



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**OKSİDATİF STRES MARKERLARI;
ISI ŞOK PROTEİNİ-70 (HSP-70), VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ-A (VEGF-A), HIPOKSİ İLE İNDÜKLENEN
FAKTÖR-1ALFA (HIF-1 α) VE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-7 (MMP-7) SERUM DÜZEYLERİNİN
RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ
HASTALARINDA RELAPS VE REMİSYON DÖNEMLERİNDE
ÖLÇÜMÜ İLE HASTALIK OLUŞUMUNA KATKILARININ
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Dr. Burak AKPEK
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Aylin AKÇALI**

GAZİANTEP-2023

**T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**OKSİDATİF STRES MARKERLARI;
ISI ŞOK PROTEİNİ-70 (HSP-70), VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ-A (VEGF-A), HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN
FAKTÖR-1ALFA (HIF-1 α) VE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-7 (MMP-7) SERUM DÜZEYLERİNİN
RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ
HASTALARINDA RELAPS VE REMİSYON DÖNEMLERİNDE
ÖLÇÜMÜ İLE HASTALIK OLUŞUMUNA KATKILARININ
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Dr. Burak AKPEK
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Aylin AKÇALI**

GAZIANTEP-2023

TEZ ONAY SAYFASI

TC.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**OKSİDATİF STRES MARKERLARI;
ISI ŞOK PROTEİNİ-70 (HSP-70), VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ-A (VEGF-A), HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN
FAKTÖR-1ALFA (HIF-1 α) VE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-7 (MMP-7) SERUM DÜZEYLERİNİN
RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ
HASTALARINDA RELAPS VE REMİSYON DÖNEMLERİNDE
ÖLÇÜMÜ İLE HASTALIK OLUŞUMUNA KATKILARININ
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Burak AKPEK
14.11.2023

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....
Prof.Dr. Şevki Hakan EREN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....
Prof.Dr. Sırma GEYİK
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....
Prof.Dr. Aylin AKÇALI
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof.Dr. Aylin AKÇALI (İmza)
2. Prof.Dr. Sırma GEYİK (İmza)
3. Dr.Öğr.Üyesi Sedat YAŞİN (İmza)

I. TEŞEKKÜR

Asistanlık sürecim boyunca benden mesleki bilgisini ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen başta tez danışmanım ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aylin Akçalı olmakla birlikte kıymetli hocalarım Prof. Dr. Semih Giray, Prof. Dr. Sırma Geyik, Doç. Dr. Yusuf İnanç, Doç. Dr. Halil Ay, Dr. Öğr. Üyesi Fatih Koçtürk ve Dr. Öğr. Üyesi Sedat Yaşın'e

Tezimin hazırlanması sürecinde desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Elif İşbilen'e, laboratuvar aşamasındaki değerli katkıları için Arş. Gör. Hasan Ulusal'a, tezimin istatistiksel analizi aşamasında kıymetli emekleri olan Öğr. Gör. Tanyeli Kazaz'a, hasta verilerine ulaşmamdaki yardımlarından dolayı klinik destek hemşiremiz Dicle Güneş'e,

Birlikte severek çalıştığım tüm asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

İyi günde kötü günde hep yanımda olan ve desteğini kalbimde hissettiğim sevgili eşim Dr. Meryem Acele Akpek'e ve şans meleğim, canım oğlum Mete'ye
Bu günlere gelmemde büyük emekleri olan kıymetli ailem; annem, babam ve ablama sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Burak AKPEK

Gaziantep 2023

II. ÖZET

OKSİDATİF STRES MARKERLARI; ISI ŞOK PROTEİNİ-70 (HSP-70), VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ-A (VEGF-A), HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FAKTÖR-1ALFA (HIF-1 α) VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-7 (MMP-7) SERUM DÜZEYLERİNİN RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA RELAPS VE REMİSYON DÖNEMLERİNDE ÖLÇÜMÜ İLE HASTALIK OLUŞUMUNA KATKILARININ ARAŞTIRILMASI

Dr Burak AKPEK

Tıpta Uzmanlık Tezi, Nöroloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aylin AKÇALI

GAZİANTEP- Kasım 2023

Multipl Skleroz (MS) dünyada genç erişkinlerdeki nörolojik yeti kaybının en sık sebebidir. İmmün yanıt kaynaklı santral sinir sistemi iltihabı MS patogeneğinde ana etmendir. Son yıllarda oksidatif stres ve inflamasyonun neden olduğu doku hasarının da hastalık oluşumuna katkı sunduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji polikliniğinde Relapsing Remitting Multipl Skleroz (RRMS) tanısı ile takip edilen hastalarda oksidatif stresin hastalık oluşumuna katkılarını araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışma prospektif olarak yapılmıştır. Çalışmaya 2017 revize McDonald kriterlerine göre RRMS tanısı almış 142 hasta ile 39 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. 71 hasta atak döneminde alınmış, bu hastalardan metilprednizolon tedavisi öncesi ve sonrası kan örnekleri toplanmıştır. Son 1 yılda atak geçirmeyen 71 hasta remisyon grubu olarak alınmış, sağlıklı gönüllüler ise kontrol grubuna dahil edilmiştir. Çalışma için oksidatif stres markerları HIF-1 α , HSP-70, MMP-7 ve VEGF-A molekülleri seçilmiştir. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF.UT.22.58 proje no ile kabul edilmiş ve elisa kitleri birim desteği ile temin edilmiştir.

Çalışmaya alınan tüm olguların yaş, cinsiyet, engellilik durumları, hastalık tanısı aldıklarından beri geçen süre ve hastalık modifiye edici ajan kullanıp kullanmadıkları kaydedilmiştir. Elde edilen verilerin analizinde SPSS 22.0 Windows versiyon paket programı kullanılmıştır. P<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

Sonuç olarak; HIF-1 α , HSP-70, MMP-7 ve VEGF-A moleküllerinin MS hastalarında oksidatif stres belirteci olarak kullanılmasının istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar göstermediği, ayrıca bu moleküllerin kan düzeylerinin yaş, cinsiyet, hastalık süresi ve EDSS ile de istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyonu olmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Multipl Skleroz, Oksidatif Stres, Isı Şok Proteini-70 (Hsp-70), Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-a (Vegf-a), Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1alfa (Hif-1 α)

III. ABSTRACT

OXIDATIVE STRESS MARKERS; INVESTIGATION OF THE CONTRIBUTION OF HEAT SHOCK PROTEIN-70 (HSP-70), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A (VEGF-A), HYPOXIA-INDUCED FACTOR-1ALPHA (HIF-1 α) AND MATRIX METALLOPROTEINASE-7 (MMP-7) SERUM LEVELS IN RELAPSING-REMITTING MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS DURING RELAPSE AND REMISSION PERIODS

Dr. Burak AKPEK

Specialization Thesis in Medicine, Department of Neurology

Thesis Advisor: Prof. Dr. Aylin AKÇALI

GAZIANTEP- November 2023

Multiple Sclerosis (MS) is the most common cause of neurological disability in young adults worldwide. Immune response-induced central nervous system inflammation is the main factor in the pathogenesis of MS. In recent years, tissue damage caused by oxidative stress and inflammation is also thought to contribute to disease development.

In this study, we aimed to investigate the contribution of oxidative stress to disease development in patients with Relapsing Remitting Multiple Sclerosis (RRMS) in Gaziantep University Faculty of Medicine Neurology outpatient clinic.

The study was conducted prospectively. The study included 142 patients diagnosed with RRMS according to the 2017 revised McDonald criteria and 39 healthy volunteers. 71 patients were enrolled during the attack period, and blood samples were collected from these patients before and after methylprednisolone treatment. Seventy-one patients who did not have an attack in the last 1 year were included in the remission group and healthy volunteers were included in the control group. Oxidative stress markers HIF-1 α , HSP-70, MMP-7 and VEGF-A molecules were selected for the study. The study was accepted by Gaziantep University Scientific Research Projects Unit with project number TF.UT.22.58 and elisa kits were obtained with the support of the unit.

Age, gender, disability status, time since the diagnosis of the disease and the use of disease-modifying agents were recorded for all patients included in the study. SPSS 22.0 Windows version package program was used to analyze the data obtained. P<0.05 was considered significant.

In conclusion, the use of HIF-1 α , HSP-70, MMP-7 and VEGF-A molecules as oxidative stress markers in MS patients did not show statistically significant results, and the blood levels of these molecules did not have a statistically significant correlation with age, gender, disease duration and EDSS.

Keywords: Multiple Sclerosis, Oxidative Stress, Heat Shock Protein-70 (Hsp-70), Vascular Endothelial Growth Factor-a (Vegf-a), Hypoxia-Induced Factor-1alpha (Hif-1 α)

IV-İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR	iv
II. ÖZET	v
III. ABSTRACT	vi
IV-İÇİNDEKİLER	vii
V.KISALTMALAR	ix
VI-ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
VII-TABLolar LİSTESİ	xii
1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
2.1 Multipl Skleroz	3
2.1.1 Tanım-Tarihçe	3
2.1.2 Epidemiyoloji.....	3
2.1.3 Etyoloji	4
2.1.3.1 Otoimmünite	4
2.1.3.2 Genetik	5
2.1.3.3 Enfeksiyonlar	6
2.1.3.4 Diğer Nedenler	6
2.1.4 İmmünpatogenez	7
2.1.5 Klinik Seyir Tipleri	8
2.1.5.1 Klinik İzole Sendrom (KIS)	8
2.1.5.2 Relapsing Remitting MS (RRMS)	8
2.1.5.3 Progresif Seyreden MS	9
2.1.5.4 Radyolojik İzole Sendrom (RIS)	10
2.1.6 Klinik Belirti ve Bulgular	10
2.1.6.1 Duyusal Belirtiler	12
2.1.6.2 Motor Belirti ve Bulgular	12
2.1.6.3 Görsel Belirti ve Bulgular	12
2.1.6.4 Serebellar Belirti ve Bulgular	13
2.1.6.5 Bilişsel (Kognitif) Bozukluklar	13
2.1.6.6 Genitoüriner İşlev Bozuklukları	14
2.1.6.7 Diğer Bulgular	14

2.1.7 Tanı	14
2.1.8 Ayırıcı Tanı	17
2.1.9 Prognoz	17
2.1.10 MS'de Özürlülük Durumu	18
2.1.11 Tedavi	19
2.1.11.1 Akut Atak Tedavisi	19
2.1.11.2 Önleyici Tedavi (Hastalık Modifiye Edici Tedavi	21
2.1.11.2.1 Enjeksiyon Tedavileri	22
2.1.11.2.2 Oral Tedaviler	23
2.1.11.2.3 Monoklonal Antikorlar	25
2.1.11.2.4 Diğer İmmünsüpresif Tedaviler	28
2.1.11.3 Semptomatik Tedavi	28
2.2 MS ve Oksidatif Stres	29
2.2.1 MS'te Oksidatif Stres Belirteçleri	29
2.2.1.1 Isı Şok Proteini-70 (HSP-70)	29
2.2.1.2 Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa (HIF-1 α)	30
2.2.1.3 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGF-A)	31
2.2.1.4 Matriks Metalloproteinaz-7 (MMP-7)	31
3-GEREÇ ve YÖNTEM	32
3.1 Dahil Edilme Kriterleri	33
3.2 Dışlanma Kriterleri	33
3.3. Değerlendirme Parametreleri	33
3.3.1 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	33
3.3.2 Genişletilmiş Özürlülük Durumu Ölçeği	33
3.3.3 HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 Serum Düzeyleri Ölçümü.....	34
3.3.3.1 Isı Şok Proteini-70 (HSP-70)	34
3.3.3.2 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGF-A)	34
3.3.3.3 Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa (HIF-1 α)	35
3.3.3.4 Matriks Metalloproteinaz-7 (MMP-7)	35
3.4 İstatistiksel Analiz	36
4-BULGULAR	37
4.1 Araştırma Popülasyonunun Genel Özellikleri	37
4.2 Oksidatif Stres Belirteçleri ile İlgili Parametreler	40

5- TARTIŞMA	46
6- SONUÇ ve ÖNERİLER	52
7-KAYNAKLAR	53
8-EKLER	76



V.KISALTMALAR

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
ADEM	: Akut Dissemine Ensefalomyelit
AH	: Alzheimer Hastalığı
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALS	: Amniyotrofik Lateral Skleroz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CMV	: Sitomegalovirus
CRP	: C-reaktif Protein
DMF	: Dimetilfumarat
DTR	: Derin Tendon Refleksi
EAE	: Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit
EBV	: Epstein-Barr Virus
EDSS	: Expanded Disability Status Scale
EKG	: Elektrokardiyografi
ELİSA	: Enzime Bağlı İmmünsorbent Deneyi
ESH	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
GA	: Glatiramer Asetat
HHV-6	: Human Herpes Virüs- 6
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HLA	: Human Leucocyte Antigen
HPA	: Hipotalamo-Pituiter-Adrenal
HTLV-1	: Human T-lenfotropik Virüs-1
HSP-70	: Heat Shock Protein-70
HİF-1α	: Hypoxia İnducible Factor-1 Alpha
İFN	: İnterferon
İGG	: İmmünglobulin G

