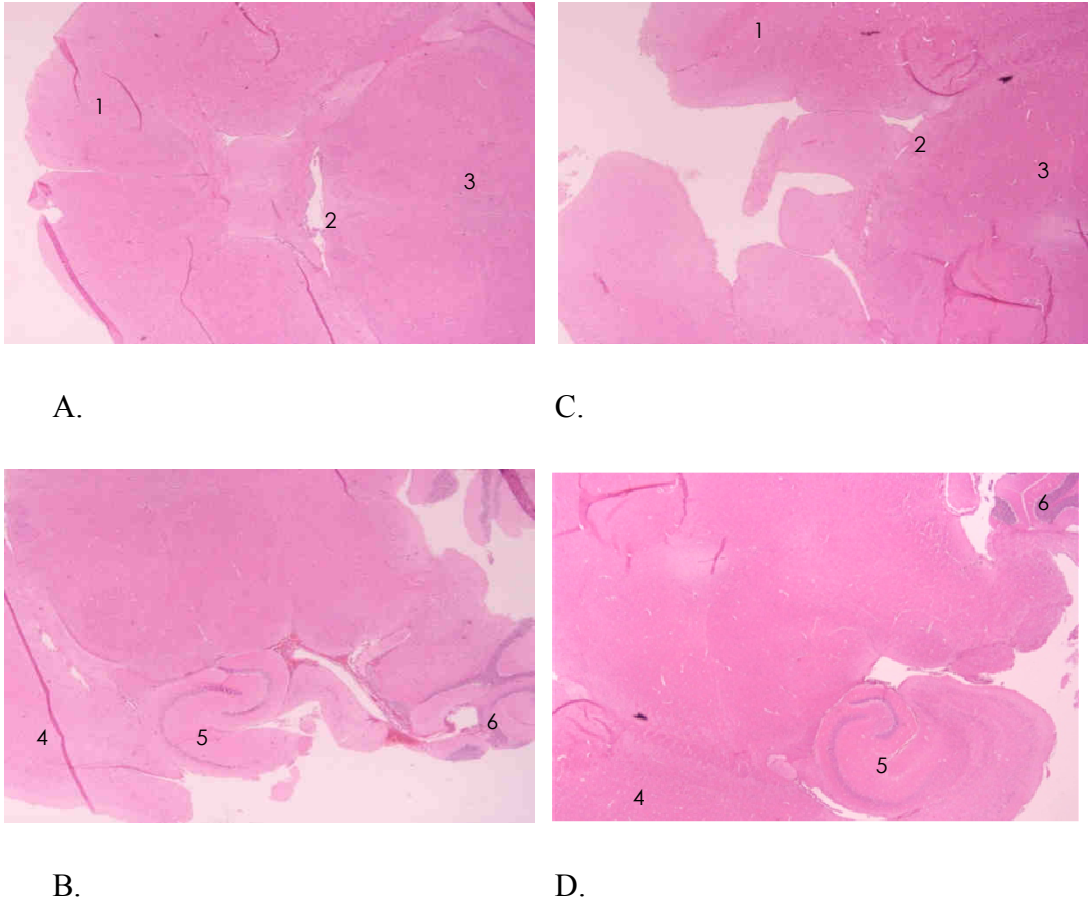
D.

1: Frontal korteks, 2: Lateral ventrikül 3: Talamus ve bazal gangliyalar

Şekil 4.4. Altıncı gün değerlendirmesi (miyelin boyası). SSPE ve kontrol grubu arasında miyelinli liflerin boyanmasında farklılık, demiyelinizasyon bulgusu yok.

- A. SSPE grubu frontal lob (2x orijinal büyütme)
- B. SSPE grubu periventriküler bölge (20x orijinal büyütme)
- C. Kontrol grubu frontal lob (2x orijinal büyütme)
- D. Kontrol grubu periventriküler bölge (20x orijinal büyütme)

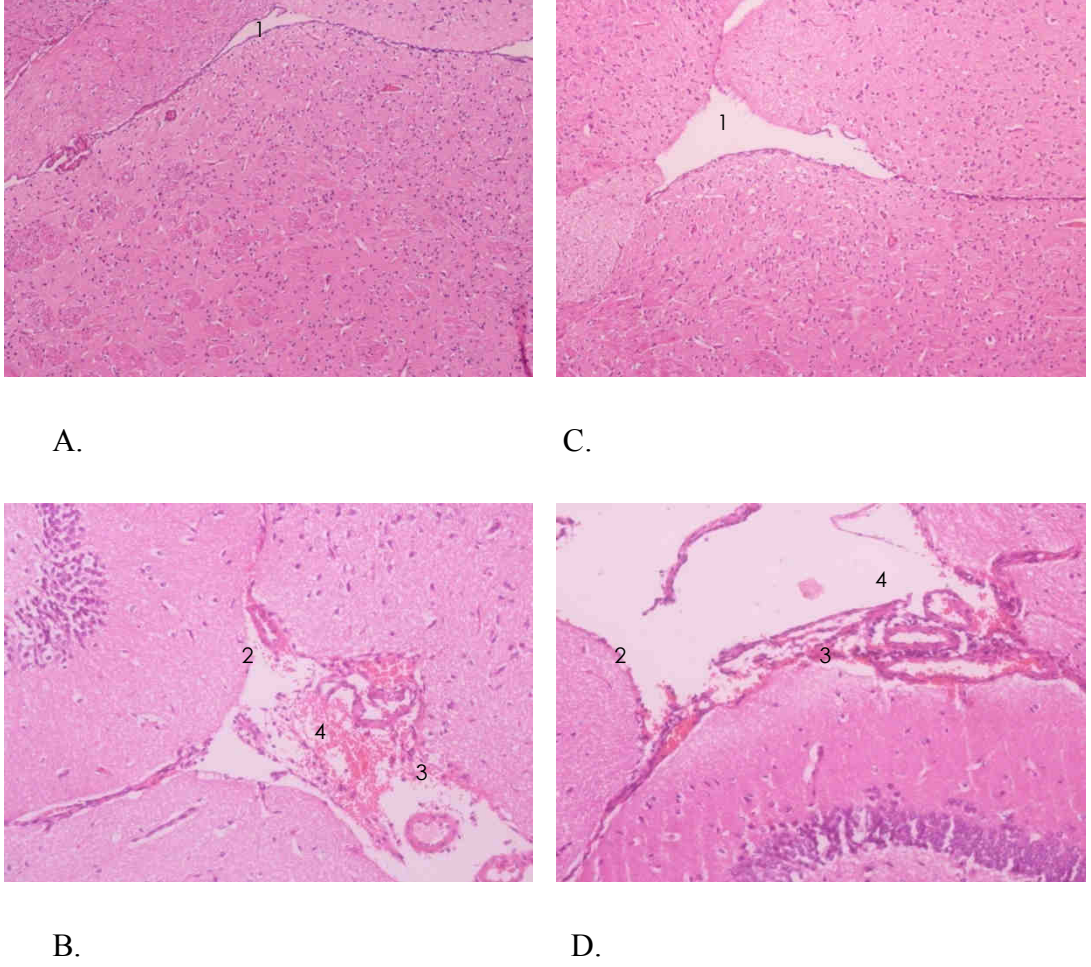
Benzer şekilde, 21. gündeki HE boyasında serebral yapılarda nöronal dejenerasyon, gliyozis, atrofi ve demiyelinizasyon saptanmamıştır (Şekil 4.5), periventriküler bölgede nöronal yapılar, meningeal ve vasküler yapılar normal olarak izlenmektedir (Şekil 4.6). Miyelin boyasında (Şekil 4.7), periventriküler bölge, subkortikal beyaz cevher, ve orta hat yapılarının miyelinize olduğu görülmektedir.



