

ECEM AYŞEGÜL SARIALIOĞLU

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK

İSTANBUL – 2024



İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS

**MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA *BDNF* GENİ MRNA EKSPRESYONU
İLE HSA-MİR-10A-5P VE HSA-MİR-429-3P EKSPRESYONLARI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

ECEM AYŞEGÜL SARIALIOĞLU

DANIŞMAN
Doç. Dr. MURADIYE ACAR

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK

İSTANBUL – 2024

İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS

**MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA *BDNF* GENİ MRNA EKSPRESYONU
İLE HSA-MİR-10A-5P VE HSA-MİR-429-3P EKSPRESYONLARI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

ECEM AYŞEGÜL SARIALIOĞLU

DANIŞMAN
Doç. Dr. MURADIYE ACAR

Bu çalışma, İstinye Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2023/B13

İSTANBUL – 2024

TEZ ONAYI

Bu tezin Yüksek Lisans derecesi için gereken tüm şartları sağladığımı tasdik ederim.

Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Veysel Sabri HANÇER

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. İlhami ÇOLAK

Bu tezin Yüksek Lisans derecesi için gereken tüm şartları sağladığımı tasdik ederim.

Doç. Dr. Muradiye ACAR
Danışman

Okuduğumuz ve savunmasını dinlediğimiz bu tezin bir Yüksek Lisans derecesi için gereken tüm kapsam ve kalite şartlarını sağladığımı beyan ederiz.

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Süreyya BOZKURT İstinye Üniversitesi

Doç. Dr. Muradiye ACAR İstinye Üniversitesi

Doç. Dr. Huri
DEDEAKAYOĞULLARI Biruni Üniversitesi

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum, “**Multipl Skleroz Hastalarında *BDNF* Geni mRNA Ekspresyonu ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p Ekspresyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması**” adlı çalışmanın, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla 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 olmadığı beyan ederim.

Ecem Ayşegül SARIALIOĞLU

İTHAF

Sevgi, saygı ve erdemin ilk öğreticileri olan aileme; bu çalışmayı, yaşam boyu süren destek ve ilhamlarınıza minnetle ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca rehberlik eden ve her zaman yanımda olan çok değer verdiğim danışman hocam Doç. Dr. MURADİYE ACAR'a bana güvendiği ve yol göstericiliği için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans yapma fırsatını bana sunarak ve kendi ekibinde yer almamı sağlayarak akademik kariyerimde önemli bir adım atmamı mümkün kılan değerli hocam Prof. Dr. MAHMUT NEZİH ÇARİN'e minnettarım.

İş hayatımda ve tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan, beni destekleyen, yol gösteren ve zor zamanlarda bile düşmeme izin vermeyen kıymetli hocam Dr. LOKMAN KARATAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam için değerli fikirlerini, bilgilerini ve yardımlarını paylaşmaktan esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. HURİ DEDEAKAYOĞULLARI'na özel teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca araştırmama destek sağlayan İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Ana Bilim Dalı'ndan Prof. Dr. MURAT KÜRTÜNCÜ'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan beni bugünlere getirmek için maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen, gururla sorgusuz sualsiz hep arkamda duran canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yol göstericiliği, vermiş olduğu değer ve hayatım boyunca bana katkı sağlamaktan asla vazgeçmediği için ÖZLEM UĞUR'a teşekkürlerimi sunarım.

İstinye Üniversitesi Doku Tipleme Laboratuvarında görev alan bütün ekip arkadaşlarıma bu süreçteki yoğun ve stresli dönemimde bana çok güzel destek olup yardım ettikleri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstinye üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2023/B13

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
ETİK BEYANI	ii
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Multipl Skleroz	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji	4
2.1.3. Çevresel Faktörler	5
2.1.4. Klinik Özellikler	6
2.1.5. Klinik Alt Tipleri	8
2.1.5.1. Klinik İzole Sendrom	8
2.1.5.2. Tekrarlayan-Düzelen MS (RRMS)	9
2.1.5.3. Progresif Multipl Skleroz	10
2.1.6. Tanı ve Tedavi	13
2.1.7. Patoloji	16
2.1.8. MS ve Genetik	19
2.2. MikroRNA	21
2.2.1. miRNA biyogenezi	22
2.3. MS ve miRNA	25
2.3.1. hsa-miR-10a-5p.....	30
2.3.2. hsa-miR-429-3p	32
2.4. BDNF.....	34

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Gereçler.....	39
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	39
3.1.2. Kullanılan Kitler/Sarflar	39
3.2. Yöntem.....	40
3.2.1. MS Hasta ve Kontrol Gruplarından Örneklerin Toplanması	40
3.3. <i>BDNF</i> geni mRNA Ekspresyon Analizleri	41
3.3.1. BOS ve Serum Numunelerinden Total RNA İzolasyonu	41
3.3.2. BOS ve Serum Numunelerinden cDNA Sentezi.....	42
3.3.3. Primer Dizaynı	43
3.3.4. RT-qPCR.....	43
3.4. hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p Ekspresyon Analizleri	44
3.4.1. Reverse Transkriptaz Enzimi ile miRNA'ların cDNA Sentezi	44
3.4.2. hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p'nin RT-qPCR ile Kantitasyonu	45
3.4.3. İstatistiksel Analiz.....	46
3.5. <i>BDNF</i> Protein Düzeylerinin ELISA ile Tespiti	46
4.BULGULAR.....	48
4.1. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri.....	48
4.2. hsa-miR-10a-5p BOS ve Serum miRNA Ekspresyon Ortalamaları	48
4.3. hsa-miR-429-3p BOS ve Serum miRNA Ekspresyon Ortalamaları.....	50
4.4. Serum ve BOS Örneklerinde <i>BDNF</i> mRNA Ekspresyon Seviyeleri.....	52
4.5. Serum ve BOS Örneklerinde <i>BDNF</i> Protein Seviyelerinin ELISA ile Değerlendirilmesi.....	54
5.TARTIŞMA	57
6.SONUÇ, ÖNERİLER VE TOPLUMA KATKI.....	64
KAYNAKÇA.....	65
EK-2: ETİK KURUL ONAYI.....	93
EK-5: İNTİHAL RAPORU	94

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1: 2017 Revize McDonald Kriterleri (Thompson ve arkadaşları).....	15
Tablo 3.1 Çalışmada Kullanılan Cihazların Model ve Marka Bilgileri.....	39
Tablo 3.2: Çalışmada Kullanılan Kitlerin/Sarfların İsim ve Markaları	39
Tablo 3.3: cDNA Sentezi Bileşen ve Miktarları.....	43
Tablo 3.4: <i>GAPDH</i> ve <i>BDNF</i> Primer Dizileri	43
Tablo 3.5: RT-qPCR Reaksiyon Bileşenleri.....	44
Tablo 3.6: RT-qPCR Koşulları	44
Tablo 3.7: cDNA Sentezi PCR Bileşenleri	45
Tablo 3.8: hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p'nin RT-qPCR Bileşenleri	45
Tablo 3.9: hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p'nin RT-qPCR Koşulları.....	46
Tablo 4.1: Tüm Grupların Demografik Özellikleri.....	48
Tablo 4.2: Serum Örneklerinde hsa-miR-429-3p ve hsa-miR-10a-5p Ekspresyon Seviyeleri Arasındaki Gruplar Arası Anlamlılık	52
Tablo 4.3: BOS Örneklerinde hsa-miR-429-3p ve hsa-miR-10a-5p Ekspresyon Seviyeleri Arasındaki Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri	52
Tablo 4.4: Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: MRG ile Elde Edilen, MSS'ndeki MS Lezyonlarına ait Temsili Görüntüler. . 7	
Şekil 2.2: MS Evrelerine Göre Beyin Ve Omurilikteki Değişimler. 13	
Şekil 2.3: MS Patogenezine Dair Şematik Gösterim..... 18	
Şekil 2.4: miRNA Biyogenezini ve İşlevsel Etkileşim Mekanizması 24	
Şekil 2.5: miRNA'ların Hücre Dışı Boşluğa ve Vücut Sıvılarına Biyogenezini ve Salınımına İlişkin Mekanizmaların Şematik Bir Gösterim..... 26	
Şekil 2.6: Serum/Plazma, PBMC'ler, BOS ve T Hücrelerinde miRNA Ekspresyon Analizi..... 27	
Şekil 2.7: <i>BDNF</i> 'nin 3'UTR'si hsa-miR-10a-5p..... 31	
Şekil 2.8: <i>BDNF</i> Gen Ekspresyonu ve Protein İşleme Yolu. 35	
Şekil 2.9: MS'te <i>BDNF</i> 'nin rolü. 37	
Şekil 4.1: RRMS ve Progresif MS Hastalarında miR-10a-5p miRNA İfadesinin Kontrol Grubuna Göre Değişimi.....49	
Şekil 4.2: BOS miR-10a-5p Ekspresyon Seviyelerinin Kontrol, RRMS ve PMS Gruplarında Karşılaştırılması..... 50	
Şekil 4.3: Serumda hsa-miR-429-3p Ekspresyon Seviyelerinin Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarında Karşılaştırılması 51	
Şekil 4.4: BOS'ta hsa-miR-429-3p Ekspresyon Seviyelerinin Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarında Karşılaştırılması 51	
Şekil 4.5: Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarına Ait Serum <i>BDNF</i> mRNA Ekspresyon Seviyeleri..... 53	
Şekil 4.6: Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarına Ait BOS <i>BDNF</i> mRNA Ekspresyon Seviyeleri..... 54	
Şekil 4.7: RRMS, Progresif MS ve Kontrol Gruplarına Ait Serum Örneklerinde <i>BDNF</i> protein seviyeleri..... 55	
Şekil 4.8: RRMS, Progresif MS ve Kontrol Gruplarına Ait BOS Örneklerindeki <i>BDNF</i> Protein Seviyeleri..... 56	

SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ

AGO	: Argonaute
APC	: Antijen Sunan Hücreler
BDNF	: Beyin Türevli Nörotrofik Faktör
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
DGCR8	: DiGeorge Sendromu Kritik Bölge 8
EAE	: Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit
EBV	: Epstein-Barr Virüsü
EMT	: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş
Exp5	: Exportin-5
GWAS	: Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
KBB	: Kan- Beyin- Bariyeri
KIS	: Klinik Olarak İzole Edilmiş Bir Sendrom
MHC	: Majör Doku Uyumluluk Kompleksi+
miRNA	: mikroRNA
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
OKB	: Oligoklonal Bantlar
PBMC	: Periferik Kan Monositleri
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyon
PPMS	: Primer Progresif Multipl Skleroz
RT-qPCR	: Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RPMS	: Relapsing Progresif Multipl Skleroz
RRMS	: Relapsing-Remitting Multipl Skleroz
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SPMS	: Sekonder Progresif Multipl Skleroz
Th	: T yardımcı hücre
TrkB	: Tirozin Kinaz B

ÖZET

Sarialioğlu, E. (2024). Multipl Skleroz Hastalarında *BDNF* Geni mRNA Ekspresyonu ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p Ekspresyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması. İstinye Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Amaç: Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin kronik, tedavi edilemeyen bir hastalığı olup, inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize olan ve genç yetişkinlerde teşhis edilen nörolojik sakatlığın en yaygın nedenidir. Yapılan çalışmalar, MS hastalarında miRNA'ların önemli roller oynadığını ve hastalığın patofizyolojisinde kritik düzenleyici mekanizmalara sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın amacı, MS hastalarında *BDNF* geni mRNA ekspresyonu ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p mikroRNA ekspresyonları arasındaki ilişkiyi araştırarak, bu düzenleyici mekanizmaların hastalığın ilerleyişindeki potansiyel rollerini ortaya koymaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Ana Bilim Dalı Multipl Skleroz ve Miyelin Hastalıkları Kliniğine başvuran 18-65 yaş arası RRMS hastaları (n=20) ve progresif MS (PPMS, SPMS, RPMS) hastaları (n=20) dahil edilmiştir. Ayrıca kliniğe başvuran MS tanısı olmayan bireyler kontrol grubu olarak (n=20) çalışmada yer almıştır. *BDNF* geni mRNA ve ilgili miRNA'ların (hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-429-3p) ekspresyon seviyeleri RT-qPCR ile analiz edilip istatistiksel yöntemlerle değerlendirildi ve gruplar arasındaki farklar belirlendi.

Bulgular: MS hastalarında *BDNF* mRNA ekspresyonunun sağlıklı kontrollere kıyasla hem serum hem de BOS örneklerinde anlamlı derecede arttığını gösterdi. Serumda hsa-miR-10a-5p ekspresyonu, özellikle RRMS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti, ancak Progresif MS grubunda bu artış gözlenmedi. BOS'ta hsa-miR-10a-5p ekspresyonu gruplar arasında anlamlı bir fark göstermedi. Serumda hsa-miR-429-3p ekspresyonu, hem RRMS hem de Progresif MS gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttı, ancak BOS örneklerinde bu artışlar gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermedi. ELISA ile analiz edilen *BDNF* protein seviyeleri de, mRNA verileriyle uyumlu olarak, MS hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı değişiklikler gösterdi. Serumda *BDNF* seviyeleri, hem RRMS hem de Progresif MS gruplarında kontrol grubuna kıyasla artmıştı, BOS'ta da benzer şekilde RRMS ve Progresif MS gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artışlar gözlemlendi.

Sonuçlar: Bu çalışma, *BDNF* ve ilgili miRNA'ların MS hastalığındaki potansiyel biyolojik rollerini ortaya koymaktadır. Özellikle, *BDNF*'nin serum ve BOS'taki artan ekspresyonu, bu moleküllerin MS hastalarında nöroprotektif bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Elde edilen bulgular, MS için yeni prognostik biyobelirteçler ve tedavi hedefleri geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Gelecekte yapılacak araştırmalar, *BDNF* ve ilgili miRNA'ların klinik uygulamalarda kullanılabilirliğini ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde nasıl etkili olabileceğini daha ayrıntılı bir şekilde incelemelidir.

Anahtar Kelimeler: *BDNF* Ekspresyonu, Biyobelirteç, MikroRNA, Multipl Skleroz

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2023/B13

ABSTRACT

Sarılioğlu, A. (2024). Investigation of the Relationship Between *BDNF* Gene mRNA Expression and hsa-miR-10a-5p and hsa-miR-429-3p Expression in Multiple Sclerosis Patients. Istinye University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology and Genetics. Master Thesis. Istanbul.

Purpose: Multiple Sclerosis (MS) is a chronic, incurable disease of the central nervous system, characterized by inflammation, demyelination, and axonal damage, and is the most common cause of neurological disability in young adults. Studies have shown that miRNAs play significant roles in MS patients and have critical regulatory mechanisms in the pathophysiology of the disease. The aim of this study is to investigate the relationship between *BDNF* gene mRNA expression and the expression of hsa-miR-10a-5p and hsa-miR-429-3p microRNAs in MS patients, thereby revealing the potential roles of these regulatory mechanisms in the progression of the disease.

Materials and Methods: The study included RRMS patients (n=20) and progressive MS (PPMS, SPMS, RPMS) patients (n=20) aged 18-65 who presented to the Multiple Sclerosis and Myelin Disorders Clinic of the Neurology Department at Istanbul University Faculty of Medicine Hospital. Additionally, individuals without an MS diagnosis who presented to the clinic were included in the study as the control group (n=20). *BDNF* gene mRNA and the related miRNAs (hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-429-3p) expression levels were analyzed using RT-qPCR and statistically evaluated to determine differences between groups.

Results: The analyses showed that *BDNF* mRNA expression in MS patients was significantly increased in both serum and CSF samples compared to healthy controls. Serum hsa-miR-10a-5p expression was significantly higher in the RRMS group compared to the control group, but this increase was not observed in the Progressive MS group. No significant differences were found between groups in CSF hsa-miR-10a-5p expression. Serum hsa-miR-429-3p expression was significantly increased in both the RRMS and Progressive MS groups compared to the control group, but this increase did not show significant differences between groups in CSF samples. *BDNF* protein levels analyzed by ELISA also showed significant changes in MS patients compared to healthy controls, consistent with the mRNA data. Serum *BDNF* levels were increased in both the RRMS and Progressive MS groups compared to the control group, and similarly, significant increases were observed in CSF *BDNF* levels in the RRMS and Progressive MS groups compared to the control group.

Conclusion: This study reveals the potential biological roles of *BDNF* and related miRNAs in MS disease. Specifically, the increased expression of *BDNF* in serum and CSF suggests that these molecules may play a neuroprotective role in MS patients. The findings obtained could contribute to the development of new prognostic biomarkers and therapeutic targets for MS. Future research should more comprehensively examine the clinical applicability of *BDNF* and related miRNAs and how they may influence the determination of treatment strategies.

Key Words: *BDNF* Expression, Biomarker, MicroRNA, Multiple Sclerosis

The present work was supported by the Scientific Research Projects Unit of Istanbul University. Project No. 2023/B13

1. GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin (MSS'nin) kronik inflamatuvar, demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon ile karakterize otoimmün bir hastalıdır. Genç yetişkinlerde travma dışı nörolojik engelliliklerin en yaygın nedenlerinden biri olan MS, dünya genelinde 2,8 milyondan fazla kişiyi etkilemektedir. MS tedavi edilmediğinde, hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde olumsuz etkileyen bir tablo ile karşımıza çıkmaktadır. MS'in patogenezi tam olarak bilinmese de, genetik ve çevresel faktörlerin hastalığın ortaya çıkışında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Hastalığın erken tanısına yönelik yapılan biyobelirteç araştırmaları, kan veya beyin omurilik sıvısı (BOS) parametreleri üzerine odaklanmakta ve bu parametreler MS için olası hastalık biyobelirteçleri olarak incelenmektedir. Günümüzde kullanılan tanı yöntemleri, MS'in kesin olarak teşhis edilebilmesi için hastalığın belirli bir evreye ilerlemiş olmasını gerektirdiğinden, erken dönemde tanı koymakta zorluk çekilmektedir. Bu nedenle, MS'e özgü belirteçlerin tanımlanması, hastalığın aktivitesini değerlendirmek ve tedaviye yanıtı izlemek için önemli olabilmektedir. Bu nedenle, MS'e özgü belirteçlerin tanımlanması, hastalığın daha erken evrelerinde teşhisi mümkün kılarak tedaviye daha erken başlanmasını sağlayabilir. Bu belirteçler aynı zamanda hastalığın aktivitesini değerlendirmek ve tedaviye yanıtı izlemek için de önemli bir araç olabilir.

MikroRNA'lar (miRNA'lar), küçük kodlamayan tek iplikçikli RNA molekülleri olup, hedef mesajcı RNA'lara bağlanarak onların yıkımına veya translasyonel baskılanmasına yol açarak gen ekspresyonunu düzenlerler. miRNA'lar farklı dokularda incelenmiştir. Bunlar arasında periferik kan mononükleer hücreler, CD4+ T hücreleri ve MS lezyonları bulunmaktadır. Ayrıca, miRNA'lar plazma veya BOS gibi vücut sıvılarında da izole edilebilirler. Son yıllarda yapılan araştırmalar, miRNA'ların fizyolojik süreçlerde önemli rol oynadığını ve bu moleküllerdeki değişikliklerin patolojik durumlarla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu durum, dolaşımdaki miRNA'ların MS'in tanı ve prognozunda potansiyel biyobelirteçler olarak önemli bir role sahip olabileceğine işaret etmektedir.

MS'teki nöroprotektif etkinin olası bir mekanizması, periferik kandaki ve inflamatuvar lezyonlardaki bağışıklık hücrelerinin yanı sıra mikroglia ve astrositler beyin tarafından üretilen nörotrofik faktörün (BDNF) salınmasını içerir. BDNF'nin

ekspresyonu hem MSS'de (en çok bulunan nörotrofik faktördür) hem de periferik sinir sisteminde olduğu ve ağırlıklık sistemi hücreleri (yani T ve B lenfositleri, monositler/makrofajlar) tarafından da üretildiği rapor edilmiştir. Hastalığın stabil fazına kıyasla tekrarlayan düzelen MS (RRMS) hastalarında nüksetmeden sonra BDNF seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. BDNF seviyeleri arttığında deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) modellerinde demiyelinizasyon eğilimi daha az devam etmektedir. Bu veriler, RRMS hastalarında BDNF ve reseptörünün ekspresyon seviyelerinin hastalığın nüks evreleri sırasında da artmasıyla desteklenmekte ve bu olay, sonraki remisyon evresine ulaşmak için yararlı bir biyokimyasal yol oluşturuyor gibi görünmektedir. BDNF'ye ilişkin bu genel bakış başta MS olmak üzere birçok fizyolojik süreç ve hastalıkta BDNF'nin rolünü kanıtlamaktadır. Buna göre, ikna edici kanıtlar, BDNF'nin sentezinde, seviyelerinde ve sinyallemedeki bozulmanın MS gibi çeşitli patolojilerle ilişkili olduğunu göstermektedir. MS'e karşı bugüne kadar etkili bir tedavi bulunmamaktadır. Bu nedenle, MS'in patolojik durumu ile uyumlu uygun stratejiler geliştirmek ve BDNF işlev bozukluğunu önlemek için, BDNF işlev bozukluğunda yer alan mekanizmalar ve yollara ilişkin önemli bilgilerin elde edilmesi gereklidir.

Daha önce gerçekleştirdiğimiz laboratuvar çalışmalarımız sonucu EAE metodu ile MS oluşturulan farelerden mikroarray analiz yapılarak henüz literatürde ilişkilendirilmemiş, MS'in erken tanısında kullanılabilecek aday 2 adet miRNA belirlenmiştir. Belirlenen bu fare miRNA'larının insan miRNA'larındaki karşılığı (hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-429-3p) ve MS ile ilişkili sinyal yolları veritabanı analizleri (TargetScanHuman 7.2, mirPath, miRDB) ile araştırılmıştır. Literatür araştırması ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p'nin *BDNF* sinyal yolağı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Araştırmaya dahil edilen gönüllü grubu, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Polikliniği'ne başvuran 18-65 yaş arası RRMS hastaları (n=20) ve progresif MS (PPMS, SPMS, RPMS) hastaları (n=20) olarak belirlenmiştir. Ayrıca, kliniğe başvuran MS tanısı olmayan bireyler de kontrol grubu olarak (n=20) çalışmaya dahil edilmiştir.

Tezin amacı, MS için anlamlı fark gösteren miRNA'ları erken tanıda biyobelirteç olarak kullanıp, MS'in geç ve zorlu tanısından kaynaklanan olumsuz etkilerini azaltmak ve tedaviye daha erken başlanmasını sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multipl Skleroz

2.1.1. Tanım

MS, MSS kronik inflamatuvar, demiyelinizasyon ve akson hasarından kaynaklanan motor ve duyu fonksiyon kaybıyla karakterize bir otoimmün hastalıktır (Compston ve Coles, 2002; Fashina ve ark., 2023). MS'in bir otoimmün hastalık olduğu kavramı, en yaygın kullanılan hayvan modeli olan EAE ile doğrulanmıştır. EAE, periferde aktive edilen ve MSS'ne göç eden miyeline spesifik T hücrelerine aracılık eder. MS gelişiminin erken evrelerinde aktifleştirilmiş T hücreleri kan- beyin- bariyerini (KBB) geçer ve MS'de gözlenen benzer şekilde hastalığın ilerlemesine (iltihaplanma, demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon) neden olur (Fletcher ve ark., 2010; Schaeffer ve ark., 2015). MSS'ne girdikten sonra, T hücreleri, majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) sınıf II peptidlerini sunan lokal ve infiltre edici aktive edilmiş antijen sunan hücreler (APC) tarafından yeniden aktive edilir. Bu durum, daha sonra ortaya çıkan inflamatuvar süreçler aracılığıyla demiyelinizasyon ve aksonal hasara yol açar (Fletcher et al., 2010). MS'in nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte genetik yatkınlık ile viral, metabolik ve çevresel faktörler gibi genetik olmayan tetikleyicilerin bir kombinasyonu olduğu ve bunların birlikte MSS'nde kendi kendine devam eden tekrarlanan bağışıklık saldırılarına yol açtığı düşünülmektedir (Goldenberg, 2012). MS; travmadan sonra nörolojik sakatlık yaşanmasına neden olur ve sıklıkla genç yetişkinlerde travmatik olmayan nörolojik yaralanmaların çoğundan sorumludur (Fashina ve ark., 2023). Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde MS'in görülme sıklığı ve prevalansı giderek artmakta ve bunun altında yatan neden hala belirsizliğini korumaktadır (Aarli ve ark., 2014). Bununla birlikte hastalığın görülme sıklığı coğrafi bölgelere göre de farklılıklar göstermektedir (Rosati, 2001). MS genellikle 20 ile 45 yaş arasındaki bireylerde daha yaygın görülmekle beraber, genç erişkinlerde travmatik olmayan nörolojik engelliliğin yaygın bir nedenidir. Hastalığın kadınlarda görülme sıklığı, erkeklere kıyasla iki kat daha fazladır. Genç erişkinlerde MS riski yüksek olmasına rağmen, yaş ilerledikçe de ölüm riskini arttırmaktadır (Goldenberg, 2012; Öztürk ve ark., 2017). Hastalığın teşhisi, klinik bulgulara ve beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile BOS incelenmesi gibi yardımcı testlerden elde edilen

destekleyici kanıtlara dayanılarak yapılmaktadır (Goldenberg, 2012). MS, dünya çapında 2,8 milyondan fazla insanı etkilemektedir (Shah ve ark., 2023). Türkiye'de ise MS prevalansı ile ilgili çalışma sayısı yetersiz olmakla birlikte ortalama 80 bini aşkın bireyin MS hastası olduğu tahmin edilmektedir (Akdemir ve ark., 2017).

2.1.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

MS, nörolojik hastalıklar arasında yoğun olarak incelenen bir hastalıktır. Hastalığın coğrafi dağılımındaki düzensizlik ve dünya çapındaki yaygınlığı, hastalığın etiyolojisinde önemli bir etken olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, MS nedenlerinin analitik epidemiyolojik yöntemlerle incelenebileceğine işaret etmektedir (Hogancamp ve ark., 1997; Leray ve ark., 2016). MS'in başlangıç yaşı çocukluktan yetişkinliğe kadar değişmekte olup genç hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyen, yüksek sağlık maliyetlerine ve önemli toplumsal sorunlara yol açtığı bilinmektedir (Moreno-Torres ve ark., 2019). MS'in kadınlarda erkeklere kıyasla daha yaygın olduğu gözlemlenmekte ve son yıllarda kadınlarda MS görülme oranının önemli ölçüde arttığı rapor edilmektedir (Koch-Henriksen ve Magyari, 2021).

Göçmenler üzerinde yapılan çalışmalarda, MS görülme sıklığının ve yaygınlığının göçle değişebileceği dolayısıyla ırk, cinsiyet ve çevresel faktörlerin de rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Weinshenker, 1996; Uria, 2002). Aynı coğrafi bölgede doğan ve yaşayan farklı etnik kökenlere ait alt popülasyonlar arasında MS riskinde farklılıklar gözlemlenebilir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde doğan bir Japon Amerikalının MS riski, aynı bölgede yaşayan beyaz bir Amerikalıya kıyasla belirgin şekilde daha düşük olabilmektedir (Koch-Henriksen ve Sørensen, 2010). Dünya genelinde MS'in yaygınlığını inceleyen araştırmalar, hastalığın beyaz ve Avrupa kökenli insanlarda daha yaygın olduğunu ve tropikal bölgelerde daha nadir görülebildiğine işaret etmektedir. Kuzey Avrupa, Güney Kanada, İsrail, Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Güney Avustralya yüksek MS prevalansına sahip bölgeler olarak tanımlanmaktadır (Correa ve ark., 2016). Bu bölgelerde görülme sıklığı 300/100.000'e kadar çıkmakta fakat Asya'da nadir olarak görülmektedir (Forouhari ve ark., 2021).

MS'li kişilerin yaklaşık %15'inde etkilenen başka bir aile üyesi vardır. Hastaların kardeşleri en yüksek risk grubunda bulunmaktadır (Nielsen ve ark., 2005). Bir çalışmada, standart genetik epidemiyoloji yöntemlerini ve yaş ayarlamasını

kullanarak elde edilen sonuçlara göre, MS'li kişilerin birinci, ikinci ve üçüncü derece akrabalarında hastalığa yakalanma olasılığının genel popülasyona oranla daha yüksek olduğu ve tekrarlama riskinin aile soyuna göre değiştiği gösterilmiştir (Dyment ve ark., 2004).

2.1.3. Çevresel Faktörler

MS hastalığının seyrinin ve nedenlerinin kişiden kişiye değiştiği bilinse de, genetik faktörler tüm hastalar için önemli bir rol oynamaktadır. MS'in gelişimine katkıda bulunabilecek diğer faktörler arasında, KBB'nin zarar görmesi, fetal dönemde anne karnında meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar, Epstein-Barr virüsü (EBV) gibi viral ve bakteriyel etkenlere maruz kalma, insan herpes virüsü Tip 6, mikoplazma pnömonisi, sigara tüketimi, vitamin eksikliği, obezite ve UV radyasyonuna maruz kalma da yer almaktadır (Pantazou ve ark., 2015).

MS ile ilişkilendirilen birçok kanıt, EBV'nin rolünü desteklemekte ve özellikle EBV ile enfekte olmuş B hücrelerinin, hastalığın gelişim sürecinde MSS'e girdiğini göstermektedir (Soldan ve Lieberman, 2023). Periferdeki EBV ile enfekte olmuş B hücrelerinin tekrarlayan hastalığa katkısının yanı sıra, EBV'nin MSS'nde segmentli inflamasyon ve hasarın yayılmasında önemli bir rol oynayabileceği ve potansiyel olarak MS'in ilerleyici (nüksetmeyen) yönlerine etki edebileceği düşünülmektedir (Bar-Or ve ark., 2020). MS hastalarının neredeyse tamamının geçmişte EBV enfeksiyonu geçirmiş olması, EBV'nin MS patogeneğinde rol oynayabileceği görüşünü desteklemektedir (Levin ve ark., 2010).

Ultraviyole radyasyon ve D vitamini eksikliği, MS prevalansının özellikle kuzey enlemlerde daha yüksek olduğu bölgelerde yaygın bir şekilde gözlemlenmiştir. Bu coğrafi farklılığın olası faktörlerinden biri, insanların ultraviyole B radyasyonuna ve dolayısıyla D vitamini seviyelerine maruz kalmalarındaki farklılıklardır (Ward ve Goldman, 2022). MS ile D vitamini arasındaki önemli bir klinik ilişki, ekvatorдан uzakta bulunan ve dolayısıyla ultraviyole B radyasyonuna daha az maruz kalan popülasyonlarda D vitamini eksikliğinin daha sık görülmesidir (Miclea ve ark., 2020). Çocukluk döneminde yaz güneşine daha az maruz kalınması sonucu D vitamini eksikliği meydana gelmektedir. Artan MS vakalarıyla D vitamini eksikliğinin

ilişkilendirildiği Tremlett ve arkadaşları (2018) tarafından gösterilmiştir (Tremlett ve ark., 2018).

Birçok çalışma, sigara içmenin MS riskini (yaklaşık %40) artırdığını desteklemektedir. Ek olarak, erken yaşta obezite ve fazla tuz alımının da MS risk faktörleri arasında yer aldığı çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Moreno-Torres ve ark., 2019).

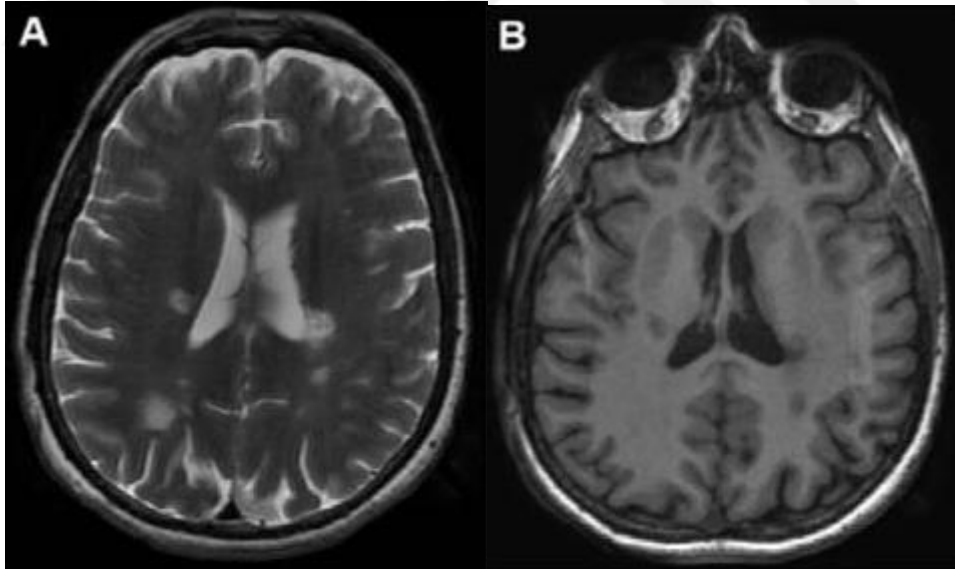
2.1.4. Klinik Özellikler

MS semptomları genellikle öngörülemez ve belirsizdir. Hastalık, MSS'nin herhangi bir bölgesini etkileyebildiğinden ve bu nedenle çeşitli nörolojik semptomlara neden olabilir. Ayrıca, semptomlar hastadan hastaya ve aynı hastada zaman içinde önemli ölçüde değişkenlik gösterebilmektedir. MS ilerledikçe, bazı anormalliklerin daha belirgin hale geldiği ve işlevler üzerinde daha fazla etki yarattığı gözlemlenmiştir (Ghasemi ve ark., 2017).