İL-2	: İnterlökin-2
İNO	: İnternükleer Oftalmopleji
İVİG	: İntravenöz İmmünglobulin
İVMP	: İntravenöz Metilprednizolon
JCV	: John Cunningham Virüs
KCFT	: Karaciğer Fonksiyon Testleri
KİS	: Klinik İzole Sendrom
MLF	: Medial Longitudinal Fasikulus
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
OKB	: Oligoklonal Band
ON	: Optik Nörit
PML	: Progresif Multifokal Lökensefalopati
PPMS	: Primer Progresif Multipl Skleroz
RİS	: Radyolojik İzole Sendrom
RRMS	: Relapsing Remitting Multipl Skleroz
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TFT	: Tiroid Fonksiyon Testleri
TH1	: T Helper-1
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
VEGF-A	: Vasküler Endotelyal Growth Faktör-A

VI-ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. 1996 ve 2013 yıllarında yapılan relapsing form tanımlaması	9
Şekil 2.2. 1996 ve 2013 yıllarında yapılan progresif form tanımlama ve sınıflaması	10
Şekil 2.3. MS tanı algoritması	15
Şekil 2.4. MS'de kötü prognostik faktörler	18
Şekil 2.5. MS EDSS puanlarına göre fonksiyonel durum	19
Şekil 2.6. MS'de kullanılan monoklonal antikörlerin etki mekanizmaları	27



VII-TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. MS ile ilişkili olduğu düşünülen enfeksiyöz etkenler	6
Tablo 2.2. MS başlangıcında görülen semptomlar ve sıklıkları	11
Tablo 2.3. MS'de herhangi bir zamanda görülen semptomlar ve oranları	11
Tablo 2.4. 2017 Revize MC Donald tanı kriterleri	16
Tablo 2.5. MS ayırıcı tanısında yer alan hastalıklar.....	17
Tablo 2.6. Pulse IVMP öncesinde yapılması gereken tetkikler	20
Tablo 2.7. Pulse prednol tedavisi olası yan etkileri	21
Tablo 2.8. Plazmaferez olası komplikasyonlar.....	21
Tablo 2.9. İnterferon beta'lar: Uygulama, yan etkiler, izlem	22
Tablo 2.10. Glatiramer asetat: Uygulama, yan etkiler, izlem	23
Tablo 2.11. Fingolimod kullanımı öncesi ve sırasında yapılması gereken testler, kontrendikasyonlar	24
Tablo 4.1. Genel Tanımlayıcı Özellikler-1, Gruplara Göre Yaş, EDSS ve Hastalık Süresi Ortalamaları	38
Tablo 4.2. Genel Tanımlayıcı Özellikler-2, Gruplara Göre Cinsiyet ve İlaç Kullanım Oranları.....	38
Tablo 4.3. Genel Tanımlayıcı Özellikler-3, EDSS'nin Yaş ve Hastalık Süresiyle İlişkisi ..	39
Tablo 4.4. Genel Tanımlayıcı Özellikler-4, EDSS'nin Cinsiyetle İlişkisi	39
Tablo 4.5. Oksidatif Stres Belirteçleri-1, Grup 1 Tedavi Öncesi ve Sonrası Değerler.....	40
Tablo 4.6. Oksidatif Stres Belirteçleri-2, 4 Molekülün Gruplara Göre Ortalama Değerleri	40
Tablo 4.7. Oksidatif Stres Belirteçleri-3, 4 Molekülün Gruplar Arası Karşılaştırması.....	41
Tablo 4.8. Oksidatif Stres Belirteçleri-4, Grup 1 için 4 Molekülün Yaş, Hastalık Süresi ve EDSS ile Olan İlişkileri	41
Tablo 4.9. Oksidatif Stres Belirteçleri-5, Grup 2 için 4 Molekülün Yaş, Hastalık Süresi ve EDSS ile Olan İlişkileri	42
Tablo 4.10. Oksidatif Stres Belirteçleri-6, Grup 1 ve Grup 2 için 4 Molekülün Cinsiyet ile Olan İlişkisi	43
Tablo 4.11. Oksidatif Stres Belirteçleri-7, Grup 1 için 4 Molekülün İlaç Kullanımı ile Olan İlişkisi	43
Tablo 4.12. Oksidatif Stres Belirteçleri-8, Grup 3 için 4 Molekülün Cinsiyet ile Olan İlişkisi	44
Tablo 4.13. Oksidatif Stres Belirteçleri-9, Grup 3 İçin 4 Molekülün Yaş ile Olan İlişkisi	44
Tablo 4.14. Değişkenlerin Medyan (%25-%75) Değerleri	45

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sistemini (MSS) etkileyen kronik, otoimmün, inflamatuvar ve nörodejeneratif bir hastalıktır. (1) MS hastalarında motor, duyuşal ve kognitif bozukluk dahil olmak üzere çeşitli nörolojik belirti veya semptomlar gelişebilir. MS'in en yaygın formu, aksonal hasara ve nöronal kayba yol açan periferik ve merkezi inflamasyonun hakim olduğu, tekrarlayan-düzelen formdur (RRMS). (2) Nüksler genellikle kısmen veya tamamen, haftalar ve aylar içinde, sıklıkla tedavi olmaksızın iyileşir. Zamanla, tam iyileşme olmaksızın ataklardan kalan semptomlar birikerek genel sakatlığa katkıda bulunur. (3)

MS patolojisinin ana özelliği, MSS'nin beyaz ve gri maddesi içindeki demiyelinizan plaklardır. (4) MSS'deki bu lezyonların yeri nicel ve nitel olarak zaman içinde değişir ve bu durum hastanın kliniğini önemli ölçüde belirler. Demiyelinizan lezyonların ana oluşum mekanizmasının otoimmün nitelikteki bir dizi inflamatuvar reaksiyon olduğuna inanılmaktadır. Klasik olarak MS, T hücre aracılı bir otoimmün bozukluk olarak kabul edilir ve uzunca bir süre boyunca, MS'in MSS antijenlerine karşı adaptif bir bağışıklık yanıtı tarafından başlatıldığı yaygın olarak kabul edilmiştir. (5) Gerçekten de aktive edilmiş otoreaktif T hücreleri, MSS'ye sızarak proinflamatuvar mediatörlerin salınımını artırır ve mikroglia/makrofajları aktive ederek inflamasyona ve demiyelinizasyona yol açarlar. Ek olarak, B lenfositlerin ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin de MS patogenezi katkıda bulunduğuna dair artan kanıtlar vardır. (6,7) Diğer taraftan birtakım veriler, artan oksidatif stresin ve buna sekonder gelişen mitokondriyal hasarın nörodejenerasyon için patojenik bir role sahip olduğunu göstermektedir. (8)

Isı şoku proteinleri (HSP), uzun zamandır sitoprotektif işlevlere sahip hücre içi şaperonlar olarak kabul edilmektedir. Son zamanlarda, hücrelerin hem proinflamatuvar hem de immün modülatör yanıtları tetikleme kapasitesiyle HSP saldırısının keşfi, bilim insanlarını multipl skleroz (MS) gibi kronik inflamatuvar otoimmün hastalıklarda HSP'nin rolünü araştırmaya yönlendirmiştir.

Günümüze kadar en alakalı HSP, hem sitoprotektan hem de immün düzenleyici işlevler sergileyen indüklenebilir Hsp70'tir. (9)

Hücreyi hipoksik duruma adapte eden oksijene duyarlı transkripsiyon faktörü olan Hipoksi-İndüklenebilir Faktör (HIF)-1 molekülü alfa ve beta olmak üzere 2 alt birimden oluşur. Alfa alt birimi oksijene duyarlıdır. (10) HIF-1 α , MS'te kan beyin bariyeri (KBB) geçirgenliğini, enflamatuar sitokinleri ve hücre aktivitesini artırabilir.(11) Ayrıca HIF-1 α , TH17 hücrelerinin evrimi için temel transkripsiyon faktörüdür ve bunların doğal farklılaşması için gereklidir.(12) Bu ve benzeri mekanizmalar HIF-1 α 'nın MS hastalığının ilerlemesinde rolü olabileceğini göstermektedir.(13)

MS hastalığının ilerlemesi, artan vasküler geçirgenliğe ve anjiyogeneze neden olan kan beyin bariyerinin bozulması ile karakterize edilir. Sonuç olarak, vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A) ve reseptörlerinin MS hastalığının ilerlemesinde önemli unsurlar olduğu düşünülmektedir. (14)

Multipl skleroz (MS) hastalarında demyelinizan plakların oluşma süreci makrofajların ve T hücrelerinin merkezi sinir sistemine (MSS) sızması sonucu kan-beyin bariyerinin parçalanması ile karakterize edilir. Hasar gören miyelin kılıfı makrofajlar tarafından parçalanarak demiyelinizasyon lezyonları oluşturur.

Bu mekanizmaların bazıları veya tümü proteinazları içerebilir ve burada normal insan MSS'sinde iki matriks metaloproteinaz (MMP'ler), MMP-7 (matrilysin) ve MMP-9 (92-kDa jelatinaz) hücre lokalizasyonu ve dağılımı nedeniyle ön planda araştırılmaktadır. (15)

Biz bu çalışmada; bu bilgiler ışığında, HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 moleküllerinin RRMS hastalarında oksidatif stresin belirteci olarak kullanım durumunu belirlemeyi ve hastalık oluşumuna katkılarını araştırmayı amaçladık.

2-GENEL BİLGİLER

2.1 Multipl Skleroz

2.1.1 Tanım-Tarihçe

Multipl Skleroz; aksonu çevreleyen ve iletinin hızlı iletilmesinden sorumlu olan myelin kılıfın otoimmün nedenlerle hasarlanması sonucu ortaya çıkan, demyelinizasyon ve aksonal hasar ile karakterize kronik, inflamatuvar ve dejeneratif bir merkezi sinir sistemi(MSS) hastalığıdır.(16) İlk olarak 14.yüzyılda Hollanda'nın Schiedam kasabasından Aziz Lidwina'da 15 yaşında başlayan ve gittikçe ilerleyen engelliliğe neden olan bir nörolojik hastalık ortaya çıkmıştır ve bu tablo yüksek olasılıkla MS'i düşündürmüştür. 18.yüzyılda ise hastalığın klinik belirtileri, histolojisi ve kısmen de patofizyolojisi Jean Martin Charcot tarafından tanımlanmıştır.(17)

2.1.2 Epidemiyoloji

Multipl Skleroz insidansı sosyoekonomik düzey ile korele olarak dünya genelinde artmaktadır.(18) MS özellikle 20-40 yaş arası kadınlarda en sık görülen ve her iki cinste travma dışı özürlülüğe en sık neden olan nörolojik hastalıktır. Hastalık kadınlarda erkeklere oranla yaklaşık 2-3 kat daha fazla görülmektedir.(19) Fakat bu duruma yakınlık yaratan nedenler henüz net şekilde tanımlanmış değildir. Literatürde klinik vaka olarak bildirilen en genç olgu 24 aylık bir çocuktur ve 1984 yılında Bejar ve arkadaşları tarafınca yayınlanmıştır.(20) Nadiren 60 yaş üstü tanı alan hastalar da görülmektedir. MS görülme sıklığı genç erişkin dönemde daha fazla olmakla birlikte özellikle 24 yaş hastalığın pik yaptığı dönemdir.

Türkiye'de ve dünyada yapılan prevelans çalışmaları farklı sonuçlar göstermiştir. Genel anlamda, MS prevelansında enlemler arası farklılık dikkat çekmektedir ve Ekvator'a yaklaştıkça hastalığın görülme sıklığı düşmektedir.(19)

Türkiye prevelans çalışmalarında hastalığın görülme sıklığının 120/100000 seviyelerinde olduğu, Kuzey Avrupa ile buna oranla daha seyrek ortaya çıktığı ve prevelansın <5/100000 düzeyinde olduğu Asya bölgesi arasında yer almaktadır.(21) Türkiye'de 2017'de yapılan bir çalışma Orta Karadeniz bölgesinde MS görülme

sıklığını 43.2/100000 olarak raporlamıştır. (22) 2018'de yine Türkiye'de yayınlanan çok merkezli bir başka çalışmada ise prevelansın bölgeler arası değişim gösterdiği belirtilmiştir.(21) Ülkemizde MS görülme sıklığının 2000-2500 kişide bir olduğu düşünülmektedir.

2.1.3 Etyoloji

Multipl Skleroz'da ortaya çıkan myelin kılıf harabiyetinin ve bunun neden olduğu hastalığın nedeni tam olarak açıklanamamıştır. Hastalığın etyolojisini aydınlatmak amacıyla yapılan birçok çalışma, hastalığın oluşumunda birden çok mekanizmanın rolü olduğunu düşündürmektedir.(23) Hastalık oluşumuna neden olduğu düşünülen temel mekanizmalar:

- 1- Otoimmünite
- 2- Genetik
- 3- Enfeksiyonlar
- 4- Diğer nedenler

2.1.3.1 Otoimmünite

Ontogenez esnasında vücuttan elimine edilmesi gerekli olan otoreaktif T ve B lenfositlerin dolaşıma katılması ve kendi vücut hücrelerine saldırması sonucu meydana gelen hastalıklar otoimmün hastalıklar olarak nitelendirilir.(24) Multipl Skleroz plaklarının histolojik incelemelerinde MSS'de beyaz cevherin T ve B lenfositlerce infiltre olduğu görülmektedir.(25) MS'de otoreaktif hücrelerin hedef aldığı ve hasara uğrattığı yapılar MSS myelini veya myelin oluşumunda önemli role sahip olan oligodendroglial hücrelerdir.(26) Aktifleşen T helper 1(Th1) hücreleri, interlökin 2(IL-2), interferon gama(İFN-gama) ve tümör nekrotizan faktör (TNF) gibi proinflamatuvar sitokinlerin dolaşımdaki miktarını artırırken, interlökin 4, interlökin 10, interlökin 13 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin ise seviyesini düşürerek T hücrelerin santral sinir sistemine geçişini kolaylaştırır.