1: Frontal korteks, 2: Lateral ventrikül 3: Talamus ve bazal gangliyalr, 4: Pariyeto-oksipital lob, 5: Hipokampus, 6: Serebellum

Şekil 4.5. Yirmi birinci gün değerlendirmesi (HE, 2x orijinal büyütme).

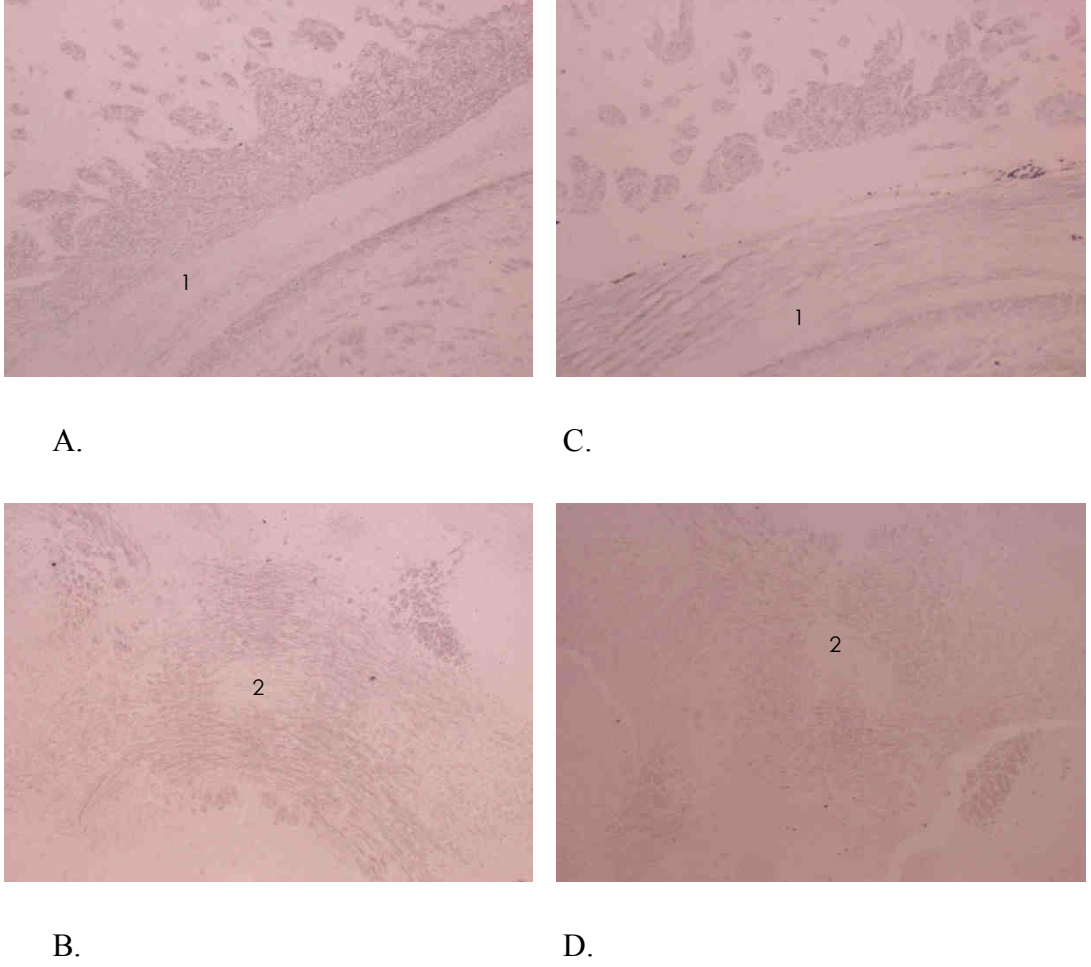
- A. SSPE grubu frontal lob ve orta hat yapıları
- B. SSPE grubu pariyeto-oksipital lob ve serebellum
- C. Kontrol grubu frontal lob ve orta hat yapıları
- D. Kontrol grubu pariyeto-oksipital lob ve serebellum



1: Lateral ventrikül, 2: Pia mater, 3: Araknoid mater, 4: Subaraknoid mesafe

Şekil 4.6. Yirmibirinci gün değerlendirmesi (HE, 20x orijinal büyütme)

- A. SSPE grubu periventriküler bölge
- B. SSPE grubu meninks
- C. Kontrol grubu periventriküler bölge
- D. Kontrol grubu meninks