MS klinik olarak, "ataklar" veya "nüksetmeler" olarak adlandırılan ayrı dönemlerde ortaya çıkan nörolojik fonksiyon bozuklukları ile tanımlanır. Bu atakların neden olduğu semptomlar, hastalar arasında büyük ölçüde değişiklik gösterir ve nörolojik hasarın hangi bölgesini etkilediğine bağlıdır (Gelfand, 2014). Klinik olarak izole edilmiş bir sendrom (KIS) ile başvuran bir kişide genellikle MS şüphesi oluşur. Lezyonların konumuna bağlı olarak, bu sendrom tek veya çoklu semptomlarla ortaya çıkabilir (Dobson ve Giovannoni, 2019). Yaygın semptomlar arasında, uzuvlarda uyuşma ve güçsüzlük, duyuşsal sorunlar, başlangıçta yürüme güçlüğü, mesane problemleri, yorgunluk, bulanık görme, konuşma bozuklukları, dikkat ve konsantrasyon zorlukları gibi bilişsel semptomlar bulunmaktadır. Bununla birlikte, hareket bozuklukları, epileptik nöbetler, baş ağrıları, bilişsel bozukluklar, kortikal semptomlar, işitme kaybı ve kas erimesi gibi belirtiler de görülebilir (Efendi ve Kuşçu, 2018). Hastalığın ilerleyen evrelerinde, demans, bipolar bozukluk, patolojik gülme ve ağlama, psikoz gibi psikiyatrik semptomlar gelişebilir. Hastaların yaklaşık %60'ında depresyon görülebilmektedir (Hauser ve Oksenberg, 2006).

MS lezyonlarının çoğu klinik olarak belirgin semptomlara neden olmasa da, hastalık aktivitesini saptamak ve tanılamak için MRG teknolojisi; kullanılan klinik yöntemlere kıyasla daha duyarlı, objektif ve güvenilirdir (Schaeffer ve ark., 2015).

Klinik uygulamada, MRG rutin olarak MS hastalarında inflamatuvar lezyonları tespit etmek ve izlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Tomassini ve ark., 2020). Sinir hücreleri, koruyucu bir miyelin kılıfı ile kaplıdır ve bu kılıf suyun hareketine yardımcı olan yağ bileşenlerini içermektedir. MS'in etkilediği bölgelerde miyelin kılıfın yağ içeriğinde kayıplar meydana gelir. Bu kayıplar, suyun bu bölgelerde birikmesine neden olur ve sonuç olarak MRG taramalarında görülen belirgin beyaz lekeler veya lezyonlar oluşur (Shoeibi ve ark., 2021). MS'in teşhisi klinik olarak yapılır ve MRG, hastalığın zamansal ve mekansal boyutunu değerlendirmeye yardımcı olur. MRG, odaklanmış beyaz madde anormalliklerini ve klinik olarak sessiz lezyonları tespit etme konusunda yüksek hassasiyete sahip olduğu için MS şüphesi olan hastaların ilk değerlendirilmesi genellikle MRG ile gerçekleştirilir. Geleneksel T2 ağırlıklı ve kontrastlı T1 ağırlıklı görüntüler (Şekil 2.1) (Mathur ve ark., 2021), beyaz maddede yaygın hasar, nöroaksonal dejenerasyon ve geri dönüşümsüz demiyelinizasyonu tam olarak gösterme konusunda bazı sınırlamalara sahip olsalar da, MS'in klinik tanısını doğrulamak veya reddetmek için yaygın olarak kullanılan standart değerlendirme yöntemleridir (Sahraian ve Eshaghi, 2010).



Şekil 2.1: MRG ile Elde Edilen, MSS'ndeki MS Lezyonlarına ait Temsili Görüntüler (A) Beyin MRG: T2 ağırlıklı görüntü. Bu görüntü, beyindeki su içeriğini yüksek bölgeleri ve ödemleri daha belirgin gösterir, MS lezyonları bu ağırlıkta daha aydınlık görünür. (B) Beyin MRG: T1 ağırlıklı görüntü. Bu görüntü, beyindeki yapısal detayları daha net bir şekilde ortaya koyar, MS lezyonları genellikle bu ağırlıkta koyu olarak görülür.

2.1.5. Klinik Alt Tipleri

MS, genellikle klinik nükslerin sıklığına, hastalığın ilerlemesi için gerekli zaman aralığına ve MRG 'de lezyonların belirlenmesine dayalı olarak çeşitli kategorilere ayrılmaktadır (McDonald ve ark., 2001; Polman ve ark., 2011). MS vakalarının klinik özelliklerinin doğru bir şekilde tespit edilmesi, tedavi seçeneklerinin belirlenmesi ve hastalığın ilerleyişi hakkında daha iyi bir tahmin yapılması için hayati önem taşımaktadır (Elkhodiry ve El Tayebi, 2021). Hastalığın klinik seyir bakımından dört tipi vardır ve bunlar; Tekrarlayan-düzelen tip (relapsing-remitting MS, RRMS), birincil ilerleyen tip (primer- progresif MS, PPMS), ikincil ilerleyen tip (sekonder-progresif MS, SPMS) ve ataklı ilerleyici tip (relapsing progresif MS, RPMS)'dir. En yaygın görülen sınıf ise RRMS'dir (Demir ve ark.,2011). Lubin ve ekibi, MS'i hastalık aktivitesi ve/veya ilerlemesine dayalı olarak tekrarlayan ve ilerleyen aşamalara göre sınıflandırmıştır. Hastaların %90'ında RRMS görülmüştür (Lublin ve ark., 2014). Bu hastaların çoğunda SPMS gelişmekte ve bu durum nörolojik bozulmanın daha da ilerlemesine ve kötüleşmesine yol açmaktadır (Weinshenker ve ark., 1989). MS'in ilerleyici formları, PPMS ve SPMS şeklinde ortaya çıkmaktadır. Hastaların yaklaşık %15'inde görülür ve en kötü prognoza sahip alt tiptir (Confavreux ve Vukusic, 2006).

MS'in patofizyolojisi ve alt tiplerindeki klinik farklılıklar hakkındaki bilgi yetersizlikleri, hastalığın değerlendirilmesini sağlayacak tek bir biyobelirtecin oluşturulmasını zorlaştırmaktadır. Değişken klinik görünüm nedeniyle laboratuvarında özel bir tanı testi bulunmaması, tanı ve prognozda gecikmelere yol açmaktadır. Bu yüzden, hastalığın gelişimi ve ilerlemesi hakkında kesin teşhis tekniklerinin belirlenmesi önemlidir (Mathur ve ark., 2021).

2.1.5.1. Klinik İzole Sendrom

KİS, belirli bir zaman diliminde ortaya çıkan ve potansiyel MS gelişimiyle ilişkilendirilen demiyelinizan bir olaydır (Marcus ve Waubant, 2012). KIS'teki klinik zorluk, MS'in erken evrelerinde hastalık değiştirici immünomodülatör tedavilerin etkinliği göz önüne alındığında, erken tedavinin önemiyle ilgilidir. Gelecekte relaps riski yüksek olan hastaları tanımlamak, ciddi nörolojik sorunlarla ilişkilendirilebilecek potansiyel riskleri azaltmada önemli bir adımdır. Nörogörüntüleme ve biyokimyasal

belirteçler gibi çeşitli araçlar, KIS ve erken MS'de gelecekteki nökslerin olası öngörücüleri olarak değerlendirilmektedir (Boscá ve ark., 2010; Tintoré ve ark., 2008).

BOS, MS patolojisi ile yakından ilişkili olup hastalıkla ilişkili biyokimyasal değişiklikleri yansıtabilen vücut sıvısıdır. Bu nedenle, MS için umut verici bir biyokimyasal belirteç kaynağı olarak kabul edilir. Bugüne kadar, MS tanısında en yaygın olarak kullanılan BOS testi, immünoglobulin G oligoklonal bantlardır (OKB) (Stangel ve ark., 2013; Tumani ve ark., 2009). KIS terimi, MSS demiyelinizan hastalığını yüksek oranda düşündüren ancak henüz klinik olarak kesin MS tanısı koyacak bir prevalans düzeyine ulaşmamış erken klinik olayları ifade eder. Ortaya çıkan semptomlar genellikle tek odaklıdır. Günler veya haftalar içinde akut veya subakut olarak ortaya çıkabilir ve optik siniri, omuriliği, beyin sapını veya beyinciği etkileyebilir (Brodsky ve ark., 2008; Miller ve ark., 2012). Diğer MS ataklarında olduğu gibi belirtilerin en az 24 saat sürmesi beklenir, ateş ya da enfeksiyon görülmez (Polman ve ark., 2011). KIS'li hastaların çoğunda (%50-70) demiyelinizan lezyonla uyumlu asemptomatik T2 MRG'nda tespit edilen beyaz madde anormallikleri göze çarpmaktadır (Miller ve ark., 2012). Bu nedenle, MS'in başlangıcını geciktirmeyi amaçlayan hastalık değiştirici tedavilerin denemeleri için KIS hastaları seçmek amacıyla MRG anormallikleri kullanılmıştır (Brex ve ark., 2002).

2.1.5.2. Tekrarlayan-Düzelen MS (RRMS)

RRMS, MS hastalarının yaklaşık %85'ini etkileyen en yaygın fenotiptir. Bu fenotip, değişken nörolojik işlev bozukluklarının olduğu dönemler (nüksetmeler) ile yeni nörolojik semptomların olmadığı göreceli klinik stabilite dönemleri (remisyonlar) ile belirlenir (Schaeffer ve ark., 2015; Freeman ve ark., 2022). RRMS'nin erken klinik belirtileri arasında güçsüzlük, duyu değişimleri, denge sorunları, görme keskinliğinde bozulma ve renklerin veya görüntülerin çiftlenmesi gibi çeşitli nörolojik semptomlar bulunmaktadır. Bu semptomlar, hastalık nüksettiğinde ortaya çıkabilmektedir (Lublin ve ark., 2003). Enfeksiyon veya metabolik bir sorun olmadığında, nöksler en az 24 saat devam edebilir. Her atakta, hastaların yaklaşık yarısında kalıcı hasarlar meydana gelir ki bu da sakatlığın zamanla kademeli olarak artmasına sebep olur (Maghzi ve ark., 2011).

MS klinik olarak belirgin olduğunda, hastalığın erken evrelerinde fokal inflamasyon baskındır. Bu inflamasyon, genç hastalarda daha belirgin bir şekilde

görülür ve yaşla birlikte azalır (Boiko ve ark., 2002; Filippi ve ark., 2018; Freeman ve ark., 2022). Bu süreçlerin yanı sıra, klinik olarak belirgin olmayan inflamasyon, nöron ölümüne, akson hasarına ve demiyelinizasyona neden olarak sonunda geri dönüşü olmayan nörolojik hasara yol açar (Cree ve ark., 2019).

Klinik olarak etkilenmeyen bölgelerde yapılan MRG taramalarında beyaz madde anormalliklerinin tespit edilmesi, sonrasında RRMS'in tanı kriterlerini karşılama olasılığını artırır. İlk iki yılda bu olasılığın %50'den %82'ye kadar yükseldiği ve 20 yıl boyunca devam ettiği belirtilmektedir (Fisniku ve ark., 2008). Bu durum, beyaz madde anormalliklerinin MS'in erken belirtileri arasında değerlendirilmesi gerektiğini ve hastalığın ilerleyen evrelerinde teşhis için önemli bir belirteç olabileceğini vurgulamaktadır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde, her atağın tam olarak iyileşmediği ve kalıcı semptomların biriktiği gözlemlenir. Bu durum, hastaların yaklaşık %65'inin ikincil ilerleyici aşamaya geçtiğini ve %20'sinin hastalığın başlangıcından itibaren ilerlediğini ortaya koyar. Her iki durumda da ilerlemenin genellikle 40 yaş civarında başladığı belirtilir (Confavreux ve Vukusic, 2006).

Araştırmalar sayesinde, enfeksiyonlar ile nüksetme sıklığı, süresi ve sakatlık birikimi arasında bir ilişki bulunmuştur. Ancak belirli bir patojen tanımlanmamıştır. Yıllar boyunca, akut atakları önlemek için çeşitli potansiyel tetikleyiciler incelenmiştir (Vollmer, 2007). Enfeksiyonlar ve stresin yanı sıra hamilelik ve nüksetme arasındaki ilişki, düzenli tedavi uygulamasının önemli unsurlarından biridir (Mohr ve ark., 2004). RRMS hastalarının büyük bir kısmının sonunda SPMS'e ilerleyeceği düşünüldüğünde, nüksetme özellikleri, ilerleyen zamanlarda başlangıç zamanı ve ciddiyetini tahmin etmek için bir gösterge olarak kullanılabilir (Klineova ve Lublin, 2018).

2.1.5.3. Progresif Multipl Skleroz

MS hastalarının yaklaşık %10-15'inde, hastalığın başlangıcından itibaren sürekli fonksiyonel kötüleşme ile karakterize olan ilerleyici nörolojik bozukluklar görülür ki bu durum da PPMS olarak bilinmektedir (Ransohoff ve ark., 2015). PPMS'li hastalar, RRMS hastalarına kıyasla genellikle hastalığın başlangıcında daha yaşlıdır ve erkeklerin oranı daha yüksektir. İnflamatuar beyaz madde lezyonları daha az belirgin olmasına rağmen sağlıklı görünen beyaz maddede kortikal demiyelinizasyon, yaygın aksonal kayıp ve mikroglyal aktivasyon gözlemlenmektedir (Miller ve Leary, 2007).

Hastalığın başlangıcından itibaren PPMS teşhisi koymak genellikle zor olabilir ve bazen de hastalar veya doktorlar tarafından hastalık fark edilemeyebilir. Aynı şekilde, RRMS olan bir hastanın SPMS evresine geçişini belirlemek de zor olabilir. Çünkü bu tamamen hastanın geçmişine dayalı bir klinik tanıdır (Weinshenker ve ark., 1989). Bu zorluk, semptomların yavaş yavaş ilerlemesi ve SPMS'de ara sıra ortaya çıkan klinik nüksetmelerle ilişkilidir. Ayrıca, hastalığın SPMS evresinde, aktif inflamasyonun belirleyici özellikleri olan yeni lezyonlar veya gadolinyum tutan lezyonlar gözlenebilir. RPMS, genellikle bir veya daha fazla semptomun nörolojik ilerlemesi olarak ortaya çıkar. En yaygın RPMS formu, tipik olarak sfinkter fonksiyon bozukluğu ile birlikte spastik, ataksik paraparezi olarak adlandırılan ilerleyici miyelopatidir. Ayrıca, ilerleyici serebellar, bilişsel, hemiplejik, beyin sapı sendromları ve bu sendromların bir kombinasyonu da görülebilmektedir (Stevenson ve ark., 1999). RRMS'den RPMS'e geçiş, hastalık aktivitesinde önemli bir değişikliği ifade etmektedir. İlerleyici seyrin başlamasıyla birlikte, daha önce hasar görmüş beyin bölgelerinde ek bir mekanizmanın devreye girebileceği öne sürülmektedir. Bu mekanizma, önceden zarar görmüş nöronlar ve oligodendrositlerin çürümesi olabilir. Bu durum, MS'in ilerleyen aşamalarında ortaya çıkan patolojik süreçlerin başlangıcıyla ilişkilendirilebilir. RPMS'de bu, beyin dokusu yapısındaki büyük kaybın, demiyelinizasyon ve hücrel kaybın birleşiminden kaynaklandığını gösterir. Bu süreç, hastalığın ilerleyen aşamalarında sinir liflerinin ve oligodendrositlerin kaybına neden olur. Bu kayıplar, hastalığın nörolojik semptomlarını ve ilerlemesini tetikleyen ve artıran faktörler olarak kabul edilir. Dolayısıyla, RPMS, hastalığın ilerleyen seyrinde önemli bir dönüm noktasını temsil eder (Jansen ve ark., 1995). PPMS tanısı, genellikle gecikir. Tanı kriterleri, zamansal ve anatomik yayılımın yanı sıra, beyin omurilik sıvısı belirteçleri ile desteklenebilecek tam bir yıl boyunca kademeli ilerlemeyi gerektirir (Polman ve ark., 2011).

PPMS ve SPMS'de aktif demiyelinizasyon ve nörodejenerasyonun her zaman inflamasyonla ilişkilendirildiği bilinmektedir (Frischer ve ark., 2009). Bununla birlikte, inflamasyon ile KBB bozulması arasındaki bağlantı RRMS'ye göre daha az belirgindir (Hochmeister ve ark., 2006). İlk olarak, patolojik şekilde serum protein sızıntısı ile kanıtlanan minör KBB hasarı, inflamatuvar sızıntıların varlığına veya yokluğuna bakılmaksızın kronik lezyonlarla bir arada bulunabilir (E. E. Kwon ve Prineas, 1994; Kirk ve ark., 2003; Hochmeister ve ark., 2006).

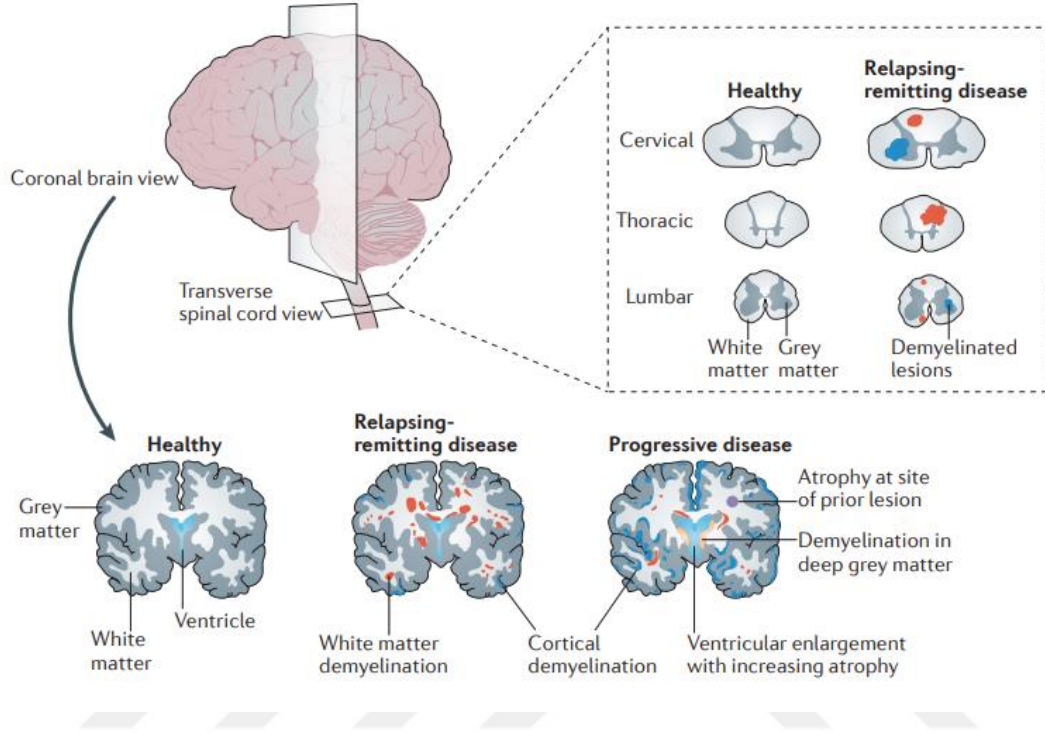
PPMS'de MSS inflamasyonu, RRMS'den farklıdır. RRMS atak dönemlerinde, KBB açılır ve çok sayıda dışarıdan gelen T hücresi ve monosit/makrofaj, MSS dokusuna girerek yerel olarak proinflamatuvar faktörler salgılar. RRMS'in remisyon aşamasında ise KBB yeniden yapılandırılır ve dokunun içindeki T hücrelerinin sayısı ile mikrogliyal hücrelerin aktivasyon düzeyi belirgin bir şekilde azalır. MS ilerledikçe, inflamasyon artık KBB'nin gerisinde kısıtlanmış kalır. MSS dokusundaki hasar, mikrogliyal hücreler ve birden fazla intraparenkimal T hücresi üzerinde etkili olan yayılabilir faktörlerin etkilerinden kaynaklanır (Bradl ve Lassmann, 2009). MS genellikle tekrarlayan-düzelen bir seyirle başlar. RRMS tanısı konulan hastaların %60-70'i, zamanla ilerleyici bir bozulma ile karakterize olan SPMS'ye ilerler (Koch ve ark., 2009).

Nüksleri (iltihap ve demiyelinizasyonun neden olduğu yeni lokal nörolojik belirti ve semptomlar) iyileşme dönemleri takip etmektedir (Lassmann ve ark., 2012). Bu nükseden-düzelen seyir genellikle, nüksetmelerden bağımsız olarak nörolojik fonksiyonun kademeli olarak kötüleştiği bir dönem olan SPMS ile devam eder. Ayrıca, ara sıra hafif iyileşmelerle birlikte nörolojik fonksiyonda kademeli bir azalma ile karakterize olduğu da ifade edilmektedir (Lublin ve Reingold, 1996).

MS'in ilk klinik belirtilerinin başlangıcından SPMS'nin ortaya çıkışına kadar geçen süre büyük ölçüde değişebilir. Tedavi edilmemiş hastalarda, nüksün başlangıcından SPMS'nin başlangıcına kadar geçen ortalama süre yaklaşık 20 yıldır (Cree ve ark., 2021). Klinik özellikler arasında yürüme güçlüğü, ilerleyici felç ve beyin ile omurilikteki atrofi bulunmaktadır (Schaeffer ve ark., 2015).

Tarihsel olarak, MS'in öncelikle beyaz maddeyi etkileyen bir hastalık olduğu düşünülmekteydi. Ancak, SPMS'de fokal beyaz madde hasarı da belirgin bir rol oynamakta ve önceden var olan beyaz madde lezyonlarının yavaş genişlemesi, ilerleyici hastalığı olan bireylerde belirgin bir patolojik özellik olarak kabul edilmektedir (Frischer ve ark., 2015; Luchetti ve ark., 2018). İlerleyen MS vakalarında, demiyelinizan lezyonlar gri ve beyaz madde bölgelerinde eşit olarak yaygınlaşabilmektedir. Beyaz madde lezyonlarının yanı sıra normal görünen beyaz madde bölgelerinde, hem kortikal hem de derin gri madde bölgelerinde yaygın nöroaksonal kayıp gözlemlenmektedir (Şekil 2.2). Hastalığın ikincil ilerleyici evresine ulaşıldığında ise geri dönüşü olmayan fiziksel ve bilişsel sakatlığın temel nedeninin

nöroaksonal kayıp olduğu düşünülmektedir (Bradl ve Lassmann, 2009; Lassmann ve ark., 2012; Dendrou ve ark., 2015).



Şekil 2.2: MS Evrelerine Göre Beyin Ve Omurilikteki Değişimler Sağlıklı bir bireyin beyin ve omurilik yapılarının koronal ve transvers kesitleri ile karşılaştırmalı olarak multipl sklerozun relapsing-remitting ve progresif evrelerinde görülen patolojik değişiklikler. Sağlıklı durumda gri madde ve beyaz madde net bir şekilde belirginken, relapsing-remitting evrede beyaz maddedeki demiyelinizasyon lezyonları, progresif evrede ise kortikal demiyelinizasyon, önceden hasar görmüş bölgelerde atrofi ve artan atrofiye bağlı ventriküler genişleme gözlemlenmektedir. İlgili spinal kesitlerde, servikal, torasik ve lomber bölgelerde demiyelinize lezyonların lokalizasyonu ve etkilediği yapılara ilişkin karşılaştırmalar belirtilmiştir.

MRG verileri, BOS veya kanın protein ve metabolit ölçümleri gibi çeşitli modern biyobelirteçler, SPMS ile RRMS arasındaki ayrımı yapmada klinik olarak faydalı olabilmektedir. SPMS'ye geçişin erken tespiti için kullanılabilecek yöntemler, hastalığın immüno patolojik özelliklerine dayalı araştırmalar üzerinden devam etmektedir (Iwanowski ve Losy, 2015).

2.1.6. Tanı ve Tedavi

MS, genellikle hastanın akut (tekrarlayan) veya kronik (ilerleyen) nörolojik belirtilerle bir sağlık kuruluşuna başvurmasıyla tanı almaktadır. Klinisyen, MS tanı kriterlerini uygulamadan önce, hasta hikâyesi, fiziksel muayene, görüntüleme teknikleri

ve diğer mevcut bilgilerin demiyelinizasyona işaret edip etmediğini değerlendirmelidir (Sand, 2015). MS'in teşhis kriterleri, 1965 yılında Schumacher Komitesi tarafından ilk kez oluşturulmuştur. Bu başlangıç kriterleri, klinik özelliklere dayanılarak belirlenmiş ve zamanla yapılan klinik çalışmalarla sürekli olarak geliştirilmiştir (Ömerhoca ve ark., 2018). MS kesin tanısı, tıbbi öykü ve nörolojik muayeneye dayanmaktadır. Bu süreç, MRG gibi tekniklerinin yanı sıra, BOS analizi için lomber ponksiyonlar, uyarılmış potansiyeller ve kan testleri kullanılarak desteklenmektedir. MRG, klinik semptomlar ve bulguların varlığında MSS lezyonlarını saptamada önemli bir rol oynamakta ve genellikle hastanın tipik klinik sendromlar gösterdiği durumlarda lezyonların karakteristik özelliklerini belirlemek için yeterli olabilmektedir (Brownlee ve ark., 2017; Ghasemi ve ark., 2017). Tanı süreci büyük ölçüde hastanın tıbbi geçmişi ve nörolojik muayenesine bağlıdır. Bu nedenle, atakların doğru bir şekilde tanımlanması hayati önem taşımaktadır. Ataklar, 24 saatten uzun süren ateş ya da herhangi bir enfeksiyon olmaksızın belirli bir anatomik bölgeyle ilişkilendirilebilen yeni nörolojik defisit olarak tanımlanmaktadır. Nörolojik defisit genellikle 2 ile 4 hafta içinde yavaşça gelişir ve 6 ila 8 hafta içinde, ister kendiliğinden ister kortikosteroid tedavisi sonrası, tamamen veya kısmen çözülebilmektedir. MRG ile monofokal atak olarak sunulan tek bir anatomik bölgenin veya multifokal ataklar olarak görülen birden fazla MSS bölgesinin etkilendiği görülebilmektedir (C. Lucchinetti ve ark., 2000; Love ve ark., 2015).

MS tanısında klinik, görüntüleme ve laboratuvar bulgularını bütünleştiren kriterler zamanla değişiklik göstermiştir. Bu kriterlerden en güncel olanı, Uluslararası MS Tanı Paneli tarafından 2010 yılında sunulan McDonald kriterleridir. Bu kriterler, özellikle görüntüleme tekniklerinin artan kullanımı sayesinde, daha erken, hassas ve spesifik tanıların konulmasına imkan tanımıştır. Tanı kriterleri, sürekli değişen teknoloji ve konsensüs ile birlikte periyodik olarak yeniden değerlendirilmektedir (Poser ve ark., 1983; McDonald ve ark., 2001; Polman ve ark., 2011). 2017 yılında, McDonald kriterlerinin güncellenmesi ve ileri araştırmalar için öneriler sunulmuş bu süreçte tanıya yönelik daha fazla spesifiklik ve doğruluk hedeflenmiştir. Revize edilen 2017 McDonald tanı kriterleri Tablo 2.1'de yer almaktadır (Kuşcu ve ark., 2018).

Tablo 2.1: 2017 Revize McDonald Kriterleri (Thompson ve arkadaşları)

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

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

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

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

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

^e: BOS-spesifik OKB varlığı zamanda yayılımı göstermez ama tanıda onun yerine geçer. MS: Multipl skleroz, SSS: Santral sinir sistemi, MRG: Manyetik rezonans görüntüleme, BOS : Beyin omurilik sıvısı, OKB: Oligoklonal band

MS tedavisindeki temel amaç, inflamatuvar süreçleri kontrol altına alarak bunların nöroaksonal yapılar üzerindeki tahribatını minimize etmek ve böylece kalıcı

sakatlık riskini önemli ölçüde azaltmaktır. Tedavi stratejisindeki başarı, hastalığın doğru ve erken bir şekilde teşhis edilmesine ve en uygun zamanda en etkili tedavi yöntemlerinin uygulanmasına bağlıdır . Tedavide, hastalığı modifiye edici yaklaşımlar, atak tedavisi ve semptomatik tedaviler etkileşim halinde kullanılmaktadır. Bağışıklık sistemini düzenleyen ve semptomları hafifletmeyi amaçlayan ilaçlar (örneğin Glatiramer asetat, Interferon beta 1a ve 1b, Mitoxantrone, Fingolimod, Natalizumab, Alemtuzumab, Daclizumab gibi) ile tedavi edilen hastalar, atakların sıklığı ve şiddeti azaltılarak daha uzun süre ataksız kalabilmektedirler (Jacobs ve ark., 1996; Tintore ve ark., 2018). Atak dönemlerinde ise, atağın etkilerini hızla azaltmak için yüksek doz steroidler veya gerektiğinde plazmaferez uygulanabilmektedir (C. Freeman, 2011). Ayrıca, nörolojik fonksiyon bozuklukları sonucu ortaya çıkan semptomlar için ağrı kesiciler, kas gevşeticiler, epilepsi ilaçları gibi tedaviler ve destekleyici fizyoterapi yöntemleri ile hastaların yaşam kalitesi artırılabilir. Bu tedavi yöntemleri, hastaların hem günlük yaşam aktivitelerini sürdürebilmelerini hem de uzun vadede sağlık durumlarının stabil kalmasını sağlamak için bütüncül bir yaklaşım olarak ele alınmaktadır (Jo ve ark., 2011).

2.1.7. Patoloji

MS'deki hasarın temel nedeni, MSS'de beyaz ve gri madde dokularında immün hücre infiltrasyonu ve sitokinlerin yol açtığı iltihaplanmadır. Bu iltihaplanma sonucu, beyin ve omurilikteki miyelin kılıflarına ve aksonlara zarar verilir (Loma ve Heyman, 2011; Ghasemi ve ark.,2017; Shah ve ark., 2023). MS'in patolojisi, beyin ve omurilikteki beyaz ve gri maddede görülen plaklar veya lezyonlarla belirgindir. Bu lezyonlar, miyelin kılıflarının ve oligodendrositlerin kaybına işaret eden birleşik fokal demiyelinizan alanlardır (Popescu ve Lucchinetti, 2012). Bu süreç, hastalığın ilerlemesi ve semptomların ortaya çıkmasıyla ilişkilidir. MS'in temel patolojik mekanizmalarının anlaşılması, etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kritik bir öneme sahiptir.