MSS'e geçen bu otoreaktif T lenfositler mikrogial hücrelerce sunulan otoantijenler tarafından reaktif edilir.(27)

Geçmiş yıllarda bu immün patogeneze öncelikli olarak T hücrelerin, özellikle CD4 Th-1 hücrelerin ana role sahip oldukları düşünülürken, son dönemde MS patogenezinde B lenfositlerin de önemli yeri olduğu ve MS lezyonlarının ortaya çıkışında düzenleyici olarak görev aldıkları gösterildi.(28) Bu nedenle özellikle CD 20 eksprese eden B lenfositleri hedef alan monoklonal antikorlar MS hastalığında önemli bir tedavi alternatifi haline gelmiştir.(29)

2.1.3.2 Genetik

Multipl Skleroz genetik yatkınlık anlamında açıklaması karmaşık olan bir hastalıktır ve günümüzde Mendel yasalarına uyan bir geçiş özelliği gösterilememiştir. Bir kişide MS gelişiminde birden çok genetik lokusun etkisi olabileceği düşünülmele birlikte bu genetik bölgelerin her birinin zayıf etkileri olduğu bilinmektedir.(30) MS oluşumuna yol açabilecek genlerinin araştırıldığı birçok çalışmada 6.kromozomun Human Leucocyte Antigen (HLA) bölgesi dışında net olarak tespit edilebilen gen bölgesi bulunamamıştır.(31) Birden fazla sayıda MS olgusu tespit edilen bazı Türk ailelerde kromozom analizi yapılmış ve 18.kromozomun q23 bölgesinde bulunan, myelin yapımında görev alan bir proteini kodlayan gen lokusuyla ilişki saptanmıştır.(32)

Multipl Skleroz tanıları hastaların yaklaşık %20'sinin en az bir yakınında MS tespit edilmesi, tek yumurta ikizlerinden birinin MS hastası olması durumunda ikiz kardeşinde de ileride MS gelişme riskinin %30 olması, MS hastası bir annenin çocuğunda MS görülme riskinin 20 kat artış göstermiş olması hastalık etyolojisinde genetik faktörlerin rolünü ortaya koymaktadır.(33)

2.1.3.3 Enfeksiyonlar

Yıllarca çeşitli enfektif ajanların MS patofizyolojisindeki rolleri araştırılmıştır. Özellikle Epstein-Barr Virüs'ün (EBV) MS hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek oranda seropozitif olduğu gösterilmiştir.(34)

Özellikle ileri yaş grubunda bu patojen ile karşılaşan hastalarda ortaya çıkan Enfeksiyöz Mononükleoz klinik tablosu ile MS hastalığının yakın coğrafi alanlarda yoğunluklarının artması bu ilişkiyi desteklemektedir. EBV haricinde hastalık oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülen diğer patojenler Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. MS ile ilişkili olduğu düşünülen enfeksiyöz etkenler

<ul style="list-style-type: none"> • Human Herpes Virus-6 (HHV6) • Parainfluenza 2-3 • Varicella • Rubella • Human T lymphotropic virüs 1 (HTLV-1) • Human T lymphotropic virüs 2 (HTLV-2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Acinetobakter • Enterovirus • Sitomegalovirus (CMV) • Chlamydia pneumoniae • Pseudomonas aeruginosa • Herpes simplex virüs
--	---

Bunun dışında Helicobacter Pylori ve Toksoplazma Gondi enfeksiyon oranlarının ve seropozitifliklerinin de MS hastalarında anlamlı miktarda düşük olduğu gösterilmiştir. Bu durumun bu etkenlerle enfekte hastalarda MS ortaya çıkma riskinin düşük olabileceği düşünülmektedir.(35–37)

2.1.3.4 Diğer Nedenler

Belirli yaş aralıklarında ultraviyole ışın maruziyetinin MS gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir ve bu ilişki D vitamini seviyesinin MS patogenezindeki katkısıyla bağdaştırılmaktadır.(38,39) Sigaranın hastalığın ortaya çıkışıyla, progresyonuyla ve atak sıklığındaki artışla doğrudan ilişkisi olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.(40,41)

Kişilerin beslenme alışkanlıkları, kaygı düzeylerinin yüksek oluşu, sosyoekonomik düzeyleri, yüksek östrojen, düşük progesteron düzeyi, oral kontraseptif kullanımları, demir-çelik işletmesi bölgesinde yaşamaları gibi diğer etmenler de MS prevalansını belli düzeylerde etkilemektedir.(42,43)

2.1.4 İmmünpatogeneze

Multipl Skleroz etyolojisinde en çok benimsenen görüş kişinin herhangi bir etken ile temasının sonucu olarak MSS'e karşı gelişen otoimmün yanıtıdır. MS patogenezinde rolü olan mekanizmalar; T hücreler, B hücreler ve sitokinlerden oluşmaktadır.(44) MS plaklarının ortaya çıkışında ilk basamak, T ve B lenfositler aracılığıyla salınan proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle kan beyin bariyerinin hasarlanmasıdır.(45) Değişik mekanizmalarla MSS'e geçen otreaktif hücrelere, antijen sunan hücreler tarafından otoantijenler sunularak bu hücrelerin aktivasyonu sağlanır. Aktive olan hücreler ile salınan sitokin ve mediyatörler, miyelin kılıfın hasar görmesine ve buna sekonder aksonal zedelenmeye neden olur. Hastalığın şiddetini ve nörolojik defisitini derecesini belirleyen de esas olarak bu aksonal hasarın boyutudur.(46)

Aktif MS plaklarının histopatolojik incelemesi, perivasküler alanda lenfosit, makrofaj ve daha az sıklıkla plazma hücreleri ile infiltrasyon olduğunu göstermiştir. Her atak sonrasında plak içeriğindeki oligodendrosit miktarında azalma, demyelinizasyonda artış ve MS plaklarında kronikleşme izlenmeye başlar.(47)

B lenfositler, beyin omurilik sıvısında (BOS) immünglobulin G (IGG) sentezinden ve buna sekonder oligoklonal band (OKB) oluşumundan, T hücrelerine antijen sunumundan ve salgıladıkları hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar sitokinler ile hastalık sürecindeki akut inflamatuvar yanıtlardan sorumludur.(48)

2.1.5 Klinik Seyir Tipleri

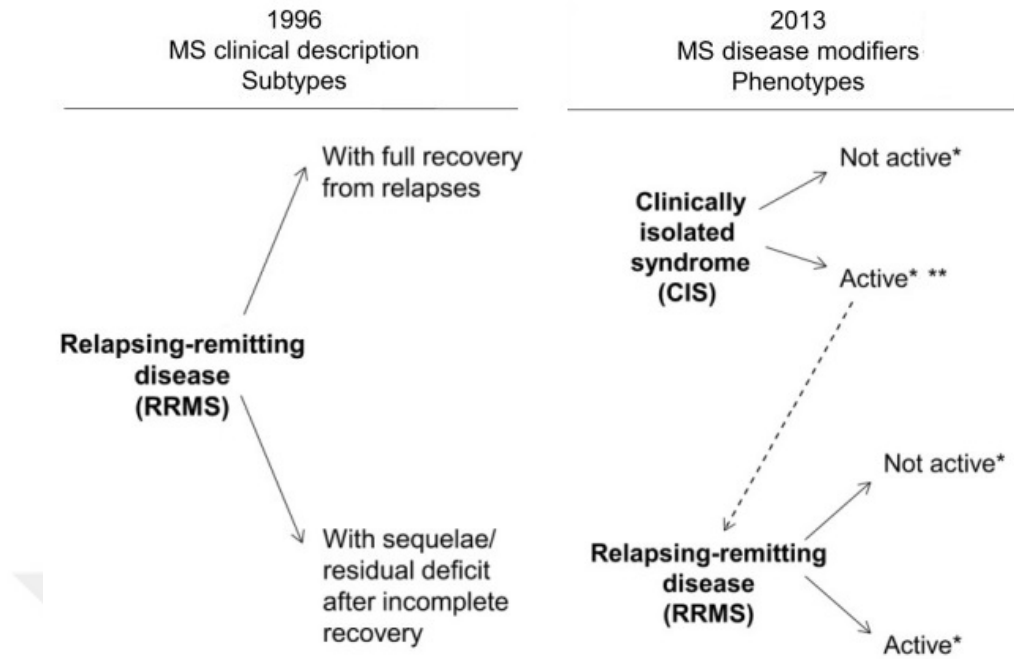
MS klinik belirtisi olmayan hastalıktan ağır nörolojik defisite kadar değişebilen çok çeşitli klinik tablolar gösterebilir.(49) MS klinik seyir tipleri 2013 yılında yeniden düzenlenmiş olup klinik izole sendrom(KIS), relapsing remitting MS(RRMS) ve progresif MS(PMS) olmak üzere üç ana tipte tanımlanmıştır.(50) Bu temel tiplerin seyirinde hastalık aktivitesi ya da özürülük derecesinde artış hastalık alt tiplerini tespit etmede önemli hale gelmiştir.(51) Tanımlanan bu klinik seyir tipleri haricinde Radyolojik İzole Sendrom(RIS) tipinin kullanımı yaygınlaşmıştır.(52–54)

2.1.5.1 Klinik İzole Sendrom (KIS)

Kranial veya spinal görüntüleme MS düşündürülen plakların varlığıyla birlikte, MSS'in demyelinizyonu ile karakterize ilk klinik tablo KIS olarak tanımlanmaktadır.(55,56) KIS tanısı ile takip edilen hastaların %72'sinde 5 yıl içerisinde ikinci atak geliştiği ve bu hastalara MS tanısı konduğu gösterilmiştir.(57) 20 yıl takip edilen hastalardan Manyetik Rezonans Görüntüleme'de (MRG) lezyonu olanların %82'sinin bu süreçte kesin tanı aldıkları, MRG'de lezyonu olmayanlarda ise bu oranın %21'de kaldığı gösterilmiştir.(58)

2.1.5.2 Relapsing Remitting MS (RRMS)

MS seyirinde en sık görülen tip başlangıçta tüm hastaların %85'inde görülen, relaps ve remisyonlarla giden, ataklar arası dönemde selim seyreden RRMS formudur.(59,60) Aktif RRMS ve Non-aktif RRMS şeklinde iki alt tipi gösterilmiştir. (Şekil 2.1) Aktif hastalık; klinik anlamda tam iyileşen ya da sekel bırakan relapsların olduğu ya da MRG'de kontrastlanan lezyonların veya kontrastlanmasa dahi yeni lezyonların tespit edilmesi olarak tanımlanmaktadır.(61)

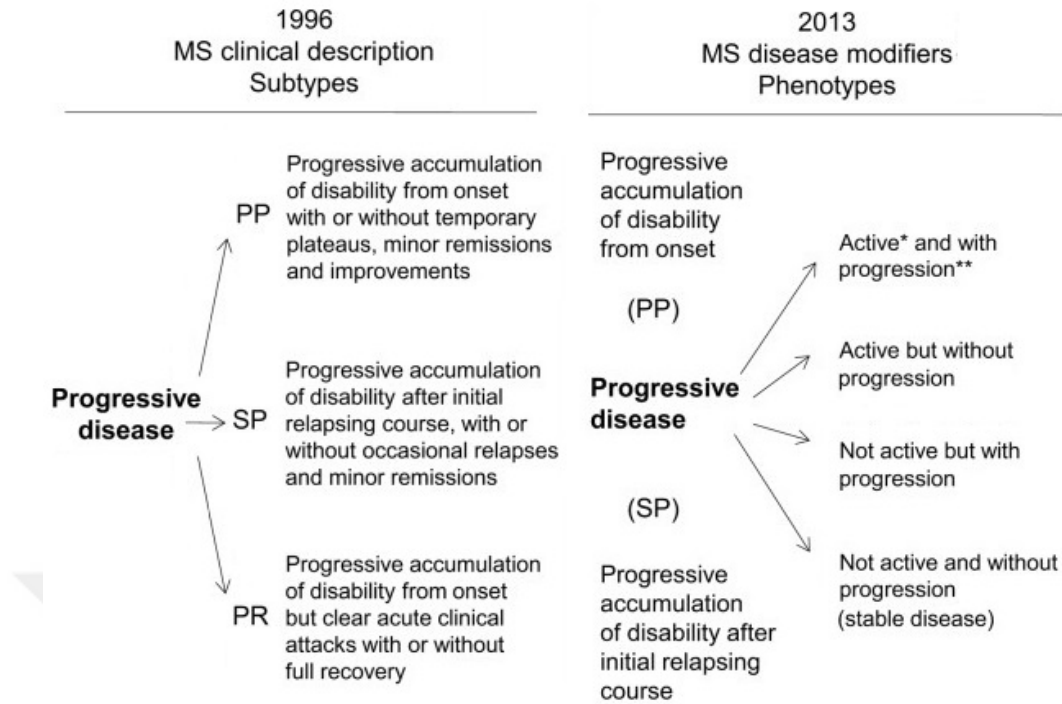


Şekil 2.1. 1996 ve 2013 yıllarında yapılan relapsing form tanımlaması

2.1.5.3 Progresif Seyreden MS

Hastalığın seyri esnasında özür lülüğün meydana geldiği tiptir. 5-6 yıllık RRMS seyri nden sonra atak sıklığının nispeten az, iyileşmenin ise daha kısıtlı olduğu ve gittikçe özür lülüğün çoğaldığı tipi sekonder progresif MS olarak tanımlanmaktadır. Hastalığın başından bu yana sık ataklarla sürekli bir kötüleşme süreci ya da ataklar sonrasında hiçbir düzelmenin olmadığı, sürekli bir progresyon hali gözlenebilir. Bu tip ise primer progresif MS olarak değerlendirilmektedir.(62,63)