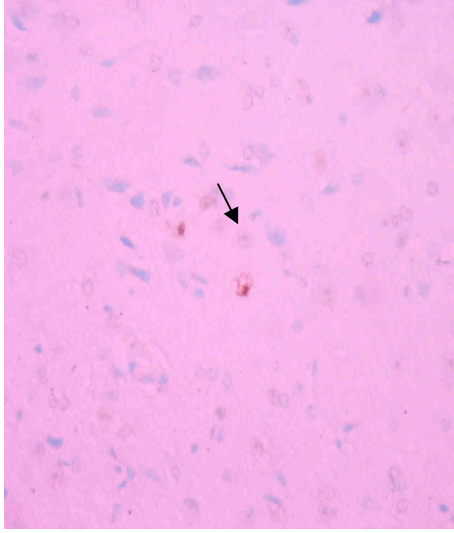


1: Lateral ventrikül, 2: Üçüncü ventrikül

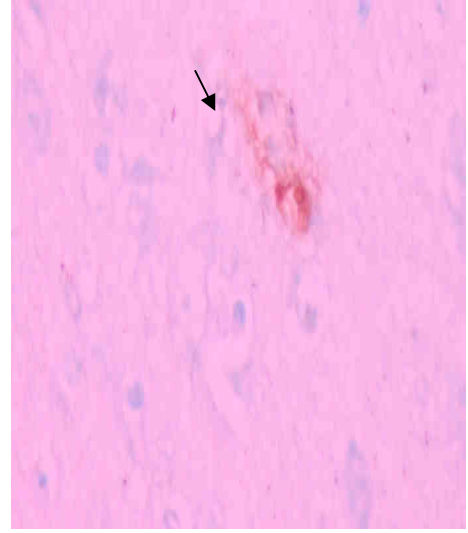
Şekil 4.7. Yirmibirinci gün değerlendirmesi (miyelin boyası)

- A. SSPE grubu periventriküler bölge (20x orijinal büyütme)
- B. SSPE grubu orta hat yapıları (2x orijinal büyütme)
- C. Kontrol grubu periventriküler bölge (20x orijinal büyütme)
- D. Kontrol grubu orta hat yapıları (2x orijinal büyütme)

TUNEL incelemesinde, SSPE ve kontrol gruplarında 6. ve 21. günlerde beyin parankiminde nadir apoptotik hücre görülmüştür. SSPE grubunda apoptotik hücrelerde artma saptanmamıştır. Apoptotik hücreler ok ile gösterilmiştir.



A.



B.

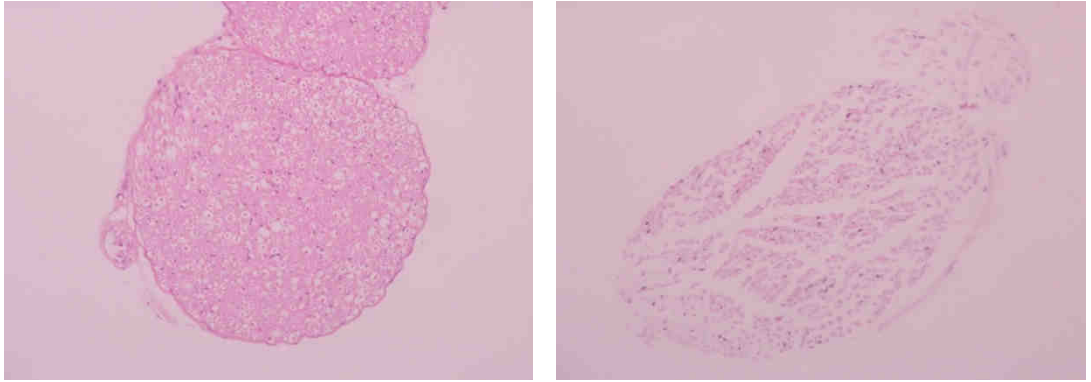
Şekil 4.8. Apoptoz boyaması (TUNEL, 20x orijinal büyütme)

- A. SSPE grubu altıncı gün, hipokampus
- B. Kontrol grubu altıncı gün, hipokampus

SSPE ve kontrol gruplarında, 6. gün ile 21. gün arasında beyin morfolojisi, miyelin yapısı ve apoptoz açısından histopatolojik olarak fark izlenmemiştir.

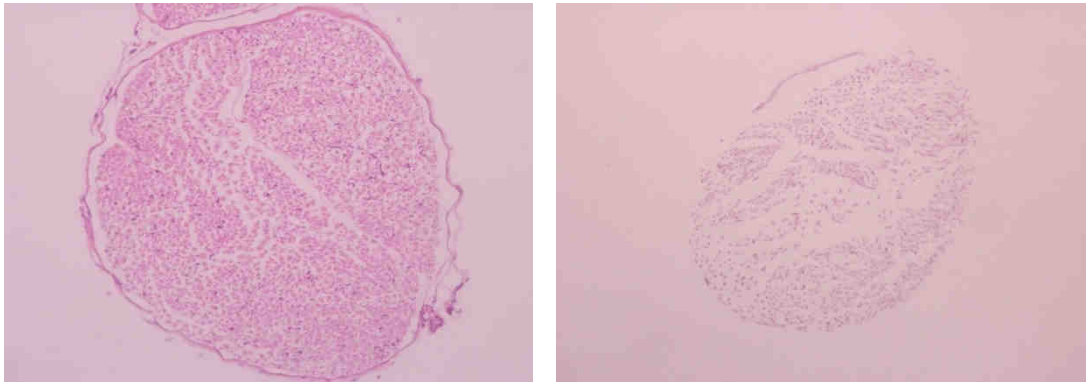
4.3.2. Periferik sinir:

Siyatik sinir kesitlerinde histopatolojik olarak (HE ve miyelin boyası ile) SSPE ve kontrol grubunda benzer bulgular saptanmıştır. Histolojik yapı tüm gruplarda ve tüm haftalarda korunmuş olarak izlenmektedir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, akson kaybı veya demiyelinizasyona ait bulgu saptanmamıştır.



A.

C.



B.

D.

Şekil 4.9. Siyatik sinir değerlendirmesi (HE, 20x orijinal büyütme)

- A. SSPE grubu altıncı gün
- B. SSPE grubu 21. gün
- C. Kontrol grubu altıncı gün
- D. Kontrol grubu 21. gün

5. TARTIŞMA

Demyelinizasyon enfeksiyöz, metabolik, oto-immün, toksik,... vb birçok sinir sistemi hastalığının bulgusudur. Çocuklarda kalıtsal metabolik hastalıklar, erişkinlerde oto-immün mekanizmalar demiyelinizasyona en sık yol açan nedenlerdir. SSPE de genellikle çocukluk yaş grubunda görülen, enfeksiyöz nedeni, inflamasyonun ve nörodejenerasyonun katıldığı demiyelinizan bir hastalıktır.