Erken MS vakalarında, aksonlar ve nöronlar genellikle korunmuş olmasına rağmen, hastalık ilerledikçe kademeli nöroaksonal kayıplar ortaya çıkar ve bunun sonucunda beyin atrofisi meydana gelir (Chard ve ark., 2002). Beyaz madde lezyonlarında, özellikle de miyelin kılıflarının zarar gördüğü bölgelerde çoklu sklerotik skarlar görülür. MS'de çoklu sklerotik glial skarlar, hastalığın ilerleyişini ve

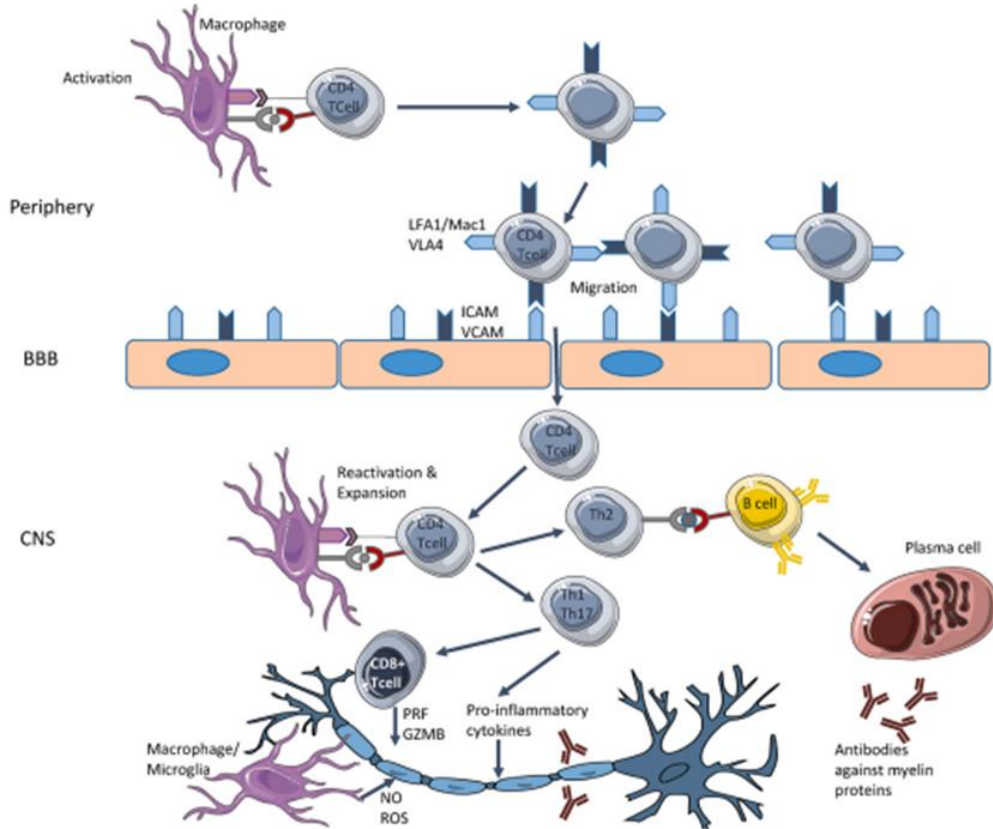
semptomların şiddetini etkileyebilir. Bu skarlar, beyaz maddede görülen demiyelinizasyon alanlarının bir sonucu olarak karşımıza çıkarlar. Remiyelinizasyon süreciyle, bu alanlar kısmen onarılabılırler (Lucchinetti ve ark., 2011; Popescu ve Lucchinetti, 2012; Frischer ve ark., 2015).

MS'in tüm tipik patolojik özellikleri, hastalığın her evresinde gözlemlenebilmektedir (Haider ve ark., 2016). Bu nedenle, PPMS dahil olmak üzere, PRMS arasında patolojik açıdan belirgin bir fark bulunmamaktadır (Stevenson ve ark., 1999; Luchetti ve ark., 2018). Ancak, patolojik süreçlerin ve değişikliklerin katkısı niceliksel olarak değişiklik gösterebilir. Fokal yeni ve aktif beyaz madde lezyonları, özellikle erken (akut ve tekrarlayan) MS vakalarında sıkça gözlemlenir ve hastalar ilerleyici aşamaya geçtikçe nadir hale gelir. Bunun yerine, ilerleyici MS'de birçok lezyon, yavaş genişleyen lezyonların özelliklerini taşıyan plaklar halinde bulunmaktadır. Kortikal demiyelinizasyon, MS'in en erken evrelerinden itibaren varlığını göstermesine rağmen hastalar ilerleyici evreye ulaştıkça, bu demiyelinizasyonun kapsamı büyük ölçüde artar (Kutzelnigg ve ark., 2005; Lucchinetti ve ark., 2011; Lassmann ve ark., 2012). Demiyelinizasyonun fokal plakları MS patolojisinin tanısal özelliğidir. Beynin gri ve beyaz maddesinde hastalığın her aşamasında bu tür plaklar bulunur (Lassmann ve ark., 2012). Erken MS vakalarında, normal görünen beyaz maddedeki yaygın değişiklikler nadiren karşımıza çıkarken ilerleyici MS hastalarında oldukça belirgindir (Kutzelnigg ve ark., 2005).

EAE, otoreaktif MSS antijen hedefli T lenfositlerinin (CD4+, CD8+), MSS demiyelinizan lezyonlarının gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Maghzi ve ark., 2011). Her ne kadar CD4+ T hücrelerinin MSS'nde inflamasyonu tetiklemede merkezi rol oynadığı düşünülse de, doku hasarının gerçek kapsamı ve özgüllüğü, adaptif bağışıklık bileşenleri (CD8+ T hücreleri ve antikolar) ve lezyonlarda mevcut olan doğal bağışıklık bileşenleri (mikroglia/makrofajlar) tarafından belirlenir (Prat ve Antel, 2005).

MS'nin immünopatogenezi ile ilgili olarak, MSS'in demiyelinizasyonuna yol açan inflamatuvar bir sürecin, miyelini spesifik T hücrelerinin saldırısı ile başladığı öne sürülmektedir (Poser, 1986). Belirli bir olay tarafından periferde aktif hale gelen lenfositler, KBB'yi geçerek beyne ulaşır. Beyin kapillerlerinin endotel hücrelerindeki yapışma moleküllerine bağlanarak beyne giriş yaparlar. İçeri girdikten sonra, beyin

içinde bu aktif hücreler, T ve B hücrelerini içeren bağışıklık hücresi hareketini aktive ederek tahrip edici bir süreci başlatırlar. Sitotoksik T hücreleri tarafından salınan perforinler ve granzimler, aktive B hücrelerinin ürettiği antikorlarla birlikte, miyelin kılıfının zarar görmesine ve bundan dolayı da demiyelinizasyonun oluşmasına (Şekil 2.3) yol açarlar (Elkhodiry ve El Tayebi, 2021).



Şekil 2.3: MS Patogenezi Dair Şematik Gösterim

MS'in patogenezi ile ilgili olarak, miyeline spesifik bir T hücre saldırısı, MSS demiyelinizasyonuna yol açabilecek bir inflamatuvar yanıtı tetikleyebilir. Birçok çalışmada, T yardımcı (Th) hücrelerinin (CD4+ T hücreleri olarak da bilinir) müdahalesinin ve APC'ler ile T lenfositler arasındaki etkileşimin tetiklediği adaptif bağışıklık tepkisinin MS'in ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Ghasemi ve ark., 2017). CD4+ Th hücreleri, bağışıklık hücrelerinin fonksiyonunu düzenleyerek MS patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Th hücreleri, IL-2, IL-23 veya IL-4 gibi farklı interlökinlere bağlandıklarında kısa sürede Th1, Th2 veya Th17'ye farklılaşırlar (Shah ve ark., 2023).

T hücrelerinin bir alt kümesi olan Th-17 hücrelerinin (interlökin-17 salgılayan CD4+ T hücreleri) MS patogeneğinde rol oynadığı giderek daha fazla düşünülmektedir. Bu hücreler KBB'ni aşarak aksonal hasara ve nöronların ölümüne neden olma özelliğine sahiptirler. Akut nüksetme yaşayan MS hastalarında, dolaşımdaki Th-17 hücrelerinin sayısında bir artış yaşanır (Ontaneda ve ark., 2012). MS'de KBB'nin parçalanması, MSS'ye karşı demiyelinizasyona ve aksonal kayba neden olan bir otoimmün saldırının başlatılmasında ve sürdürülmesinde erken ve önemli bir adımdır. Bu süreç, sonuç olarak nörodejenerasyona ve geri dönüşü olmayan nörolojik bozukluğa yol açar (Balasa ve ark., 2021).

2.1.8. MS ve Genetik

MS gibi diğer birçok nörodejeneratif hastalıkta da genetik faktörler önemli bir rol oynar. Ancak, bazı nörodejeneratif bozukluklarda belirli mutasyonlar tanımlanmış ve bu mutasyonlar hastalığın en azından bir kısmının nedeni olarak belirlenmesine karşın, MS için bu tür belirli mutasyonlar henüz tanımlanmamıştır (Nourbakhsh ve Mowry, 2019; Stys ve Tsutsui, 2019).

Geçtiğimiz on yılda, MS'e duyarlılık lokuslarının belirlenmesi amacıyla genetik alanında çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında aday gen analizleri, bağlantı analizleri, ilişki analizleri ve son zamanlarda genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) da yer almaktadır (Hafler ve ark., 2007). GWAS, MS riski ile ilişkilendirilen 200'den fazla tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlamıştır. Bu SNP'lerin çoğu, bağışıklık fonksiyonuyla ilişkili genlerde bulunmaktadır (Patsopoulos, 2018; Goodin ve ark., 2021). MS gelişiminde genetik faktörlerin rol oynayabileceğine dair ilk bulgular, MS hastaları ve aile üyeleri ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir. MS'li bir kardeşe sahip olan bireylerin MS'e yakalanma olasılığı, genel popülasyona göre 20 ila 30 kat daha fazladır (Nielsen ve ark., 2005; Ristori ve ark., 2006). Kardeşler arasında %15-20 arasında artan göreceli risk oranı ve tek yumurta ikizleri arasındaki %30'luk uyum oranı, MS'de genetik faktörlerin önemli olduğunu göstermektedir. Özellikle, insan lökosit antijeni (HLA) gen kümesi, MS genomu genelindeki en güçlü duyarlılık odaklarından biridir (Canto & Oksenberg, 2018). MS ile ilişkilendirilen tek tutarlı gen, HLA gen kümesi üzerinde bulunan kromozom 6p21.3'tür. Bu gen kümesi, MS'e genetik duyarlılığın önemli bir kısmını oluşturmakta ve hem MS

ile ilişkilendirilmiş hem de MS ile ilişkili en güçlü ve ikna edici duyarlılık lokusu olarak kabul edilmektedir (Hauser ve Oksenberg, 2006; Dutta ve Trapp, 2012).

MS gibi birçok otoimmün hastalık, çeşitli HLA molekülleriyle ilişkilendirilmiş ve hastalığın riskini artırabileceği veya koruma sağlayabileceği keşfedilmiştir. Örneğin, HLA-DRB1*15:01 alelini taşıyan bireylerin MS'e yakalanma olasılığı, bu aleli taşımayan bireylere göre anlamlı derecede yüksektir (Kellar-Wood ve ark., 1995; Patsopoulos ve ark., 2013). MS ile en sık ilişkilendirilen HLA sınıf II haplotipi, DR15 (Dw2) ve DQ6 (DRB1*15:01 DQA1*01:02 DQB1*06:02) olarak tanımlanmaktadır (Saruhan-Direskeneli ve ark., 1997). Son zamanlarda yapılan çalışmalar da ise yeni ve daha önce tanımlanmış sınıf II risk alelleri (HLA-DRB1*15:01, HLA-DRB1*13:03, HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*08:01 ve HLA-DQB1*03:02) ile sınıf I koruyucu alelleri (HLA-A*02:01, HLA-B*44:02, HLA-B*38:01 ve HLA-B*55:01) arasında, HLA-DQA*101:01-HLA-DRB1*15:01 ve HLA-DQB1*03:01-HLA-DQB1*03:02 alel çiftlerini içeren iki sınıf II aleli etkileşimi olduğu tespit edilmiştir (Barcellos ve ark., 2006; Kwon ve ark., 1999; Lincoln ve ark., 2009; Moutsianas ve ark., 2015). Şu ana kadar, MS ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilen yaklaşık 50 gen, risk üzerinde hafif ila orta düzeyde etkiler göstermiştir (olasılık oranı, OR <1,3). Bu genlerin çoğu, öncelikle immünolojik işlevlere sahiptir (Hoppenbrouwers ve Hintzen, 2011; Sawcer ve ark., 2011).

miRNA'lar, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda olan kısa, tek sarmallı kodlamayan RNA'lar sınıfıdır. Bu RNA'lar, çok sayıda hedef mRNA'nın translasyonel baskılanmasını veya bozulmasını tetikleyerek onların ekspresyonunu düzenlemektedir. miRNA'lar, çeşitli biyolojik süreçlerin kritik transkripsiyon sonrası düzenleyicileri olarak ortaya çıkmışlardır. Artan kanıtlar, miRNA'ların bağışıklık sisteminin gelişimi ve hem doğal hem de adaptif dallarının doğru çalışması için önemli olduğunu göstermektedir (Stefani ve Slack, 2008; Dai ve Ahmed, 2011). miRNA üretiminde meydana gelen en küçük değişiklikler bile gen ekspresyonunda belirgin değişikliklere neden olarak bağışıklık sisteminde patolojik durumlara yol açabilmektedir. Özellikle toleransı korumak için, merkezi ve periferik lenfoid organlar çeşitli kontrol noktaları sağlar. Bu kontrol noktaları, lenfopoez sırasında rutin ve rastgele üretilen oto-reaktif T ve B hücrelerinin eliminasyonunu veya susturulmasını mümkün kılmaktadır. (Shlomchik ve ark., 2001; Goodnow, 2007). Bununla birlikte, kontrol noktalarından

kaçan oto-reaktif lenfositler periferik lenfoid dokularda hayatta kalabilir ve aktive olduktan sonra kendi dokularına saldırabilirler. MS ve diğer otoimmün hastalıklarda miRNA biyogenezinde çeşitli değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir. MS hastalarının kan bileşenleri, BOS ve beyin lezyonlarında farklı şekilde ifade edilen miRNA'lar tespit edilmiştir. Bağışıklık homeostazını sağlamak için miRNA'ların bağışıklık hücrelerinde sıkı bir şekilde düzenlendiği düşünüldüğünde, miRNA ekspresyonundaki düzensizliklerin bağışıklık toleransının bozulmasına ve otoimmüitenin ortaya çıkmasına neden olabileceği öne sürülmektedir. Sistemik lupus eritematozus ve romatoid artrit gibi otoimmün bozukluklar da çeşitli miRNA'ların düzensiz olduğu çalışmalar ile refere edilmektedir (Dai ve Ahmed, 2011).

Gen ekspresyonunun kapsamlı çalışmaları sıklıkla, periferik kan monositleri (PBMC) ya da MS hastalarından alınan beyin dokusu örnekleri üzerinden yürütülmektedir. PBMC'ler, özellikle dolaşımdaki lökositlerin gen ekspresyonu profillerini belirlemek için tercih edilmektedir. Bu profiller, çeşitli dış etkenlere verilen biyolojik tepkileri ilk olarak yansıttığından, hastalığın gidişatını öngörmede ve tedaviye verilen yanıtları değerlendirmede önemli bir rol oynamaktadır.

2.2. MikroRNA

İlk miRNA, 1993 yılında *Caenorhabditis elegans* model organizmasında yapılan bir çalışmayla keşfedilmiştir (R. C. Lee ve ark., 1993). Daha sonraki yıllarda miRNA'lar, biyolojik düzenleyiciler olarak tanınmış ve geniş bir yelpazede organizmalar arasında tanımlanmıştır. Bu süreçte, miRNA'ların MS gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilerek geniş çapta araştırıldığı bilinmektedir. Bu çalışmalar, miRNA'ların patolojik süreçlerdeki rollerini ve potansiyel terapötik hedefler olarak kullanımını aydınlatmıştır (Friedländer ve ark., 2014).

miRNA'lar, genellikle 19-24 nükleotid uzunluğunda olan ve hedef mRNA'nın 3' UTR bölgesine bağlanarak protein translasyonunu engelleyen non-coding small RNA (ncsRNA- kodlamayan küçük RNA) molekülleridir (S. C. Li ve ark., 2010). miRNA'ların çoğu, DNA dizilerinden birincil miRNA'lar (pri-miRNA'lar) şeklinde kopyalanır ve ardından öncü miRNA'lar (pre-miRNA'lar) ve son olarak olgun miRNA'lara işlenir. Çoğu durumda, miRNA'lar hedef mRNA'ların 3' UTR (3'un çeviri düzenleyici bölgesi) ile etkileşime girerek gen ifadesini baskılar (Ha & Kim, 2014).

Bununla birlikte, miRNA'ların 5' UTR, kodlama dizisi ve gen promotörleri gibi diğer bölgelerle etkileşime girdiği de rapor edilmiştir (Broughton ve ark., 2016). Ayrıca, belirli koşullar altında miRNA'ların gen ekspresyonunu aktive ettiği gösterilmiştir (Vasudevan, 2012).

Tek bir miRNA, yüzlerce hedef genin ekspresyonunu değiştirebilirken, aynı şekilde tek bir gen, birden fazla miRNA tarafından düzenlenerek karmaşık bir düzenleyici ağı oluşturulmasına katkı sağlayabilir (J. Li ve Zhang, 2013; Sempere ve ark., 2021). Bu düzenleyici ağ, gelişimsel ve gelişim sonrası biyolojik süreçlerde önemli rol oynar. miRNA'lar, hücre farklılaşması, çoğalması (Otto ve ark., 2017), stres yanıtları (Konovalova ve ark., 2019), hücre içi sinyalleme (O'Brien ve ark., 2018), hücre metabolizma ve bağışıklık gibi çeşitli biyolojik süreçlerde anahtar rol oynadıkları için hücre homeostazisinde ciddi bir öneme sahiptirler (Pedroza-Torres ve ark., 2019; Howard ve ark., 2021).

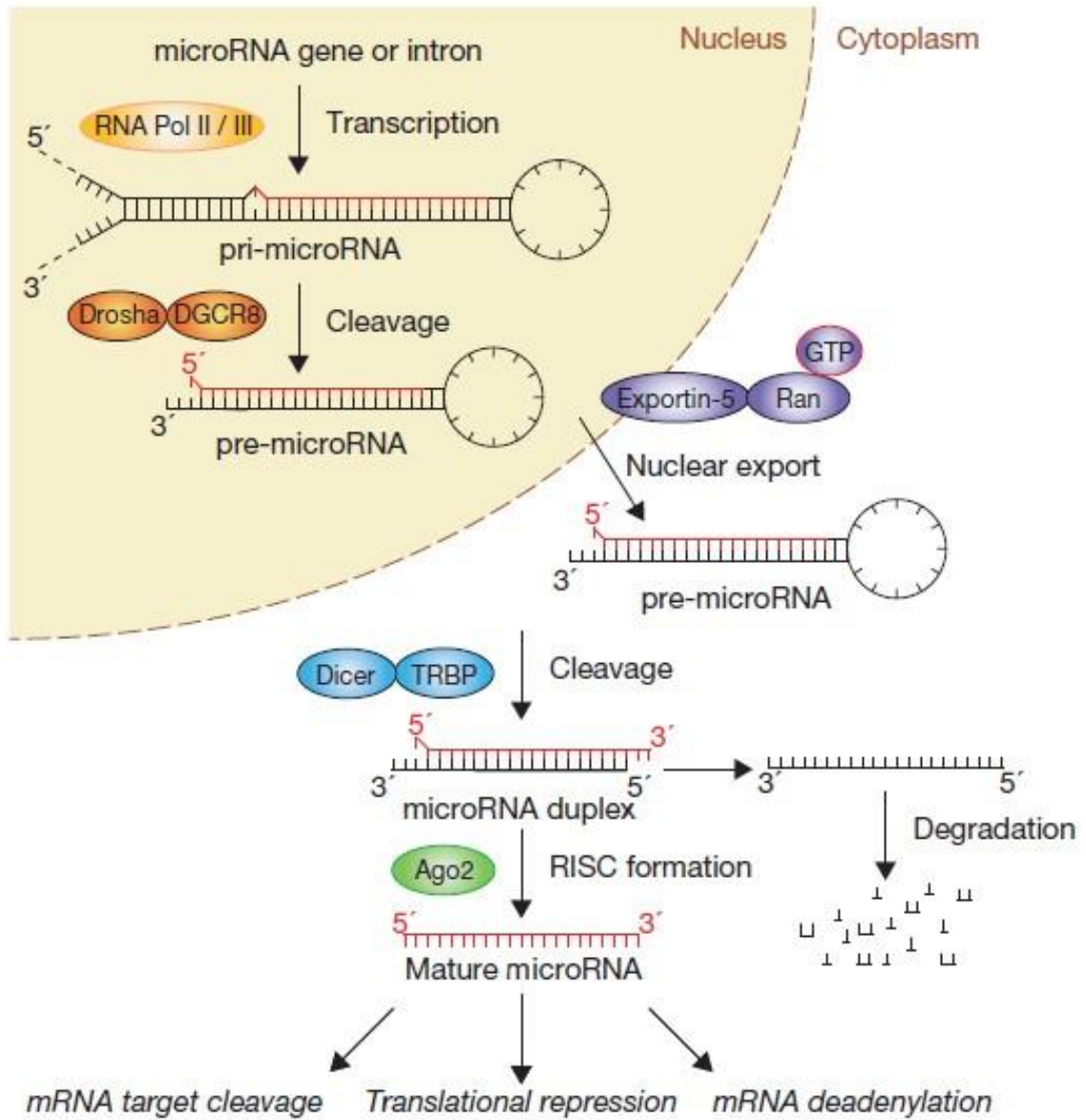
Son yıllarda yapılan bir dizi araştırma, miRNA fonksiyonunun ve biyogenezinin moleküllerin ayrıntılarını farklı düzeylerde sıkı bir şekilde düzenlediğini göstermektedir. Çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilen miRNA ekspresyonu, ncrRNA'ların patofizyolojik süreçlerde önemli düzenleyiciler olarak rol oynadığını gösteren birçok çalışmayı ortaya koymuştur (Baumann ve Winkler, 2014; Treiber ve ark., 2018). Bu durum, kanser, otoimmün, nörodejeneratif ve bulaşıcı hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların biyolojik temellerini anlamamıza katkıda bulunurken, miRNA inhibitörlerinin tedaviye yönelik hızla geliştirilmesini teşvik etmektedir (Barwari ve ark., 2016; Long ve ark., 2018; Tribolet ve ark., 2020). Anormal koşullarda miRNA'ların up-down regülasyonları ilgili hastalıklar için biyobelirteç veya moleküler terapötik hedef olarak kabul edilebilecek bir imza modelinin oluşturulmasını sağlayacaktır (Sempere ve ark., 2021).

2.2.1. miRNA biyogenezi

miRNA biyogenezi, RNA polimeraz II veya III tarafından transkribe edilen RNA transkriptlerinin sonrasında veya beraber işlenmesiyle başlar (Ha ve Kim, 2014). miRNA'lar, genomdan kopyalandıklarında genellikle 'intragenik' veya 'intergenik' olarak sınıflandırılırlar (De Rie ve ark., 2017). Intragenik miRNA'lar, genellikle intronik veya ekzonik bölgelerde bulunur ve konakçılarıyla birlikte RNA Pol II tarafından

kopyalanırken; intergenik miRNA'lar, genomun kodlamayan bölgelerinde bulunur ve Pol II veya Pol III tarafından kendi promotörlerinin kullanılmasıyla bağımsız olarak kopyalanırlar. Promoter bölgeler, miRNA transkripsiyonunun başlatılmasında önemli rol oynamaktadırlar (Y. K. Kim ve Kim, 2007; De Rie ve ark., 2017; Treiber ve ark., 2018).

miRNA biyogenezi, kanonik ve kanonik olmayan yollar şeklinde sınıflandırılır (Broughton et al., 2016). miRNA biyosentezi, iki RNase III enzimi olan Drosha ve Dicer'in aracılık ettiği sıralı endonükleolitik bölünmeleri içermekte ve evrimsel olarak korunmuş bir süreç olarak nitelendirilmektedir (V. N. Kim, 2005). RNA Pol II ile transkripsiyon sonrası, birincil miRNA transkripti (pri-miRNA), Drosha ve RNA bağlayıcı protein DiGeorge Sendromu Kritik Bölge 8 (DGCR8) içeren mikroişlemci kompleksi aracılığıyla çekirdekte 60 ila 70 nükleotid uzunluğunda bir saç tokası yapısı olan öncü miRNA'ya (pre-miRNA) dönüştürülür (Y. Lee ve ark., 2003, 2004; Han ve ark., 2006). İlk aşamanın ardından pre-miRNA, Ran-GTP'ye bağımlı bir Nükleo/sitoplazmik taşıma reseptör ailesine ait Exportin-5 (Exp5) ile doğrudan etkileşim yoluyla çekirdekten sitoplazmaya taşınır (Bohnsack ve ark., 2004; Lund ve ark., 2004; Treiber ve ark., 2018). Sitoplazmaya taşınan Pre-miRNA daha sonra sitoplazmik RNaz III protein olan Dicer ve TRBP (TAR RNA bağlayıcı protein) ile kompleks halinde ~22 nt uzunluğunda olgun miRNA dublekslerine kesilir (Bernstein ve ark., 2001; Ketting ve ark., 2001; O'Brien ve ark., 2018; Treiber ve ark., 2018). Son olarak olgun miRNA, Argonaute (AGO) proteinine bağlanarak RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) oluşturur. miRNA dubleksleri ayrıldığında, bir iplikçik (kılavuz iplikçik) AGO proteinine bağlanarak miRISC'nin bir parçası haline gelirken, diğer iplikçik (yolcu) hızla parçalanır (Frank ve ark., 2010; Krol ve ark., 2010). Bu kompleks, mRNA hedeflerinin belirli bölgelerinin bölünmesini veya translasyonunu baskılayarak gen ifadesini düzenler (Selbach ve ark., 2008; Medley ve ark., 2021). Bu miRNA biyogenezinin açıklanan mekanizması kanonik yoldur (Şekil 2.4). Fakat aynı zamanda Dicer'den ve Drosha'dan bağımsız yollar da dahil olmak üzere diğer kanonik olmayan yollar tanımlanmıştır (Srikok ve Chuammitri, 2016; Stavast ve Erkeland, 2019).



Şekil 2.4: miRNA Biyogenezi ve İşlevsel Etkileşim Mekanizması

Keşfedilen ilk kanonik olmayan yol olan mirtron yolu, pre-miRNA'ları üretmek için çekirdekteki Drosha/Dgcr8 kompleksine ihtiyaç duymadan, sitoplazmada Dicer'ı kullanır. Mirtronlar, içinde bulunduğu intronun tüm uzunluğuyla tanımlanan bir pre-miRNA'ya sahiptir ve biyogenezlerinin ilk adımı için Mikroişlemci yerine mRNA öncesi birleştirme gerektirir. Bu biyogenez yolu, ilk kez *Drosophila melanogaster* ve *Caenorhabditis elegans*'ta karakterize edilmiştir (Okamura ve ark., 2007; Ruby ve ark., 2007). Bu iki türden elde edilen küçük RNA'ların derin dizilim verilerinin incelenmesiyle mirtronlar keşfedilmiş ve miRNA öncesi boyuttaki kısa intronlar açığa çıkarılmıştır. Bu intronlar, çekirdekte spliceozomlar ve dallanmayı gideren enzimler

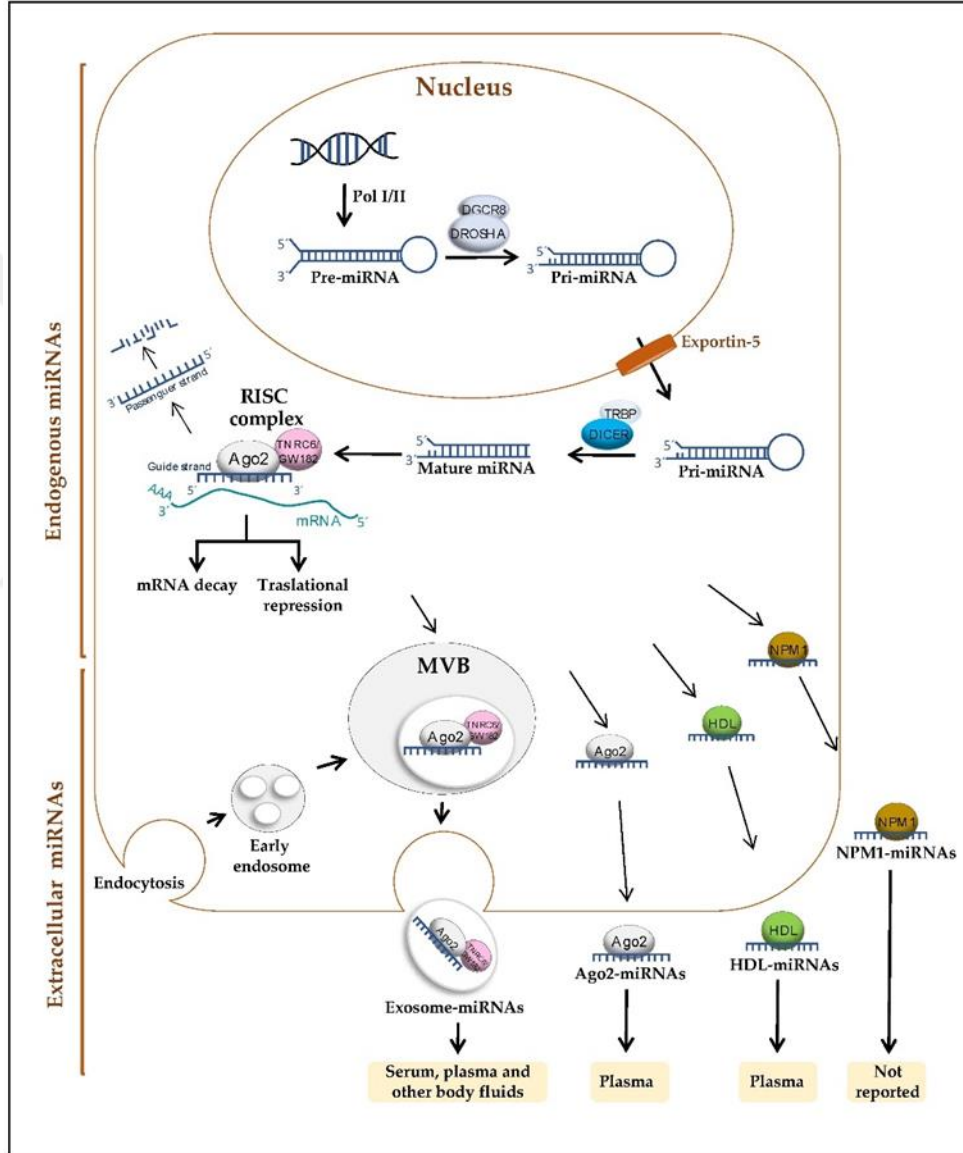
tarafından işlenerek doğrudan Dicer tarafından bölünebilecek miRNA saç tokaları oluşturur. Bu saç tokaları, daha sonra Exp5 tarafından sitoplazmaya taşınır ve burada Dicer tarafından parçalanır. Böylece, mirtron yolu mikroişlemci aşamasını atlar ve birleştirme aktivitesiyle değiştirir, ardından da Exp5'e bağlı taşıma aşamasında kanonik miRNA yolu ile birleşir (Okamura ve ark., 2007).