Progresif seyreden MS için bunlarla birlikte 4 farklı alt tipi tanımlanmıştır. (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. 1996 ve 2013 yıllarında yapılan progresif form tanımlama ve sınıflaması

2.1.5.4 Radyolojik İzole Sendrom (RIS)

Herhangi bir klinik belirtisi olmayan, başka nedenlerle MRG çekilen ve bunun sonucunda insidental olarak tespit edilen hiperintens demyelinizan natürde MS benzeri plakları olan hastalar RIS olarak tanımlanmaktadır.(64) Bu hastaların ortalama 6 aylık izlem neticesinde %77'sinde yeni plaklar oluştuğu, 2,3 yıllık takip süresinde ise %37'sinde klinik bir belirti ortaya çıktığı tespit edilmiştir.(65,66)

2.1.6 Klinik Belirti ve Bulgular

MS, MSS'nin değişik bölgelerindeki nöropatolojik değişim nedeniyle meydana geldiğinden, farklı hastalarda farklı klinik belirtilerle ortaya çıkabilir. MS'de atak tanımı; 24 saati aşan akut ya da subakut başlangıçlı günler veya haftalar içerisinde tam ya da kısmi düzelme gösteren klinik fonksiyon kaybı durumudur. Ataklar sıklıkla nörolojik morbiditede artış ve kronik nörolojik defisitler ortaya çıkabilir. Hastalığın başında en sık ortaya çıkan klinik yansımalar Tablo 2.2'de, (67) hastalık seyri esnasında herhangi bir dönemde ortaya çıkabilecek semptom ve bulgular ise Tablo 2.3'de gösterilmiştir.(68)

Tablo 2.2. MS başlangıcında görülen semptomlar ve sıklıkları

Semptom	Oran (%)
Duysal kayıp	30-50
Nistagmus	20
Yorgunluk	20
Derin tendon refleksi (DTR) artışı	20
Yürüme bozukluğu	18
İnternükleer oftalmopleji (İNO)	17
Optik nörit	16
Vertigo	4-14
Alt ekstremitelerde güçsüzlük	10
Spastisite	10
Mesane işlev bozuklukları	3-10

Tablo 2.3. MS'de herhangi bir zamanda görülen semptomlar ve oranları

Semptom	Oran (%)	Semptom	Oran (%)
Artmış DTR	90	Optik nörit	65
Duysal Kayıp	90	Ekstremitate ataksisi	50
Alt ekstremitelerde güçsüzlük	90	Dizartri	50
Spastisite	90	Kramplar	50
Yorgunluk	80-90	Amiyotrofi	50
Nistagmus	85	Ekstensör ve fleksör spazmlar	50
Retinal sinir lifi kaybı	80	Depresyon	25-54
Mesane işlev bozukluğu	80	Vertigo	5-20
Optik atrofi	77	Seksüel disfonksiyon	K:50, E:75
Yürüyüş-gövde ataksisi	50-80	Öfori	10-60
Bilişsel değişiklikler	70		

2.1.6.1 Duyusal Belirtiler

MS hastalarında en çok karşılaşılan belirtilerendir. Duyusal belirtilere spinotalamik yolak, dorsal kolon veya arka kök tutulumu neden olabilir. Bulgular pozitif (ağrı, yanma, hiperestezi, allodini, kaşıntı) veya negatif (hipoestezi) duyusal belirtiler şeklinde olabilir.(69)

MS hastalarının bir kısmında Lhermitte bulgusu adı verilen, boyun fleksiyonu ile oluşan ve alt ekstremitelere yayılım gösteren ani elektrik çarpması hissi oluşabilir. Bu bulgu hastalığa spesifik değildir fakat ortaya çıktığında mutlaka MS akla gelmelidir.(70) Bir diğer hasta grubunda ise diskriminatif ve proprioseptif duyu kaybı sonucu, yazı yazma, bilgisayar kullanma gibi işlerde obje tutarken göz kontrolünün ortadan kalkması nedeniyle birtakım zorluklar ortaya çıkabilir. Bu bulgu "Oppenheim'in kullanılmayan el sendromu" olarak isimlendirilir. Nadiren görülse de yüksek olasılıkla MS hastalığına spesifik bir belirtidir.(71)

Ağrı; trigeminal nevralji, psöдорadiküler ağrı, immobilizasyona bağlı eklem kontraktürü ve iyatrojenik osteoporozla bağlı kas ve eklem ağrısı türünde ortaya çıkabilir. Bilateral trigeminal nevralji MS için tanısaldır.(72)

2.1.6.2 Motor belirti ve bulgular

Motor belirtiler ve buna sekonder morbidite, kortikospinal traktus ile kortikobulber yolların etkilenimi veya serebellar ve duyusal yollardaki patolojiler nedeniyle meydana gelir.(73) Alt ekstremitelerde gelişen güç kaybına üst ekstremitelere oranla daha fazla rastlanır.(74) Güç kaybının yanısıra tutulan bölgeye göre spastisite ve DTR (derin tendon refleksi) artışı görülebilir.(75) Medulla spinalis ve beyin sapı etkilendiğinde bazen solunum kaslarında zayıflık ve buna bağlı solunum zorluğu ortaya çıkabilir.(76)

2.1.6.3 Görsel belirti ve bulgular

Optik nörit(ON) MS hastalarının %16 kadarında hastalığın başlangıcında, %65'inde ise hastalığın herhangi bir safhasında ortaya çıkabilir.(77,78)

Başta göz hareketlerine sekonder oluşan ağrı ve takiben farklı derecelerde görme kaybı meydana gelir. Yüksek oranda tek taraflıdır. Bilateral eş zamanlı ON tespit edilmesi halinde MS dışı ON nedeni olabilecek hastalıklar muhakkak düşünülmelidir.(79–81) Nörolojik değerlendirme esnasında aferent pupilla defekti, görme keskinliğinde düşüş, renkli görmenin etkilenmesi ve genellikle santral skotom tespit edilir. Fundoskopi hastaların büyük kısmında normal olarak gözlenir. MS'li bireylerin %6-80'inde sıcak maruziyeti ve vücut ısısı artışı sonucu semptomlarda kötüleşme ortaya çıkabilir. Bu durum “Uhthoff fenomeni” olarak isimlendirilir.(82) Optik sinir de vücut ısısının yükselişinden kaynaklanan subklinik demyelinizasyon neticesinde hasar görebilir ve iletim hızında düşme ile buna bağlı görme yetisinde kayıp ortaya çıkabilir.

MS hastalarında medial longitudinal fasikulus (MLF) lezyonlarına sekonder gelişen internukleer oftalmopleji (INO), horizontal bakışta diplopiye neden olan bir göz hareket bozukluğudur.(83) Bilateral tutulum MS için güçlü bir destekleyicidir.(84,85) MS'de kranial sinir etkilenimi nedeniyle gelişen diplopi nadir gözlenir ve genelde 6.kranial sinir (n.abdusens) tutulumu neticesinde meydana gelir.(86)

2.1.6.4 Serebellar belirti ve bulgular

Hastalığın başlarında daha düşük sıklıkta görülmekle birlikte, ileri safhalarda hastaların hemen hemen yarısında serebellar belirtiler ortaya çıkar. İntansiyonel tremor, dizartri, ataksi, nistagmus ve titübasyon en sık görülen serebellar bulgularıdır. Bu bulgular yüksek oranda kronikleşir ve tam bir düzelme beklenmez. Erken başlangıçlı serebellar ataksi kötü prognostik göstergelerden biridir.(87,88)

2.1.6.5 Bilişsel (Kognitif) Bozukluklar

Kortikal, subkortikal ve limbik sistem yolaklarının tutulması nedeniyle ortaya çıkar ve hastaların hemen hemen %50'sini etkiler. SPMS seyriindeki hastalarda daha sık görülürken, RRMS'de daha nadir gözlenir.(89) Hastalarda yakın hafıza, dikkat ve bilgi işleme gibi yetilerde aksaklıklar tespit edilmektedir. Genel olarak entellektüel beceri ve lisan korunur. Afazi, apraksi, agnozi benzeri belirtiler sık görülmez.(90)

2.1.6.6 Genitoüriner işlev bozuklukları

MS'li bireylerde üriner disfonksiyonun sebebi, medulla spinalis tutulumuna sekonder pontin işeme alanı ile sakral spinal kord arası bağlantının verimli biçimde sağlanamamasıdır. Urge inkontinans, sık idrara çıkma, idrar kaçırma ve mesaneyi tam olarak boşaltamama sık karşılaşılan bulgulardır.(91,92)

MS hastalarında her iki cinsiyet için farklı oranlarda seksüel disfonksiyon ortaya çıkmaktadır.(93) Erkeklerde ereksiyon zorluğu, kadınlarda ise vajinal kuruluk ve haz noktasına erişememe sık belirtilerdir.(94)

2.1.6.7 Diğer Bulgular

MS'li bireylerde normal popülasyona oranla daha yüksek sıklıkta epileptik nöbetler gözlenir. En sık görülen nöbet tipleri fokal ve sekonder jeneralize nöbetlerdir. Nöbetlere kortikal veya subkortikal alandaki plak yoğunluğunda artış sebebiyet vermektedir.(95,96)

MS'te baş ağrısı anlamında migrenöz karakterli ağrılar ön plandadır.(97) Baş ağrısı bu hastalık için ilk belirti olabilmekle birlikte atak dönemlerinde de görülebilmektedir. MS hastalarında yaşam boyu baş ağrısı görülme sıklığı %4-64 arasındadır.(98,99) Ek olarak, MS'li bireylerde uyku bozuklukları ve gastrointestinal problemler normal popülasyona oranla daha fazla gözlenmektedir.(100–102)

2.1.7 Tanı

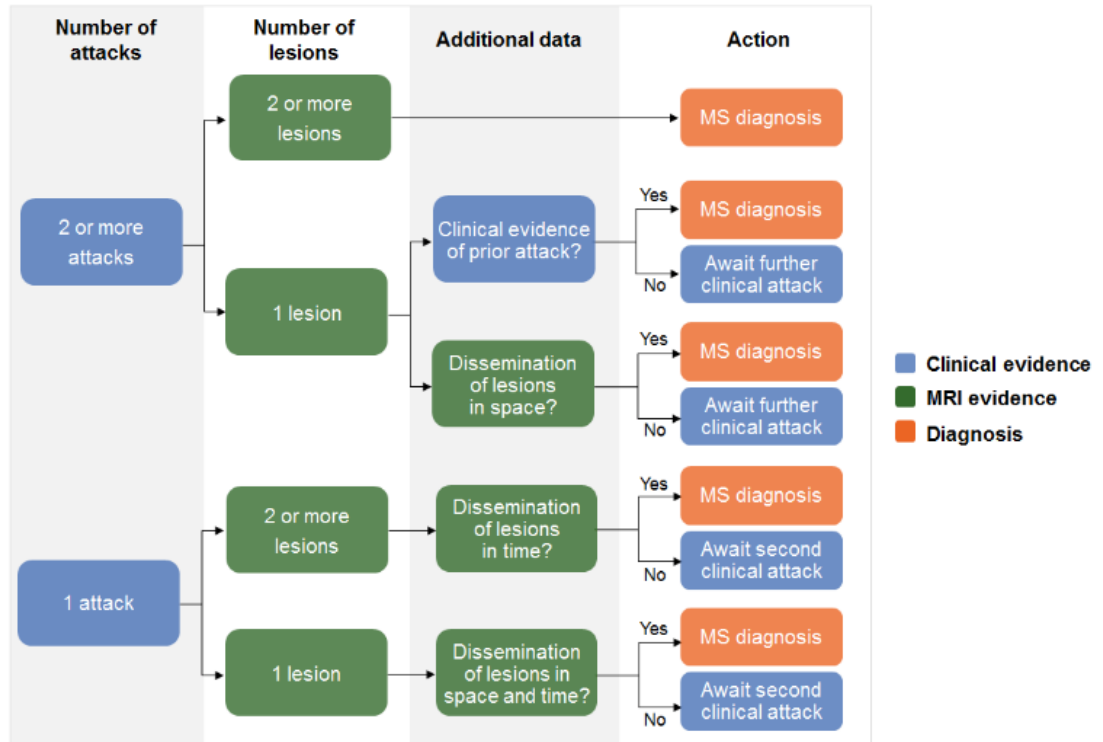
MS tanısı, klinik belirtiler, görüntüleme metodları ve laboratuvar testlerinin korelasyonu ile konmaktadır. MS adına kati bir tanı testi bulunmamaktadır. MS tanısı ayırıcı tanıdaki hastalıkları ekarte ettikten sonra netleşir. Fakat bu süreçte tanıya yardımcı birtakım kriterler oluşturulmuştur.