Viral etkenlerle oluşan demiyelinizasyonların patogenezi tamamen açıklanabilmiş değildir. Theiler'in fare ensefalit virüsü (Theiler's murine encephalitis virus, TMEV) enfeksiyonu, bu hastalıkların hayvan modeli olarak kabul edilir. Bu enfeksiyonun hastalık süreci kızamık enfeksiyonuna benzerlik gösterir. Farelerde patojen olan Theiler virüsü bifazik bir enfeksiyon biçimi gösterir. İlk dönem virüsün nöronal hücreleri enfekte ettiği dönemdir. Beyaz cevher tutulumu olmaz, demiyelinizasyon ve inflamasyon izlenmez. İkinci dönemde (kronik enfeksiyon dönemi) ise inflamasyon ve demiyelinizasyon izlenir. İnflamatuvar yanıtı oluşturan, persistan virüs enfeksiyonudur. SSS'de ortadan kaldırılamayan virüs, T hücrelerinde ve antikor yapımında artışa sebep olmakta ve bu konağın nöronal yapılarına karşı bir reaksiyon oluşturmaktadır. İnflamatuvar hücreleri ağırlıklı olarak CD4+ T hücreleri oluşturur. İlginç olarak oligodendrositler nadiren enfekte olurlar; oligodendrosit hasarı olmadan demiyelinizasyon izlenmesi nedeniyle demiyelinizasyon patogenezi daha farklı mekanizmalar araştırılmaktadır. Bu konuda en çok kabul gören görüş, enfeksiyon sırasında ortaya çıkan anti-viral inflamatuvar (CD4+ T hücre) yanıtı ile salgılanan pro-inflamatuvar sitokinlerin, miyelin veya oligodendrositlere zarar verdiğidir. Sitokinlerin (IFN γ , TNF α ,...) makrofaj/mikroglia aktivasyonu yaparak doğrudan miyelin hasarı oluşturduğu düşünülmektedir. Oligodendrositlerde viral enfeksiyonun gösterilemediğinden, virüsle enfekte hücreye karşı CD8+ T lenfosit aracılığıyla sitolizinin demiyelinizasyonda rolü tartışmalıdır (50, 59). Theiler virüsünün neden olduğu demiyelinizasyonun patogenezi araştırmak için yapılan bir çalışmada, enfekte olmuş farelerden alınan serumun in vitro demiyelinizasyon etkisi ve ayrıca hücrelerin (splenosit) hastalığı transfer etme potansiyeli incelenmiştir. Enfekte farelerden alınan serum, hücre kültürüne eklendiğinde miyelin oluşumunun engellenmediği ve demiyelinizasyonun olmadığı saptanmıştır. İn vitro ortamda miyelin bazik protein ile

muamele edilen lenfositlerin de proliferere olmadıkları ve in vivo verildiğinde diğer farelerde demiyelinizasyona yol açmadığı gösterilmiştir (80). Bizim çalışmamızla benzer özellikleri ve sonuçları olan bu çalışmada demiyelinizasyonun pasif olarak aktarılamayacağı, ve bunun immün yanıt süresince devam eden bir durum olduğu gösterilmiştir.

Benzer çalışmalar Guillain Barre Sendromu (GBS) hastalarında yapılmış, bu tanıyı alan hastaların serumları, fare veya sıçanlara intraperitoneal veya siyatik sinir enjeksiyonu ile verilmiştir (51, 74, 81, 82). Sadece türler arası farklılığın demiyelinizasyona yol açmadığı, insan serumu fareye verildiğinde normal şartlar altında demiyelinizasyon olmadığı öncelikle gösterilmiştir (83). Buna karşılık GBS hastalarının serumları sıçanların siyatik sinirine enjekte edildiğinde hayvanların yaklaşık olarak yarısında demiyelinizasyon saptanmıştır. Ayrıca hastalığı klinik olarak daha ağır olanların serumlarının daha fazla demiyelinizasyon yaptığı izlenmiştir (80). Harrison ve arkadaşları ise yeni tanı alan GBS hasta serumlarını sıçan siyatik sinirine enjekte ettikten sonra sinir ileti hızlarını ölçmüşler ve 24 saatte başlayarak 3-6. günde en belirgin olmak üzere yavaşlama saptamışlardır. Hayvanların siyatik sinirleri histopatolojik olarak incelendiğinde en yaygın demiyelinizasyonun altıncı günde olduğu saptanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda serumlarda aktif demiyelinizan maddelerin olduğu ve bu maddelerin sitokin, toksik metabolit, kompleman bağlayan antikorlar olabileceği öne sürülmüştür (81). van den Berg ise farelerin peritonlarına GBS hastalarının serumlarını enjekte ettikten sonra altıncı günde elektrofizyolojik bulgular saptamış ve bunların iki hafta içinde düzeldiğini göstermiştir. Histopatolojik incelemede ise demiyelinizasyona rastlamamışlardır (74). GBS’de bu aracı etkenin TNF α olabileceğini destekleyen klinik araştırmalar da yayınlanmıştır: TNF α düzeylerinin yüksek olduğu ve hastalığın klinik durumu ile pozitif korelasyonun gösterildiği çalışmalar da mevcuttur (84, 85). Bizim çalışmamızda da benzer yöntem kullanılmış, ancak santral veya periferik demiyelinizasyonun klinik ve histopatolojik bulguları görülmemiştir. Bu bakımdan sonuçlarımız Theiler virüsü çalışmalarına benzerlik göstermekte ve bu enfeksiyonun SSPE’ye daha yakın bir model olduğunu düşündürmektedir.

Erişkinlerde en sık izlenen demiyelinizan hastalık, multipl skleroz (MS)'dir. Dünya üzerinde yaklaşık 2,5 milyon MS hastası vardır ve insidansı yılda 100000 kişide 7'dir. MS genetik olarak yatkın kişilerde, çevresel faktörler, viral ajanlar, inflamatuvar ve otoimmün yanıt sırasında salgılanan sitokinler ile henüz daha tanımlanmamış bazı etiyolojik ajanların kombinasyonu sonucu gelişen bir hastalıktır. Hastalık, SSS'de fokal inflamatuvar demiyelinizasyondan, oligodendrositlerin kaybına varan doku kaybı, glial skar gelişimi ve aksonal kayıp oluşması ile sonuçlanan multifokal sklerotik plaklar ile ortaya çıkmaktadır. Ancak hastalığı neyin başlattığı hala bilinmemektedir. Enfeksiyon gibi özgün olmayan olaylar ile immün sistemin uyarılması sonucunda başladığı ve ilerlediği düşünülmektedir. İntratekal oligoklonal IgG sentezi bunun bir kanıtı olarak öne sürülmektedir (86, 87).