2.3. MS ve miRNA

MS patogenezi sırasında, Th1/Th17 ve Treg hücrelerindeki değişiklikler de dahil olmak üzere birçok patolojik süreç meydana gelir. Bunlar, periferik immün inflamatuvar yanıtların aktivasyonu ve KBB fonksiyon bozuklukları gibi glial hücrelerin (örneğin, mikrogliya, oligodendrositler ve astrositler) işlev bozukluklarını içerir. Bu tür işlev bozuklukları, MSS lezyonlarıyla yakından ilişkilidir ve miRNA ekspresyonunun düzensizliği ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, Treg hücrelerinin işlevlerinin miRNA düzenlemesine bağlı olduğu belirtilmiştir (Podshivalova ve Salomon, 2013).

miRNA ekspresyon profili oluşturulurken miRNA mikrodizi platformları, kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR), dijital PCR (dPCR), hibridizasyon ve yeni nesil dizileme (NGS) gibi çeşitli yöntemler kullanılır. Bu yöntemler, farklı araştırma ihtiyaçlarına uygun esneklik sağlamakta ve miRNA ekspresyonunu doğru bir şekilde belirlemeye yardımcı olmaktadır (Git ve ark., 2010). MS fenotipleri ile ilişkilendirilen miRNA'ların düzensiz ekspresyonu daha önce kanda ve BOS'ta tespit edilmiştir. Bu dolaşımdaki miRNA'lar çeşitli biyo-sıvılarda bulunabilir ve çeşitli yollarla salınabilirler. Bunlar arasında kronik inflamasyon nedeniyle hasar görmüş hücrelerden pasif sızıntı, hücre kaynaklı mikropartiküller ve apoptotik cisimcikler yoluyla aktif salgılama ve proteinli kompleksler aracılığıyla aktif taşıma bulunmaktadır. Eksozomlar özellikle vücut sıvılarından kolayca çıkarılabildikleri için önemli miRNA biyobelirteç kaynakları olabilirler (Gallo ve ark., 2012; Martinez ve Peplow, 2020). miRNA salınımı, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşir. Bunlar arasında öne çıkanlar hücre dışı kesecikler olarak bilinen eksozomlar ve diğer ekstraselüler veziküllerin içindeki miRNA'ların salınımıdır ki bu veziküller, hücreler arasında iletişimi sağlayan ve sinyal taşıyan önemli araçlardır (Valadi ve ark., 2007). Ayrıca, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili miRNA'ların salınması da dikkate değerdir. HDL, miRNA'ların taşınmasında ve hedef hücrelere iletilmesinde bir aracı olarak işlev görür (Vickers ve ark., 2011). AGO2 proteini ile kompleks oluşturan

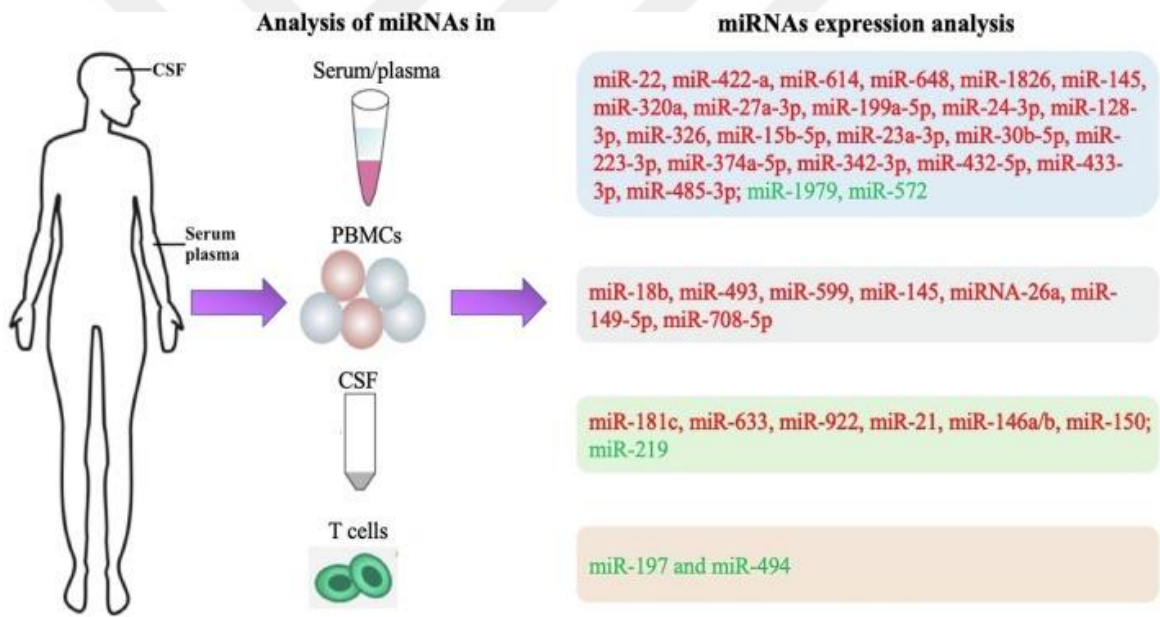
miRNA'ların salınması da önemlidir. Bu protein, miRNA'ların hedeflenen genler üzerindeki etkilerini düzenler ve hücre içindeki miRNA taşınmasında kilit bir rol oynar (Arroyo ve ark., 2011). Bununla birlikte, RNA bağlayıcı protein nükleofosmin (NPM1) ile ilişkili miRNA'ların salınması da gözlemlenerek ve NPM1, miRNA'ların hücre içindeki taşınmasını düzenleyerek miRNA salınım mekanizmalarına (Şekil 2.4) katkıda bulunmaktadır (Wang ve ark., 2010).



Şekil 2.5: miRNA'ların Hücre Dışı Boşluğa ve Vücut Sıvılarına Biyogenez ve Salınımına İlişkin Mekanizmaların Şematik Bir Gösterim

Minimal invazivlik açısından, dolaşımdaki miRNA'ların serum veya plazmadan ekstraksiyonunun, BOS toplama sürecine kıyasla avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Ancak, serum ve plazma miRNA düzeyleri arasında farklılıklar bulunabilir (Wang ve

ark., 2012; Mompeón ve ark., 2020). Plazma ve serum toplama metodolojisi arasındaki temel fark, pıhtılaşmadır. Plazmada, pıhtılaşma önlenir ve trombositler ile plazmayı kirleten hücresel elementler ve antikoagülanlar gibi faktörler sonuçları etkileyebilir (Felekkis ve Papanephytous, 2020). Öte yandan, serumdaki pıhtılaşma süreci, miRNA'ların kan hücrelerinden ve trombositlerden salınmasını uyarabilir. Araştırmalar, bazı çalışmalarda serumda, bazı çalışmalarda ise plazmada daha yüksek miRNA konsantrasyonlarının bulunduğunu göstermektedir. Bu tutarsızlık, numune hazırlama ve miRNA ekstraksiyon yöntemlerindeki farklılıklar, farklı ölçüm platformlarının kullanımı gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabilmektedir (McDonald ve ark., 2011; Wang ve ark., 2012). Stabiliteleri ve tespit kolaylığı nedeniyle miRNA'lar (Şekil 2.4), daha fazla araştırma alanında potansiyel biyobelirteçler haline gelmektedir (Gao ve ark., 2021).



Şekil 2.6: Serum/Plazma, PBMC'ler, BOS ve T Hücrelerinde miRNA Ekspresyon Analizi

MS patolojisinin biyobelirteçleri olarak dolaşımdaki miRNA'ları göstermektedir. Kırmızı,yüksek miRNA seviyelerini, yeşil ise azalmış miRNA seviyelerini göstermektedir.

Periferik kan biyobelirteçleri, MS gibi hastalıkların tanısında ve tedavisinde önemli bir rol oynar. Ancak, MS'nin patolojisi MSS ile sınırlı olduğu için periferik kan analizi bazı kısıtlamalara sahiptir. Bu kısıtlamalar, MS ile ilişkili serebral lezyonların periferik kanda kolayca tespit edilememesi ve hastalığın bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin spesifik olmamasıdır. Bununla birlikte, periferik kan biyobelirteçleri, MS'in immün tetikleyicileri ve sistemik olarak uygulanan ilaçların etkinliği hakkında değerli

bilgiler sağlayabilir (Neeta Garg ve ark., 2018). Onardoost ve ekibinin çalışması, periferik kandaki miR-326'nın, MS'in tekrarlayan ve düzelen evreleri arasında ayırım yapabilen tanısal bir biyobelirteç olarak hizmet edebileceğini öne sürmektedir (Honardoost ve ark., 2014). Benzer şekilde, Ebrahimkhani ve arkadaşlarının araştırması, miR-15b-5p, miR-23a-3p, miR-30b-5p, miR-223-3p, miR-374a-5p, miR-342-3p, miR-432-5p, miR-433-3p ve miR-485-3p gibi dokuz miRNA'nın, tekrarlayan-düzelen MS'i ilerleyici MS'ten ayırt edebileceğini belirtmektedir. Bu bulgular, miRNA'ların yalnızca MS tanısı için değil, aynı zamanda hastalık alt tipini yüksek doğrulukla tahmin etmek için de kullanılabileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, bu miRNA'lar hem tanısal biyobelirteçler olarak hizmet edebilmekte hem de hastalığın farklı evreleriyle ilişkilendirilebilmektedir (Ebrahimkhani ve ark., 2017).

BOS, MS patolojisine yakınlığı nedeniyle değerli bir biyobelirteç kaynağıdır. Ancak, BOS toplama nispeten invazif olması sebebiyle bir nörolog gerektirir. Uygulama sonrasında bazen omurilik ve baş ağrıları gibi olumsuz etkiler ortaya çıkabilir. BOS'ta incelenen miRNA'ların çoğu hastalığın RRMS alt tipiyle ilişkilidir veya KIS'den RRMS'ye dönüşümü öngörür (Ahlbrecht ve ark., 2015). MS'teki düzenlenmiş BOS miRNA'larının kaynağı ve işlevi tam olarak bilinmemekte ve bu konuda çeşitli spekülasyonlar yapılmaktadır. miRNA'ların genellikle KBB'yi geçemediği düşünülmektedir. Ancak onkoloji alanında, malign hücrelerin miRNA'ları kandan MSS bölgesine taşıyarak tümör büyümesini teşvik ettiği bilinmektedir (Skog ve ark., 2008; Teplyuk ve ark., 2012). Bu durum, miRNA'ların KBB'yi geçebileceğini göstermektedir. MS hastalığında aktif inflamasyon sırasında KBB'nin parçalanması, periferik kandan BOS'a miRNA geçişi olabileceğine işaret etmekte ve bu da, BOS'ta bulunan miRNA'ların kaynağı olarak periferik kanı düşündürmektedir. Buna karşılık, BOS'ta düzenlenmiş miRNA'ların kaynağının MSS olduğuna dair bir argüman ise, bu miRNA'ların MS hastalarının periferik kanında ve bağışıklık hücrelerinde bulunmamasıdır. Eğer miRNA'lar periferik kandan gelmiyorsa, bu onların MSS kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir (Junker ve ark., 2009, 2010). Bu miRNA'ların demiyelinizasyon sürecinde aktif veya apoptotik immün efektör hücreler tarafından mı salındığı, yoksa saldırıya uğrayan glial veya nöronal hücrelerin bir tepkisi olup olmadığı henüz belirsizliğini korumaktadır (Cox ve ark., 2010).

MS hastalarının BOS'unda dolaşımdaki miRNA analizini içeren yayınlanmış ilk çalışmada, Haghikia ve arkadaşları, küresel miRNA profillerini tarayarak belirli miRNA'ları belirlemişler ve ardından aday miRNA'ları doğrulamak için RT-qPCR yöntemini kullanmışlardır. Çalışmaya, küresel miRNA profili oluşturmak için MS'li 53 hasta ve diğer nörolojik hastalıkları olan 39 hasta dahil edilmiştir. Bu çalışma, miR-922, miR-181c ve miR-633'un MS hastalarında, diğer nörolojik hastalıklarla karşılaştırıldığında farklı şekilde düzenlendiğini ortaya koymaktadır. Özellikle miR-181c ve miR-633'ün SPMS ile karşılaştırıldığında RRMS'nin BOS'ta aşağı regüle edildiğini göstermektedir (Haghikia ve ark., 2012). Ancak, Kramer ve ekibi, bu miRNA'ların MS'teki BOS'ta düzensiz olduğunu doğrulamıştır. Onların çalışması, miR-181c'nin RRMS'ye kıyasla SPMS'de yukarı regüle edildiğini belirtmekte fakat miR-633-5p'nin istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermediğini vurgulamıştır (Kramer ve ark., 2019). Bu miRNA'ların, KIS'de başlangıç aşamasından RRMS'e geçiş sürecini öngörebildiği ve BOS'daki artmış miRNA-181c seviyelerinin, MS'in aktif bir döneminin erken belirteci olabileceği bildirilmektedir (Ahlbrecht ve ark., 2015).

Ayrıca, Ahlbrecht ve arkadaşları, miRNA'ların BOS'ta intratekal bir kökene sahip olabileceğini de öne sürmüştür (Ahlbrecht ve ark., 2015). BOS'taki miR-21 ve miR-146a/b seviyelerinin, aktif MS lezyonları olan hastaları tanımlamak için değerli biyobelirteçler olabileceğini belirtmişlerdir (Munõz-San Martín ve ark., 2019). Bergman ve arkadaşları, BOS'ta miR-150'nin azaldığını ve inflamatuvar aktif hastalığın erken tanısı için potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini rapor etmişlerdir (Bergman ve ark., 2016). Bruinsma ve ekibi, MS hastalarında BOS'ta miR-219'da bir azalma tespit etmiş ve bunun MS için aday bir tanısal biyobelirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (Bruinsma et al., 2017). Bu bulgular, MS'nin patofizyolojisini anlamak ve hastalığı tanılamak için potansiyel miRNA biyobelirteçlerinin geliştirilmesine yönelik ilerlemeleri vurgulamaktadır.

miRNA'ların isimlendirilmesi, tür, spesifik dizi ve kök bilgilerini içeren belirli kurallara dayanır. Bu sistem, bilimsel topluluk tarafından miRNA'ları tanımlamak ve sınıflandırmak için kullanılır (Kozomara ve Griffiths-Jones, 2011). miRBase, mikroRNA dizileri ve açıklamaları için birincil erişilebilir veri havuzu ve çevrimiçi kaynak olarak 2002 yılında kurulmuştur (Kozomara ve Griffiths-Jones, 2014). Bu platform, mikroRNA gen isimlendirmesinden sorumludur ve yeni mikroRNA keşifleri

için gen adları atamaktadır. miRBase web sitesi, miRNA dizileri, biyogenez öncülleri, genom koordinatları, literatür referansları, derin dizileme ifade verileri ve bilim topluluğu tarafından sağlanan katkılarla zenginleştirilen bilgiler dahil olmak üzere geniş bir bilgi yelpazesi sunmaktadır (Griffiths-Jones ve ark., 2008). Bu sayede, araştırmacılar miRNA'lar hakkında kapsamlı ve güvenilir bilgilere kolaylıkla ulaşabilmektedir. Ayrıca, miRBase, miRNA genleri ve dizileri hakkında üçüncü taraf bilgileri için bir portal olarak işlev görmekte ve miRNA'ların öngörülen ve deneysel olarak doğrulanmış hedeflerine dair kaynaklara bağlantılar sağlamaktadır. Bu bağlantılar, araştırmacıların miRNA'ların biyolojik işlevlerini ve etkilerini daha iyi anlamalarına yardımcı olmaktadır (Griffiths-Jones ve ark., 2006). miRNA'lara ardışık sayısal tanımlayıcılar verilir ve türleri belirtmek için 3 veya 4 harfli kısaltmalar kullanılır; bu nedenle tanımlayıcılar, hsa-miR-101 (Homo sapiens için) formatını alır. Veritabanında olgun diziler 'miR' olarak adlandırılırken, öncül saç tokaları 'mir' olarak etiketlenir. Gen adları, olgun miRNA'lar arasındaki işlevsel ilişkiler hakkında sınırlı bilgi sağlar. Örneğin, insanlardaki hsa-miR-101 ve farelerdeki mmu-miR-101 ortologdur. Olgun miRNA'ların dizilerinde yalnızca bir veya iki pozisyonda farklılık gösteren paraloglara ise harfli son ekler eklenir; örneğin, farede mmu-miR-10a ve mmu-miR-10b (Griffiths-Jones ve ark., 2006). "hsa-miR-10a-5p" şu şekilde açıklanabilir: **hsa ön eki** miRNA'nın ait olduğu türü belirtir ve Homo sapiens'i yani insan türünü temsil eder. Farklı türler için farklı önekler kullanılır; örneğin, fare için "mmu" (Mus musculus). **miR-10a**: Bu kısım, spesifik miRNA dizisini tanımlar. "miR", olgun miRNA'yı belirtirken, "10a" bu miRNA'nın belirli bir genetik dizisini ifade eder. Aynı aileden gelen ve benzer dizilere sahip olan miRNA'lar, genellikle harfli son ekler alır (örneğin, miR-10a ve miR-10b gibi). **5p**: Bu son ek, miRNA'nın hangi kolundan (strand) geldiğini gösterir. miRNA'lar, öncül miRNA'nın (pre-miRNA) çift sarmallı bir yapıdan kesilmesiyle oluşur ve iki olgun miRNA kolu üretir: 5' (5 prime) ve 3' (3 prime). "5p", bu miRNA'nın 5' kolundan (5 prime strand) geldiğini belirtir. Eğer miRNA 3' kolundan (3 prime strand) geliyorsa, "3p" olarak isimlendirilir.

2.3.1. hsa-miR-10a-5p

hsa-miR-10a-5p, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan bir miRNA'dır. Bu küçük, kodlamayan RNA molekülü, hedef mRNA'ların 3' UTR bölgelerine bağlanarak, bu mRNA'ların degradasyonuna veya

baskılayıcı genlerin ekspresyonunu yeniden kazandırabilir ve tümör büyümesini inhibe edebilir (S. Hu ve ark., 2020). Ayrıca, hsa-miR-10a-5p'nin kan ve serum gibi vücut sıvılarındaki ekspresyon seviyeleri, çeşitli hastalıkların erken teşhisi ve prognozu için bir biyomarker olarak değerlendirilmektedir. Bu miRNA'nın seviyelerindeki değişiklikler, hastalık varlığını ve ilerlemesini gösterebilir buna ek olarak da klinik uygulamalarda değerli bir belirteç olabilir (Pliakou ve ark., 2022). Örneğin, yapılan araştırmalar hsa-miR-10a-5p'nin pankreas kanserinin büyümesini *BDNF/SEMA4C* yolu ile teşvik ettiğini ortaya koymuştur. Bu araştırmalar, miRNA'nın belirli genlerin ekspresyonunu düzenleyerek kanser hücrelerinin çoğalmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir (Fei ve ark., 2020). Ayrıca, kronik miyeloid lösemi hücrelerinde hsa-miR-10a-5p'nin düşük seviyelerde olduğu ve bu durumun hücre büyümesini arttırdığı, hsa-miR-10a-5p'nin yeniden eksprese edilmesi ile hücre büyümesinin azaldığı belirlenmiştir. Meme kanserinde ise, hsa-miR-10a-5p'nin tamoksifen direncinde rol oynadığı ve yüksek seviyelerinin kısa nüks etmeden hayatta kalma ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Chen ve ark., 2022).

Bu bulgular, hsa-miR-10a-5p'nin kanser ve diğer hastalıklardaki biyolojik fonksiyonlarını anlamak, hastalık patofizyolojisini çözmek ve potansiyel tedavi stratejileri geliştirmek açısından büyük önem taşımaktadır.

2.3.2. hsa-miR-429-3p

hsa-miR-429-3p, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde kritik rol oynayan küçük, kodlamayan bir RNA molekülüdür. Bu miRNA, hedef mRNA'ların 3' UTR bölgelerine bağlanarak onların degradasyonuna veya translasyonunun inhibisyonuna yol açar ve böylece çeşitli hücresel süreçleri düzenler. Özellikle kanser metastazı için kritik olan epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) sürecini modüle ederek, kanser hücrelerinin invaziv ve metastatik potansiyelini azaltıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir. EMT'yi inhibe ederek tümör hücrelerinin hareketliliğini ve yayılmasını engeller (Tian ve ark., 2015). hsa-miR-429-3p'nin biyolojik fonksiyonları, yalnızca EMT ile sınırlı değil aynı zamanda tümör büyümesi ve hayatta kalmayı teşvik eden spesifik onkogenleri ve transkripsiyon faktörlerini de hedef alır. Kolorektal kanserde SOX2 gibi EMT ile ilişkili genleri hedef alarak metastazı baskıladı ve kanser hücrelerinin invaziv yeteneklerini azalttığı gösterilmiştir (X. Chen ve ark., 2020). Over kanseri hücrelerinde yapılan bir başka çalışma, hsa-miR-429-3p'nin

aşırı ekspresyonunun onkogen BCL2 ve hücre döngüsü düzenleyicisi CDC25A'nın ekspresyonunu aşağı regüle ederek hücre canlılığını azalttığını ve apoptozu artırdığını vurgulamıştır (De-Feng ve ark., 2021).

hsa-miR-429-3p'nin kanser progresyonundaki rolü nedeniyle, bu miRNA terapötik bir hedef olarak araştırılmaktadır. Seviyelerinin modüle edilmesi, tümör büyümesini inhibe etmek ve ilaç direncini aşmak için potansiyel bir strateji sunmaktadır. Bu bağlamda, miRNA tabanlı terapiler, hsa-miR-429-3p'nin normal işlevini kanser hücrelerinde geri kazandırmak amacıyla miRNA taklitçileri veya inhibitörleri kullanmayı içermektedir. Ayrıca, hsa-miR-429-3p'nin çeşitli kanser türlerindeki farklı ekspresyon seviyeleri, erken teşhis ve prognoz için biyomarker olarak değerlendirilmektedir. Bu miRNA'nın seviyelerindeki değişiklikler, hastalığın varlığını ve ilerlemesini yansıtabilir bu da klinik tanılarda değerli bir belirteç olmasını sağlayabilir (Bartoszewska ve ark., 2023).

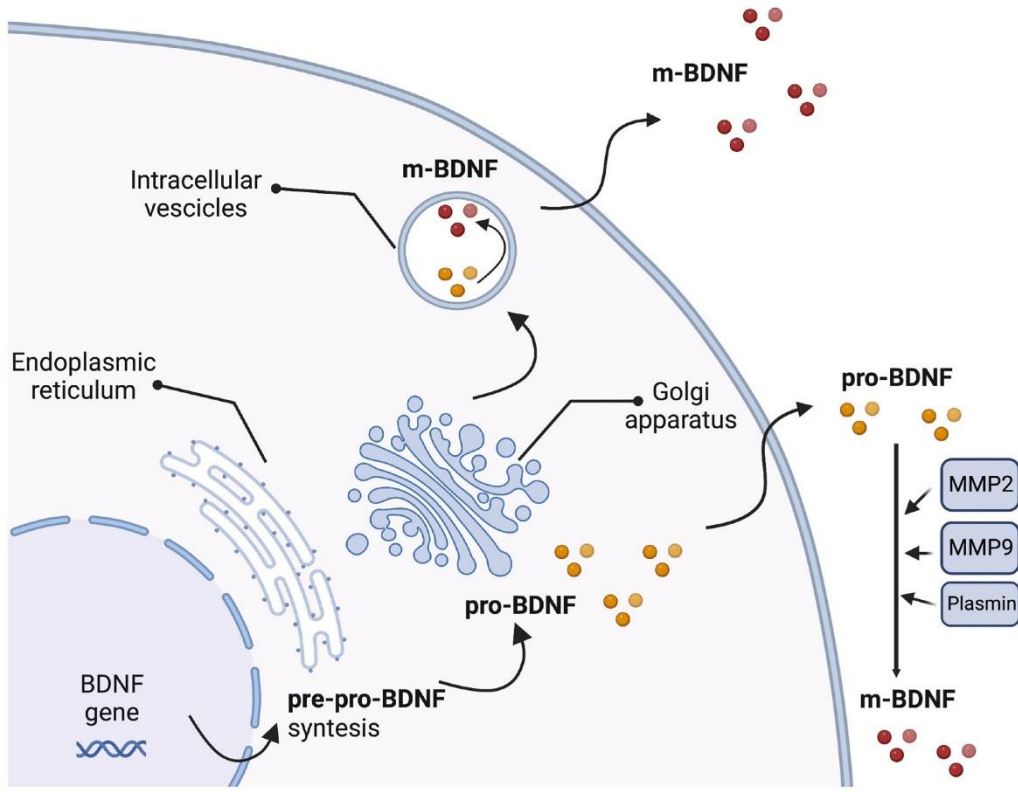
Bunun yanı sıra, hsa-miR-429-3p'nin kanser dışındaki hastalıklarda da anlamlı sonuçlar çıkarabileceği düşünülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklarda, miRNA'lar kalp kası hücrelerinin işlevini ve kalp hastalıklarının gelişimini etkileyen genlerin düzenlenmesinde kritik rol alırlar. hsa-miR-429-3p'nin kardiyomiyopati veya ateroskleroz gibi hastalıklarda terapötik hedef olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir (Ilieva ve ark., 2022). Nörodejeneratif hastalıklarda, özellikle Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında, sinir hücrelerinin sağlığını ve işlevini koruyan genlerin düzenlenmesinde etkili olabilirler. hsa-miR-429-3p'nin nöroinflamasyon, hücre ölümü ve sinaptik plastisite üzerindeki etkileri, bu hastalıkların tedavisinde potansiyel bir hedef olarak araştırılabilir (Luo ve ark., 2024). İnflamatuar hastalıklarda, hsa-miR-429-3p'nin romatoid artrit veya inflamatuar bağırsak hastalığı gibi durumlarda bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve sitokin üretimini düzenleyerek hastalığın seyrini etkileyebileceği düşünülmektedir. Metabolik hastalıklarda, diyabet ve obezite gibi durumlarda, insülin duyarlılığı, glukoz homeostazı ve lipid metabolizmasını düzenleyen genlerin ekspresyonunu etkileyebilir. hsa-miR-429-3p'nin fibroblast aktivasyonunu ve kolajen sentezini düzenleyerek karaciğer, böbrek ve akciğer fibrozisi gibi durumlarda yeni terapötik yaklaşımlar sunabileceği düşünülmektedir (Jordan ve ark., 2011; J. Li ve ark., 2013).

Özetle, hsa-miR-429-3p'nin biyolojik fonksiyonları ve gen ekspresyonunu düzenleme yeteneği, birçok hastalığın patogeneğinde ve tedavisinde potansiyel olarak önemli roller oynayabilir. Bu durum mikroRNA'nın farklı hastalık süreçlerinde nasıl çalıştığını anlamaya ve yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

2.4. BDNF

MS ile ilgili nöroprotektif etkinin olası mekanizmalarından biri, hem MSS içinde bulunan mikroglia ve astrositler hem de periferik kanda ve inflamatuvar lezyonlarda bulunan bağışıklık hücreleri tarafından salınan BDNF'nin rol almasını içerir (Nociti, 2020). BDNF, nöronal büyüme faktörü (NGF), Nörotrofinler (NT) 3 ve 4'ten oluşan nörotrofin ailesinin bir üyesidir (Huang ve Reichardt, 2001). Nörotrofinler, nöronal ve oligodendroglial gelişim ve fonksiyonun farklılaşma, proliferasyon, hayatta kalma, apoptoz, aksonal büyüme ve sinaptik plastisite gibi çeşitli yönlerini kontrol eden proteinlerdir (Huang ve Reichardt, 2001; Reichardt, 2006). Bu proteinler, sinir sisteminin gelişimi, bakımı ve onarımında önemli rol oynar ve hem MSS'nde hem de periferik sinir sisteminde eksprese edilir. Özellikle BDNF, memeli beyninde en çok araştırılan nörotrofinlerden biridir (Kowiański ve ark., 2017).

BDNF geni, gen ekspresyonunu içeren kodlayıcı bir 5'-ekzon ve pro-BDNF bölgesini kodlayan ortak bir 3'-ekzon ile biten, promoter tarafından düzenlenen birkaç 5'-kodlayıcı olmayan bölge içerir. Alternatif promoter kullanımı, RNA birleştirme ve farklı poliadenilasyon bölgelerinin kullanılması sonucu çeşitli transkriptler üretilir (Aid ve ark., 2007). BDNF proteininin sentezi ve katlanması, pre-pro-BDNF adı verilen öncü formda endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Bu öncünün ön bölgesi bölünerek pro-BDNF izoformunu oluşturur ve bu da hücre içinde olgun izoform (m-BDNF) haline dönüştürülür (Matsumoto ve ark., 2008). Hem pro-BDNF hem de m-BDNF izoformları hücre dışı boşluğa salınır ve burada pro-BDNF, metaloproteinazlar, plazmin ve hücre dışı proteazlar (Şekil 2.8) tarafından dönüştürülebilir (Lu, 2003; Yang ve ark., 2009). Hem olgun BDNF hem de pro-BDNF, düşük afiniteli p75 nörotrofin reseptörüne bağlanarak apoptoz kaskadını aktive edebilir. Olgun BDNF ise yüksek afiniteli reseptör tirozin kinaz B'ye (TrkB) bağlanarak çeşitli sinyal kaskadlarını aktive eder (Minichiello, 2009; Lima Giacobbo ve ark., 2019).



Şekil 2.8: BDNF Gen Ekspresyonu ve Protein İşleme Yolu: BDNF geninden pre-pro-BDNF sentezi endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Pre-pro-BDNF, Golgi aygıtında pro-BDNF'ye işlenir ve ardından hücre içi veziküllerde olgun izoform (m-BDNF) haline dönüştürülür. Hem pro-BDNF hem de m-BDNF hücre dışı boşluğa salınır. Pro-BDNF, metaloproteinazlar (MMP2 ve MMP9) ve plazmin tarafından m-BDNF'ye dönüştürülebilir.

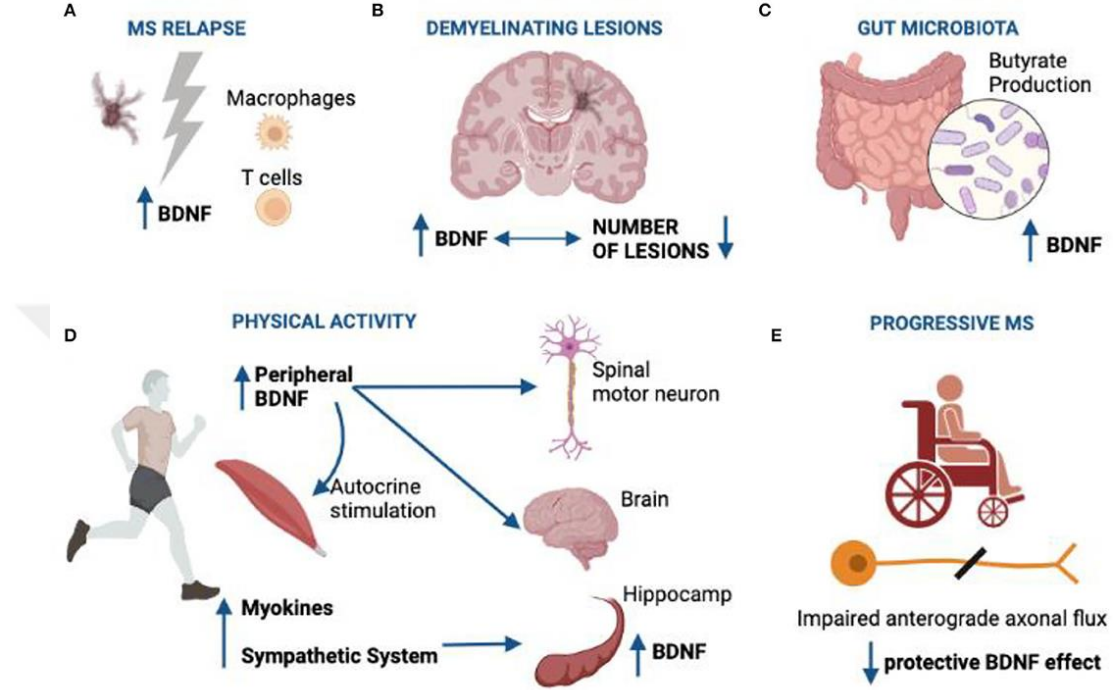
Dolaşımdaki BDNF, hem periferik hem de serebral kaynaklardan köken almasının sebebi KBB çift yönlü geçirgenlik özelliğine sahip olmasıdır (Klein ve ark., 2011). Araştırmalar, BDNF'nin MS, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve Huntington hastalığı gibi çeşitli nörolojik hastalıkların patofizyolojisinde etkili olabileceğini öne sürmektedir (Ginsberg ve ark., 2019). BDNF ile MS arasında karmaşık bir ilişki varlığı MS'li kişilerde BDNF düzeylerinin genel olarak azalması ile desteklenmektedir. BDNF, MS'te en çok araştırılan nörotrofin olup, nöroinflamasyonun düzenlenmesinde ve nöroproteksiyonun indüklenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Azoulay ve ark., 2005, 2008).

BDNF, MS lezyonlarının aktif demiyelinizan bölgelerindeki bağışıklık hücreleri tarafından eksprese edilirken, miyelin yıkımının devam etmediği lezyonlarda eksprese edilmez (Stadelmann ve ark., 2002). Nörotrofin, gelişiminin erken evresinde, demiyelinizasyonun aktif olarak gerçekleştiği lezyonun kenar bölgelerinde daha fazla eksprese edilir ve aksonlara yakın bir yerde salınır. BDNF'nin insan hücrel kaynağı

karmaşıktır; sinir sistemi dışındaki T hücreleri, B hücreleri, monositler ve hematojenik öncü hücreler gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinin BDNF ürettiği ve salgıladığı gösterilmiştir. Kerschensteiner ve arkadaşları, aktive edilmiş T hücreleri, B hücreleri ve monositlerin hem in vitro hem de inflamatuvar beyin lezyonlarında BDNF salgıladığını göstermişlerdir (Kerschensteiner ve ark., 1999). Ayrıca, m-BDNF reseptörü olan TrkB, MS plaklarının yakınındaki nöronlarda ve lezyon içindeki reaktif astrositlerde tespit edilmiştir. BDNF immüno pozitif hücrelerinin sayısı, aynı lezyondaki aktif demiyelinizan alanlarda inaktif alanlara göre daha fazladır (Stadelmann ve ark., 2002).