1965'te Schumacher ilk tanı kriterlerini önermiştir. Bu kriterlerin genel çerçevesi, hastalığın ataklarla ilerlemesi, zaman içerisinde progrese olması, kliniği ve plakları açıklığa kavuşturacak farklı tanıların bulunmaması şeklindedir.

Schumacher MS atağını 24 saati aşan klinik zafiyet şeklinde açıklamış ve 2 atak arası sürenin en azından 1 ay olması gerektiğini söylemiştir.(103)

Poser ve ark. 1983'de kesin MS ve olası MS tanımlarını literatüre eklemiştir. İlâveten tanı için laboratuvar testlerinin ve beyin omurilik sıvısının (BOS) önemi ilk defa tanı kriterleri içerisinde dahil edilmiştir.(104)

Görüntüleme metotlarındaki gelişmeler ve hastalığı erken tanımanın öneminin anlaşılması sonrası, ilk kez 2001 yılında ortaya konan, 2005-2010 ve son olarak 2017 yıllarında üzerinde değişiklikler yapılan MC Donald tanı kriterleri şu an hala MS tanısında ortak noktada buluşulan kriterler olarak kullanılmaktadır.(105) MS tanısında kullanımı önerilen algoritma Şekil 2.3'de, 2017 Revize McDonald Kriterleri ise Tablo 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. MS tanı algoritması

Tablo 2.4. 2017 Revize McDonald tanı kriterleri (105,106)

Atak	Objektif klinik bulgulu lezyon sayısı	MS tanısı için gerekli ek veri
≥2 atak	≥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	Ek bir klinik atak veya MRG ^d ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS-spesifik OKB ^e varlığı
1 atak	1 lezyona ait objektif klinik bulgu	SSS'de farklı bir alandaki lezyona ait yeni bir atak veya MRG ^c ile mekanda yayılımın gösterilmesi ve ek bir klinik atak veya MRG ^d ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS-spesifik OKB ^e varlığı
Sinsi progresyon	1 yıl klinik progresyon (retrospektif veya prospektif, ataktan bağımsız olarak)	Aşağıdakilerin 2'si <ul style="list-style-type: none"> • MS tipik (periventriküler, kortikal/jukstakortikal veya infratentoryal) alanlarda ≥1 lezyon • Spinal kordda ≥2 lezyon • BOS-spesifik OKB varlığı

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

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

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

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

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

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

2.1.8 Ayırıcı Tanı

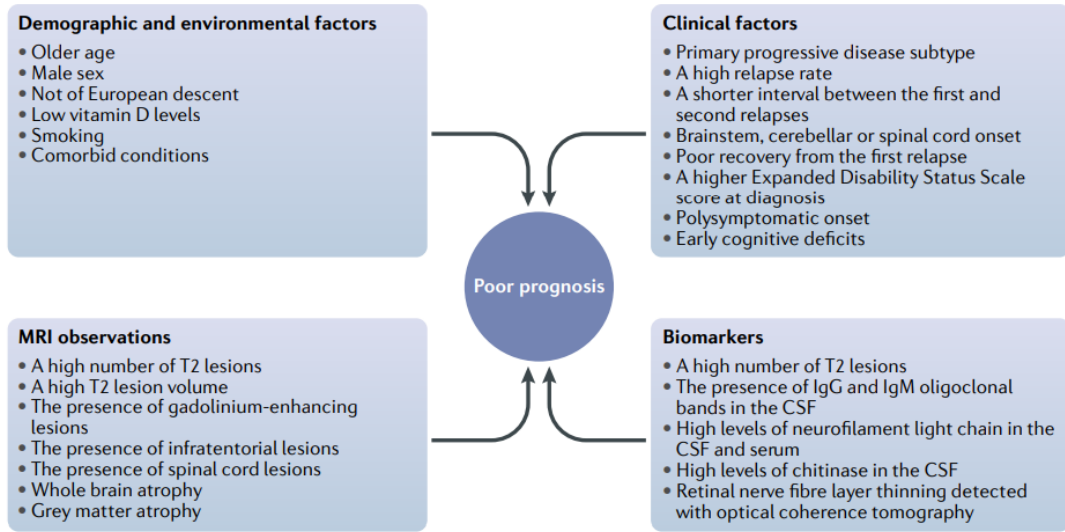
MS ayırıcı tanısında yer alan hastalıklar Tablo 2.5'de gösterilmiştir.

Tablo 2.5. MS ayırıcı tanısında yer alan hastalıklar (38,39)

1- İnflamatuvar Hastalıklar	2-İnfeksiyöz Hastalıklar
<ul style="list-style-type: none"> • Sistemik Lupus Eritematozus • Antifosfolipid Sendromu • Sjogren Hastalığı • Behçet Hastalığı • Poliarteritis Nodoza • Akut Dissemine Ensefalomyelit (ADEM) • Postenfeksiyöz ensefalomyelit 	<ul style="list-style-type: none"> • Lyme Hastalığı • HTLV-1 infeksiyonu • HIV • Progresif Multifokal Lökensefalopati (PML) • Nörosifiliz • Whipple Hastalığı
3-Granümatöz Hastalıklar	4-Myelin Hastalıkları
<ul style="list-style-type: none"> • Sarkoidoz • Wegener granulomatozu • Lenfomatoid granulomatosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Genetik Myelin Hastalıkları • Metakromatik Lökodistrofi • Adrenolökodistrofi

2.1.9 Prognoz

Hastalığın gidişatına etki eden birden çok faktör vardır. Kötü prognoz ifade eden kriterlerin bilinmesi hastalık sürecini tahmin edebilmeyi ve kişiselleştirilmiş tedavi oluşturulmasını sağlar. MS'de kötü prognoz göstergeleri Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. MS'de kötü prognostik faktörler (107)

2.1.10 MS'de Özürlülük Durumu

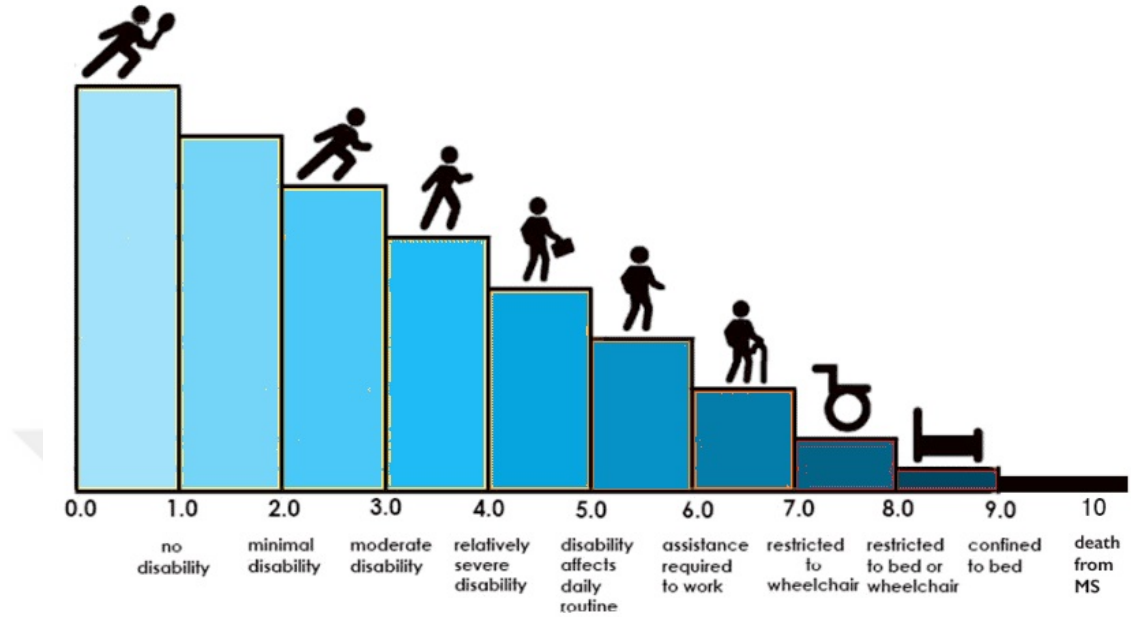
MS'de klinik özürlülük durumu, Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği (Expanded Disability Status Scale-EDSS) ile skorlanır. On adımdan meydana gelen bu ölçekte '0' normal nörolojik durumu; '10' ise MS nedeniyle ölümü gösterir. EDSS puanının artışı MS için klinik kötüleşme anlamına gelmektedir.(108,109)

EDSS ile puanlanan işlevsel birimler:

- Piramidal sistem-istemli hareketler
- Beyin sapı-göz hareketi, duyu, yüz hareketleri, yutma
- Görsel
- Serebral-bellek, konsantrasyon, mizaç
- Serebellar-hareketlerin uyumu veya denge
- Duyu
- Bağırsak ve mesane
- Mental ve diğer bölgeler

EDSS, 4.0-8.0 puanları arası ambulasyonu ifade eder. Puanlama, hastanın fazla çaba göstermeksizin ortaya koyduğu en iyi performansa dayanır. 6.0 puan itibari ile hasta desteğe ihtiyaç duyar. 6.0, tek taraflı; 6.5 ise çift taraflı destek ihtiyacını ortaya koyar. 7.0 ve sonrası ise tekerlekli sandalye ve gittikçe yatağa bağımlı olan hastaları tarif eder.(108)

EDSS (EXPANDED DISABILITY STATUS SCALE)



Şekil 2.5. EDSS skoruna göre fonksiyonel durum

2.1.11 Tedavi

Henüz MS hastalığına yönelik kesin ve kalıcı bir tedavi bulunamamıştır. MS tedavisinde esas hedef, atak sıklığını düşürmek, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak ve morbiditeyi önlemektir.(110) MS için güncel tedavi seçenekleri 3 ana kategoride değerlendirilebilir.

- Akut atak tedavisi
- Önleyici tedavi (Hastalık modifiye edici tedavi)
- Semptomatik tedavi

2.1.11.1 Akut Atak Tedavisi

Ateş ve enfeksiyon gibi psödo atak nedeni olabilecek durumlar dışında, 24 saati aşan, yeni belirtilerin oluştuğu veya halihazırda var olan belirtilerin çoğaldığı klinik kötüleşme atak olarak nitelendirilir. Her atağı tedavi etmek gerekmez. Hastada fonksiyonel zaafiyet yaratan, günlük yaşam aktivitelerini kısıtlayan veya hastaya bariz rahatsızlık hissettiren kötüleşmeler tedavi edilmelidir.(111)

Kontrol MRG neticesinde multipl aktif lezyon ve beyin sapını tutan büyük plak görülmediyse, asemptomatik aktif lezyonların tedavisiz takibi önerilir.(112)

Akut MS atağı tedavisinde en sık yüksek doz intravenöz metilprednizolon (IVMP) kullanılmaktadır.(112) Steroidler hücre çekirdeğine geçerek proinflamatuvar sitokinler ile bazı proinflamatuvar mediyatörlerin sentezini önler. Bu sayede inflamasyonu azaltırlar.(113) Genelde 3-10 gün arası, 1 gr/gün dozunda, sabah saatlerinde, tek doz olarak uygulanır.(114) Seçilmiş hastalarda, ağır morbiditeye neden olan ataklar tespit edildiğinde 2gr/gün, 5 gün süre boyunca kullanımı tercih edilebilmektedir. Fakat iki yöntem karşılaştırıldığında klinik açıdan anlamlı fark saptanmamıştır.(115) 2016'da yayınlanan bir bildiri ise 5-7-10 gün 1 gr/gün dozunda IVMP alan hastaların karşılaştırılması sonucu elde edilen antiinflamatuvar yanıtta anlamlı fark izlenmemiştir.(116) Yüksek doz IVMP tedavisi verilmeden önce hastalara yapılması elzem olan tetkikler Tablo 2.6'da muhtemel ilaç advers etkileri Tablo 2.7'de gösterilmiştir.