MS'de gelişen demiyelinizasyondan kısmen oligodendrositlerin hasarı sorumludur. Demiyelinizan lezyonların gelişimi ve tamiri sırasında oligodendrositlerin davranış biçimi tam olarak bilinmemektedir. Ancak, inflamatuvar yanıt sırasında gelişen immün mekanizmaların oligodendrositleri hasara uğratabileceği gösterilmiştir. Aktive makrofajlar veya mikrogliyal hücreler, TNF α veya IFN γ gibi proinflamatuvar sitokinler salgılayarak oligodendrosit hasarı oluşturabilmektedir. İnflamasyonun etken olmadığı hastalıklar ile MS karşılaştırıldığı zaman, MS'de artan moleküllerin IL-4 ve TNF α olduğu ve TNF α mRNA'sının ataklardan önce artmaya başladığı çalışmalarda gösterilmiştir (88, 89). Oligodendrositlere toksik olan diğer etkenler: reaktif oksijen türevlerinin ve glutamat gibi eksitatör amino asitlerin oluşumu, kompleman bileşenlerinin aktivasyonu, proteolitik ve lipolitik enzimlerin salgılanması, perforin/lenfotoksin gibi T hücre ürünleri yoluyla T hücre kökenli hasarlanma, CD8+ lenfosit ve MHC sınıf I aracılıklı sitotoksosite veya persistan viral enfeksiyonlardır (90, 91, 92). Aktif demiyelinizan MS lezyonlarının patolojik olarak incelenmesi, demiyelinizasyon gelişiminde farklı mekanizmaların varlığını ortaya koymuştur. Lezyonların büyük bir kısmında T lenfosit ve makrofajlardan oluşan inflamatuvar yanıt saptanmasına rağmen oldukça farklı miyelin yıkım şekilleri gözlenmiştir (93). Patogeneizde yer alan bu otoimmün olayların yanısıra, şimdiye kadar kesin gösterilmiş olmamakla birlikte, bir diğer hipotez de enfeksiyöz ajanlara dayanır. MS lezyonlarındaki CD8+ lenfositlerin varlığı viral enfeksiyonu destekler; ayrıca SSS viral enfeksiyonlarından sonra da görülen oligoklonal bantlar MS'de de

görülür. Buna göre de SSS'ni enfekte eden persistan patojen, inflamatuvar mekanizmaları uyarak hasara yol açmaktadır. Otoimmün ve enfeksiyöz hipotezler, başlatan nedenleri farklı olsa da benzer mekanizmalarla benzer sonuçlar doğurmaktadır.

SSPE'de de persistan kızamık virüsünün varlığının kesin olarak bilinmekle birlikte demiyelinizasyonun aracı mekanizmaları tanımlanamamıştır. Virüs enfeksiyonunun doğrudan oligodendrosit hasarına yol açtığı veya enfeksiyon sırasındaki immün yanıtta görevli sitokin, kompleman, antikor gibi maddelerin miyelini yıktığı üzerinde düşünülmektedir. Bu hipotezlerden yola çıkılarak yaptığımız bu çalışmada hasta BOS'larının klinik ve histopatolojik değişikliklere, nöronal dejenerasyon, gliyozis, inflamatuvar hücre reaksiyonu, demiyelinizasyon veya apoptoza yol açmadığı görülmüştür. Bunun nedeni gerçekten de SSPE'de demiyelinizasyondan sorumlu olan bir çözünen madde bulunmaması olabilir. Bu durumda demiyelinizasyon için hücresel aracılıklı inflamatuvar yanıtın gerekli olduğu düşünülebilir. Bunun irdelenmesi için hastaların mononükleer hücrelerinin BOS ile birlikte ya da ayrı olarak enjekte edildiği deneyler yararlı olabilir.

Bunun dışında, BOS'daki birtakım moleküller demiyelinizasyondan gerçekten sorumlu oldukları halde çalışmamızda bu gösterilememiş olabilir. Bunun çeşitli olası nedenleri sayılabilir:

Örneklemin küçük olması: Çalışmamızda 3 SSPE ve 3 kontrol vakasının BOS örnekleri kullanılmıştır: daha fazla BOS örneği denendiği takdirde bazı örneklerde demiyelinizasyon kapasite bulunabileceği akla gelebilir. Ancak çalışmamızda az sayıda örnek kullanılacağı için, olası bir farklılığın gösterilebilmesi açısından TNF α düzeyi düşük ve yüksek olan hastaların BOS'ları seçilmiştir. Kızamık IgG ise hepsinde yüksektir. Bu nedenle eğer sorumlu etken TNF α ya da kızamık antikoru ise daha fazla sayı ile farklı bir sonuç elde etme olasılığı düşüktür.

Hastaların TNF α düzeyleri serumdaki mononükleer hücrelerden ölçülmüştür. Serumdaki düzeyin genelde BOS'u da yansıttığı düşünülürse de (94) doğrudan BOS TNF α düzeylerinin ölçülmüş olduğu örneklerle bir çalışma düşünülebilir.

Çalışmanın planına ait nedenler: Teknik olarak ışık mikroskobu kullanılmıştır, örneğin elektron mikroskopik inceleme yapılmadığı için miyelinde oluşabilecek vakuolizasyon gibi daha küçük ve hafif lezyonlar görülmemiş olabilir.

Kullanılan BOS'lar tanı sırasında alınan numunelerdir. SSPE'de demiyelinizasyon ise geç evrede olmaktadır: hastalığın erken döneminde görüntüleme yöntemleri ile demiyelinizasyon gösterilemez. Bu nedenle de çalışmamızda kullanılan, tanı için alınmış erken evre BOS örnekleri aranan maddeleri içermeyebilir.

Farelerde izlem 21. güne kadar yapılmış, 6 ve 21 günde kesit alınmıştır. Bu günler GBS ile yapılan çalışmalar örnek alınarak seçilmekle birlikte, daha farklı bir zaman penceresinde yeni çalışmalar planlanabilir.

Çalışmamızda erişkin fareler kullanılmıştır. Duyarlılığın daha küçük yaşlarda daha fazla olabileceği düşünülerek enjeksiyonun farklı yaş gruplarına yapılması denenebilir.

Yine bu fare suşu, viral demiyelinizasyona dirençli olabilir. İnflamasyonu uyarmanın bir diğer yolu da CD46 ifade edebilen transjenik fareleri kızamık virüsü ile enfekte etmektir, bundan sonraki çalışmalarda bu yöntem kullanılabilir.