Remisyon sırasında BDNF seviyelerinin değişmediği, azaldığı (Azoulay ve ark., 2008) veya arttığı gösterilmiştir (Petereit ve ark., 2003). RRMS hastalarında nüksetme sonrası BDNF seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir (Frota ve ark., 2009). Tekrarlayan fazda, BDNF seviyelerinin hem PBMC hem de serumda genellikle arttığı belirtilmiştir (Sarchielli ve ark., 2002; Caggiula ve ark., 2005). Ancak, Azoulay ve arkadaşları tarafından, RRMS hastalarının serumunda remisyon ve nüksetme evreleri arasında fark olmaksızın daha düşük BDNF seviyeleri tespit edilmiştir (Azoulay ve ark., 2008). MS hastalarında serum ve BOS BDNF düzeyleri ile PBMC'ler tarafından salgılanan BDNF, sağlıklı kontrollere kıyasla azalmıştır (Azoulay ve ark., 2005; Hamamcioglu ve Reder, 2007). Nöropatolojik bulgulara göre, RRMS hastalarında bağışıklık hücreleri tarafından üretilen BDNF düzeyleri, ilerleyici MS hastalarına kıyasla daha yüksektir. Bu, MS'in ilerlemesinin kronik hasar sırasında nöroproteksiyon ve nöronarım fonksiyonlarındaki yetersizlikten kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, nüks yaşayan ve immüno modülasyon tedavisi almayan RRMS hastalarının daha yüksek BDNF düzeylerine sahip olduğuna dair veriler birbirleriyle uyumaktadır (Sarchielli ve ark., 2002; Hamamcioglu ve Reder, 2007). İmmünohistokimya analizleri, MS hastalarının beyinlerindeki aktif lezyonlarda BDNF pozitif makrofajlar ve T lenfositlerin bulunduğunu ve bu hücrelerin sayısının demiyelinizasyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Stadelmann ve ark., 2002). Buna karşılık, kronik ve inaktif lezyonlar daha az sayıda BDNF salgılayan hücre içermektedir. MS hastalarında ve sağlıklı bireylerde, hasar görmemiş bölgelerde BDNF'nin ana kaynağı nöronlardır. Nöronlar tarafından üretilen BDNF, lezyon bölgelerinde bağışıklık hücreleri tarafından salgılanan BDNF'yi destekleyebilir (Von Bartheld ve ark., 1996). Ayrıca, akson hasarından sonra BDNF'nin hücre gövdesinden akson uçlarına taşınması artmaktadır (Tonra ve ark., 1998). Ancak,

progresif MS aşamalarında, kinesin ailesine ait proteinlerin azalan ekspresyonu nedeniyle, nöron hücrelerinin gövdesinden akson uçlarına doğru gerçekleşen taşımada bir eksiklik oluşmaktadır. Bu durum, BDNF'nin koruyucu fonksiyonlarının etkinliğini azaltabilmektedir (Şekil 2.9) (van den Berg ve ark., 2017).



Şekil 2.9: MS'te BDNF'nin rolü (A) MS hastalarında BDNF azalır, ancak nöksler sırasında nöronlar, makrofajlar ve T hücreleri tarafından artırılır. (B) BDNF düzeyleri, MRG ile kanıtlanan lezyonların sayısı ile ters ilişkilidir. (C) Bütirat üreten bağırsak mikroorganizmaları BDNF ekspresyonunu indükleyebilir. (D) Fiziksel aktivite sırasında kaslar tarafından üretilen BDNF, KBB geçerek MSS'ne ulaşabilir ve burada nöroprotektif (sinir hücrelerini koruyucu) etkiler sağlayabilir. (E) İlerleyici multipl sklerozda, anterograd aksonal akıştaki bozulma, demiyelinizan lezyonlarda BDNF akışının bozulmasına yol açabilir ve bu da BDNF'nin koruyucu rolünü azaltabilir.

BDNF gen ekspresyonunun serum ve BOS'ta ölçülmesi, MS'in biyomarkerlarının belirlenmesinde kritik bir adım olabilmektedir. BDNF'nin MSS ve periferik kan dolaşımında farklı kaynaklardan köken alması, hastalık ilerleyişi ve tedavi yanıtlarının değerlendirilmesi açısından önemlidir. Bu ölçümler, BDNF'nin hastalığın farklı evrelerindeki rolünü daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabilir ve seviyelerindeki değişiklikler, MS'in progresyonunu izlemek ve potansiyel tedavi stratejilerini değerlendirmek için değerli ipuçları verebilir (Hu ve ark., 2021). BDNF'nin farklı etkileri göz önüne alındığında, hem öncül hem de olgun BDNF'nin bireysel dolaşımdaki seviyelerinin ayrı ayrı ölçülmesi önem arz etmektedir (Yoshida ve ark., 2012).

Bazı araştırmalar, MS'li bireylerin serumlarındaki BDNF seviyelerinin sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğunu göstermiştir (Azoulay ve ark., 2005; Castellano ve White, 2008). Bu araştırmaların çoğunluğu RRMS hastalarına odaklanırken, SPMS hastalarında BDNF azalmasının daha belirgin olduğu saptanmıştır (Naegelin ve ark., 2020).

Bazı alışmalar, MS'in relaps dönemlerinde dolaşımdaki BDNF seviyelerinde artış olduğunu ortaya koymuştur (Frota ve ark., 2009; Oraby ve ark., 2021). Bu bulgular, artan BDNF seviyelerinin aktif inflamatuvar süreçlerle ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir. Bununla birlikte, diğer araştırmalar, MS hastaları ile sağlıklı kontrol grupları arasında BDNF seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını göstermiştir (Damasceno ve ark., 2015).

MS hastalarının BOS'unda BDNF ile ilgili çalışmalar kesin sonuçlar vermemiştir. BOS zerine yapılan bir araştırma, diğer nörolojik rahatsızlıkları olan hastalarla karşılaştırıldığında, RRMS hastalarında nüks dönemlerinde BDNF seviyelerinin azaldığını göstermiştir (Azoulay ve ark., 2005). Ancak, başka veriler BOS BDNF düzeylerinde kontrol deneklerine kıyasla bir artış olduğunu ortaya koymuştur (Mashayekhi ve ark., 2012). SPMS hastalarında ise, BOS'undaki BDNF seviyeleri stabil fazdaki RRMS hastaları ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük olduğu belirlenmiştir (Sarchielli ve ark., 2002).

BDNF'nin hastalık atakları ve remisyon dönemlerinde farklılık göstermesi, bu nörotrofik faktörün MS patofizyolojisindeki rolünü vurgulamaktadır. İnsan kanındaki *BDNF* seviyeleri, ticari olarak temin edilebilen insan BDNF ELISA kitleri kullanılarak değerlendirilebilir. Bu kitler, BDNF'nin serum ve plazma örneklerindeki konsantrasyonlarını hassas bir şekilde ölçmeyi sağlar (Yoshida ve ark., 2012). Bu nedenle, BDNF'nin MS'in teşhisinde ve hastalık progresyonunun izlenmesinde güvenilir bir biyomarker olarak kullanılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir (Yang ve ark., 2022).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sunulan çalışma için “İstinye Üniversitesi, İnsan Araştırmaları Etik Kurulu”na yapılan başvuru neticesinde 04.04.2024 tarihli ve 2024/03 sayılı toplantıda onay alınmıştır (Protokol No: 24-99). Araştırmaya ilişkin gereç ve yöntemler aşağıda sunulmuştur.

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 3.1’de listelenmiştir.

Tablo 3.1 Çalışmada Kullanılan Cihazların Model ve Marka Bilgileri

Cihaz	Model	Marka
Spektrofotometre	NanoDrop 2000	Thermo Fisher Scientific
Thermal Cycler	SimpliAmp	Applied Biosystem
Real Time PCR	CFX96 Touch	Bio-Rad
Lüminesans Mikroplaka Okuyucu	LUMIstar Omega	BMG Labtech
Spin	Sprout	Heathrow Scientific
Vorteks	MX-S	Scilogex
Santrifüj	HIMAC CT15E	Hitachi
-80°C derin dondurucu	MDF-U5386S	Panasonic
-20°C derin dondurucu	MDF-MU500H	Panasonic
4 °C buzdolabı	MPR-215F-PE	Panasonic

3.1.2. Kullanılan Kitler/Sarflar

Çalışmada kullanılan kitler/sarflar Tablo 3.2’de listelenmiştir.

Tablo 3.2: Çalışmada Kullanılan Kitlerin/Sarfların İsim ve Markaları

Kit/Sarf	Marka
miRNeasy Serum/Plasma Kit	QIAGEN
SensiFAST cDNA Synthesis Kit	MERIDIAN BIOSCIENCE
SensiFAST SYBR No-ROX Kit	MERIDIAN BIOSCIENCE

miRCURY® LNA RT Kit	QIAGEN
miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit	QIAGEN
BDNF ELISA kiti	BT LAB
1,5 ml eppendorf	Axygen
Kloroform	Merck
%100 etanol	Emsure
0,2 ml tüp	Axygen
10 µL,100 µL, 1000 µL pipet ucu	Axygen

3.2. Yöntem

3.2.1. MS Hasta ve Kontrol Gruplarından Örneklerin Toplanması

Çalışma için, güç analizi (“G3 power analysis”) yapılmış olup, daha önceki çalışmalar referans alınarak katsayılar sırasıyla -0.42 ve 0.50 olarak alındığında %95 güven düzeyi $\alpha=0.05$ anlamlılık seviyesinde %80 güç için örneklem büyüklüğü her grup için $n=20$ bulundu. Çalışmaya toplam 60 erişkin gönüllü birey dahil edildi. Bunun için çalışmaya İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Ana Bilim Dalı Multipl Skleroz ve Miyelin Hastalıkları Kliniğine başvuran 18-65 yaş arası hastaları ($n=20$) ve, progresif MS (PPMS, SPMS, RPMS) hastaları ($n=20$) dahil edildi. Ayrıca kliniğe başvuran MS tanısı olmayan bireyler kontrol grubu olarak ($n=20$) çalışmada yer aldı.

Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri

- 18 ila 65 yaş arası,
- McDonald Kriterlerine (2017) dayalı olarak ve tetkikler sonucunda yeni tanı almış MS hastaları,
- McDonald Kriterlerine (2017) dayalı olarak RRMS, PPMS, RPMS ve SPMS tanıli hastalar,
- Tedavisiz veya çalışmadan en az altı ay önce MS hastalığını modifiye edici tedavinin stabil dozda olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmadan Hariç Olma Kriterleri

- 18 yaşından küçük veya 65 yaşından büyük bireyler,

- Hamile ve emziren kadınlar,
- Sistemik organ yetmezliği (kalp hastalığı, kronik karaciğer hastalığı, akut veya kronik böbrek yetmezliği) olan kadın ve erkek bireyler,
- Bağ dokusu hastalıkları (Sistemik Lupus Eritematozus, Ailesel Akdeniz Ateşi vb) olan kadın ve erkek bireyler,
- Klinik bulgusu olan, tedavisiz hormonal hastalıkları (Konjenital Adrenal Hiperplazi, Cushing sendromu, hiperprolaktinemi vb.) olan kadın ve erkek bireyler,
- MS veya başka bir otoimmün hastalığı (Sistemik lupus eritematozus, myastenia gravis ve Behçet hastalığı vb.) bulunan kadın ve erkek bireyler,
- Yabancı uyruklu ve Türkçe bilmeyen bireyler çalışmaya dahil edilmedi.

BOS örneğinin alınması (Lomber ponksiyon) Prof. Dr. Murat Kürtüncü tarafından gerçekleştirilmiştir. İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji kliniğine gelen ve takip olan MS şüpheli ve hastalardan rutin tanı için alınmış BOS örneklerinin arta kalanları çalışma için kullanıldı. Buna göre numune alınacak birey fetüs pozisyonunda olacak; L3, L4-L5 arasından (İliac kanatları birleştiren çizgi) 20-22 gauge spinal iğne kullanılarak 5 ml BOS steril tüplere alındı.

Kan örneği, Prof. Dr. Murat Kürtüncü gözetiminde klinik hemşiresi tarafından jelli biyokimya tüplerine alınmıştır. İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji kliniğine gelen MS yeni tanılı hastalardan rutin analizler için alınacak kan örneğinden arta kalan kısım çalışma için kullanıldı.

İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniği'nde alınan BOS ve kan örnekleri rutin analizler sonrasında soğuk zincir şeklinde (biyolojik numune transfer çantası kullanılarak) İstinye Üniversitesi araştırma laboratuvarına getirildi.

3.3. *BDNF* geni mRNA Ekspresyon Analizleri

3.3.1. BOS ve Serum Numunelerinden Total RNA İzolasyonu

BOS ve serum numunelerinden Total RNA izolasyonu miRNeasy Serum/Plasma Kit (Katalog No: 217184; QIAGEN, Almanya) kullanılarak yapıldı. Total RNA izolasyonunda kısaca şu şekilde yapıldı.

200 µL BOS ve 200 µL serum numuneleri RNaz içermeyen steril 1,5 ml eppendorf tüplerine ayrı ayrı konuldu. Üzerlerine örnek miktarının 5 katı kadar (1000 µl) QIAzol Lysis Reagent eklenip 10 saniye vorteksenerek karıştırıldı. Lizat oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi. 200 µL Kloroform ilave edilerek homojen oluncaya kadar 15 saniye vortekslendi. 2-3 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

4°C 12.000 x g'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan 3 fazdan RNA içeren üst, renksiz ve sıvı faz (yaklaşık 300 µl) yeni 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı. Üzerine RNA miktarının 1,5 katı olacak şekilde (yaklaşık 450 µl) %100 etanol eklendi. Lizatın tamamı RNeasy MinElute spin kolona aktarıldı ve 8,000 x g ve oda sıcaklığında 15 saniye santrifüj edildi. Bu aşamada RNA spin kolona bağlanmıştır. Toplama tüpü boşaltılarak tekrar spin kolon ile birleştirildi. Spin kolona 700 µl RWT Buffer eklendi. Spin kolon 8,000 x g ve oda sıcaklığında 15 saniye santrifüj edilerek yıkandı. Toplama tüpü boşaltılarak tekrar spin kolon ile birleştirildi. Spin kolona 500 µl RPE Buffer eklendi. Spin kolon 8,000 x g ve oda sıcaklığında 15 saniye santrifüj edilerek yıkandı. Toplama tüpü boşaltılarak tekrar spin kolon ile birleştirildi. Spin kolona 500 µl %80'lik etanol eklendi. 8,000 x g ve oda sıcaklığında 2 dakika santrifüj edilerek yıkandı. Spin kolon yeni bir toplama tüpü ile birleştirildi. Alkolün uçması için spin kolon kapağı açık bir şekilde 14,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Spin kolon RNaz içermeyen steril 1,5 ml eppendorf tüpüne yerleştirildi ve spin kolonun tam ortasına 14 µL RNaz içermeyen su eklendi. 1 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 14,000 x rpm'de 1 dk santrifüj yapıldı. İzole edilen total RNA miktarını artırmak için bu aşama tekrarlandı.

Total RNA'nın konsantrasyonu ve saflığı, "NanoDrop 2000 Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific)" ile 260 nm ve 280 nm dalga boyunda ölçümler ile incelendi ve RNA örnekleri -80°C'de saklandı.

3.3.2. BOS ve Serum Numunelerinden cDNA Sentezi

cDNA sentezi için SensiFAST cDNA Synthesis Kit (Katalog No: BIO-65053; MERIDIAN BIOSCIENCE, Amerika) üreticinin talimatlarına göre kullanıldı. 100 ng-1 µg'a RNA içerecek şekilde her bir örnek için Tablo 3.3'de ki bileşenler ile cDNA sentezlendi.

Tablo 3.3: cDNA Sentezi Bileşen ve Miktarları

Bileşen Adı	Miktar
Total RNA	100 ng-1 µg
5x TransAmp Buffer	4 µl
Reverse Transcriptase	1 µl
DNase/RNase free-water	Toplam volüm 20 µl'ye tamamlayacak miktarda
Toplam Hacim	20 µl

Karışım, pipetajla homojen olana kadar karıştırıldı. “SimpliAmp Thermal Cycler (ABI)” cihazında sırasıyla 25°C’de 10 dakika, 42°C’de 15 dakika ve 85°C’de 5 dakika inkübe edildi. Tüpler hemen buzda 5 dakika soğutuldu ve elde edilen cDNA’lar -20°C’de muhafaza edildi.

3.3.3. Primer Dizaynı

NCBI Primer Blast, Primer3 ve SnapGene programları kullanılarak *GAPDH* ve *BDNF* genleri için primerler Tablo 3.4’deki gibi dizayn edildi. Genomik DNA’dan kaynaklanabilecek yanlış çoğalmaları engellemek için; primerler ekzon- ekzon birleşme noktaları içerecek şekilde ve forward ile reverse primerler arasında en az bir intron bölgesi olacak biçimde tasarlandı.

Tablo 3.4: *GAPDH* ve *BDNF* Primer Dizileri

<i>GAPDH</i> F Primer	5’ GTCAACGGATTTGGTCGTATTG 3’
<i>GAPDH</i> R Primer	5’ TGTAGTTGAGGTCAATGAAGGG 3’
<i>BDNF</i> F Primer	5’ GCTGACACTTTCGAACACGTG 3’
<i>BDNF</i> R Primer	5’ CTGGACGTGTACAAGTCTGCG 3’

3.3.4. RT-qPCR

BOS ve serum örneklerinden elde edilen cDNA’lar, *BDNF* mRNA ifade seviyesini ölçmek için RT-qPCR reaksiyonunda kullanıldı. Referans gen olarak *GAPDH* çalışıldı. RT-qPCR reaksiyon SensiFAST SYBR No-ROX Kit (Katalog No: BIO-98020; MERIDIAN BIOSCIENCE, Amerika) ile yapıldı. Reaksiyon karışımı toplam hacim 20 µl olacak şekilde Tablo 3.5’de ki gibi hazırlandı.

Tablo 3.5: RT-qPCR Reaksiyon Bileşenleri

Bileşen adı	Miktar
2x SensiFAST SYBR No-ROX Mix	10 µl
Forward Primer (10 pmol)	0,8 µl
Reverse Primer (10 pmol)	0,8 µl
cDNA (1/5 dilue)	2 µl
DNase/RNase Free Water	6,4
Toplam Hacim	20 µl

Amplifikasyonlar “CFX96 Touch Real Time PCR (BIO-RAD)” cihazı ile Tablo 3.6’ te ki gibi gerçekleştirildi. Erime Eğrisi (Melt Curve) Analizi ile amplifikasyonun doğruluğu kontrol edildi. Rölatif gen ekspresyon verilerinin analizi $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak yapıldı. *BDNF* mRNA ekspresyon seviyelerini ölçmek için, *BDNF* ve *GAPDH* PCR ürünlerinden seri on kat seyreltmeler hazırlandı ve standartlar olarak kullanıldı.

Tablo 3.6: RT-qPCR Koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
95 °C	2 dakika	1
95 °C	5 saniye	39
<i>GAPDH</i> - 59 °C <i>BDNF</i> - 63°C	10 saniye	
72 °C	20 saniye	
72-95°C 1 °C/ (Melting curve)	5 saniye	1

3.4. hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p Ekspresyon Analizleri

3.4.1. Reverse Transkriptaz Enzimi ile miRNA’ların cDNA Sentezi

BOS ve serum örneklerinden izole edilen miRNA’ların cDNA sentezi miRCURY® LNA RT Kit (Katalog No: 339340; QIAGEN, Almanya) ile yapıldı.

UniSp6 RNA spike-in (Sentetik RNA spike-in) 80 µl nükleaz içermeyen su ile çözdürüldü. Kısa bir vorteks ve spin işleminden sonra tamamen çözünmesi için 20-30 dakika buz üzerinde bekletildi. Daha sonra vorteks ve spin işlemleri yapıp -20°C’de

saklandı. RNA'lar ve 5x miRCURY RT Reaction Buffer buzda çözdürüldü. RNA'lar 5 ng/µl olacak şekilde dilüe edildi. Reverse transkripsiyon master miksi Tablo 3.7'e göre buz üzerine hazırlandı.

Tablo 3.7: cDNA Sentezi PCR Bileşenleri

Bileşen adı	Miktar
5× miRCURY RT Reaction Buffer	2 µl
RNase içermeyen su	4.5 µl
10x miRCURY RT Enzyme Mix	1 µl
Synthetic RNA spike in	0.5 µl
Template RNA (5 ng/µl)	2 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	10 µl

42°C'de 1 saat inkübe edildi ve RT enziminin inaktivasyonu için 95°C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Hızlı bir şekilde 4°C'ye soğutuldu. cDNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.4.2. hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p'nin RT-qPCR ile Kantitasyonu

BOS ve serum örneklerinden izole edilen miRNA'lardan sentezlenen cDNA örnekleri RT-qPCR reaksiyonunda kullanıldı. Referans gen olarak kullanıldı. U6 snRNA (GeneGlobe Id: YP02119464), hsa-miR-10a-5p (GeneGlobe Id: YP00204778) ve hsa-miR-429-3p'ye (GeneGlobe Id: YP00205901) spesifik primerler için miRCURY LNA miRNA PCR Assay (Katalog No: 339306; QIAGEN, Almanya) kullanıldı. RT-qPCR reaksiyonu "miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit (Katalog No: 339345; QIAGEN, Almanya)" ile yapıldı. Reaksiyon karışımı toplam hacim 10 µl olacak şekilde Tablo 3.8'de ki gibi hazırlandı.

Tablo 3.8: hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p'nin RT-qPCR Bileşenleri

Bileşen adı	Miktar
2x miRCURY SYBR Green Master Mix	5 µl
PCR Primer Mix	1 µl
cDNA (60x Dilüe Edilmiş)	3 µl
RNaz içermeyen su	1 µl
Toplam hacim	10 µl

Hazırlanan karışım beyaz steril strip PCR tüplerine dağıtıldı. Amplifikasyonlar “CFX96 Touch Real Time PCR (BIO-RAD)” cihazı ile Tablo 3.9’de ki gibi koşullarda gerçekleştirildi. Erime Eğrisi (Melt Curve) Analizi ile amplifikasyonun doğruluğu kontrol edildi.

Tablo 3.9: hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p’nin RT-qPCR Koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
95 °C	2 dakika	1
95 °C	10 saniye	39
56 °C	60 saniye	
72 °C	20 saniye	
60-95°C 1 °C/ (Melting curve)	5 saniye	1

Rölatif gen ekspresyon verilerinin analizi $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak yapıldı.

3.4.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi IBM SPSS-25 (Statistical Product and Service Solutions, ABD) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Parametrik değişkenler Student’s T-Test ve varyans analizi ile nonparametrik değişkenler Mann Whitney U test ve Kruskal Wallis yöntemleri ile çalışıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5. BDNF Protein Düzeylerinin ELISA ile Tespiti

BDNF protein seviyeleri, BDNF ELISA kiti (Katalog No: E1302Hu; BT LAB, Çin) kullanılarak analiz edildi. Tüm reaktifler, standart çözeltiler, serum ve BOS örnekleri protokole göre hazırlandı. Kullanmadan önce kit oda sıcaklığına getirildi. Kit içeriğinden çıkan 96 kuyucuklu plak tamamıyla kullanıldı. Plakta standart olarak kullanılan kuyulara dilüe edilmiş standart çözeltilerden 50 µl eklendi. Ardından kalan kuyularına 40 µl serum ve BOS örnekleri eklendi. Örneklerin bulunduğu kuyulara 10 µl İnsan BDNF antikoru eklendi. Ardından örnek ve standart kuyularına (boş kontrol kuyusu hariç) 50 µl streptavidin-HRP eklenip iyice karıştırıldı. Plağın üstü kaplanıp 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plak yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her yıkama için kuyuları 300 µl yıkama tamponu ile 30 saniye bekletildi. Yıkama sonrasında her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi A eklendi ve ardından her

kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklendi. Plak üstü kapalı olacak şekilde 37°C'de karanlık bir ortamda 10 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 50 µl Durdurma Çözeltisi eklendi. Plakta her kuyuda mavi renkte olan örnekler durdurma çözeltisi eklendiğinde anında sarıya dönmüştür. Plak her kuyudaki optik yoğunluğu (OD değeri) hemen 450 nm'ye ayarlanmış BMG LABTECH LUMIstar Omega cihazında okutuldu.



4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri

Araştırma kapsamında incelenen örneklere ait demografik veriler Tablo 5.1’de yer almaktadır. Örneklem grubu, 20 RRMS ve 20 Progresif MS olmak üzere toplam 40 MS hastası ve 20 sağlıklı kontrol grubu Serum-BOS eşlenik şekilde oluşmaktadır. RRMS grubunda 14 kadın ve 6 erkek, Progresif MS grubunda 15 kadın ve 5 erkek, kontrol grubunda 12 kadın ve 8 erkek birey bulunmaktadır. RRMS-Kontrol, Progresif MS-Kontrol ve RRMS-Progresif MS grupları arasında cinsiyet dağılımında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

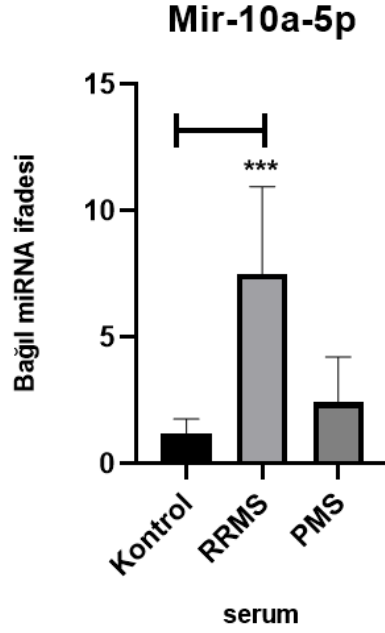
RRMS ve Progresif MS hasta gruplarının yaş ortalaması sırasıyla $35,10 \pm 10,86$ ve $44,73 \pm 12,15$ olarak bulunmuş olup RRMS – Progresif MS grupları arasında yaş dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,009$). Kontrol grubunun yaş ortalaması $49,07 \pm 17,13$ olarak bulunmuş olup RRMS grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gösterirken ($p < 0.05$), Progresif MS grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermemektedir ($p > 0.05$).

Tablo 4.1: Tüm Grupların Demografik Özellikleri

	Kontrol	RRMS	Progresif MS
Hasta Sayısı	20	20	20
Yaş Ortalaması	$49,07 \pm 17,13$	$35,10 \pm 10,86$	$44,73 \pm 12,15$
Cinsiyet K/E n(%)	12(60%) / 8(40%)	14(70%) / 6(30%)	15(75%) / 5(25%)

4.2. hsa-miR-10a-5p BOS ve Serum miRNA Ekspresyon Ortalamaları

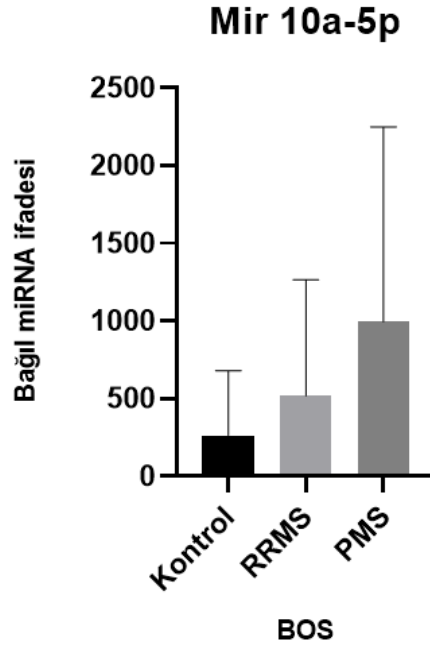
20 RRMS, 20 Progresif MS ve 20 sağlıklı kontrol grubundan serumdan elde edilen sonuçlar şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: RRMS ve Progresif MS Hastalarında hsa-miR-10a-5p miRNA İfadesinin Kontrol Grubuna Göre Değişimi

Şekil 4.1'de, serum hsa-miR-10a-5p ekspresyon seviyeleri kontrol grubu, RRMS ve Progresif MS gruplarında karşılaştırılmıştır. Ekspresyon seviyeleri, tek yönlü ANOVA ve ardından post-hoc Bonferroni testi kullanılarak analiz edilmiştir. RRMS grubunda, kontrol grubuna kıyasla hsa-miR-10a-5p ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (* $p < 0,001$). Progresif MS grubunda ise kontrol grubuna göre artış gözlenmiş olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular, hsa-miR-10a-5p'nin RRMS hastalarında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

20 RRMS, 20 Progresif MS ve 20 sağlıklı kontrol grubundan BOS'tan elde edilen sonuçlar şekil 4.2'de gösterilmiştir.



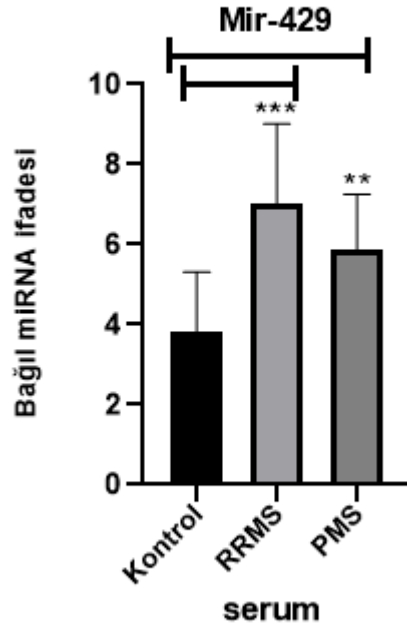
Şekil 4.2: BOS hsa-miR-10a-5p Ekspresyon Seviyelerinin Kontrol, RRMS ve PMS Gruplarında Karşılaştırılması

Ekspresyon seviyeleri Kruskal-Wallis testi ve ardından post-hoc Dunn testi kullanılarak analiz edilmiştir. BOS örneklerinde Kontrol grubuna kıyasla, RRMS ve Progresif MS gruplarında hsa-miR-10a-5p ekspresyonunda artış gözlenmiş, ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (* $p < 0.05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ olarak değerlendirilmiştir).

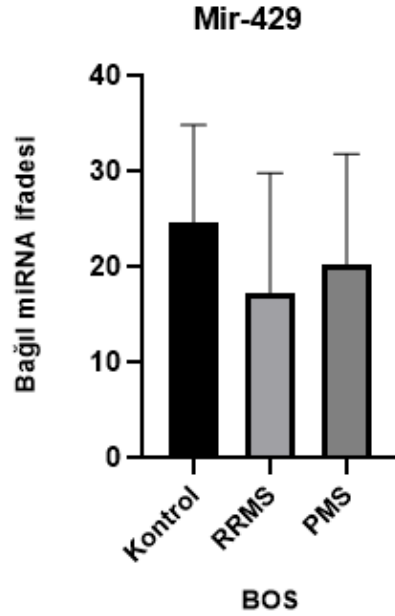
4.3. hsa-miR-429-3p BOS ve Serum miRNA Ekspresyon Ortalamaları

20 RRMS, 20 Progresif MS ve 20 sağlıklı kontrol grubundan serumdan elde edilen sonuçlar Şekil 4.3'de ve BOS'tan elde edilen sonuçlar Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

Ekspresyon seviyeleri tek yönlü ANOVA ve ardından post-hoc Bonferroni testi kullanılarak analiz edilmiştir. RRMS ve Progresif MS gruplarında, kontrol grubuna kıyasla hsa-miR-429-3p ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlenmiştir (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ olarak değerlendirilmiştir). Bu bulgular, hsa-miR-429-3p'nin hem RRMS hem de Progresif MS hastalarında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.3: Serumda hsa-miR-429-3p Ekspresyon Seviyelerinin Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarında Karşılaştırılması



Şekil 4.4: BOS'ta hsa-miR-429-3p Ekspresyon Seviyelerinin Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarında Karşılaştırılması

Ekspresyon seviyeleri Kruskal-Wallis testi ve ardından post-hoc Dunn testi kullanılarak analiz edilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, kontrol grubu ile RRMS ve Progresif MS grupları arasında hsa-miR-429-3p ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (*p<0.05, **p<0,01, ***p<0.001 olarak değerlendirilmiştir). Bu sonuçlar, BOS'taki hsa-miR-429-3p ekspresyonunun, MS alt tipleri arasında belirgin bir farklılık göstermediğini düşündürmektedir.