Atak tedavisi için diğer seçenekler; adrenokortikotropik hormon (ACTH), plazmaferez ve intravenöz immunglobulin (IVIG)'dir. ACTH, 28 gün içerisinde toplam 12 mg veya 5-7 gün 1 mg/gün dozu akabinde 3-5 gün 1 mg/gün aşırı şemasıyla kullanılabilir.(117) IVMP tedavisine yanıtız bazı vakalarda 5-7 seans plazma değişimi yapılması etkinliği ve güvenilirliği bilinen bir yöntemdir.(118) Plazmaferez komplikasyonları Tablo 2.8'de gösterilmiştir. Atak tedavisinde IVIG kullanımının yeri tartışmalıdır.(119,120)

Tablo 2.6. Pulse IVMP öncesinde yapılması gereken tetkikler

Tedavi Öncesinde Yapılması Önerilen Tetkikler
<ul style="list-style-type: none"> • Hemogram, Sedimantasyon (ESH), C-reaktif protein (CRP) • Açlık kan glukozu, HbA1c • Elektrolitler • Karaciğer fonksiyon testleri (Alanin-Aspartat Aminotransferaz (ALT-AST), • Gama glutamil transferaz (GGT) ve Alkalen Fosfataz (ALP)) • Böbrek fonksiyon testleri (üre, kreatinin) • Kemik dansitometrisi (tedavi öncesi en az 1 kez)

Tablo 2.7. Pulse prednol tedavisi olası yan etkileri

<ul style="list-style-type: none"> • Gastrointestinal etkiler • Diabetes Mellitus • Artralji • Uykusuzluk • Menstrüel bozukluklar • Osteoporoz 	<ul style="list-style-type: none"> • Çarpıntı (taşikardi) • Ağızda metalik tat • Psikoz • Yorgunluk • Akne • Hirsütizm
--	--

Tablo 2.8. Plazmaferez olası komplikasyonlar

<ul style="list-style-type: none"> • Nefes Darlığı • Transfüzyona bağlı akciğer hasarı • Anafilaksi • Hava Embolisi • Pulmoner Ödem • Hipotansiyon • Sitrata bağlı hipokalsemi • Akut Koroner Sendrom 	<ul style="list-style-type: none"> • Vazovagal reaksiyon • Katater ilişkili komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none"> o Enfeksiyon, o Sinir hasarı o Tromboz o Perforasyon o Hematom o Hava embolisi o Arteriovenöz fistüller
---	--

2.1.11.2 Önleyici Tedavi (Hastalık modifiye edici tedavi)

Günümüzde MS tedavisinde yer alan ve hastalık gidişatını etkileyebilen ajanlar

4 başlık altında sınıflanabilir:

- a) Enjeksiyon tedavileri
- b) Oral tedaviler
- c) Monoklonal antikorlar
- d) Diğer İmmünsüpresif tedaviler

2.1.11.2.1 Enjeksiyon Tedavileri

İnterferonlar: (IFN- β) RRMS tedavisinde kullanılan interferon betanın, atak frekans ve şiddetini azalttığı, radyolojik açıdan yeni plak oluşmasını ve lezyon yükünü azalttığı gösterilmiştir.(121) MS tedavisinde yer alan interferonların, uygulama yolları, advers etkileri ve takip protokolleri Tablo 2.9'da gösterilmiştir. Suicid düşünceleri bulunan hastalarda, karaciğer fonksiyon bozukluğunda, gebelik ve emzirme durumunda kullanımları kontrendikedir.

Tablo 2.9. İnterferon Beta; uygulama, advers etki, takip şeması

İlaç	Uygulama	Yan etki
IFN- β 1b (Betaferon)	250 μ g Subkutan (SC)/ gūnaşırı	Grip benzeri semptom, transaminazlarda yükselme, enjeksiyon reaksiyonları
IFN- β 1a (Rebif)	22/44 μ g SC/ haftada üç kez	Grip benzeri semptom, transaminazlarda yükselme, enjeksiyon reaksiyonları
IFN- β 1a (Avonex)	125 μ g İntramuskuler(IM)/ Haftada bir kez	Grip benzeri semptom, transaminazlarda yükselme
Tedavi öncesi		Tedavi sırasında
-Tam kan sayımı -KCFT, Tiroid Fonksiyon Testleri (TFT) -Viral Seroloji -Psikiyatrik bakı -Beta-HCG -Enjeksiyon eğitimi -Kontrasepsiyon önerme		-Tam kan sayımı -KCFT (ilk yıl 1-3-6 aylarda, ardından 3-6 ay ara ile) -TFT (yılda bir veya gerekirse 6 ayda bir)

Glatiramer Asetat: (GA) MS’de uzun süre kullanım esnasında güvenilirliği ve etkinliği bilinen, dünyada çok geniş hasta popülasyonlarınca kullanılan hastalık modifiye edici ajandır.(122) 2015’e dek günde 20 mgr sc kullanılırken, haftada 3 defa 40 mgr kullanımının daha düşük advers etki oranı ve benzer etkinliğe sahip olduğunun bildirilmesiyle daha büyük hasta gruplarınca tercih edilmeye başlanmıştır.(123) Glatiramer asetat uygulama şekilleri, advers etkiler ve takip yöntemleri Tablo 2.10’da verilmiştir.

Tablo 2.10. Glatiramer asetat: Uygulama, advers etkiler, takip

Ürün	Uygulama	Advers etkiler
-Glatiramer asetat (Copaxone)	-20 mg/SC/her gün ya da -40 mg/SC/haftada üç kez	-Enjeksiyon yeri reaksiyonları, -Kronik kullanımda lipoatrofi, -Enjeksiyon sonrası sistemik reaksiyon, -Alerjik deri reaksiyonu, -Terlemede artış, -Nadiren KCFT bozukluğu
Tedavi öncesi		Tedavi sırasında
-Tam kan sayımı -KCFT -Psikiyatrik bakı -Beta-HCG -Enjeksiyon eğitimi -Kontrasepsiyon önerme		-Tam kan sayımı -KCFT (3-6 ay arayla) -Yan etki, tedavi uyumu ve tedavi yanıtı takibi

2.1.11.2.2 Oral Tedaviler

Teriflunamid: Mitokondriyal bir enzim olan dihidroorotat dehidrogenazı selektif ve reversible olarak inhibe eder. Buna bağlı olarak T ve B lenfositlerin deplesyonunu sağlar.(124) Kullanım şekli, 14 mg/gün dozunda, günde bir tablettir. 14 mg olarak alınan dozun serebral atrofi dahil bütün radyolojik bulgularda düzelme yaptığı(125), plasebo ile kıyaslandığında yıllık relaps oranında %31,5-36,3, morbidite gelişen vaka yüzdesinde ise %29.8-31,5 düşüş sağladığı bildirilmiştir.(126,127) Yüksek doz IFN (44 µg/haftada üç gün) ile kıyaslandığında ise anlamlı bir farklılık görülmemiştir.(128)

Kullanımını kısıtlayan en mühim kontrendikasyon gebeliktir. Bulantı-kusma, baş ağrısı, saç dökülmesi ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma sık görülen advers etkilerdir.(125)

Fingolimod: Sfingozin 1 fosfat reseptör modülatörüdür. (129)Türkiye’de 1 yıl süreli 1.basamak tedavi kullandığı halde (IFN,GA,Teriflunomid,Dimetil Fumarat) hastalığı ilerleyenlerde veya kötü prognoz kriterlerine sahip olanlarda özel izin ile ilk seçenek olarak kullanımı onaylanmaktadır.(130) FREEDOMS I ve FREEDOMS II çalışmaları 0.5 mg/gün fingolimod kullanan hastalarda atak hızının, morbidite oranının, MRG’de T2 ağırlıklı sekanslarda yeni plak oluşumunun ve lezyon hacminin azaldığını ortaya koymuştur.(131,132) Fingolimod ile IFN (30µg/hafta) kıyaslandığında yıllık atak sıklığında düşme, atak geçirmeyen hasta sayısında ise artma olduğu tespit edilmiştir. 2 grup arasında morbidite artışının önüne geçilmesi bağlamında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bir yıllık izlemde, yeni plak oluşumu, kontrastlanan plak sayısı ve beyin hacmindeki ortalama azalma fingolimod alan grupta anlamlı şekilde düşüktür.(133) Fingolimod tedavisine başlanmadan bakılması önerilen tetkikler, takip esnasında görülmesi gereken testler ve kullanımı kısıtlayan durumlar Tablo 2.11’de verilmiştir. Muhtemel ilaç advers etkileri; kalp hızında düşme, KCFT bozuklukları, lenfopeni, enfeksiyona yatkınlık, progresif multifokal lökoensefalopati, lipid panelinde bozulma, maküla ödemi, hipertansiyon, diyare, sırt ağrısı ve dirençli öksürüktür. Aktif olarak tedavi almakta olan hastalara canlı aşı yapılması uygun görülmemektedir.(134)

Tablo 2.11. Fingolimod başlamadan önce, izleminde yapılacak testler ve kontrendikasyonlar

Tedavi öncesi tetkikler	Tedavi sırasında takip	Kontrendikasyonlar
<ul style="list-style-type: none"> • Tam kan sayımı, • KCFT • Varisella zoster antikor (Bağışıklık yok ise aşıla) • İlk doz öncesi ve 6.saatte EKG, • Oftalmolojik muayene • Gebelik testi • Kontrastlı beyin MRG 	<ul style="list-style-type: none"> • Tam kan sayımı (3 ayda) • KCFT (3 ayda) • Oftalmolojik muayene ve Optik koherens tomografi (3-4 ayda bir) • Beyin MRG (6 ay-1 yıl) • Kan basıncı takibi • Yakın enfeksiyon takibi 	<ul style="list-style-type: none"> • Son 6 ayda geçirilmiş MI, unstabil anjina, stroke • Dekompanse kalp yetmezliği • Kardiyak ileti blokları • Kontrolsüz uyku apne sendromu, • Gebelik • Tekrarlayan senkop

Dimetilfumarat:(DMF) Türkiye’de Nisan 2017’de ruhsatlandırılan DMF, başlanırken ilk hafta 120 mg 2x1, takiben 240 mg 2x1 dozunda kullanılmaktadır. DMF 2x240 mg kullanımı ile plaseboyu kıyaslayan iki farklı çalışma, yıllık nüks oranlarında düşüş %53 ve %44, morbidite ilerleyişinde azalma %38 ve %21 olarak raporlanmıştır. Yeni T2 plak sayısı açısından plasebo ile kıyaslandığında %71-85, T1 hipointens lezyon oranında %57-72, kontrastlanan lezyon sayısında %74-90 oranında düşüş gösterilmiştir.(135,136) Hastalık nüks sıklığı, EDSS artışı ve MRG bulgusu değişimlerinin kıyaslandığı bir diğer çalışmada teriflunomid ile etkinliği yakın, fingolimoda oranla ise düşük olduğu görülmüştür.(137) En fazla görülen advers etkileri, sıcak basması, karın ağrısı, diyare, bulantı, lenfopeni, KCFT bozukluğu şeklinde listelenebilir. DMF alan hastalarda toplam 4 PML vakası yayınlanmıştır.(138)

2.1.11.2.3 Monoklonal antikolar

Natalizumab: MS’te kullanılan ilk monoklonal antikordur. Lökositlerin MSS’ye geçişi esnasında vasküler endotele tutunma (adezyon) aşamasında rolü olan, integrinlerin $\alpha 4$ alt ünitesine bağlanarak etki eder.(139) Plaseboya ile kıyaslandığı çalışmalarda 2 yıllık takiplerde nüks oranını % 56, yıllık atak oranını %41, EDSS puanında artışı %64 düşürdüğü tespit edilmiştir.(140,141) İnterferon ve glatiramer asetat arasında ilaç değişimi ile natalizumaba geçenler kıyaslandığında yeni atak oluşumuna dek geçen zamanın %60 uzadığı, yıllık atak sıklığının natalizumab popülasyonunda 0,2 glatiramer asetatta ise 0.58 olduğu gösterilmiştir.(142) Natalizumab ile fingolimod kıyaslandığında relaps oranlarında ve beyin MRG fonksiyonel görüntülemelerinin karşılaştırılmasında natalizumab tedavisinin daha önde bulunduğu fakat disabilite miktarlarında anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir.(143) Bütün bu etkinlik göstergelerine rağmen, yüksek PML riski sebebiyle farklı modifiye edici ilaca yanıt alınamayan ve hızla progrese olan hastalarda tercih edilmesi önerilmektedir. Ayda bir sıklıkla, 300 mg dozunda, IV yoldan kullanılması gerekmektedir. Farklı hastalık modifiye edici ilaçlar ile takip edilen vakalarda, immün sistemi baskılanmış kişilerde, aktif malign hastalığı olanlarda ve yüksek PML riski nedeniyle JC virüs pozitifliği olan bireylerde kullanımı kontrendikedir.(142)

Rituximab: CD20 taşıyan B hücre alt tiplerini öncelikle kompleman aracılı, daha düşük oranda da antikor bağımlı sitotoksite ile yok eden, keşfedilen ilk Anti CD 20 ajandır.(144) MS tedavisinde kullanımı için resmi anlamda endikasyonu olmamakla birlikte endikasyon dışı başvuru ile kullanılabilir. Plaseboya oranla yıllık relaps oranını %50, MRG'de kontrastlanan lezyon sayısını %91 düşürdüğü tespit edilmiştir. 1-15.günlerde 500'er mg olmak üzere toplamda 1000 mg IV dozunda başlanmakta, 6 ayda bir 1000 mg dozunda idame edilmektedir. En fazla görülen advers etkileri infüzyon ilişkili reaksiyonlardır.(145) Tedavi öncesi viral hepatit markerları dikkatle incelenmelidir.