Bütün sonuçlar ile SSPE'de demiyelinizasyonda BOS'daki moleküllerin etken olduğu gösterilememiştir. Demiyelinizasyon patogenezinde persistan viral enfeksiyon, bu enfeksiyonun neden olduğu abartılı immün yanıt, sitokinler, ve bunların hem miyeline doğrudan zarar vermesi, hem de oligodendrositlere zarar vererek miyelin yıkımını indüklemesi sorumlu tutulabilir: demiyelinizasyon birincil nedenden çok, inflamasyon ya da dejenerasyonun yer aldığı mikroçevrenin bir sonucu gibi görünmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada pertussis toksini intraperitoneal verilerek farelerde kan-beyin bariyerinin bozulduğu gösterilmiştir.

Bunun ardından kızamık antikor titresi yüksek olan SSPE hastalarının ve nörolojik kontrol vakalarının BOS'larının farelere intraperitoneal verildiğinde beyin ve siyatik sinirde klinik ve histopatolojik değişikliklere, nöronal dejenerasyona, gliyozise, inflamatuvar hücre reaksiyonuna, demiyelinizasyona ve apoptoza yol açmadıkları görülmüştür.

Bu bulgu gerçek bir etkisizliğe ya da başka araştırmalarda incelenmesi gereken mekanizmalara işaret edebilir.

Daha sonraki çalışmalarda,

- BOS ile birlikte hastaların mononükleer hücrelerinin de verilmesi,
 - Demiyelinizasyonlarının olduğu görüntüleme yöntemleri ile gösterilmiş hastaların BOS örneklerinin seçilmesi,
 - CD46 ifade edebilen transjenik fareler kullanılması,
 - Yaş ve suş olarak en duyarlı hayvanların seçilmesi
- önerilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Garg RK. Subacute sclerosing panencephalitis. *Postgrad Med J* 2002;78(916):63-70.
2. Horta-Barbosa L, Fuccillo DA, Sever JL, et al. Subacute sclerosing panencephalitis: isolation of measles virus from a brain biopsy. *Nature* 1969;221:974.
3. Campbell H, Andrews N, Brown KE, et al. Review of the effect of measles vaccination on the epidemiology of SSPE. *Int J Epidemiol* 2007;36(6):1334-1348.
4. TC Sağlık Bakanlığı, SSPE Bilimsel İnceleme Komisyonu Raporu, 2006.
5. Onal AE, Gurses C, Direskeneli SG, et al. Subacute sclerosing panencephalitis surveillance study in İstanbul. *Brain Dev* 2006;28(3):183-189.
6. Anlar B, Köse G, Gürer Y, et al. Changing epidemiological features of subacute sclerosing panencephalitis. *Infection* 2001;29(4):192-195.
7. Rima BK, Duprex WP. Molecular mechanisms of measles virus persistence. *Virus Res* 2005;111(2):132-147.
8. Gagnon A, Bouchard RW. Fulminating adult-onset subacute sclerosing panencephalitis in a 49 year old man. *Arch Neurol* 2003;60(8):1160-1161.
9. Dyken PR, Cunningham SC, Ward LC. Changing character of subacute sclerosing panencephalitis in the United States. *Pediatr Neurol* 1989;5(6):339-341.
10. Subacute sclerosing panencephalitis: Is there something different in the younger children? *Brain Dev* 2006;28(10):649-652.
11. Jin L, Beard S, Hunjan R, et al. Characterization of measles virus strains causing SSPE: a study of 11 cases. *Neurovirol* 2002;8(4):335-344.

12. Miller C, Andrews N, Jin L, et al. The epidemiology of Subacute Sclerosing Panencephalitis in England and Wales 1990-2002. *Arch Dis Child* 2004;89(12):1145-1148.
13. Bellini WJ, Rota JS, Lowe LE, et al. Subacute Sclerosing Panencephalitis: more cases of this fatal disease are prevented by measles immunization than was previously recognized. *J Infect Dis* 2005;192(10):1686-1693.
14. Measles eradication: recommendations from a meeting cosponsored by the World Health Organization, the Pan American Health Organization, and CDC. *MMWR Recomm Rep.* 1997;13(46):1-20.
15. Risk WS, Haddad FS. The variable natural history of subacute sclerosing panencephalitis: a study of 118 cases from the Middle East. *Arch Neurol* 1979;36(10):610-614.
16. Yalaz K, Anlar B, Öktem F, et al. Intraventricular interferon and oral inosiplex in the treatment of subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1992;42(3):488-491.
17. Tekşam M, Çakır B, Ağildere A. Proton MR spectroscopy in the diagnosis of early-stage subacute sclerosing panencephalitis. *Diagn Interv Radiol* 2006;12(2):61-63.
18. Öztürk A, Gürses C, Baykan B, et al. Subacute sclerosing panencephalitis: clinical and magnetic resonance imaging evaluation of 36 patients. *J Child Neurol* 2002;17(1):25-29.
19. Alkan A, Korkmaz L, Sigirci A, et al. Subacute sclerosing panencephalitis: relationship between clinical stage and diffusion weighted imaging findings. *J Magn Reson Imaging* 2006;23(3):267-272.
20. Brismar J, Generoso G, von Steyem KV, et al. Subacute sclerosing panencephalitis: evaluating with CT and MR. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17(4):761-772.

21. Oguz K, Celebi A, Anlar B. MR imaging, diffusion-weighted imaging and MR spectroscopy findings in acute rapidly progressive subacute sclerosing panencephalitis. *Brain Dev* 2007;29(5):306-311.
22. Trivedi R, Gupta RK, Agarawal A, et al. Assessment of white matter damage in subacute sclerosing panencephalitis using quantitative diffusion tensor MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27(8):1712-1716.
23. Piskin AK, Akpinar P, Muftuoglu S, et al. Signaling lymphocyte activating molecule (SLAM) expression in subacute sclerosing panencephalitis. *Brain Dev* 2007;29(7):439-442.
24. Schneider-Schaulies S, Niewiesk S, Schneider-Schaulies J, et al. Measles virus induced immunosuppression: targets and effector mechanisms. *J Neurovirol* 2003;9(2):247-52.
25. Sips GJ, Chesik D, Glazenburg L, et al. Involvement of morbilliviruses in the pathogenesis of demyelinating disease. *Rev Med Virol* 2007;17(4):223-244.
26. Hall WC, Kovatch RM, Herman PH, et al. Pathology of measles in rhesus monkeys. *Vet Pathol* 1971;8(4):307-319.
27. Kerdiles YM, Sellin CI, Druelle J, et al. Immunosuppression caused by measles virus: role of viral proteins. *Rev Med Virol* 2006;16(1):49-63.
28. Kerdiles YM, Cherif B, Marie JC, et al. Immunomodulatory properties of morbillivirus nucleoproteins. *Viral Immunol* 2006;19(2):324-334.
29. UNICEF/WHO workshop on the expanded programme on immunization in the Pasific, Auckland, New Zeland 8-12 March 2004, WHO, Manilia, Philippines, May 2004.
30. Bale JF. Viral infections of the nervous system. In:Swaiman KF, Ashwal S, Ferriero DM, editors. *Pediatric Neurology Principles&Practice*. 4th ed. Philadelphia: Mosby Elsevier: 2006 p 1595-1629.