RRMS, Progresif MS ve Kontrol gruplarının serum ve BOS örneklerindeki hsa-miR-429-3p ve hsa-miR-10a-5p ekspresyon seviyeleri arasındaki anlamlılık (p) değerleri, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te gösterilmektedir.

Tablo 4.2: Serum Örneklerinde hsa-miR-429-3p ve hsa-miR-10a-5p Ekspresyon Seviyeleri Arasındaki Gruplar Arası Anlamlılık

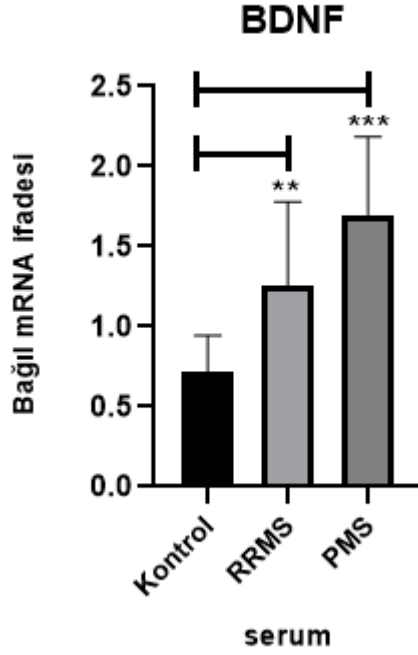
		miR-10a-5p	miR-429-3p
Kontrol- RRMS	p değeri	<0,0001	<0,0001
Kontrol-Progresif MS	p değeri	0,4680	0,0091
RRMS-Progresif MS	p değeri	<0,0001	0,1927

Tablo 4.3: BOS Örneklerinde hsa-miR-429-3p ve hsa-miR-10a-5p Ekspresyon Seviyeleri Arasındaki Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

		miR-10a-5p	miR-429-3p
Kontrol-RRMS	p değeri	>0,9999	0,3249
Kontrol- Progresif MS	p değeri	0,2036	>0,9999
RRMS-Progresif MS	p değeri	0,8706	>0,9999

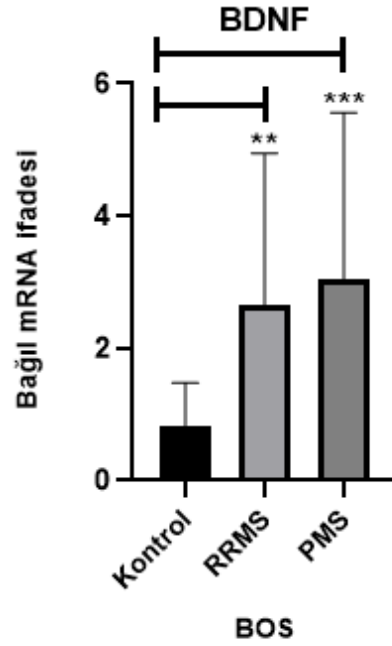
4.4. Serum ve BOS Örneklerinde *BDNF* mRNA Ekspresyon Seviyeleri

Serum *BDNF* mRNA ekspresyon seviyeleri, RRMS, progresif MS ve sağlıklı kontrol grupları arasında tek yönlü ANOVA ve ardından post-hoc Bonferroni testi kullanılarak analiz edilmiştir. Şekil 4.5'de görüldüğü gibi, RRMS ve Progresif MS gruplarında *BDNF* mRNA ekspresyon seviyeleri, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0,01, ***p<0,001).



Şekil 4.5: Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarına Ait Serum *BDNF* mRNA Ekspresyon Seviyeleri

BOS *BDNF* mRNA ekspresyon seviyeleri, RRMS, progresif MS ve sağlıklı kontrol grupları arasında Kruskal Wallis testi ve ardından post-hoc Dunn testi kullanılarak analiz edilmiştir. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi, RRMS ve PMS gruplarında *BDNF* mRNA ekspresyon seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).



Şekil 4.6: Kontrol, RRMS ve Progresif MS Gruplarına Ait BOS *BDNF* mRNA Ekspresyon Seviyeleri

RRMS, Progresif MS ve Kontrol gruplarının serum ve BOS örneklerindeki *BDNF* mRNA ekspresyon seviyeleri arasındaki anlamlılık (p) değerleri, Tablo 4.4'de gösterilmektedir.

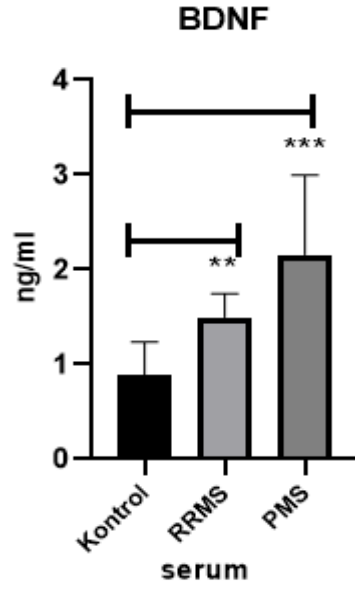
Tablo 4.4: Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

		BDNF SERUM	BDNF BOS
Kontrol-RRMS	p değeri	0,0045	0,0043
Kontrol -Progresif MS	p değeri	<0,0001	0,0005
RRMS-Progresif MS	p değeri	0,0188	>0,9999

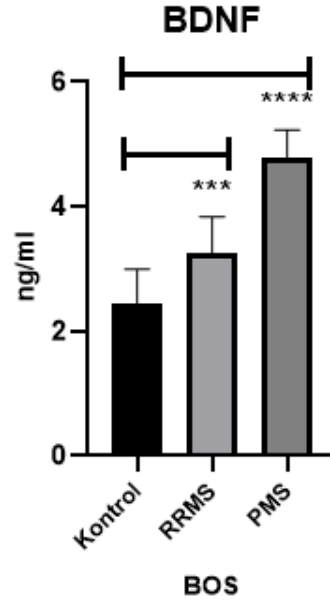
4.5. Serum ve BOS Örneklerinde BDNF Protein Seviyelerinin ELISA ile Değerlendirilmesi

Çalışma kapsamında RRMS, progresif MS ve sağlıklı kontrol gruplarına ait serum ve BOS örneklerinden BDNF protein seviyeleri sandviç ELISA yöntemiyle

incelenmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda serum ve BOS örneklerinde RRMS, progresif MS ve kontrol grupları arasında BDNF protein seviyeleri anlamlı fark göstermiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: RRMS, Progresif MS ve Kontrol Gruplarına Ait Serum Örneklerinde BDNF protein seviyeleri



Şekil 4.8: RRMS, Progresif MS ve Kontrol Gruplarına Ait BOS Örneklerindeki BDNF Protein Seviyeleri

BDNF düzeyleri tek yönlü ANOVA ve ardından post-hoc Bonferroni testi kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, RRMS ve progresif MS gruplarındaki BDNF seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksektir (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Bu bulgular, BDNF seviyelerinin MS hastalığının farklı aşamalarında değiştiğini ve hastalığın ilerlemesiyle birlikte arttığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

MS, MSS'ni etkileyen, beyin ve omurilikte inflamasyon ve aksonları çevreleyen miyelin kılıfların demiyelinizasyonuna neden olan ataklarla seyreden, multifaktöriyel etiyopatogeneze sahip ve sıklıkla genç erişkinleri etkileyen en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir. MS'in klinik ve patolojik özelliklerinin tanımlanmasının üzerinden 150 yıldan fazla zaman geçmiş olmasına rağmen, hastalığın etiyopatogenezi hala tam olarak anlaşılammıştır (Sinnecker ve ark., 2012). Yapılan araştırmalar, çevresel faktörler, genetik yatkınlık ve otoimmün süreçler başta olmak üzere birçok faktörün MS gelişiminde etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, miRNA aracılı gen düzenlemesi gibi epigenetik mekanizmaların da bireyin hastalığa yatkınlığında, hastalığın şiddetinde ve tedavisinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (de Faria ve ark., 2013). miRNA'lar, hücre döngüsü, apoptoz, farklılaşma ve gelişme veya tümör oluşumu gibi çeşitli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde son zamanlarda rol oynayan, 21 ila 25 nükleotid uzunluğunda, kodlamayan, tek zincirli RNA'lardır. miRNA'lar, mRNA stabilitesini azaltarak veya mRNA çevirisini bloke ederek belirli genlerin ifadesini engelleyebilmektedirler. Son birkaç yıl içinde, MS hastalarının kanında ve lezyonlarında, kontrol grubuna kıyasla farklı şekilde ifade edilen miRNA'ların tanımlanması, miRNA'ların MS için yeni potansiyel prognostik biyobelirteçler olarak kabul edilmesine yol açmıştır. Bu görüş, plazma, serum, idrar, tükürük ve BOS gibi biyolojik sıvılarda stabil miRNA'ların yakın zamanda keşfedilmesiyle daha da güvenilir hale gelmiştir (Fenoglio ve ark., 2012).

Son zamanlarda, MS sırasında meydana gelen otoimmün inflamasyonda önemli bir rol oynadığı bilinen, nörotrofin ailesine ait bir protein olan BDNF kodlayan gen üzerine ilgi artmıştır (Liguori ve ark., 2007). BDNF'nin kritik rolü dikkate alındığında, BDNF ifade düzeyini kontrol eden düzenleyici mekanizmaların şifresinin çözülmesi, nörolojik hastalıklar için daha doğru ve etkili tedaviler geliştirmenin önünü açabilir. Farklı düzenleyici sistemler arasında, miRNA'lar, genlerin mRNA'larının 3' UTR bölgelerine bağlanarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamasının altına miRNA'lar buraya bağlanarak mRNA'nın stabilitesini ve translasyonunu etkileyebileceği yatmaktadır (Khani-Habibabadi ve ark., 2019).

miR-10a'nın yüksek ekspresyon seviyeleri, hastalık aktivitesi ile ilişkili olabilir. Bu, miR-10a'nın RRMS hastalarında immünojenik yanıtları düzenleyen veya etkileyen mekanizmalarla bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle, silico moleküler sinyal zenginleştirme analizi, miR-10a'nın 12 mRNA'yı doğrulanmış hedefler olarak düzenleyebileceğini ortaya koymuştur. Bu hedefler, hastalığın progresyonu ve immünojenik profil üzerinde potansiyel etkileri olan kritik genler olabilir. Boroumand ve arkadaşları yaptıkları çalışmada miR-10a ekspresyonunun RRMS hastalarında relaps döneminde ve relaps sonrası iki ay boyunca sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemlemişler (her iki durumda da $p < 0,0001$). Bu bulgu, miR-10a'nın RRMS patogeneğinde potansiyel bir rol oynayabileceğini ve bu nedenle RRMS tanısı için bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir (Boroumand ve ark., 2018).

Radyolojik İzole Sendrom, KİS ve RRMS tanılı hastalarında kan ve gaita örnekleri kullanılarak yapılan bir çalışmada miR-10a ekspresyon seviyelerini değerlendirilmiştir. RİS grubundaki olgu sayısının sınırlı olmasına ($n=6$) rağmen, bu grupların tümünde miR-10a ekspresyon düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılıklar göstermiş olduğu rapor edilmiştir. Ancak, RRMS hastalarında klinik özelliklerle karşılaştırıldığında, miR-10a ekspresyon seviyelerinde belirgin bir değişim gözlemlenmediği belirtilmiştir. Bu bulgular, miR-10a'nın hastalığın başlangıç aşamalarındaki rolüne işaret ederken, hastalığın progresyonu ile doğrudan ilişkili olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca, miR-10a'nın bu hasta gruplarında düzenlenmemiş olması, bu molekülün non-invaziv bir biyobelirteç olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Sarıdaş, 2018).

Wu ve arkadaşlarının çalışmasında, miR-10a'nın Alzheimer hastalığı modeli olarak kullanılan sıçanların aşırı ekspresyonunun, hipokampus nöronlarında sinapsın yeniden şekillenmesini engellediği ve BDNF-TrkB sinyal yolunu kısıtlayarak nöronal hücrelerin proliferasyonunu da engellediği ve apoptozu desteklediği tespit edilmiştir. Bu bulgular, miR-10a'nın nörodejeneratif hastalıklardaki potansiyel rolünü ve özellikle BDNF-TrkB sinyal yolunun düzenlenmesindeki etkisini vurgulamaktadır (Wu ve ark., 2018).

Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında, miR-10a-5p'nin insan foliküler sıvısında BDNF ekspresyonunu düzenleyerek oositlerin olgunlaşmasını olumsuz etkilediği

gösterilmiştir. Bu çalışmada, miR-10a-5p'nin 3' UTR bölgesine doğrudan bağlanarak BDNF ifadesini düzenleyebileceği, ayrıca BDNF'nin dolaylı yollardan da etkilenebileceği belirtilmiştir. Zhang ve arkadaşları, bu miRNA'nın *in vitro* fertilizasyon sonuçlarını iyileştirebileceğini ve üreme sağlığı üzerinde önemli bir etkisi olabileceğini öne sürmüşlerdir (Zhang ve ark., 2021).

Zhai ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise miR-10a-5p'nin aşırı ekspresyonunun rahim ağzı kanseri hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı ve hücre döngüsünü geciktirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, BDNF'nin miR-10-5p'nin hedef geni olduğu belirlenmiş bu da miR-10-5p'nin rahim ağzı kanseri gelişiminde önemli bir düzenleyici rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgular, miR-10-5p'nin kanserde tümör baskılayıcı bir işlevi olabileceğine işaret etmektedir (Zhai ve ark., 2017).

hsa-miR-429, miR-200 ailesinin bir üyesi olarak bilinmektedir. miR-200 ailesi, EMT, hücre farklılaşması ve tümör baskılayıcı işlevler gibi kritik biyolojik süreçlerde yer alan miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 ve miR-429 gibi miRNA'ları içerir. Literatürde, miR-200 ailesinin üyelerinin kanser biyolojisinde önemli rol oynadığı ve özellikle tümör baskılayıcı özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Boese ve ark., 2016). Bu bağlamda, hsa-miR-429'un da MS gibi nöroinflamatuvar hastalıklarda potansiyel düzenleyici roller üstlenebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın bulguları, hsa-miR-429'un MS patofizyolojisinde olası bir biyobelirteç olarak değerlendirilmesine katkıda bulunabilir ve miR-200 ailesinin üyelerinin daha geniş bir yelpazede biyolojik işlevlerini anlamamıza yardımcı olabilir.

Sağlıklı kontroller ve Travmatik Beyin Hasarı hastalarında miR-429'un ifade özelliklerini araştırmak amacıyla, serum ve BOS seviyeleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Travmatik Beyin Hasarı sonrası hastalarda, miR-429 hem serumda hem de BOS'ta sağlıklı kontrollere kıyasla önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermiştir. miR-429 ve yukarı regüle edilmesi, hastalığın neden olduğu nöroinflamasyonun bir göstergesi olabilir. Bu miRNA'lar, hasara yanıt olarak immün hücrelerin aktivasyonu ve inflamatuvar yanıtın başlatılması ile ilişkilidir (Qi ve Wang, 2020).

Naegelin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, MS hastalarında serum BDNF düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur. Özellikle, bu azalma SPMS alt grubunda daha belirgin olarak

gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, BDNF düzeylerinin klinik değişkenler veya MRG bulguları ile anlamlı bir ilişki göstermediği, dolayısıyla hastalığın ilerlemesi veya aktivitesi hakkında bilgi vermediği belirtilmiştir. BOS BDNF düzeyleri ile ilgili olarak, mevcut literatürde BOS'taki BDNF seviyelerinin genellikle çok düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, BDNF'nin beyinden kana difüzyonuna dair doğrudan bir kanıt bulunmadığını ve BDNF'nin BOS'ta ölçülebilir seviyelerde bulunmasının zor olduğunu belirtilmiştir. Bu durum, BOS'ta BDNF ölçümlerinin teknik olarak zorlayıcı olduğunu ve elde edilen verilerin sınırlı olabileceğini göstermektedir (Naegelin ve ark., 2020).

Tongiorgi ve arkadaşlarının çalışmasında, RRMS hastalarında toplam BDNF serum konsantrasyonunun sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha düşük olduğu belirtilmiştir (Tongiorgi ve ark., 2012).

Mashayekhi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada; BDNF ELISA testi kullanılarak yapılan ölçümlerde, MS hastalarının BOS'undaki ortalama BDNF konsantrasyonunun 70.54 ± 12.53 pg/ml olduğu ve bu değer normal bireylerin BOS'undaki 8.64 ± 1.52 pg/ml BDNF düzeyine göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir ($p < 0.0001$). Bu sonuçlar, BDNF'nin insan BOS'unda bulunduğunu ve MS hastalarında normal bireylere kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir (Mashayekhi ve ark., 2012).

BDNF'nin, nöronların hayatta kalmasını ve oligodendrosit proliferasyonu ile miyelinizasyonu teşvik eden önemli bir nörotrofik faktör olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, MS hastalarında BOS'taki BDNF artışı, oligodendrosit kaybına yanıt olarak ortaya çıkan bir telafi mekanizması olabilir. Normal beyin dokusunda BDNF'nin ana kaynağı nöronlar iken, hasar görmüş beyinde glial hücrelerin BDNF üretimi arttığı görülmüştür. MS hastalarında BOS'taki BDNF artışı, glial hücrelerin artmış üretimi sonucu ortaya çıkmış olabilir. Özellikle, birçok nöronun tahrip olduğu ve yerini reaktif gliyozis aldığı durumlarda, BOS'taki BDNF'nin ana kaynağı olarak reaktif glial hücreler öne çıkabilir. Glial hücrelerin BDNF üretimi, MS gibi nörodejeneratif değişikliklere yanıt olarak aktif bir mekanizma olabilir. Aktive olmuş mikrogliya hücrelerinin sitokinler ve nörotrofik faktörler salgılayarak nöroprotektif bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir. MS hastalarında BOS'taki BDNF artışının, beyin hasarına yanıt olarak glial hücrelerin artan aktivitesinden kaynaklanabileceğini ve bu durumun

nörodejeneratif süreçlere karşı bir savunma mekanizması olabileceğini göstermektedir (Mashayekhi ve ark., 2012).

Oraby ve ekibinin bir çalışmasında serum BDNF düzeylerinin MS hastalarında değişkenlik gösterdiğini ortaya konulmuştur (Oraby ve ark., 2021). Çalışmada, serum BDNF düzeyleri hem MS hastaları hem de kontrol gruplarında değerlendirilmiş ve relaps dönemindeki MS hastalarının serum BDNF düzeylerinin, remisyon dönemindeki hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Bizim çalışmamızda da, relaps dönemindeki MS hastalarında BDNF düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış, nöroinflamatuvar süreçlerin bir yansıması olabilir ve bu da BDNF'nin MS hastalığının aktif fazlarında nöroprotektif bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. BDNF'nin nöronal hayatta kalma, sinaptik plastisite ve nörojenezini teşvik ettiği bilindiğinden, bu artışın hastalığın akut dönemlerinde merkezi sinir sisteminde koruyucu bir mekanizma olarak işlev görebileceği öne sürülebilir.

Azoulay ve ekibinin yürüttüğü bir çalışmada, RRMS hastalarının kontrole kıyasla serum ve BOS BDNF düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (Azoulay et al., 2005). Bu bulgular, BDNF'nin MS'deki doku hasarına karşı koruyucu mekanizmalarda yer aldığı fikrini desteklemektedir. Araştırmacılar, azalan BDNF düzeylerinin, RRMS'te BDNF tarafından sağlanan doku korumasında bir azalma veya MS'deki hasarlı doku nedeniyle MSS tarafından BDNF tüketiminde bir artış olduğunu öne sürmektedir.

Bu çalışmada, MS hastalarında *BDNF* geni mRNA ekspresyonu ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p miRNA ekspresyonları arasındaki ilişkileri inceleyerek, bu moleküllerin hastalığın patofizyolojisindeki potansiyel rollerini araştırmayı amaçlamıştır. Elde edilen bulgular, BDNF ve ilgili miRNA'ların MS hastalığındaki biyolojik süreçlerde kritik roller oynayabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda, *BDNF* mRNA ekspresyonunun hem serum hem de BOS örneklerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir. Bu bulgu, literatürde *BDNF*'nin MS hastalarında nöroprotektif bir rol oynayabileceği yönündeki görüşleri desteklemektedir. Özellikle, *BDNF*'nin demiyelinizasyon süreçlerine karşı bir yanıt olarak arttığı ve sinir hücrelerinin hayatta kalmasını desteklediği düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalar, *BDNF*'nin MS'in farklı alt tiplerinde

artış gösterdiğini bildirmektedir, bu da hastalığın ilerlemesiyle birlikte *BDNF* üretiminin bir kompensatuar mekanizma olarak devreye girebileceğini öne sürmektedir.

Serum örneklerinde, hsa-miR-10a-5p ekspresyonunun özellikle RRMS grubunda sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin şekilde arttığı, ancak Progresif MS grubunda bu artışın gözlenmediği bulunmuştur. Literatürde, miRNA'ların MS hastalığında önemli düzenleyici roller oynadığı, özellikle inflamatuvar süreçlerin modülasyonunda kritik fonksiyonlara sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda hsa-miR-10a-5p'nin RRMS hastalarında yüksek ekspresyon göstermesi, bu miRNA'nın hastalığın erken evrelerinde veya aktif atak dönemlerinde daha etkin olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, BOS örneklerinde hsa-miR-10a-5p ekspresyonu gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir, bu da bu miRNA'nın BOS'ta daha az belirgin bir rol oynadığını veya biyolojik varyasyonların daha büyük olduğunu gösterebilir.

Elde edilen sonuçlar, hsa-miR-10a-5p'nin *BDNF* mRNA'sına bağlanarak ekspresyonunu düzenlediği bilindiğinde, bu iki molekül arasındaki ilişkinin MS hastalarında koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Serumda hsa-miR-10a-5p ekspresyonunun RRMS grubunda anlamlı derecede yüksek olması ve eşzamanlı olarak *BDNF* mRNA ekspresyonunda da artış gözlenmesi, miR-10a-5p'nin *BDNF* ekspresyonunu düzenleme potansiyeline işaret etmektedir. miRNA'lar genellikle hedef mRNA'nın ekspresyonunu baskılayıcı bir rol oynarken, bu durumda miR-10a-5p'nin *BDNF* üzerinde artış yönünde bir etki gösterdiği veya diğer düzenleyici faktörlerin bu ilişkiye müdahil olduğu düşünülebilir. Buna karşılık, Progresif MS grubunda miR-10a-5p ekspresyonunda anlamlı bir artış olmamasına rağmen *BDNF* mRNA ekspresyonunun artış göstermesi, bu grupta miR-10a-5p'nin *BDNF*'yi düzenleme etkinliğinin azalabileceğini veya başka düzenleyici mekanizmaların devrede olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, miR-10a-5p ile *BDNF* arasındaki ilişkinin mevcut olduğunu, ancak bu ilişkinin hastalığın farklı evrelerinde veya alt tiplerinde farklı şekillerde ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Serumda hsa-miR-429-3p ekspresyonu ise hem RRMS hem de Progresif MS gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Bu bulgu, hsa-miR-429-3p'nin MS patofizyolojisinde önemli bir düzenleyici rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, hsa-miR-429-3p'nin sinir sistemi ile ilgili hastalıklarda gen ekspresyonunu modüle ettiği ve özellikle hücre ölümünü ve inflamasyonu

düzenleyen yollarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu miRNA'nın serumda artan ekspresyonu, hastalığın ilerlemesiyle birlikte inflamatuvar yanıtların güçlenebileceğini veya hücrel hasarın arttığını gösterebilir.

ELISA sonuçları, BDNF protein seviyelerinin hem serum hem de BOS'ta mRNA ekspresyon verileriyle uyumlu olarak arttığını ortaya koymuştur. Bu, BDNF'nin MS hastalarında nöroprotektif bir yanıt olarak arttığı ve hastalığın progresyonuna karşı bir koruma mekanizması olarak işlev gördüğü hipotezini desteklemektedir. BDNF'nin MS hastalarındaki artışı, literatürde sıklıkla rapor edilen bir bulgudur ve bu protein, sinir hücrelerinin hayatta kalmasını destekleyen kritik bir nörotrofik faktör olarak tanımlanmaktadır.

Bu bulgular, BDNF'nin MS tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. İleriye dönük çalışmalarda, BDNF düzeylerinin ve nöroprotektif etkilerinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi, MS tedavisine yeni yaklaşımlar geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Ayrıca, miR-10a-5p ve hsa-miR-429'un spesifik biyolojik mekanizmalarını ve bu miRNA'ların MS ve diğer nöroinflamatuvar hastalıklardaki rollerini daha iyi anlamak, bu moleküllerin MS'in erken teşhisi, prognozu ve tedavisinde potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabilirliğine ışık tutabilir. Gelecekteki çalışmalar, BDNF ve ilgili miRNA'ların hastalığın farklı evrelerinde gösterdikleri ekspresyon profillerini daha iyi anlamamıza yardımcı olacak ve bu moleküllerin klinik uygulamalarda nasıl etkili olabileceğini daha derinlemesine araştıracaktır. Sonuç olarak, bu çalışma, MS'in altında yatan biyolojik süreçleri anlamak ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları geliştirmek için önemli bir adım teşkil etmektedir.

6. SONUÇ, ÖNERİLER VE TOPLUMA KATKI

Bu çalışmada, MS hastalarında *BDNF* geni mRNA ekspresyonu ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p ekspresyonları arasındaki ilişki incelenmiştir. Sonuçlar, *BDNF* mRNA ekspresyonunun, hem hsa-miR-10a-5p hem de hsa-miR-429-3p ile anlamlı bir ilişki içinde olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, hsa-miR-10a-5p'nin artan ekspresyonunun *BDNF* mRNA düzeylerinde bir azalmaya neden olduğu gözlenmiş, buna karşın hsa-miR-429-3p'nin *BDNF* ekspresyonu üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Bu bulgular, miRNA'ların *BDNF* ekspresyonunu düzenlemedeki potansiyel rollerini ve *BDNF*'nin MS patofizyolojisindeki önemini vurgulamaktadır.

Bu doğrultuda, miRNA'ların *BDNF* üzerindeki düzenleyici etkileri ve bu etkileşimlerin MS hastalığının farklı evrelerindeki rolü daha ayrıntılı bir şekilde araştırılmalıdır. Özellikle hsa-miR-10a-5p'nin *BDNF* mRNA ekspresyonu üzerindeki baskılayıcı etkisi, MS tedavisinde potansiyel bir hedef olarak değerlendirilebilir. *BDNF*'nin nöroprotektif etkilerinden yararlanarak, miRNA'ların düzenleyici yollarını hedef alan tedavi yaklaşımları geliştirilebilir; bu tür tedaviler, MS hastalarında hastalık progresyonunu yavaşlatabilir veya durdurabilir. Ayrıca, *BDNF* mRNA ve ilgili miRNA'ların ekspresyon profillerinin MS tanısı ve prognozu için biyomarker olarak kullanılabilirliği araştırılmalıdır. Bu, hastalığın erken teşhisi ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine önemli katkılar sağlayabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma, MS hastalarının tedavi süreçlerine ve yaşam kalitelerine olumlu katkılar sağlayabilecek potansiyel yeni hedefler ve biyomarkerlar belirlemeye yönelik önemli veriler sunmaktadır. miRNA'lar ile *BDNF* arasındaki etkileşimlerin daha iyi anlaşılması, MS patofizyolojisinin derinlemesine kavranmasına ve bu doğrultuda yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir. Bu çalışma, MS hastalığının karmaşık biyolojik süreçlerini anlamada topluma ve bilim camiasına değerli bir katkı sunmakta olup, MS gibi kronik hastalıklarla yaşayan bireylerin yaşam kalitesini artırmak amacıyla daha etkili ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

KAYNAKÇA

Aarli, J. A., Abramsky, O., Browne, P., Chandraratna, D., Angood, C., Tremlett, H., Baker, C., Taylor, B. V., & Thompson, A. J. (2014). Section Editors Global Perspectives Atlas Of Multiple Sclerosis 2013: A Growing Global Problem With Widespread Inequity. <http://www.msif.org/about-ms/publications->

Ahlbrecht, J., Martino, F., Pul, R., Skripuletz, T., Sühs, K. W., Schauerte, C., Yildiz, Ö., Trebst, C., Tasto, L., Thum, S., Pfanne, A., Roesler, R., Lauda, F., Hecker, M., Zettl, U. K., Tumani, H., Thum, T., & Stangel, M. (2015). Deregulation of microRNA-181c in cerebrospinal fluid of patients with clinically isolated syndrome is associated with early conversion to relapsing–remitting multiple sclerosis. <http://Dx.Doi.Org/10.1177/1352458515613641>, 22(9), 1202–1214. <https://doi.org/10.1177/1352458515613641>

Aid, T., Kazantseva, A., Piirsoo, M., Palm, K., & Timmusk, T. (2007). Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *Journal of Neuroscience Research*, 85(3), 525–535. <https://doi.org/10.1002/JNR.21139>

Akdemir, N., Terzi, M., Arslan, N., & Onar, M. (2017). Prevalence of multiple sclerosis in the middle black sea region of Turkey and demographic characteristics of patients. *Noropsikiyatri Arsivi*, 54(1), 11–14. <https://doi.org/10.5152/npa.2016.12451>

Arroyo, J. D., Chevillet, J. R., Kroh, E. M., Ruf, I. K., Pritchard, C. C., Gibson, D. F., Mitchell, P. S., Bennett, C. F., Pogosova-Agadjanyan, E. L., Stirewalt, D. L., Tait, J. F., & Tewari, M. (2011). Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(12), 5003–5008. https://doi.org/10.1073/PNAS.1019055108/SUPPL_FILE/ST02.DOC

Azoulay, D., Urshansky, N., & Karni, A. (2008). Low and dysregulated BDNF secretion from immune cells of MS patients is related to reduced neuroprotection. *Journal of Neuroimmunology*, 195(1–2), 186–193. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2008.01.010>

Azoulay, D., Vachapova, V., Shihman, B., Miler, A., & Karni, A. (2005). Lower brain-derived neurotrophic factor in serum of relapsing remitting MS: Reversal by

glatiramer acetate. *Journal of Neuroimmunology*, 167(1–2), 215–218. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2005.07.001>

Balasa, R., Barcutean, L., Mosora, O., & Manu, D. (2021). Reviewing the Significance of Blood–Brain Barrier Disruption in Multiple Sclerosis Pathology and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 8370, 22(16), 8370. <https://doi.org/10.3390/IJMS2216837>

Barcellos, L. F., Sawcer, S., Ramsay, P. P., Baranzini, S. E., Thomson, G., Briggs, F., Cree, B. C. A., Begovich, A. B., Villoslada, P., Montalban, X., Uccelli, A., Savettieri, G., Lincoln, R. R., DeLoa, C., Haines, J. L., Pericak-Vance, M. A., Compston, A., Hauser, S. L., & Oksenberg, J. R. (2006). Heterogeneity at the HLA-DRB1 locus and risk for multiple sclerosis. *Human Molecular Genetics*, 15(18), 2813–2824. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDL223>

Bar-Or, A., Pender, M. P., Khanna, R., Steinman, L., Hartung, H. P., Maniar, T., Croze, E., Aftab, B. T., Giovannoni, G., & Joshi, M. J. (2020). Epstein–Barr Virus in Multiple Sclerosis: Theory and Emerging Immunotherapies. *Trends in Molecular Medicine*, 26(3), 296. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2019.11.003>

Bartoszewska, S., Sławski, J., Collawn, J. F., Bartoszewski, R., Bartoszewska, S., Sławski, J., Collawn, J. F., & Bartoszewski, R. (2023). HIF-1-Induced hsa-miR-429: Understanding Its Direct Targets as the Key to Developing Cancer Diagnostics and Therapies. *Cancers* 2023, Vol. 15, Page 2903, 15(11), 2903. <https://doi.org/10.3390/CANCERS15112903>

Barwari, T., Joshi, A., & Mayr, M. (2016). MicroRNAs in Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(23), 2577–2584. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2016.09.945>