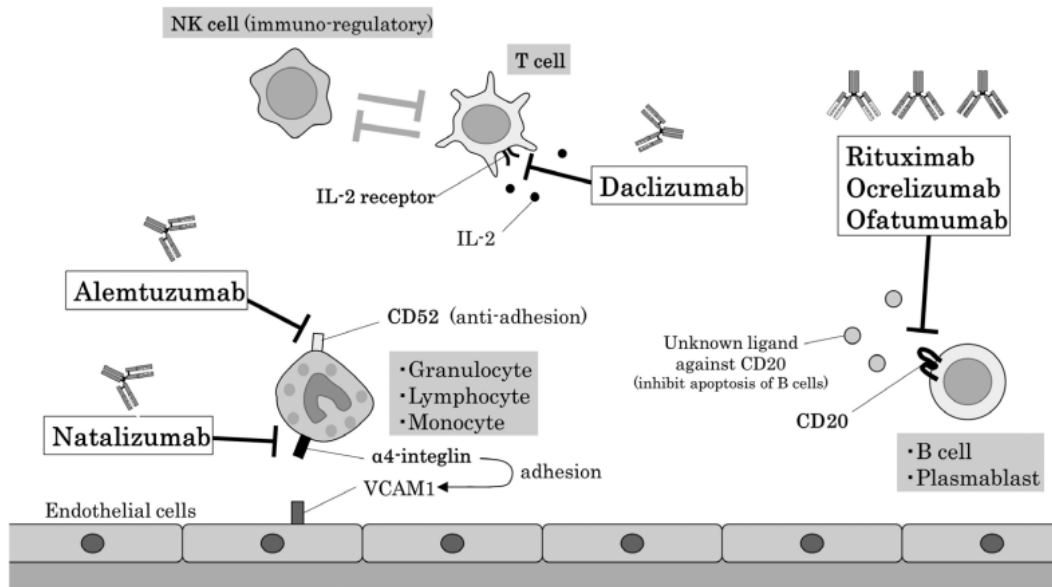
Ofatumumab: Subkutan uygulama ile kullanımı araştırılan, insan anti CD 20 antikoru ofatumumab henüz MS'te resmi kullanım onayı almamıştır. Ayda bir subkutan kullanılması planlanan molekül için çalışmalar sürmektedir. Plasebo ile kıyaslandığı bir Faz II çalışmasında yeni plak oluşumunu %65'e kadar azalttığı tespit edilmiştir.(146)

Alemtuzumab: Lenfositlerin ve doğal immün yanıt moleküllerinin yüzeyinde yer alan CD 52 antijenlerine tutunarak bu hücrelerin ölümüne neden olur. Bu hücrelerin ölümü en başta antikor bağımlı, hücre aracılı sitotoksite ile gerçekleşmektedir. Büyük oranda hücre yıkımı neticesinde, 3-12 ay süre zarfında hücrelerde değişik bir paternde repopulasyon meydana gelir ve bu durum yeni bir immün sistem hareketine neden olur. Bu yeni savunma sistemi elemanlarının ilaç kullanımı neticesinde ortaya çıkan otoimmüniteden sorumlu olabileceği gösterilmiştir.(147) Birtakım çalışmalar, yıllık nüks sıklığını, interferon beta 1a'ya oranla %50-66, T2 lezyon yükü artışını %20, beyin hacminde küçülmeyi %42 oranında düşürdüğünü ve vakaların 5 yıllık izlemleri neticesinde %94'ünde tekrar tedaviye ihtiyaç olmadığını göstermiştir.(148-150) İlaç ilk kez verilirken 5 gün üst üste ve 1 yıl sonra 3 gün üst üste 12mg/gün IV infüzyon şablonuyla verilmektedir. En fazla ortaya çıkan advers etkiler arasında infüzyon ilişkili reaksiyonlar (%95) başı çekmekte olup enfeksiyon riskinde yükseliş ve kullanım sonrasında otoimmün hastalıklarda artış (en sık otoimmün tiroidit) izlenebilmektedir.(151)

Ocrelizumab (OCR): Humanize edilmiş bir anti-CD20 antikorudur. Rituximab'dan farklı bir CD20 epitopuna tutunarak etki eder. Bu tutunma neticesinde, daha fazla antikor bağımlı hücrel sitotoksite ile daha az kompleman bağımlı apoptoz ve antikor bağımlı fagositoz yollarını tetikleyerek hücre yıkımını sağlar.(152) Monoklonal antikorlar ve etki mekanizmaları Şekil 2.6'da verilmiştir.(153)

Ocrelizumab progresif MS hastalarında ve ataklarla giden fakat 1 yıl boyunca düzenli enjeksiyon ve 1.basamak oral tabletlerin kullanımına rağmen (DMF, Teriflunomid) progrese olan hastalarda tercih edilebilir. 1.-15. günlerde 300'er mg olmak üzere toplam 600 mg IV başlangıç dozunu takiben 6 ayda bir 600 mg IV idame dozu önerilmektedir.(142)

Ocrelizumab ile interferon beta 1a'nın kıyaslandığı iki kontrollü çalışmada (OPERA I ve OPERA II); vakaların 96 haftalık takipleri neticesinde yıllık nüks oranlarının %46-47 daha az olduğu tespit edilmiştir. Her iki çalışmada da ocrelizumab tedavisi alan grupta, kontrastlanan lezyon oluşumu, T2 ağırlıklı sekanslarda yeni lezyon gelişimi ve T1 kesitlerde hipointens alan ortaya çıkış oranları anlamlı olarak düşük bulunmuştur.(154,155)



Şekil 2.6. MS'de kullanılan monoklonal antikorların etki mekanizmaları

2.1.11.2.4 Diğer İmmünsüpresif Tedaviler: Etkinlik ve güvenilirliği gösterilmiş birden fazla hastalık modifiye edici ajanın kullanıma girmesiyle diğer immünsüpresif moleküllerin kullanımı önemli oranda azalmıştır. Siklofosamid, metotreksat, azatiopürin, mitoksantron, mikofenolat mofetil MS tedavisinde denenmiş diğer bağışıklık baskılayıcı ilaçlardır.(156,157)

2.1.11.3 Semptomatik Tedavi

Spastisite: Medikal tedavide; baklofen, tizanidin, benzodiazepinler, botulinum toksini kullanılmaktadır.(158)

Tremor: Yaşam kalitesini en çok etkileyen ve tedavisi en güç belirtilerdendir. Medikal tedavi seçenekleri anlamında primidon, karbamazepin, levetirasetam, klonazepam, propranolol kullanılabilir. Çoğunlukla medikal tedaviye yanıtı yoktur.(159)

Mesane Disfonksiyonu: Mesanesini boşaltmakta zorluk çeken hastalarda aralıklı kataterizasyon denenebilir. Medikal tedavi anlamında oksibutinin, imipramin ve desmopressin kullanılabilir. Mesane egzersizleri ve pelvik taban kasları rehabilitasyonu önerilebilir.(160)

Yorgunluk: Amantadin, modafinil, selektif serotonin geri alım inhibitörleri denenebilir.(161)

Paroksizmal Belirtiler: Paresteziler, güçsüzlük, ağrılı spazmları olarak karşımıza çıkabilir. Antikonvülzan ilaçlar, benzodiazepinler, baklofen, asetazolamid, ibuprofen etkili olabilecek ilaçlardır.(162)

2.2 MS ve Oksidatif Stres

MS'de plak oluşumunu tetikleyen mekanizma farketmeksizin, merkezi ve periferik etmenlerin hastalık sürecinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Etyolojisi tam aydınlatılamasa bile MS lezyonlarının histopatolojik özellikleri iyi tanımlanmıştır. Fokal ve yaygın demiyelinizasyon, oligodendrosit kaybı, mikroglia ve astrositlerin aktivasyonu ve nöro-aksonal bileşkenin hasarı bu özelliklerdendir. Bu tip hücresel değişimler, farklı ak ve gri madde bölgeleri dahil çeşitli yerlerde görülebilir.(163,164) Özellikle mikroglia ve astrositlerin aktivasyonu, oksidatif stresle ilgili moleküllerin ekspresyonu ve saliverilmesiyle bağlantılıdır. Aktive olmuş mikroglia ve sıyan makrofajlar, süperoksit, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve nitrik oksit gibi fazla miktarda proinflamatuvar mediatör ve oksitleyici radikal üretebilir.(165)

MS yalnızca enflamatuvar bir hastalık olarak değil aynı zamanda nörodejeneratif bir süreç olarak da görüldüğünden birçok çalışma MS patogenezinde oksidatif stresin (OS) önemli yeri olduğunu göstermektedir.(166,167) Farklı çalışmalar, MS hastalarının hem kanında hem de sinir sisteminde oksidatif hasarın varlığına işaret etmektedir. MS hastalarından alınan BOS ve plazmada artmış OS belirteçleri bulunması bu görüşü desteklemektedir.(168)

2.2.1 MS'te Oksidatif Stres Belirteçleri

Oksidatif stresin MS patofizyolojisindeki önemi anlaşıldıkça, birçok molekül oksidatif stresi göstermek amacıyla kullanılmaya ve hakkında çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bunlardan bazılarını kısaca gözden geçireceğiz.

2.2.1.1 Isı Şok Proteini-70 (HSP-70)

Isı şoku proteinleri (HSP), uzun zamandır temizlik ve sitoprotektif işlevlere sahip hücre içi şaperonlar olarak kabul görmektedir. Son dönemde, hücrelerin hem proinflamatuvar hem de immün düzenleyici yanıtları tetikleme yeteneğiyle HSP saldığının keşfi, dikkatleri multipl skleroz (MS) gibi kronik, inflamatuvar, otoimmün hastalıklarda HSP'nin rolünü araştırmaya yöneltmiştir. Bugüne kadar MS ile en ilişkili

HSP, hem sitoprotektan hem de immün düzenleyici işlevleri olan indüklenebilir Hsp-70'dir.(169)

HSP bir taraftan şaperon aktivitesi ile protein agregasyonunu ve yanlış katlanmayı engellerken, diğer taraftan antiapoptotik mekanizmaları harekete geçirebilir. Hücresel stres ortamını takiben, katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi, bu proteinleri doğal formlarına tekrar katlamak veya bu imkan yoksa, proteinleri parçalayıcı yola aktarmak amacıyla HSP ekspresyonunu tetikler.(170) Yeni eksprese edilen Hsp-70'in miktarı, protein yeniden katlanmasını başarıyla tamamlarsa, bu işlemde artan fazla Hsp-70, hücre ölümünü engellemek adına farklı apoptotik araçlarla etkileşime girer. Aksi durumda, ciddi hücresel hasara sebebiyet veren stres koşulları, Hsp70'in proteinleri yeniden katlama kapasitesini aşarsa apoptotik yolak kontrol edilemez ve bu hücre ölümüne neden olur. Hsp-70'in yeterli olmayan üretimi, yanlış katlanmış proteinlerin toplanmasına ve nörodejeneratif hastalıklara ortam hazırlayıcı rol oynayan apoptotik hücre ölümüne sebep olmaktadır.(171)

2.2.1.2 Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa (HIF-1 α)

HIF-1 α , nörodejenerasyonla ilgili problemlerin ortaya çıkışı esnasında hem koruyucu hem de zararlı etkilerden sorumlu ana faktörlerden birisidir. Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α 'nın (HIF-1 α) hipoksinin seviyesine bağlı olarak "koruyucu transkripsiyon faktörü" veya "öldürücü faktör" (p53 ile ilişkili olduğunda) olarak iki taraflı bir göreve sahip olduğu bilinmektedir.(172)

Beyin büyük bir enerji tüketicisi olduğundan hipoksiye aşırı duyarlıdır. Şiddetli ve uzun süren oksijen yoksunluğunda, hücre ölümü ve nörodejenerasyonu tetikleyerek beyin hasarına katkıda bulunabilir. İnsan hücreleri, hipoksik ortama uyum göstermek amacıyla, hipoksi ile indüklenebilir faktörlerin (HIF'ler) aracı olduğu, hipoksiye fizyolojik yanıtları aktive eder. İki adet hipoksi ile indüklenebilir faktör protein alt birimi tespit edilmiştir: İndüklenebilir formu HIF-1 α ve yapısal formu HIF-1 β . Normoksik koşullarda, HIF-1 α ubiquitin-proteazom yolağınca sentezlenir ve yıkılır.(173)

Son dönemde, çeşitli çalışmalar hipoksi yanıtının ve HIF-1 sinyal yolunun MS gibi otoimmün hastalıklardaki rolünü göstermiştir. Çalışmalar ek olarak HIF-1 α 'nın otoimmün hastalık tedavisinde uygun bir terapötik hedef olduğunu öne sürmektedir.(174)

2.2.1.3 Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü-A (VEGF-A)

Gittikçe kuvvetlenen kanıtlar, anjiyogenezin multipl sklerozun (MS) gelişimi ve progresyonunda kritik bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), anjiyogenezde görevli temel faktörlerdendir.(175)

Vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A) ise, nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmiş nöroprotektif etkileri de olan bir anjiyojenik faktördür.(176)

Nörodejeneratif hastalıklar; amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Alzheimer hastalığı (AH) için yapılan çalışmalar, VEGF-A'nın bu hastalıkların patogenezinde rol aldığını öne sürmüş ve VEGF-A varyantları ile bu hastalıklar arasında genetik bir ilişki olduğunu göstermiştir.(177–179) Birkaç küçük çalışmada ise MS gelişiminde VEGF-A'nın etkisi olduğu öne sürülmüştür.(180–182)

2.2.1.4 Matriks Metalloproteinaz-7 (MMP-7)

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), laminin, kollajen, sitokinler, diğer proteinazlar ve bazı zar proteinlerinin dış bölgeleri dahil ekstraselüler matriks ve matriks dışında kalan proteinleri yıkabilen hücre dışı enzimlerdir. MMP'ler genelde plazminojen aktivatörleri, tripsin, diğer MMP'ler ve oksidasyon enzimlerince yıkılarak aktifleştirilen pro-enzimler şeklinde salınır. MS hastalarından alınan BOS örneklerinde yüksek MMP-2, MMP-7 ve MMP-9 miktarları gösterilmiştir.(183–186)

Dokularda, MMP'ler genelde hücre dışı alanlarda inaktif proformlar şeklinde bulunur ve bu MMP'lerin küçük bir kısmını aktive eden faktörlerin dahi çok kritik biyolojik etkileri vardır. Bu sebeple, MS'te MMP aktivitesine hangi faktörlerin katkısı olduğunu tespit etmek, bu enzimlerin bu hastalıkta oynadığı rolü/rolleri anlamak açısından yol gösterici olacaktır.