31. Yentür SP, Gürses C, Demirbilek V, et al. Alterations in cell-mediated immune response in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neuroimmunol* 2005;170(1-2):179-185.
32. Anlar B, Guven A, Köse G, et al. Lymphocyte subsets, TNF- α and interleukin-4 levels in treated and untreated subacute sclerosing panencephalitis patients. *J Neuroimmunol* 2005;163(1-2):195-198.
33. Oldstone M, Dales S, Tishon A, et al. A role for dual viral hits in causation of subacute sclerosing panencephalitis. *J Exp Med* 2005;202(9):1185-1190.
34. Sanal O, Basaran M, Aysun S, et al. Subpopulations of T lymphocytes in subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). *Turk J Pediatr* 1986;28(1):23-29.
35. Aysun S, Sanal O, Renda Y, et al. Cell mediated immunity in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Brain Dev* 1984;6(4):391-396.
36. Czlonkowska A, Poltorak M, Vainiene M, et al. Subacute sclerosing panencephalitis and progressive multiple sclerosis: T cell subsets in blood and CSF. *Neurology* 1986;36(7):992-993.
37. Fujinami RS, Oldstone MB. Antiviral antibody reacting on the plasma membrane alters measles virus expression inside the cell. *Nature* 1979;279(2):529-530.
38. Gascon GG, Frosch MP. Case records of the Massachusetts General Hospital: case 15-1998. *N Engl J Med* 1998;338(20):1448-1456.
39. Anlar B, Yalaz K, Imir T, et al. The effect of inosiplex in subacute sclerosing panencephalitis: a clinical and laboratory study. *Eur Neurol* 1994;34(1):44-47.
40. Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, et al. Analysis of serum and cerebrospinal fluid cytokine levels in subacute sclerosing panencephalitis in Papua New Guinea. *Cytokine* 2006;33(1):17-20.

41. Hofman FM, Hinton DR, Baemayr J, et al. Lymphokines and immunoregulatory molecules in subacute sclerosing panencephalitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1991;58(3):331-342.
42. Anlar B, Söylemezoğlu F, Aysun S, et al. Tissue inflammatory response in subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). *J Child Neurol* 2001;16(12):895-900.
43. Nagano I, Nakamura S, Yoshioka M, et al. Expression of cytokines in brain lesions in subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1994;44(4):710-715.
44. Tekgül H, Tütüncüoğlu S, Kutukçuler n, et al. Lymphocyte subsets and inflammatory mediators in patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Child Neurol* 1999;14(7):418-421.
45. Haspolat S, Anlar B, Köse G, et al. Interleukin-1 β , interleukin-1 receptor antagonist levels in patients with subacute sclerosing panencephalitis and the effects of different treatment protocols. *J Child Neurol* 2001;16(6):417-420.
46. Allen IV, McQuaid S, McMahon J, et al. The significance of measles virus antigen and genome distribution in the CNS in SSPE for mechanisms of viral spread and demyelination. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55(4):471-480.
47. Nagano I, Nakamura S, Yoshioka M, et al. Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in brain lesions in subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1991;41(10):1639-1642.
48. Ikeda K, Akiyama H, Kondo H, et al. Numerous glial fibrillary tangles in oligodendroglia in cases of subacute sclerosing panencephalitis with neurofibrillary tangles. *Neurosci Lett* 1995;194(1-2):133-135.
49. McQuaid S, Allen IV, McMahon J, et al. Association of measles virus with neurofibrillary tangles in subacute sclerosing panencephalitis: a combined in situ hybridization and immunocytochemical investigation. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1994;20(2):103-110.

50. Stohlman AS, Hinton DR. Viral induced demyelination. *Brain Pathol* 2001;11(1):92-106.
51. Saida T, Saida K, Lisak RP, et al. In vivo demyelinating activity of sera from patients with Guillain barre syndrome. *Ann Neurol* 1981;11(1):69-75.
52. Hayashi M, Nobutaka A, Satoh J, et al. Neurodegenerative mechanisms in subacute sclerosing panencephalitis. *J Child Neurol* 2002;17(10):725-730.
53. Allen IV, McQuaid S, McMahon J, et al. The significance of measles virus antigen and genome distribution in the CNS in SSPE for mechanisms of viral spread and demyelination. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55(4):471-480.
54. Anlar B, Söylemezoğlu F, Elibol B, et al. Apoptosis in brain biopsies of subacute sclerosing panencephalitis patients. *Neuropediatrics* 1999;30(5):239-242.
55. McQuaid S, McMahon J, Herron B, et al. Apoptosis in measles virus infected human central nervous system tissues. 1997;23(3):218-224.
56. Nagano I, Nakamura S, Yoshioka M, et al. Expression of cytokines in brain lesions in subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1994;44(4):710-715.
57. Schneider-Schaulies J, Schneider-Schaulies S, Ter Meulen V. Differential induction of cytokines by primary and persistent measles virus infection of cytokines by primary and persistent measles virus infection of human glial cells. *Virology* 1993;195(1):219-228.
58. Shimizu T, Matsuishi T, Iwamoto R, et al. Elevated levels of anti-CD9 antibodies in the cerebrospinal fluid of patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Infect Dis* 2002;185(9):1346-1350.
59. Fazakerley JK, Walker R. Virus demyelination. *J Neurovirol* 2003;9(2):148-164.