Baumann, V., & Winkler, J. (2014). miRNA-based therapies: Strategies and delivery platforms for oligonucleotide and non-oligonucleotide agents. *Future Medicinal Chemistry*, 6(17), 1967. <https://doi.org/10.4155/FMC.14.116>

Bergman, P., Piket, E., Khademi, M., James, T., Brundin, L., Olsson, T., Piehl, F., & Jagodic, M. (2016). Circulating miR-150 in CSF is a novel candidate biomarker for multiple sclerosis. *Neurology: Neuroimmunology and NeuroInflammation*, 3(3). https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000219/SUPPL_FILE/TABLE_E-2.DOC

Bernstein, E., Caudy, A. A., Hammond, S. M., & Hannon, G. J. (2001). Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001 409:6818, 409(6818), 363–366. <https://doi.org/10.1038/35053110>

Boese, A. S., Saba, R., Campbell, K., Majer, A., Medina, S., Burton, L., Booth, T. F., Chong, P., Westmacott, G., Dutta, S. M., Saba, J. A., & Booth, S. A. (2016). MicroRNA abundance is altered in synaptoneurosomes during prion disease. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 71, 13–24. <https://doi.org/10.1016/J.MCN.2015.12.001>

Bohnsack, M. T., Czaplinski, K., & Görlich, D. (2004). Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*, 10(2), 185–191. <https://doi.org/10.1261/RNA.5167604>

Boiko, A., Vorobeychik, G., Paty, D., Devonshire, V., Sadovnick, D., Hashimoto, S., Hooge, J., Kastrukoff, L., Oger, J., & Traboulsee, T. (2002). Early onset multiple sclerosis: a longitudinal study. *Neurology*, 59(7), 1006–1010. <https://doi.org/10.1212/WNL.59.7.1006>

Boroumand, N., Eshaghiyan, A., Behshood, P., Nateghi, B., & Emadi, F. (2018). Increased Circulating miR-10a Levels Associated with Multiple Sclerosis. *Research in Molecular Medicine*, 6(4), 59–68. <https://doi.org/10.18502/rmm.v6i4.4804>

Boscá, I., Magraner, M. J., Coret, F., Álvarez-Cermeño, J. C., Simó-Castelló, M., Villar, L. M., & Casanova, B. (2010). KIS, belirli bir zaman diliminde ortaya çıkan ve potansiyel MS gelişimiyle ilişkilendirilen demiyelinizan bir olaydır. *Journal of Neuroimmunology*, 226(1–2), 143–146. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2010.05.032>

Bradl, M., & Lassmann, H. (2009). Progressive multiple sclerosis. *Seminars in Immunopathology*, 31(4), 455–465. <https://doi.org/10.1007/S00281-009-0182-3/FIGURES/1>

Brex, P. A., Ciccarelli, O., O’Riordan, J. I., Sailer, M., Thompson, A. J., & Miller, D. H. (2002). A Longitudinal Study of Abnormalities on MRI and Disability from Multiple Sclerosis. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011341>, 346(3), 158–164. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011341>

Brodsky, M., Nazarian, S., Orengo-Nania, S., Hutton, G. J., Buckley, E. G., Massey, E. W., Bhatti, M. T., Greer, M., Goodwin, J., Wall, M., Savino, P. J., Leist, T., Miller, N. R., Irani, D., Trobe, J. D., Cornblath, W., Kaufman, D. I., Eggenberger, E., Kupersmith, M. J., ... Smith, C. H. (2008). Multiple sclerosis risk after optic neuritis:

final optic neuritis treatment trial follow-up. *Archives of Neurology*, 65(6), 727–732. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.65.6.727>

Broughton, J. P., Lovci, M. T., Huang, J. L., Yeo, G. W., & Pasquinelli, A. E. (2016). Pairing Beyond the Seed Supports MicroRNA Targeting Specificity. *Molecular Cell*, 64(2), 320. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2016.09.004>

Brownlee, W. J., Hardy, T. A., Fazekas, F., & Miller, D. H. (2017). Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *The Lancet*, 389(10076), 1336–1346. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30959-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30959-X)

Bruinsma, I. B., van Dijk, M., Bridel, C., van de Lisdonk, T., Haverkort, S. Q., Runia, T. F., Steinman, L., Hintzen, R. Q., Killestein, J., Verbeek, M. M., Teunissen, C. E., & de Jong, B. A. (2017). Regulator of oligodendrocyte maturation, miR-219, a potential biomarker for MS. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/S12974-017-1006-3/TABLES/2>

Caggiula, M., Batocchi, A. P., Frisullo, G., Angelucci, F., Patanella, A. K., Sanricca, C., Nociti, V., Tonali, P. A., & Mirabella, M. (2005). Neurotrophic factors and clinical recovery in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 62(2), 176–182. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3083.2005.01649.X>

Canto, E., & Oksenberg, J. R. (2018). Multiple sclerosis genetics. *Https://Doi.Org/10.1177/1352458517737371*, 24(1), 75–79. <https://doi.org/10.1177/1352458517737371>

Castellano, V., & White, L. J. (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 269(1–2), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.12>.

Chard, D. T., Griffin, C. M., Parker, G. J. M., Kapoor, R., Thompson, A. J., & Miller, D. H. (2002). Brain atrophy in clinically early relapsing–remitting multiple sclerosis. *Brain*, 125(2), 327–337. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWF025>

Chen, S., Zhang, Y., Ding, X., & Li, W. (2022). Identification of lncRNA/circRNA-miRNA-mRNA ceRNA Network as Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2022.838869>

Chen, X., Wang, A. L., Liu, Y. Y., Zhao, C. X., Zhou, X., Liu, H. L., & Lin, M. Bin. (2020). MiR-429 Involves in the Pathogenesis of Colorectal Cancer via Directly Targeting LATS2. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5316276>

Compston, A., & Coles, A. (2002). Multiple sclerosis. *Lancet*, 359(9313), 1221–1231. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08220-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08220-X)

Confavreux, C., & Vukusic, S. (2006). Age at disability milestones in multiple sclerosis. *Brain*, 129(3), 595–605. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWH714>

Correa, E., Paredes, V., & Martínez, B. (2016). Prevalence of multiple sclerosis in Latin America and its relationship with European migration. *Multiple Sclerosis Journal - Experimental, Translational and Clinical*, 2. <https://doi.org/10.1177/2055217316666407>

Cox, M. B., Cairns, M. J., Gandhi, K. S., Carroll, A. P., Moscovis, S., Stewart, G. J., Broadley, S., Scott, R. J., Booth, D. R., & Lechner-Scott, J. (2010). MicroRNAs miR-17 and miR-20a Inhibit T Cell Activation Genes and Are Under-Expressed in MS Whole Blood. *PLOS ONE*, 5(8), e12132. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0012132>

Cree, B. A. C., Arnold, D. L., Chataway, J., Chitnis, T., Fox, R. J., Pozo Ramajo, A., Murphy, N., & Lassmann, H. (2021). Secondary Progressive Multiple Sclerosis: New Insights. In *Neurology* (Vol. 97, Issue 8, pp. 378–388). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000012323>

Cree, B. A. C., Hollenbach, J. A., Bove, R., Kirkish, G., Sacco, S., Caverzasi, E., Bischof, A., Gundel, T., Zhu, A. H., Papinutto, N., Stern, W. A., Bevan, C., Romeo, A., Goodin, D. S., Gelfand, J. M., Graves, J., Green, A. J., Wilson, M. R., Zamvil, S. S., ... Hauser, S. L. (2019). Silent progression in disease activity-free relapsing multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 85(5), 653–666. <https://doi.org/10.1002/ANA.25463>

Dai, R., & Ahmed, S. A. (2011). MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. *Translational Research*, 157(4), 163–179. <https://doi.org/10.1016/J.TRSL.2011.01.007>

Damasceno, A., Damasceno, B. P., Cendes, F., Moraes, A. S., Farias, A., & Santos, L. M. B. Dos. (2015). Serum BDNF levels are not reliable correlates of neurodegeneration in MS patients. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 4(1), 65–66. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2014.11.003>

de Faria, O., Moore, C. S., Kennedy, T. E., Antel, J. P., Bar-Or, A., & Dhaunchak, A. S. (2013). MicroRNA dysregulation in multiple sclerosis. *Frontiers in Genetics*, 3(JAN), 38349. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2012.00311/BIBTEX>

De Planell-Saguer, M., & Rodicio, M. C. (2011). Analytical aspects of microRNA in diagnostics: A review. *Analytica Chimica Acta*, 699(2), 134–152. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2011.05.025>

De Rie, D., Abugessaisa, I., Alam, T., Arner, E., Arner, P., Ashoor, H., Åström, G., Babina, M., Bertin, N., Burroughs, A. M., Carlisle, A. J., Daub, C. O., Detmar, M., Deviatiiarov, R., Fort, A., Gebhard, C., Goldowitz, D., Guhl, S., Ha, T. J., ... De Hoon, M. J. L. (2017). An integrated expression atlas of miRNAs and their promoters in human and mouse. *Nature Biotechnology* 2017 35:9, 35(9), 872–878. <https://doi.org/10.1038/nbt.3947>

De-Feng, M., Shao, H., & Feng, C. B. (2021). LINC00894 Enhances the Progression of Breast Cancer by Sponging miR-429 to Regulate ZEB1 Expression. *OncoTargets and Therapy*, 14, 3395. <https://doi.org/10.2147/OTT.S277284>

Dobson, R., & Giovannoni, G. (2019). Multiple sclerosis – a review. In *European Journal of Neurology* (Vol. 26, Issue 1, pp. 27–40). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ene.13819>

Dürrbaum, M., Kruse, C., Nieken, K. J., Habermann, B., & Storchová, Z. (2018). The deregulated microRNAome contributes to the cellular response to aneuploidy. *BMC Genomics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/S12864-018-4556-6>

Dutta, R., & Trapp, B. D. (2012). Gene expression profiling in multiple sclerosis brain. *Neurobiology of Disease*, 45(1), 108–114. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2010.12.003>

Dyment, D. A., Ebers, G. C., & Sadovnick, A. D. (2004). Genetics of multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, 3(2), 104–110. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00663-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00663-X)

Ebrahimkhani, S., Vafae, F., Young, P. E., Hur, S. S. J., Hawke, S., Devenney, E., Beadnall, H., Barnett, M. H., Suter, C. M., & Buckland, M. E. (2017). Exosomal microRNA signatures in multiple sclerosis reflect disease status. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14301-3>

Elkhodiry, A. A., & El Tayebi, H. M. (2021). Scavenging the hidden impacts of non-coding RNAs in multiple sclerosis. *Non-Coding RNA Research*, 6(4), 187. <https://doi.org/10.1016/J.NCRNA.2021.12.002>

Fashina, I. A., McCoy, C. E., & Furney, S. J. (2023). In silico prioritisation of microRNA-associated common variants in multiple sclerosis. *Human Genomics*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s40246-023-00478-4>

Fei, X., Jin, H., Gao, Y., Kong, L., & Tan, X. (2020). Hsa-miR-10a-5p promotes pancreatic cancer growth by BDNF/SEMA4C pathway. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 34(3), 927–934. <https://doi.org/10.23812/20-61-A-47>

Felekkis, K., & Papanephytous, C. (2020). Challenges in Using Circulating Micro-RNAs as Biomarkers for Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2). <https://doi.org/10.3390/IJMS21020561>

Fenoglio, C., Ridolfi, E., Galimberti, D., & Scarpini, E. (2012). MicroRNAs as Active Players in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences* 2012, Vol. 13, Pages 13227-13239, 13(10), 13227–13239. <https://doi.org/10.3390/IJMS131013227>

Feyzi DEMİR, C., Üniversitesi Tıp Fakültesi, F., Anabilim Dalı, N., Bulut, S., & Kiliç, H. (n.d.). *Klinik Araştırma Yukarı Fırat Bölgesinde Multipl Skleroz Tanısı İle İzlenen Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri*. www.firattipdergisi.com

Filippi, M., Bar-Or, A., Piehl, F., Preziosa, P., Solari, A., Vukusic, S., & Rocca, M. A. (2018). Multiple sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers* 2018 4:1, 4(1), 1–27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0041-4>

Fisniku, L. K., Brex, P. A., Altmann, D. R., Miszkil, K. A., Benton, C. E., Lanyon, R., Thompson, A. J., & Miller, D. H. (2008). Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain*, 131(3), 808–817. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWM329>

Fletcher, J. M., Lalor, S. J., Sweeney, C. M., Tubridy, N., & Mills, K. H. G. (2010). T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clinical & Experimental Immunology*, 162(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2249.2010.04143.X>

Forouhari, A., Taheri, G., Salari, M., Moosazadeh, M., & Etemadifar, M. (2021). Multiple sclerosis epidemiology in Asia and Oceania; A systematic review and meta-analysis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 54, 103119. <https://doi.org/10.1016/J.MSARD.2021.103119>

Frank, F., Sonenberg, N., & Nagar, B. (2010). Structural basis for 5'-nucleotide base-specific recognition of guide RNA by human AGO2. *Nature* 2010 465:7299, 465(7299), 818–822. <https://doi.org/10.1038/nature09039>

Freeman, C. (2011). Evidence-based guideline update: plasmapheresis in neurologic disorders. *Neurology*, 77(17), 294–300. <https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e318207b1f6>

Freeman, L., Longbrake, E. E., Coyle, P. K., Hendin, B., & Vollmer, T. (2022). High-Efficacy Therapies for Treatment-Naïve Individuals with Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis. *CNS Drugs* 2022 36:12, 36(12), 1285–1299. <https://doi.org/10.1007/S40263-022-00965-7>

Friedländer, M. R., Lizano, E., Houben, A. J. S., Bezdan, D., Báñez-Coronel, M., Kudla, G., Mateu-Huertas, E., Kagerbauer, B., González, J., Chen, K. C., LeProust, E. M., Martí, E., & Estivill, X. (2014). Evidence for the biogenesis of more than 1,000 novel human microRNAs. *Genome Biology*, 15(4), R57. <https://doi.org/10.1186/GB-2014-15-4-R57>

Frischer, J. M., Weigand, S. D., Guo, Y., Kale, N., Parisi, J. E., Pirko, I., Mandrekar, J., Bramow, S., Metz, I., Brück, W., Lassmann, H., & Lucchinetti, C. F. (2015). Clinical and Pathological Insights into the Dynamic Nature of the White Matter Multiple Sclerosis Plaque. *Annals of Neurology*, 78(5), 710. <https://doi.org/10.1002/ANA.24497>

Frota, E. R. C., Rodrigues, D. H., Donadi, E. A., Brum, D. G., Maciel, D. R. K., & Teixeira, A. L. (2009). Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse. *Neuroscience Letters*, 460(2), 130–132. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2009.05.057>

Gallo, A., Tandon, M., Alevizos, I., & Illei, G. G. (2012). The Majority of MicroRNAs Detectable in Serum and Saliva Is Concentrated in Exosomes. *PLOS ONE*, 7(3), e30679. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0030679>

Gao, Y., Han, D., & Feng, J. (2021). MicroRNA in multiple sclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 516, 92–99. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2021.01.020>

Gelfand, J. M. (2014). Multiple sclerosis: diagnosis, differential diagnosis, and clinical presentation. *Handbook of Clinical Neurology*, 122, 269–290. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52001-2.00011-X>

Ghasemi, N., Razavi, S., & Nikzad, E. (n.d.). Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy Citation: Ghasemi N, Razavi Sh, Nikzad E. Multiple sclerosis: pathogenesis, symptoms, diagnoses and cell-based therapy. In *CELL JOURNAL(Yakhteh)* (Vol. 19, Issue 1).

Ginsberg, S. D., Malek-Ahmadi, M. H., Alldred, M. J., Chen, Y., Chen, K., Chao, M. V., Counts, S. E., & Mufson, E. J. (2019). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and TrkB hippocampal gene expression are putative predictors of neuritic plaque and neurofibrillary tangle pathology. *Neurobiology of Disease*, *132*, 104540. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2019.104540>

Git, A., Dvinge, H., Salmon-Divon, M., Osborne, M., Kutter, C., Hadfield, J., Bertone, P., & Caldas, C. (2010). Systematic comparison of microarray profiling, real-time PCR, and next-generation sequencing technologies for measuring differential microRNA expression. *RNA*, *16*(5), 991–1006. <https://doi.org/10.1261/RNA.1947110>

Goldenberg, M. M. (2012). DISEASE OVERVIEW Multiple Sclerosis Review. In *P&T®* (Vol. 37, Issue 3).

Goodin, D. S., Khankhanian, P., Gourraud, P. A., & Vince, N. (2021). Genetic susceptibility to multiple sclerosis: interactions between conserved extended haplotypes of the MHC and other susceptibility regions. *BMC Medical Genomics*, *14*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12920-021-01018-6/FIGURES/6>

Goodnow, C. C. (2007). Multistep Pathogenesis of Autoimmune Disease. *Cell*, *130*(1), 25–35. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.06.033>

Griffiths-Jones, S., Grocock, R. J., van Dongen, S., Bateman, A., & Enright, A. J. (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Research*, *34*(suppl_1), D140–D144. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKJ112>

Griffiths-Jones, S., Saini, H. K., Van Dongen, S., & Enright, A. J. (2008). miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Research*, *36*(suppl_1), D154–D158. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKM952>

Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2014 15:8, *15*(8), 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>

Hafler, D. A., Compston, A., Sawcer, S., Lander, E. S., Daly, M. J., De Jager, P. L., de Bakker, P. I., Gabriel, S. B., Mirel, D. B., Ivinson, A. J., Pericak-Vance, M. A., Gregory, S. G., Rioux, J. D., McCauley, J. L., Haines, J. L., Barcellos, L. F., Cree, B.,

Oksenberg, J. R., & Hauser, S. L. (2007). Risk Alleles for Multiple Sclerosis Identified by a Genomewide Study. *New England Journal of Medicine*, 357(9), 851–862. https://doi.org/10.1056/NEJMOA073493/SUPPL_FILE/NEJMOA073493SA1.PDF

Haghikia, A., Haghikia, A., Hellwig, K., Baraniskin, A., Holzmann, A., Décard, B. F., Thum, T., & Gold, R. (2012). Regulated microRNAs in the CSF of patients with multiple sclerosis: A case-control study. *Neurology*, 79(22), 2166–2170. https://doi.org/10.1212/WNL.0B013E3182759621/SUPPL_FILE/WNL.0B013E31827597D1V1.PDF

Haider, L., Zrzavy, T., Hametner, S., Höftberger, R., Bagnato, F., Grabner, G., Trattning, S., Pfeifenbring, S., Brück, W., & Lassmann, H. (2016). The topography of demyelination and neurodegeneration in the multiple sclerosis brain. *Brain*, 139(3), 807. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWV398>

Hamamcioglu, K., & Reder, A. T. (2007). Interferon-beta regulates cytokines and BDNF: greater effect in relapsing than in progressive multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 13(4), 459–470. <https://doi.org/10.1177/1352458506069672>

Han, J., Lee, Y., Yeom, K. H., Nam, J. W., Heo, I., Rhee, J. K., Sohn, S. Y., Cho, Y., Zhang, B. T., & Kim, V. N. (2006). Molecular Basis for the Recognition of Primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 Complex. *Cell*, 125(5), 887–901. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.043>

Hauser, S. L., & Oksenberg, J. R. (2006). The Neurobiology of Multiple Sclerosis: Genes, Inflammation, and Neurodegeneration. *Neuron*, 52(1), 61–76. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2006.09.011>

Hogancamp, W. E., Rodriguez, M., & Weinshenker, B. G. (1997). The Epidemiology of Multiple Sclerosis. *Mayo Clinic Proceedings*, 72(9), 871–878. <https://doi.org/10.4065/72.9.871>

Honardoost, M. A., Kiani-Esfahani, A., Ghaedi, K., Etemadifar, M., & Salehi, M. (2014). miR-326 and miR-26a, two potential markers for diagnosis of relapse and remission phases in patient with relapsing–remitting multiple sclerosis. *Gene*, 544(2), 128–133. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2014.04.069>

Hoppenbrouwers, I. A., & Hintzen, R. Q. (2011). Genetics of multiple sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1812(2), 194–201. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2010.09.017>

Howard, S., Richardson, S., Benyeogor, I., Omosun, Y., Dye, K., Medhavi, F., Lundy, S., Adebayo, O., Igietseme, J. U., & Eko, F. O. (2021). Differential miRNA Profiles Correlate With Disparate Immunity Outcomes Associated With Vaccine Immunization and Chlamydial Infection. *Frontiers in Immunology*, *12*, 625318. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.625318/FULL>

Hu, S., Li, Z., Lan, Y., Guan, J., Zhao, K., Chu, D., Fan, G., Guo, Y., Gao, F., & He, W. (2020). MiR-10a-5p-Mediated Syndecan 1 Suppression Restricts Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus Replication. *Frontiers in Microbiology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.00105/FULL>

Hu, Z. L., Luo, C., Hurtado, P. R., Li, H., Wang, S., Hu, B., Xu, J. M., Liu, Y., Feng, S. Q., Hurtado-Perez, E., Chen, K., Zhou, X. F., Li, C. Q., & Dai, R. P. (2021). Brain-derived neurotrophic factor precursor in the immune system is a novel target for treating multiple sclerosis. *Theranostics*, *11*(2), 715. <https://doi.org/10.7150/THNO.51390>

Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2001). Neurotrophins: Roles in neuronal development and function. *Annual Review of Neuroscience*, *24*(Volume 24, 2001), 677–736. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NEURO.24.1.677/CITE/REFWORKS>

Hüsni Efendi Demet Yandım Kuşcu, E. (n.d.). Multipl Skleroz Tanı Ve Tedavi Kilavuzu 2018. www.galenos.com.tr

Ilieva, M., Panella, R., & Uchida, S. (2022). MicroRNAs in Cancer and Cardiovascular Disease. *Cells* 2022, Vol. 11, Page 3551, *11*(22), 3551. <https://doi.org/10.3390/CELLS11223551>

Iwanowski, P., & Losy, J. (2015). Immunological differences between classical phenotypes of multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, *349*(1), 10–14. <https://doi.org/10.1016/J.JNS.2014.12.035>

Jacobs, L. D., Cookfair, D. L., Rudick, R. A., Herndon, R. M., Richert, J. R., Salazar, A. M., Fischer, J. S., Goodkin, D. E., Granger, C. V., Simon, J. H., Alam, J. J., Bartoszak, D. M., Bourdette, D. N., Braiman, J., Brownschidle, C. M., Coats, M. E., Cohan, S. L., Dougherty, D. S., Kinkel, R. P., ... Whitham, R. H. (1996). Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, *39*(3), 285–294. <https://doi.org/10.1002/ANA.410390304>

Jansen, H. M. L., Willemsen, A. T. M., Sinnige, L. G. F., Paans, A. M. J., Hew, J. M., Franssen, E. J. F., Zorgdrager, A. M., Pruijm, J., Minderhoud, J. M., & Korf, J.

(1995). Cobalt-55 positron emission tomography in relapsing-progressive multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 132(2), 139–145. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(95\)00139-S](https://doi.org/10.1016/0022-510X(95)00139-S)

Jo, J. C. C., Airas, L., Bartholome, E., Grigoriadis, N., Mattle, H., Oreja Guevara, C., Oriordan, J., Sellebjerg, F., Stankoff, B., Vass, K., Walczak, A., Wiendl, H., & Kieseier, B. C. (2011). Symptomatic therapy in multiple sclerosis: a review for a multimodal approach in clinical practice. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 4(3), 139. <https://doi.org/10.1177/1756285611403646>

Jordan, S. D., Krüger, M., Willmes, D. M., Redemann, N., Wunderlich, F. T., Brönneke, H. S., Merkwirth, C., Kashkar, H., Olkkonen, V. M., Böttger, T., Braun, T., Seibler, J., & Brüning, J. C. (2011). Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism. *Nature Cell Biology* 2011 13:4, 13(4), 434–446. <https://doi.org/10.1038/ncb2211>

Junker, A., Hohlfeld, R., & Meinl, E. (2010). The emerging role of microRNAs in multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology* 2010 7:1, 7(1), 56–59. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2010.179>

Junker, A., Krumbholz, M., Eisele, S., Mohan, H., Augstein, F., Bittner, R., Lassmann, H., Wekerle, H., Hohlfeld, R., & Meinl, E. (2009). MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. *Brain*, 132(12), 3342–3352. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWP300>

Kappel, A., & Keller, A. (2017). miRNA assays in the clinical laboratory: workflow, detection technologies and automation aspects. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 55(5), 636–647. <https://doi.org/10.1515/CCLM-2016-0467>

Kellar-Wood, H. F., Wood, N. W., Holmans, P., Clayton, D., Robertson, N., & Compston, D. A. S. (1995). Multiple sclerosis and the HLA-D region: linkage and association studies. In *Journal of Neuroimmunology ELSEVIER Journal of Neuroimmunology* (Vol. 58).

Kerschensteiner, M., Gallmeier, E., Behrens, L., Leal, V. V., Misgeld, T., Klinkert, W. E. F., Kolbeck, R., Hoppe, E., Oropeza-Wekerle, R. L., Bartke, I., Stadelmann, C., Lassmann, H., Wekerle, H., & Hohlfeld, R. (1999). Activated Human T Cells, B Cells, and Monocytes Produce Brain-derived Neurotrophic Factor In Vitro and in Inflammatory Brain Lesions: A Neuroprotective Role of Inflammation? *Journal of Experimental Medicine*, 189(5), 865–870. <https://doi.org/10.1084/JEM.189.5.865>

Ketting, R. F., Fischer, S. E. J., Bernstein, E., Sijen, T., Hannon, G. J., & Plasterk, R. H. A. (2001). Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes & Development*, *15*(20), 2654–2659. <https://doi.org/10.1101/GAD.927801>

Khani-Habibabadi, F., Askari, S., Zahiri, J., Javan, M., & Behmanesh, M. (2019). Novel BDNF-regulatory microRNAs in neurodegenerative disorders pathogenesis: An in silico study. *Computational Biology and Chemistry*, *83*, 107153. <https://doi.org/10.1016/J.COMPBIOLCHEM.2019.107153>

Kim, V. N. (2005). MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005 6:5, *6*(5), 376–385. <https://doi.org/10.1038/nrm1644>

Kim, Y. K., & Kim, V. N. (2007). Processing of intronic microRNAs. *EMBO Journal*, *26*(3), 775–783. https://doi.org/10.1038/SJ.EMBOJ.7601512/SUPPL_FILE/EMBJ7601512-SUP-0003.PDF

Klein, A. B., Williamson, R., Santini, M. A., Clemmensen, C., Ettrup, A., Rios, M., Knudsen, G. M., & Aznar, S. (2011). Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *14*(3), 347–353. <https://doi.org/10.1017/S1461145710000738>

Klineova, S., & Lublin, F. D. (2018). Clinical Course of Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *8*(9). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A028928>

Koch, M., Kingwell, E., Rieckmann, P., & Tremlett, H. (2009). The natural history of primary progressive multiple sclerosis. *Neurology*, *73*(23), 1996–2002. https://doi.org/10.1212/WNL.0B013E3181C5B47F/SUPPL_FILE/TABLE_E-2.DOC

Koch-Henriksen, N., & Magyari, M. (2021). Apparent changes in the epidemiology and severity of multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology* 2021 17:11, *17*(11), 676–688. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00556-y>

Koch-Henriksen, N., & Sørensen, P. S. (2010). The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *The Lancet Neurology*, *9*(5), 520–532. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70064-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70064-8)

Konovalova, J., Gerasymchuk, D., Parkkinen, I., Chmielarz, P., & Domanskyi, A. (2019). Interplay between MicroRNAs and Oxidative Stress in Neurodegenerative

Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23).
<https://doi.org/10.3390/IJMS20236055>

Kozomara, A., & Griffiths-Jones, S. (2011). miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 39(Database issue).
<https://doi.org/10.1093/NAR/GKQ1027>

Kozomara, A., & Griffiths-Jones, S. (2014). miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D68–D73. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1181>

Kowiański, P., Lietzau, G., Czuba, E., Waśkow, M., Steliga, A., & Moryś, J. (2017). BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2017 38:3, 38(3), 579–593.
<https://doi.org/10.1007/S10571-017-0510-4>

Kramer, S., Haghikia, A., Bang, C., Scherf, K., Pfanne, A., Duscha, A., Kaisler, J., Gisevius, B., Gold, R., Thum, T., & Haghikia, A. (2019). Elevated levels of miR-181c and miR-633 in the CSF of patients with MS: A validation study. *Neurology(R) Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 6(6), e623.
<https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000623/ASSET/2C4773AD-CDE1-450F-96D7-815C62EEA6D6/ASSETS/GRAPHIC/NXI.0000000000000623TU1A.JPEG>

Krol, J., Loedige, I., & Filipowicz, W. (2010). The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics* 2010 11:9, 11(9), 597–610. <https://doi.org/10.1038/nrg2843>

Kutzelnigg, A., Lucchinetti, C. F., Stadelmann, C., Brück, W., Rauschka, H., Bergmann, M., Schmidbauer, M., Parisi, J. E., & Lassmann, H. (2005). Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*, 128(11), 2705–2712. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWH641>

Kwon, O. J., Karni, A., Israel, S., Brautbar, C., Amar, A., Meiner, Z., Abramsky, O., & Karussis, D. (1999). HLA Class II Susceptibility to Multiple Sclerosis Among Ashkenazi and Non-Ashkenazi Jews. *Archives of Neurology*, 56(5), 555–560.
<https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.56.5.555>

Lassmann, H., Van Horssen, J., & Mahad, D. (2012). Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nature Reviews Neurology* 2012 8:11, 8(11), 647–656. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.168>

Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambrost, V. (1993). The *C. elegans* Heterochronic Gene *lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-4*. *Cell*, 75, 843–854.

Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Rådmark, O., Kim, S., & Kim, V. N. (2003). The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003 425:6956, 425(6956), 415–419. <https://doi.org/10.1038/nature01957>

Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H., & Kim, V. N. (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO Journal*, 23(20), 4051–4060. https://doi.org/10.1038/SJ.EMBOJ.7600385/SUPPL_FILE/EMBJ7600385-SUP-0001.PDF

Leray, E., Moreau, T., Fromont, A., & Edan, G. (2016). Epidemiology of multiple sclerosis. *Revue Neurologique*, 172(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROL.2015.10.006>

Levin, L. I., Munger, K. L., O'Reilly, E. J., Falk, K. I., & Ascherio, A. (2010). Primary Infection with the Epstein-Barr Virus and Risk of Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology*, 67(6), 824. <https://doi.org/10.1002/ANA.21978>

Li, J., Ghazwani, M., Zhang, Y., Lu, J., Li, J., Fan, J., Gandhi, C. R., & Li, S. (2013). miR-122 regulates collagen production via targeting hepatic stellate cells and suppressing P4HA1 expression. *Journal of Hepatology*, 58(3), 522–528. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2012.11.011>

Li, J., & Zhang, Z. (2013). MiRNA regulatory variation in human evolution. *Trends in Genetics*, 29(2), 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.10.008>

Li, S. C., Chan, W. C., Hu, L. Y., Lai, C. H., Hsu, C. N., & Lin, W. chang. (2010). Identification of homologous microRNAs in 56 animal genomes. *Genomics*, 96(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2010.03.009>

Liguori, M., Fera, F., Gioia, M. C., Valentino, P., Manna, I., Condino, F., Cerasa, A., La Russa, A., Clodomiro, A., Paolillo, A., Nisticò, R., Vercillo, L., Cittadella, R., & Quattrone, A. (2007). Investigating the role of brain-derived neurotrophic factor in relapsing–remitting multiple sclerosis. *Genes, Brain and Behavior*, 6(2), 177–183. <https://doi.org/10.1111/J.1601-183X.2006.00245.X>

Lima Giacobbo, B., Doorduyn, J., Klein, H. C., Dierckx, R. A. J. O., Bromberg, E., & de Vries, E. F. J. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Molecular Neurobiology*, 56(5), 3295–3312. <https://doi.org/10.1007/S12035-018-1283-6>

Lincoln, M. R., Ramagopalan, S. V., Chao, M. J., Herrera, B. M., Deluca, G. C., Orton, S. M., Dymnt, D. A., Sadovnick, A. D., & Ebers, G. C. (2009). Epistasis among HLA-DRB1, HLA-DQA1, and HLA-DQB1 loci determines multiple sclerosis susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(18), 7542–7547. https://doi.org/10.1073/PNAS.0812664106/SUPPL_FILE/0812664106SI.PDF

Long, H., Wang, X., Chen, Y., Wang, L., Zhao, M., & Lu, Q. (2018). Dysregulation of microRNAs in autoimmune diseases: Pathogenesis, biomarkers and potential therapeutic targets. *Cancer Letters*, 428, 90–103. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2018.04.016>

Love, S., Budka, H., Ironside, J., & Perry, A. (2015). Greenfield's Neuropathology, Ninth Edition: 2-Volume Set. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 74(12), 1185–1185. <https://doi.org/10.1093/JNEN/74.12.1185>

Lu, B. (2003). BDNF and Activity-Dependent Synaptic Modulation. *Learning & Memory*, 10(2), 86–98. <https://doi.org/10.1101/LM.54603>

Lublin, F. D., Baier, M., & Cutter, G. (2003). Effect of relapses on development of residual deficit in multiple sclerosis. *Neurology*, 61(11), 1528–1532. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000096175.39831.21/ASSET/AB870D5F-21AF-4626-BBE6-906A44FC962B/ASSETS/GRAPHIC/18FF5.JPEG>

Lublin, F. D., & Reingold, S. C. (1996). Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*, 46(4), 907–911. <https://doi.org/10.1212/WNL.46.4.907>

Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A., Cutter, G. R., Soelberg Sørensen, P., Alan Thompson, Dms. J., Wolinsky, J. S., Balcer, L. J., Brenda Banwell, M., Barkhof, F., Bebo, B., Calabresi, P. A., Clanet, M., Comi, G., Fox, R. J., Freedman, M. S., Goodman, A. D., Inglese, M., Kappos, L., ... Polman, C. H. (2014). *VIEWS & REVIEWS Defining the clinical course of multiple sclerosis The 2013 revisions*. <https://www.neurology.org>

Lucchinetti, C., Brück, W., Parisi, J., Scheithauer, B., Rodriguez, M., Lassmann, H., & Heterogeneity, L. H. (2000). *Heterogeneity of Multiple Sclerosis Lesions: Implications for the Pathogenesis of Demyelination*. <https://doi.org/10.1002/1531-8249>

Lucchinetti, C. F., Popescu, B. F. G., Bunyan, R. F., Moll, N. M., Roemer, S. F., Lassmann, H., Brück, W., Parisi, J. E., Scheithauer, B. W., Giannini, C., Weigand, S. D., Mandrekar, J., & Ransohoff, R. M. (2011). Inflammatory Cortical Demyelination in Early Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, *365*(23), 2188. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1100648>

Luchetti, S., Fransen, N. L., van Eden, C. G., Ramaglia, V., Mason, M., & Huitinga, I. (2018). Progressive multiple sclerosis patients show substantial lesion activity that correlates with clinical disease severity and sex: a retrospective autopsy cohort analysis. *Acta Neuropathologica*, *135*(4), 511–528. <https://doi.org/10.1007/S00401-018-1818-Y/FIGURES/9>

Lund, E., Güttinger, S., Calado, A., Dahlberg, J. E., & Kutay, U. (2004). Nuclear Export of MicroRNA Precursors. *Science*, *303*(5654), 95–98. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1090599/SUPPL_FILE/LUND_SOM.PDF

Luo, M., Pang, Y., Li, J., Yi, L., Wu, B., Tian, Q., He, Y., Wang, M., Xia, L., He, G., Song, W., Du, Y., & Dong, Z. (2024). miR-429-3p mediates memory decline by targeting MKP-1 to reduce surface GluA1-containing AMPA receptors in a mouse model of Alzheimer's disease. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *14*(2), 635–652. <https://doi.org/10.1016/J.APSB.2023.10.015>

Maghzi, A. H., Borazanci, A., McGee, J., Steven Alexander, J., Gonzalez-Toledo, E., & Minagar, A. (2011). Multiple Sclerosis: Pathophysiology, Clinical Features, Diagnosis, and Management. *Neuroinflammation*, 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384913-7.00001-0>

Marcus, J. F., & Waubant, E. L. (2012). Updates on Clinically Isolated Syndrome and Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis. <Http://Dx.Doi.Org/10.1177/1941874412457183>, *3*(2), 65–80. <https://doi.org/10.1177/1941874412457183>

Martinez, B., & Peplow, P. (2020). MicroRNAs in blood and cerebrospinal fluid as diagnostic biomarkers of multiple sclerosis and to monitor disease progression. *Neural Regeneration Research*, *15*(4), 606–619. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.266905>

Mashayekhi, F., Salehi, Z., & Jamalzadeh, H. R. (2012). Quantitative analysis of cerebrospinal fluid brain derived neurotrophic factor in the patients with multiple sclerosis. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 55(2), 83–86. <https://doi.org/10.14712/18059694.2015.60>

Mathur, D., Mishra, B. K., Rout, S., Lopez-Iranzo, F. J., Lopez-Rodas, G., Vallamkondu, J., Kandimalla, R., & Casanova, B. (2021). Potential Biomarkers Associated with Multiple Sclerosis Pathology. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 10323, 22(19), 10323. <https://doi.org/10.3390/IJMS221910323>

Matsumoto, T., Rauskolb, S., Polack, M., Klose, J., Kolbeck, R., Korte, M., & Barde, Y. A. (2008). Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF. *Nature Neuroscience* 2008 11:2, 11(2), 131–133. <https://doi.org/10.1038/nn2038>

McDonald, W. I., Compston, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H. P., Lublin, F. D., McFarland, H. F., Paty, D. W., Polman, C. H., Reingold, S. C., Sandberg-Wollheim, M., Sibley, W., Thompson, A., Van Den Noort, S., Weinshenker, B. Y., & Wolinsky, J. S. (2001). Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology*, 50(1), 121–127. <https://doi.org/10.1002/ana.1032>

Medley, J. C., Panzade, G., & Zinovyeva, A. Y. (2021). microRNA strand selection: Unwinding the rules. *Wiley Interdisciplinary Reviews. RNA*, 12(3). <https://doi.org/10.1002/WRNA.1627>

Miclea, A., Bagnoud, M., Chan, A., & Hoepner, R. (2020). A Brief Review of the Effects of Vitamin D on Multiple Sclerosis. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00781>

Miller, D. H., Chard, D. T., & Ciccarelli, O. (2012). Clinically isolated syndromes. *The Lancet Neurology*, 11(2), 157–169. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70274-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70274-5)

Minichiello, L. (2009). TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nature Reviews Neuroscience* 2009 10:12, 10(12), 850–860. <https://doi.org/10.1038/nrn2738>

Mohr, D. C., Hart, S. L., Julian, L., Cox, D., & Pelletier, D. (2004). Association between stressful life events and exacerbation in multiple sclerosis: a meta-analysis.

BMJ: British Medical Journal, 328(7442), 731.
<https://doi.org/10.1136/BMJ.38041.724421.55>

Mompeón, A., Ortega-Paz, L., Vidal-Gómez, X., Costa, T. J., Pérez-Cremades, D., Garcia-Blas, S., Brugaletta, S., Sanchis, J., Sabate, M., Novella, S., Dantas, A. P., & Hermenegildo, C. (2020). Disparate miRNA expression in serum and plasma of patients with acute myocardial infarction: a systematic and paired comparative analysis. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61507-z>

Moreno-Torres, I., Sabín-Muñoz, J., & García-Merino, A. (2019). Multiple Sclerosis: Epidemiology, Genetics, Symptoms, and Unmet Needs. *RSC Drug Discovery Series*, 2019-January(70), 3–32. <https://doi.org/10.1039/9781788016070-00001>

Moutsianas, L., Jostins, L., Beecham, A. H., Dilthey, A. T., Xifara, D. K., Ban, M., Shah, T. S., Patsopoulos, N. A., Alfredsson, L., Anderson, C. A., Attfield, K. E., Baranzini, S. E., Barrett, J., Binder, T. M. C., Booth, D., Buck, D., Celius, E. G., Cotsapas, C., D'Alfonso, S., ... McVean, G. (2015). Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis. *Nature Genetics* 2015 47:10, 47(10), 1107–1113. <https://doi.org/10.1038/ng.3395>

Munõz-San Martín, M., Reverter, G., Robles-Cedenõ, R., Buxò, M., Ortega, F. J., Gómez, I., Tomàs-Roig, J., Celarain, N., Villar, L. M., Perkal, H., Fernández-Real, J. M., Quintana, E., & Ramió-Torrentà, L. (2019). Analysis of miRNA signatures in CSF identifies upregulation of miR-21 and miR-146a/b in patients with multiple sclerosis and active lesions. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12974-019-1590-5/TABLES/4>

Naegelin, Y., Saeuberli, K., Schaedelin, S., Dingsdale, H., Magon, S., Baranzini, S., Amann, M., Parmar, K., Tsagkas, C., Calabrese, P., Penner, I. K., Kappos, L., & Barde, Y. A. (2020). Levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 7(11), 2251–2261. <https://doi.org/10.1002/ACN3.51215>

Neeta Garg, B., Hu, Y., & Rammohan, K. W. (2018). Seeking Breakthroughs Biomarkers and Multiple Sclerosis Biomarkers have resulted from breakthrough treatments and, in turn, provide targets for more breakthroughs. In *Practical Neurology* (Vol. 49).

Nielsen, N. M., Westergaard, T., Rostgaard, K., Frisch, M., Hjalgrim, H., Wohlfahrt, J., Koch-Henriksen, N., & Melbye, M. (2005). Familial risk of multiple

sclerosis: A nationwide cohort study. *American Journal of Epidemiology*, 162(8), 774–778. <https://doi.org/10.1093/aje/kwi280>

Nociti, V. (2020). What is the role of Brain derived neurotrophic factor in Multiple Sclerosis neuroinflammation? *Neurosciences 2020*;7:291-9., 7(3), 291–299. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2020.25>

Nourbakhsh, B., & Mowry, E. M. (2019). *Multiple Sclerosis Risk Factors and Pathogenesis*. <http://journals.lww.com/continuum>

Number of people with MS | Atlas of MS. (n.d.). Retrieved February 3, 2024, from <https://www.atlasofms.org/map/global/epidemiology/number-of-people-with-ms>

O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9(AUG), 402. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2018.00402>

Okamura, K., Hagen, J. W., Duan, H., Tyler, D. M., & Lai, E. C. (2007). The Mirtron Pathway Generates microRNA-Class Regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell*, 130(1), 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.028>

Ontaneda, D., Hyland, M., & Cohen, J. A. (2012). Multiple Sclerosis: New Insights in Pathogenesis and Novel Therapeutics. <https://doi.org/10.1146/Annurev-Med-042910-135833>, 63, 389–404. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-MED-042910-135833>

Oraby, M. I., El Masry, H. A., Abd El Shafy, S. S., & Abdul Galil, E. M. (2021). Serum level of brain-derived neurotrophic factor in patients with relapsing–remitting multiple sclerosis: a potential biomarker for disease activity. *Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*, 57(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S41983-021-00296-2/TABLES/5>

Ørom, U. A., Nielsen, F. C., & Lund, A. H. (2008). MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. *Molecular Cell*, 30(4), 460–471. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2008.05.001>

Otto, T., Candido, S. V., Pilarz, M. S., Sicinska, E., Bronson, R. T., Bowden, M., Lachowicz, I. A., Mulry, K., Fassl, A., Han, R. C., Jecrois, E. S., & Sicinski, P. (2017). Cell cycle-targeting microRNAs promote differentiation by enforcing cell-cycle exit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(40), 10660–10665. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1702914114/-/Dcsupplemental>

Ömerhoca, S., Yazici Akkaş, S., & Kale İçen, N. (2018). Multiple Sclerosis: Diagnosis and Differential Diagnosis. *Archives of Neuropsychiatry*, 55(Suppl 1), S1. <https://doi.org/10.29399/NPA.23418>

Öztürk, S., Aytaç, G., Kizilay, F., & Sindel, M. (2017). Multiple Sclerosis. *Akdeniz Medical Journal*, 3(3), 137–147. <https://doi.org/10.17954/amj.2017.86>

Pantazou, V., Schlupe, M., & Pasquier, R. Du. (2015). *Environmental factors in multiple sclerosis*. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2015.01.001>

Patsopoulos, N. A. (2018). Genetics of Multiple Sclerosis: An Overview and New Directions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(7), a028951. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A028951>

Patsopoulos, N. A., Barcellos, L. F., Hintzen, R. Q., Schaefer, C., van Duijn, C. M., Noble, J. A., Raj, T., Gourraud, P. A., Stranger, B. E., Oksenberg, J., Olsson, T., Taylor, B. V., Sawcer, S., Hafler, D. A., Carrington, M., De Jager, P. L., de Bakker, P. I. W., Bernardinelli, L., Booth, D., ... Kermode, A. G. (2013). Fine-Mapping the Genetic Association of the Major Histocompatibility Complex in Multiple Sclerosis: HLA and Non-HLA Effects. *PLoS Genetics*, 9(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003926>

Pedroza-Torres, A., Romero-Córdoba, S. L., Justo-Garrido, M., Salido-Guadarrama, I., Rodríguez-Bautista, R., Montaña, S., Muñoz-Mendoza, R., Arriaga-Canon, C., Fragoso-Ontiveros, V., Álvarez-Gómez, R. M., Hernández, G., & Herrera, L. A. (2019). MicroRNAs in Tumor Cell Metabolism: Roles and Therapeutic Opportunities. *Frontiers in Oncology*, 9, 1404. <https://doi.org/10.3389/FONC.2019.01404>

Petereit, H. F., Lindemann, H., & Schoppe, S. (2003). Effect of immunomodulatory drugs on in vitro production of brain-derived neurotrophic factor. [Http://Dx.Doi.Org/10.1191/1352458503ms869oa](http://Dx.Doi.Org/10.1191/1352458503ms869oa), 9(1), 16–20. <https://doi.org/10.1191/1352458503MS869OA>

Pliakou, E., Lampropoulou, D. I., Dovrolis, N., Chrysikos, D., Filippou, D., Papadimitriou, C., Vezakis, A., Aravantinos, G., & Gazouli, M. (2022). Circulating miRNA Expression Profiles and Machine Learning Models in Association with Response to Irinotecan-Based Treatment in Metastatic Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1). <https://doi.org/10.3390/IJMS24010046>

Podshivalova, K., & Salomon, D. R. (2013). microRNA regulation of T lymphocyte immunity: modulation of molecular networks responsible for T cell activation, differentiation and development. *Critical Reviews in Immunology*, 33(5), 435. <https://doi.org/10.1615/CRITREVIMMUNOL.2013006858>

Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Lublin, F. D., Montalban, X., O'Connor, P., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A. J., Waubant, E., Weinshenker, B., & Wolinsky, J. S. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology*, 69(2), 292–302. <https://doi.org/10.1002/ana.22366>

Popescu, B. F. G., & Lucchinetti, C. F. (2012). Pathology of Demyelinating Diseases. *Https://Doi.Org/10.1146/Annurev-Pathol-011811-132443*, 7, 185–217. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PATHOL-011811-132443>

Poser, C. M. (1986). Pathogenesis of multiple sclerosis - A critical reappraisal. *Acta Neuropathologica*, 71(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00687954/METRICS>

Poser, C. M., Paty, D. W., Scheinberg, L., McDonald, W. I., Davis, F. A., Ebers, G. C., Johnson, K. P., Sibley, W. A., Silberberg, D. H., & Tourtellotte, W. W. (n.d.). *New Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Guidelines for Research Protocols*. <https://doi.org/10.1002/ana.410130302>

Prat, A., & Antel, J. (2005). Pathogenesis of multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*, 18(3), 225–230. <https://doi.org/10.1097/01.WCO.0000169737.99040.31>

Qi, R., & Wang, X. (2020). Inhibition of miR-429 improves neurological recovery of traumatic brain injury mice and attenuates microglial neuroinflammation. *International Immunopharmacology*, 79, 106091. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2019.106091>

Reichardt, L. F. (2006). Neurotrophin-regulated signalling pathways. In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 361, Issue 1473, pp. 1545–1564). Royal Society. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1894>

Ristori, G., Cannoni, S., Stazi, M. A., Vanacore, N., Cotichini, R., Alfò, M., Pugliatti, M., Sotgiu, S., Solaro, C., Bompreszi, R., Di Giovanni, S., Talamanca, L. F., Nisticò, L., Fagnani, C., Neale, M. C., Cascino, I., Giorgi, G., Battaglia, M. A., Buttinelli, C., ... Salvetti, M. (2006). Multiple sclerosis in twins from continental Italy

and Sardinia: A nationwide study. *Annals of Neurology*, 59(1), 27–34.
<https://doi.org/10.1002/ana.20683>

Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: An update. *Neurological Sciences*, 22(2), 117–139.
<https://doi.org/10.1007/S100720170011/METRICS>

Ruby, J. G., Jan, C. H., & Bartel, D. P. (2007). Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature* 2007 448:7149, 448(7149), 83–86.
<https://doi.org/10.1038/nature05983>

Sahraian, M. A., & Eshaghi, A. (2010). Role of MRI in diagnosis and treatment of multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 112(7), 609–615.
<https://doi.org/10.1016/J.CLINEURO.2010.03.022>

Sand, I. K. (2015). Classification, diagnosis, and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*, 28(3), 193–205.
<https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000206>

Sarchielli, P., Greco, L., Stipa, A., Floridi, A., & Gallai, V. (2002). Brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 132(1–2), 180–188. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(02\)00319-3](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(02)00319-3)

Sarıdaş, F. (2018). Multiple skleroz gelişimi ile ilişkili miRNA'ların araştırılması Uzmanlık tezi. Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Bursa.

Saruhan-Direskeneli, G., Esin, S., Baykan-Kurt, B., Örnek, I., Vaughan, R., & Eraksoy, M. (1997). HLA-DR and -DQ Associations with Multiple Sclerosis in Turkey. *Human Immunology*, 55(1), 59–65. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(97\)00086-4](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(97)00086-4)

Sawcer, S., Hellenthal, G., Pirinen, M., Spencer, C. C. A., Patsopoulos, N. A., Moutsianas, L., Dilthey, A., Su, Z., Freeman, C., Hunt, S. E., Edkins, S., Gray, E., Booth, D. R., Potter, S. C., Goris, A., Band, G., Oturai, A. B., Strange, A., Saarela, J., ... Compston, A. (2011). Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*, 476(7359), 214.
<https://doi.org/10.1038/NATURE10251>

Schaeffer, J., Cossetti, C., Mallucci, G., & Pluchino, S. (2015). Multiple Sclerosis. In *Neurobiology of Brain Disorders: Biological Basis of Neurological and Psychiatric Disorders* (pp. 497–520). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398270-4.00030-6>

Selbach, M., Schwanhäusser, B., Thierfelder, N., Fang, Z., Khanin, R., & Rajewsky, N. (2008). Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008 455:7209, 455(7209), 58–63. <https://doi.org/10.1038/nature07228>

Sempere, L. F., Azmi, A. S., & Moore, A. (2021). microRNA-based diagnostic and therapeutic applications in cancer medicine. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 12(6), e1662. <https://doi.org/10.1002/WRNA.1662>

Shah, A., Panchal, V., Patel, K., Alimohamed, Z., Kaka, N., Sethi, Y., & Patel, N. (2023). Pathogenesis and management of multiple sclerosis revisited. *Disease-a-Month*, 69(9), 101497. <https://doi.org/10.1016/J.DISAMONTH.2022.101497>

Shlomchik, M. J., Craft, J. E., & Mamula, M. J. (2001). From T to B and back again: positive feedback in systemic autoimmune disease. *Nature Reviews Immunology* 2001 1:2, 1(2), 147–153. <https://doi.org/10.1038/35100573>

Shoeibi, A., Khodatars, M., Jafari, M., Moridian, P., Rezaei, M., Alizadehsani, R., Khozeimeh, F., Gorriz, J. M., Heras, J., Panahiazar, M., Nahavandi, S., & Acharya, U. R. (2021). Applications of deep learning techniques for automated multiple sclerosis detection using magnetic resonance imaging: A review. *Computers in Biology and Medicine*, 136, 104697. <https://doi.org/10.1016/J.COMPBIOMED.2021.104697>

Sinnecker, T., Mittelstaedt, P., Dörr, J., Pfueller, C. F., Harms, L., Niendorf, T., Paul, F., & Wuerfel, J. (2012). Multiple Sclerosis Lesions and Irreversible Brain Tissue Damage: A Comparative Ultrahigh-Field Strength Magnetic Resonance Imaging Study. *Archives of Neurology*, 69(6), 739–745. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUROL.2011.2450>

Skog, J., Würdinger, T., van Rijn, S., Meijer, D. H., Gainche, L., Curry, W. T., Carter, B. S., Krichevsky, A. M., & Breakefield, X. O. (2008). Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nature Cell Biology* 2008 10:12, 10(12), 1470–1476. <https://doi.org/10.1038/ncb1800>

Soldan, S. S., & Lieberman, P. M. (2023). Epstein–Barr virus and multiple sclerosis. *Nature Reviews. Microbiology*, 21(1), 51. <https://doi.org/10.1038/S41579-022-00770-5>

Srikok, S., & Chuammitri, P. (2016). *MicroRNAs as a potential biomarker in bovine mastitis*. <https://doi.org/10.14456/cmvt.2016.1>

Stadelmann, C., Kerschensteiner, M., Misgeld, T., Brück, W., Hohlfeld, R., & Lassmann, H. (2002). BDNF and gp145trkB in multiple sclerosis brain lesions: neuroprotective interactions between immune and neuronal cells? *Brain : A Journal of Neurology*, *125*(Pt 1), 75–85. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWF015>

Stangel, M., Fredrikson, S., Meinl, E., Petzold, A., Stüve, O., & Tumani, H. (2013). The utility of cerebrospinal fluid analysis in patients with multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology* *2013* *9:5*, *9*(5), 267–276. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.41>

Stavast, C. J., & Erkeland, S. J. (2019). The Non-Canonical Aspects of MicroRNAs: Many Roads to Gene Regulation. *Cells*, *8*(11). <https://doi.org/10.3390/CELLS8111465>

Stefani, G., & Slack, F. J. (2008). Small non-coding RNAs in animal development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* *2008* *9:3*, *9*(3), 219–230. <https://doi.org/10.1038/nrm2347>

Stevenson, V. L., Miller, D. H., Rovaris, M., Barkhof, F., Brochet, B., Dousset, V., Dousset, V., Filippi, M., Montalban, X., Polman, C. H., Rovira, A., De Sa, J., & Thompson, A. J. (1999). Primary and transitional progressive MS: A clinical and MRI cross-sectional study. *Neurology*, *52*(4), 839–845. <https://doi.org/10.1212/WNL.52.4.839>

Stys, P. K., & Tsutsui, S. (2019). Recent advances in understanding multiple sclerosis. In *F1000Research* (Vol. 8). F1000 Research Ltd. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20906.1>

Teplyuk, N. M., Mollenhauer, B., Gabriely, G., Giese, A., Kim, E., Smolsky, M., Kim, R. Y., Saria, M. G., Pastorino, S., Kesari, S., & Krichevsky, A. M. (2012). MicroRNAs in cerebrospinal fluid identify glioblastoma and metastatic brain cancers and reflect disease activity. *Neuro-Oncology*, *14*(6), 689–700. <https://doi.org/10.1093/NEUONC/NOS074>

Tian, X., Wei, Z., Wang, J., Liu, P., Qin, Y., & Zhong, M. (2015). MicroRNA-429 inhibits the migration and invasion of colon cancer cells by targeting PAK6/cofilin signaling. *Oncology Reports*, *34*(2), 707–714. <https://doi.org/10.3892/OR.2015.4039>

Tintoré, M., Rovira, A., Río, J., Tur, C., Pelayo, R., Nos, C., Téllez, N., Perkal, H., Comabella, M., Sastre-Garriga, J., & Montalban, X. (2008). Do oligoclonal bands

add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology*, 70 (13 PART 2),1079–1083. <https://doi.org/10.1212/01>.

Tintore, M., Vidal-Jordana, A., & Sastre-Garriga, J. (2018). Treatment of multiple sclerosis — success from bench to bedside. *Nature Reviews Neurology* 2018 15:1, 15(1), 53–58. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0082-z>

Tomassini, V., Sinclair, A., Sawlani, V., Overell, J., Pearson, O. R., Hall, J., & Guadagno, J. (2020). Diagnosis and management of multiple sclerosis: MRI in clinical practice. *Journal of Neurology*, 267(10), 2917–2925. <https://doi.org/10.1007/S00415-020-09930-0/TABLES/2>

Tongiorgi, E., Sartori, A., Baj, G., Bratina, A., Di Cola, F., Zorzon, M., & Pizzolato, G. (2012). Altered serum content of brain-derived neurotrophic factor isoforms in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 320(1–2), 161–165. <https://doi.org/10.1016/J.JNS.2012.07.016>

Tonra, J. R., Curtis, R., Wong, V., Cliffer, K. D., Park, J. S., Timmes, A., Nguyen, T., Lindsay, R. M., Acheson, A., & DiStefano, P. S. (1998). Axotomy Upregulates the Anterograde Transport and Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor by Sensory Neurons. *Journal of Neuroscience*, 18(11), 4374–4383. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-11-04374.1998>

Treiber, T., Treiber, N., & Meister, G. (2018). Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2018 20:1, 20(1), 5–20. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0059-1>

Tremlett, H., Zhu, F., Ascherio, A., & Munger, K. L. (2018). Sun exposure over the life course and associations with multiple sclerosis. *Neurology*, 90(14), e1191. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000005257>

Tribolet, L., Kerr, E., Cowled, C., Bean, A. G. D., Stewart, C. R., Dearnley, M., & Farr, R. J. (2020). MicroRNA Biomarkers for Infectious Diseases: From Basic Research to Biosensing. *Frontiers in Microbiology*, 11, 540221. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.01197/BIBTEX>

Tumani, H., Hartung, H. P., Hemmer, B., Teunissen, C., Deisenhammer, F., Giovannoni, G., & Zettl, U. K. (2009). Cerebrospinal fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Neurobiology of Disease*, 35(2), 117–127. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2009.04.010>

- Uria, D. F. (2002). Genetic epidemiology of multiple sclerosis. *Revista de Neurologia*, 35(10), 979–984. <https://doi.org/10.33588/rn.3510.2002378>
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature Cell Biology* 2007 9:6, 9(6), 654–659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- van den Berg, R., Hoogenraad, C. C., & Hintzen, R. Q. (2017). Axonal transport deficits in multiple sclerosis: spiraling into the abyss. *Acta Neuropathologica* 2017 134:1, 134(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/S00401-017-1697-7>
- Vasudevan, S. (2012). Posttranscriptional Upregulation by MicroRNAs. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 3(3), 311–330. <https://doi.org/10.1002/WRNA.121>
- Vickers, K. C., Palmisano, B. T., Shoucri, B. M., Shamburek, R. D., & Remaley, A. T. (2011). MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nature Cell Biology* 2011 13:4, 13(4), 423–433. <https://doi.org/10.1038/ncb2210>
- Vollmer, T. (2007). The natural history of relapses in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 256 Suppl 1(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1016/J.JNS.2007.01.065>
- Von Bartheld, C. S., Williams, R., Lefcort, F., Clary, D. O., Reichardt, L. F., & Bothwell, M. (1996). Retrograde Transport of Neurotrophins from the Eye to the Brain in Chick Embryos: Roles of the p75NTR and trkB Receptors. *Journal of Neuroscience*, 16(9), 2995–3008. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-09-02995.1996>
- Wang, K., Yuan, Y., Cho, J. H., McClarty, S., Baxter, D., & Galas, D. J. (2012). Comparing the MicroRNA Spectrum between Serum and Plasma. *PLoS ONE*, 7(7), 41561. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0041561>
- Wang, K., Zhang, S., Weber, J., Baxter, D., & Galas, D. J. (2010). Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Research*, 38(20), 7248–7259. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKQ601>
- Ward, M., & Goldman, M. D. (2022). *Epidemiology and Pathophysiology of Multiple Sclerosis*. <http://journals.lww.com/continuum>
- Weinshenker, B. G. (1996). EPIDEMIOLOGY OF MULTIPLE SCLEROSIS. *Neurologic Clinics*, 14(2), 291–308. [https://doi.org/10.1016/S0733-8619\(05\)70257-7](https://doi.org/10.1016/S0733-8619(05)70257-7)

Weinshenker, B. G., Bass, B., Rice, G. P. A., Noseworthy, J., Carriere, W., Baskerville, J., & Ebers, G. C. (1989). The Natural History Of Multiple Sclerosis: A Geographically Based Study: I. Clinical Course And Disability. *Brain*, *112*(1), 133–146. <https://doi.org/10.1093/Brain/112.1.133>

Wu, B. W., Wu, M. S., & Guo, J. D. (2018). Retracted: Effects of microRNA-10a on synapse remodeling in hippocampal neurons and neuronal cell proliferation and apoptosis through the BDNF-TrkB signaling pathway in a rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Cellular Physiology*, *233*(7), 5281–5292. <https://doi.org/10.1002/JCP.26328>

Yalachkov, Y., Anschutz, V., Jakob, J., Schaller-Paule, M. A., Schäfer, J. H., Reiländer, A., Friedauer, L., Behrens, M., Steffen, F., Bittner, S., & Foerch, C. (2022). Brain-derived neurotrophic factor and neurofilament light chain in cerebrospinal fluid are inversely correlated with cognition in Multiple Sclerosis at the time of diagnosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, *63*, 103822. <https://doi.org/10.1016/J.MSARD.2022.103822>

Yang, J., Siao, C. J., Nagappan, G., Marinic, T., Jing, D., McGrath, K., Chen, Z. Y., Mark, W., Tessarollo, L., Lee, F. S., Lu, B., & Hempstead, B. L. (2009). Neuronal release of proBDNF. *Nature Neuroscience* *2009* *12*:2, *12*(2), 113–115. <https://doi.org/10.1038/nn.2244>

Yoshida, T., Ishikawa, M., Niitsu, T., Nakazato, M., Watanabe, H., Shiraishi, T., Shiina, A., Hashimoto, T., Kanahara, N., Hasegawa, T., Enohara, M., Kimura, A., Iyo, M., & Hashimoto, K. (2012). Decreased Serum Levels of Mature Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), but Not Its Precursor proBDNF, in Patients with Major Depressive Disorder. *PLOS ONE*, *7*(8), e42676. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0042676>

Zhang, Q., Su, J., Kong, W., Fang, Z., Li, Y., Huang, Z., Wen, J., & Wang, Y. (2021). Roles of miR-10a-5p and miR-103a-3p, Regulators of BDNF Expression in Follicular Fluid, in the Outcomes of IVF-ET. *Frontiers in Endocrinology*, *12*, 637384. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2021.637384/BIBTEX>

Zhai, L., Li, Y., Lan, X., & Ai, L. (2017). MicroRNA-10a-5p suppresses cancer proliferation and division in human cervical cancer by targeting BDNF. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *14*(6), 6147–6151. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5312>

EK-2: ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ
İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

Araştırmanın Başlığı: Multipl Skleroz Hastalarında BDNF geni mRNA ekspresyonu ile hsa-miR-10a-5p ve hsa-miR-429-3p ekspresyonları arasındaki ilişkinin araştırılması					
Proje Danışmanı: Doç. Dr. Muradiye ACAR					
Sorumlu Araştırmacı: Prof. Dr. Murat KÜRTÜNCÜ					
Yardımcı Araştırmacı: Doç. Dr. Huri DEDEAKAYOĞULLARI Öğr. Gör. Serdar ÖZTÜRK Ecem Ayşegül SARIALIOĞLU					
Toplantı Tarihi:	04.04.2024	Toplantı Sayısı:	2024/03	Protokol No:	24-99

SONUÇ

<input checked="" type="checkbox"/> Uygun
<input type="checkbox"/> Düzeltme gereklidir:
<input type="checkbox"/> Görevsizdir; Gerekçe, Görüş, Tavsiye ve Açıklamalar:

Başvuruda bulunduğunuz başvuru dosyası ve ilgili belgeleri İstinye Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir

Prof. Dr. Semra ŞARDAŞ
Etik Kurul Başkanı

EK-5: İNTİHAL RAPORU

MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA BDNF GENİ MRNA EKSPRESYONU İLE HSA-MİR-10A-5P VE HSA-MİR-429-3P EKSPRESYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 13	% 10	% 7	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	3
2	Submitted to Fırat Üniversitesi Öğrenci Ödevi	2
3	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	1
4	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	1
5	Saridas, Furkan. "Multiple Skleroz Gelisimi Ile Iliskili Mirna'larin Arastirilmesi", Bursa Uludag University (Turkey), 2022 Yayın	<1
6	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<1
7	www.science.gov İnternet Kaynağı	<1