60. Oldstone MBA, Boskisch VA, Dixon FJ. Subacute sclerosing encephalitis: destruction of human brain cells by antibody and complement in an autologous system. *Clin Immunol Immunopath* 1975;4(1):52-58.
61. Probert L, Eugster HP, Akassoglou K. TNFR1 signalling is critical for the development of demyelination and the limitation of T-cell responses during immune-mediated CNS disease. *Brain* 2000;123(10):2005-2019.
62. Quinones MP, Kalkonde Y, Estrada AC, et al. Role of astrocyte and chemokine systems in acute TNF α induced demyelinating syndrome: CCR2-dependent signals promote astrocyte activation and survival via NF- κ B and Akt. *Mol Cell Neurosci* 2008;37(1):96-109.
63. Akassoglou K, Bauer J, Kassiotis G, et al. Transgenic models of TNF induced demyelination. *Adv Exp Med Biol* 1999;468:245-259.
64. Kassiotis G, Bauer J, Akassoglou K, et al. A tumor necrosis factor-induced model of human primary demyelinating diseases develops in immunodeficient mice. *Eur J Immunol* 1999;29(3):912-917.
65. Probert L, Akassoglou K, Pasparakis M, et al. Spontaneous inflammatory demyelinating disease in transgenic mice showing central nervous system-specific expression of tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92(24):11294-11298.
66. Probert L, Eugster HP, Akassoglou K, et al. TNFR1 signalling is critical for the development of demyelination and the limitation of T-cell responses during immune-mediated CNS disease. *Brain* 2000;23(10):2005-2019.
67. Willenborg DO, Fordham SA, Cowden WB, et al. Cytokines and murine autoimmune encephalomyelitis: inhibition or enhancement of disease with antibodies to select cytokines, or by delivery of exogenous cytokines using a recombinant vaccinia virus system. *Scand J Immunol* 1995;41(1):31-41.
68. Norrby E, Kristensson K. Measles virus in the brain. *Brain Res Bull* 1997;44(3):213-220.

69. Gendelman HE, Pezeshkpour GH, Pressman NJ, et al. A quantitation of myelin-associated glycoprotein and myelin basic protein loss in different demyelinating diseases. *Ann Neurol* 1985;18(3):324-328.
70. Wegner C. Pathological differences in acute inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. *Int MS J* 2005;12(1):13-19.
71. Duignan PJ, Sadove S, Saliki JT, et al. Phocine distemper in harbour seals (*Phoca vitulina*) from Long Island, New York. *J Wild Dis* 1993;29:465-469.
72. Rall GF, Manchester M, Daniels LR, et al. A transgenic mouse model for measles virus infection of the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94(9):4659-63.
73. Schubert S, Möller-Ehrlich K, Singethan K, et al. A mouse model of persistent brain infection with recombinant measles virus. *J Gen Virol* 2006;87(7):2011-2019.
74. Oldstone BA, Lewicki H, Thomas D, et al. Measles virus infection in a transgenic model: virus induced immunosuppression and central nervous system disease. *Cell* 1999;98(5):629-640.
75. van den Berg LH, Oey PL, Wokke JHJ, et al. Features of Guillain barre syndrome in mice following intraperitoneal injection of patients serum. *J Neurol Sci* 1994;127(1):103-106.
76. Matthaei I, Polman CH, Groot CJA, et al. Observer agreement in the assessment of clinical signs in experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 1989;23(1):25-28.
77. Amiel SA. The effects of Bordetella Pertusis vaccine on cerebral vascular permeability. *Br J Exp Pathol* 1976;57(6):653-662.
78. Blankenhorn EP, Butterfield RJ, Rigby R, et al. Genetic analysis of the influence of pertusis toxin on experimental allergic encephalomyelitis susceptibility: an environmental agent can override genetic checkpoints. *J Immunol* 2000;164(6):3420-3425.

79. Muller DM, Pender MP, Greer JM. Blood brain barrier disruption and lesion localisation in experimental autoimmune encephalomyelitis with predominant cerebellar and brainstem involvement. *J Neuroimmunol* 2005;160(1-2):162-169.
80. Barbano RL, Dal Canto MC. Serum and cells from Theiler's virus infected mice fail to injure myelinating cultures or to produce in vivo transfer of diseases. The pathogenesis of Theiler's virus induced demyelination appears to differ from that of EAE. *J Neurol Sci* 1984;66(2-3):283-293.
81. Harrison BM, Hansen LA, Polard JD, et al. Demyelination induced by serum from patients with Guillain Barre syndrome. *Ann Neurol* 1984;15(2):163-170.
82. Brown MJ, Rosen JL, Robert P, et al. Demyelination in vivo by Guillain Barre syndrome and other human serum. *Muscle Nerve* 1987;10(3):263-271.
83. Vallat JM, Leboutet MJ, Loubet A, et al. Effets morphologiques de microinjections de serum de rat lewis dans le nerf de rat lewis. *Rev Neurol* 1984;140(11):659-662.
84. Radhakrishnan VV, Sumi MG, reuben S, et al. Serum tumor necrosis factor alpha and tumor necrosis factor receptors levels in patients with Guillain Barre syndrome. *Acta Neurol Scand* 2004;109(1):71-74.
85. Radhakrishnan VV, Sumi MG, reuben S, et al. Circulating tumor necrosis factor alpha and soluble tumor necrosis factor receptors in patients with Guillain Barre syndrome. *Indian J Med Res* 2003;117:216-220.
86. Jacobsen M, Cepok S, Quak E, et al. Oligoclonal expansion of memory CD8 T cells in cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. *Brain* 2002;125(3):538-550.
87. Babe H, Roers A, Waisman A. Clonal expansion of CD8 T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by

- micromanuplation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 2003;192(3):393-404.
88. Canella B, Raine CS. The adhesion molecule and cytokine profile of MS lesions. *Ann Neurol* 1995;37(4):424-435.
89. Rieckman P, Albrecht M, Kitze B, et al. TNF-alpha messenger RNA expression in patients with relapsing-remitting MS is associated with disease activity. *Ann Neurol* 1995;37(2):82-88.
90. Lucchinetti C, Bruck W, Noseworthy J. Multiple sclerosis: recent developments in neuropathology, pathogenesis, magnetic resonance imagings, and treatment. *Curr Opin Neurol* 2001;14(3):259-269.
91. Brück W, Kuhlmann T, Stadelmann C. Remyelination in multiple sclerosis. *J Neuro Sci* 2003;206(1):181-185.
92. Rodriguez M. Effectors of demyelination and remyelination in the CNS. Implications for Multiple Sclerosis. *Brain Pathol* 2007;17(2):219-229.
93. Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001;7(3):116-121.
94. Direskeneli GS, Gürses C, Demirbilek V, et al. Elevated interleukin-12 and CXCL10 in subacute sclerosing panencephalitis. *Cytokine* 2005;32(2):104-110.