3-GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji polikliniğinde Relapsing Remitting Multipl Skleroz (RRMS) tanısı ile takip edilen hastalarda, HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 moleküllerinin oksidatif stres belirteci olarak kullanım durumlarının belirlenmesi ve hastalık oluşumuna katkılarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma prospektif olarak yapılmıştır. Çalışmaya 2017 revize McDonald kriterlerine göre RRMS tanısı almış 142 hasta ile 39 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. 71 hasta atak döneminde alınmış, bu hastalardan metilprednizolon tedavisi öncesi ve sonrası serum örnekleri toplanmıştır. Son 1 yılda atak geçirmeyen 71 hasta remisyon grubu, 39 sağlıklı gönüllü ise kontrol grubu olarak alınmıştır. Bu çalışma için tüm gönüllülerin onayları alınarak çalışmaya ait gönüllü olur formları okutulmuş ve imzaları alınmıştır. Çalışma için oksidatif stres markerları; HIF-1 α , HSP-70, MMP-7 ve VEGF-A molekülleri seçilmiştir. Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Etik kurulundan **08.06.2022 tarih ve 2022/207 karar numaralı** etik kurul onayı alınmıştır. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TF.UT.22.58 proje no** ile kabul edilmiş ve elisa kitleri birim desteği ile temin edilmiştir. Çalışmaya alınan tüm olguların yaş, cinsiyet, engellilik durumları, hastalık tanısı aldıklarından beri geçen süre ve hastalık modifiye edici ajan kullanıp kullanmadıkları kaydedilmiştir.

Çalışmada RRMS tanılı hastalardan HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 serum düzeylerinin değerlendirilmesi için antekübital ven kullanılarak venöz kanları biyokimya tüpüne alındı. Yarım saat bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek Eppendorf tüplerine konulup -80 °C'de saklandı.

3.1 Dahil Edilme Kriterleri

18-60 yaş aralığında, 2017 revize McDonald kriterlerine göre relapsing remitting multipl skleroz tanısı olan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Sağlıklı gönüllüler ise yine aynı yaş aralığında, bilinen hiçbir kronik hastalığı ve ilaç kullanım öyküsü olmayan bireyler arasından seçilmiştir.

3.2 Dışlanma Kriterleri

Son 3 hafta içerisinde metilprednizolon tedavisi almış olanlar, gebelik ve emzirme durumu olanlar ile multipl skleroz dışı inflamatuvar, nörodejeneratif, otoimmün hastalık öyküsü olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Remisyon grubunu, son 1 yıl içerisinde MS atağı geçirmemiş, klinik olarak selim seyreden hastalar arasından seçilmiştir.

3.3. Değerlendirme Parametreleri

3.3.1 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Çalışmaya katılan her hastaya çalışmanın özetini, amacını ve yöntemini içeren ‘Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu’ verilerek gerekli açıklamalar yapıldı. Sağlıklı gönüllüler için de yine aynı şekilde ‘Sağlıklı Gönüllüler için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu’ verildi. Bu formda kişisel bilgilerin gizliliğinin ihlal edilmeyeceği, araştırmaya katılımın tamamen gönüllü olduğu, istediklerinde gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılacakları ve her merak ettikleri ile ilgili araştırmacı doktora ulaşabilecekleri anlatıldı. Katılımcılardan bu formu dikkatlice okumaları ve özgür iradeleriyle çalışmaya katılmaya karar verdikleri takdirde imzalamaları istendi (EK 1).

3.3.2 Genişletilmiş Özürülük Durumu Ölçeği

Hastaların MS seyri ile hastalık şiddetinin tespiti için Genişletilmiş Özürülük Durum Skalası (EDSS) kullanıldı. Merkezi sinir sisteminin fonksiyonel sistem olarak tarif edilen sekiz bölgesinin değerlendirilmesi esasına dayanan bu skora ile hastaların fonksiyonel durumu “0=Normal 10=MS nedeni ile ölüm” olmak üzere 0 ile 10 arasında derecelendirilmesi planlandı (EK 2) (109)

3.3.3 HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 Serum Düzeyleri Ölçümü

Tüm gönüllülerin antekübital venleri kullanılarak, venöz kanları biyokimya tüpüne alındı. Yarım saat bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek Eppendorf tüplerine konulup -80 °C'de saklandı. Tüm örnekler toplandıktan sonra laboratuvarında analiz aşamasına geçildi. HSP-70, VEGF-A, HIF-1 α ve MMP-7 analizleri Enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) yöntemiyle Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.3.3.1 Isı Şok Proteini-70 (HSP-70)

Çalışma için ayrılmış örneklerin, kit reaktiflerinin ve mikropłakanın oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Örneklerde İnsan HSP-70 (Bioassay Technology Laboratory, Katalog No: E1813Hu, Çin) düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, Enzim bağlı immünosorbent yöntem) yöntemi kullanılarak kit yardımıyla ölçüldü. Bu kit biyotinlenmiş ikili sandviç prensibine göre ölçüm yapmaktadır.

Bu kitte saflaştırılmış insan monoklonal HSP-70 antikor ile önceden kaplanmış mikropłaka kullanılır. 50 μ L HSP-70 standartları (48; 24; 12; 6; 3 ng/L) ve örneklerden 40 μ L kuyucuklara eklendi. Örnekler üzerine 10 μ L biyotinlenmiş anti-HSP-70 antikoruna eklendi. Ardından örnek ve standartlara 50 μ L streptavidin-HRP eklenip inkübatörde (Sanyo Sterilizier, Japonya) 1 saat 37 °C'de bekletildi. İnkübasyon bittikten sonra ELISA (Biotek ELx50, ABD) yıkama cihazında yıkandı. Daha sonra 50 μ L Kromojen A ve Kromojen B solüsyonu eklenip 15 dk 37 °C'de karanlıkta bekletildi. Renk oluşması için karanlıkta bekletilip, asit çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu. Renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile 450 nm'de okundu. İnsan HSP-70 düzeyleri standart grafik yardımıyla hesaplandı.

3.3.3.2 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGF-A)

Çalışma için ayrılmış örneklerin, kit reaktiflerinin ve mikropłakanın oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Örneklerde İnsan VEGF-A (Bioassay Technology Laboratory, Katalog No: E0050Hu, Çin) düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, Enzim bağlı immünosorbent yöntem) yöntemi kullanılarak kit yardımıyla ölçüldü. Bu kit biyotinlenmiş ikili sandviç prensibine göre ölçüm

yapmaktadır. Bu kitte saflaştırılmış insan monoklonal VEGF-A antikor ile önceden kaplanmış mikropkara kullanılır. 50 µL VEGF-A standartları (480; 240; 120; 60; 30 ng/L) ve örneklerden 40 µL kuyucuklara eklendi. Örnekler üzerine 10 µL biotinlenmiş anti-VEGF-A antikorunu eklendi. Ardından örnek ve standartlara 50 µL streptavidin-HRP eklenip inkübatörde (Sanyo Sterilizier, Japonya) 1 saat 37 °C’de bekletildi. İnkübasyon bittikten sonra ELISA (Biotek ELx50, ABD) yıkama cihazında yıkandı. Daha sonra 50 µL Kromojen A ve Kromojen B solüsyonu eklenip 15 dk 37 °C’de karanlıkta bekletildi. Renk oluşması için karanlıkta bekletilip, asit çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu. Renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile 450 nm’de okundu. İnsan VEGF-A düzeyleri standart grafik yardımıyla hesaplandı.

3.3.3.3 Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa (HIF-1α)

Çalışma için ayrılmış örneklerin, kit reaktiflerinin ve mikropkaranın oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Örneklerde İnsan HIF-1α (Bioassay Technology Laboratory, Katalog No: E0422Hu, Çin) düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, Enzim bağlı immunosorbent yöntem) yöntemi kullanılarak kit yardımıyla ölçüldü. Bu kit biyotinlenmiş ikili sandviç prensibine göre ölçüm yapmaktadır. Bu kitte saflaştırılmış insan monoklonal HIF-1α antikor ile önceden kaplanmış mikropkara kullanılır. 50 µL HIF-1α standartları (8; 4; 2; 1; 0,5 ng/L) ve örneklerden 40 µL kuyucuklara eklendi. Örnekler üzerine 10 µL biotinlenmiş anti-HIF-1α antikorunu eklendi. Ardından örnek ve standartlara 50 µL streptavidin-HRP eklenip inkübatörde (Sanyo Sterilizier, Japonya) 1 saat 37 °C’de bekletildi. İnkübasyon bittikten sonra ELISA (Biotek ELx50, ABD) yıkama cihazında yıkandı. Daha sonra 50 µL Kromojen A ve Kromojen B solüsyonu eklenip 15 dk 37 °C’de karanlıkta bekletildi. Renk oluşması için karanlıkta bekletilip, asit çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu. Renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile 450 nm’de okundu. İnsan HIF-1α düzeyleri standart grafik yardımıyla hesaplandı.

3.3.3.4 Matriks Metalloproteinaz-7 (MMP-7)

Çalışma için ayrılmış örneklerin, kit reaktiflerinin ve mikropkaranın oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Örneklerde İnsan MMP-7 (Bioassay Technology Laboratory, Katalog No: E0906Hu, Çin) düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent

Assay (ELISA, Enzim bağı immunosorbent yöntem) yöntemi kullanılarak kit yardımıyla ölçüldü. Bu kit biyotinlenmiş ikili sandviç prensibine göre ölçüm yapmaktadır. Bu kitle saflaştırılmış insan monoklonal MMP-7 antikor ile önceden kaplanmış mikropkara kullanılır. 50 µL MMP-7 standartları (8; 4; 2; 1; 0,5 ng/L) ve örneklerden 40 µL kuyucuklara eklendi. Örnekler üzerine 10 µL biyotinlenmiş anti-MMP-7 antikorunu eklendi. Ardından örnek ve standartlara 50 µL streptavidin-HRP eklenip inkübatörde (Sanyo Sterilizier, Japonya) 1 saat 37 °C’de bekletildi. İnkübasyon bittikten sonra ELISA (Biotek ELx50, ABD) yıkama cihazında yıkandı. Daha sonra 50 µL Kromojen A ve Kromojen B solüsyonu eklenip 15 dk 37 °C’de karanlıkta bekletildi. Renk oluşması için karanlıkta bekletilip, asit çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu. Renk yoğunluğu ELISA okuyucu (Biotek ELx800, ABD) ile 450 nm’de okundu. İnsan MMP-7 düzeyleri standart grafik yardımıyla hesaplandı.

3.4 İstatistiksel Analiz

Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılmayan değişkenlerin iki grupta karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, üç grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Dunn testleri kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile, sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman rank korelasyon katsayısı ile test edilmiştir. Analizlerde SPSS 22,0 Windows versiyon paket programı kullanılmıştır. P<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

4-BULGULAR

4.1 Araştırma Popülasyonunun Genel Özellikleri

Çalışmaya alınan 71 MS atak hastasının (Grup 1) 41'i kadın (%57,7), 30'u erkekti (%42,3). 71 remisyon grubu hastasının (Grup 2) da aynı şekilde 41'i kadın (%57,7), 30'u erkekti (%42,3). 39 sağlıklı gönüllünün (Grup 3) 20'si kadın (51,3), 19'u erkekti (48,7). Cinsiyete göre gruplar arası anlamlı fark yoktu ($p=0,771$). (Tablo 4.2.)

Atak grubunda ortalama hasta yaşı $33,96 \pm 12,6$ remisyon grubunda $35,49 \pm 9,46$, sağlıklı gönüllüler grubunda ise $27,26 \pm 7$ idi. Grup 1 ve Grup 2 arasında yaş bakımından anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p=0,099$), Grup 3'ün yaşları Grup 1 ve Grup 2'den anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,004$, $p=0,001$). (Tablo 4.1.)

Hastalık süreleri Grup 1'de ortalama $4,35 \pm 4,9$ yıl, Grup 2'de ise $9,03 \pm 5,14$ yıldır. Hastalık süreleri Grup 2'de anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). Grup 1'de hastalık süresi ile yaş arasında pozitif yönde zayıf ($p=0,002$ ve $r=0,363$), Grup 2'de ise pozitif yönde orta şiddette ($p=0,001$ ve $r=0,516$) ilişki saptanmıştır. (Tablo 4.1.)

Grup 1'de 46 hasta (%64,8) hastalık modifiye edici tedavi kullanmakta iken, 25 hasta (%35,2) herhangi bir ilaç kullanmıyordu. Grup 2'de ise 71 hastanın tamamı (%100) hastalık modifiye edici ilaç kullanmaktaydı. Grup 2'de ilaç kullanım oranı anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. ($p=0,001$) (Tablo 4.2.)

EDSS skorları Grup 1'de ortalama $2,13 \pm 1,36$, Grup 2'de ise $2,28 \pm 1,19$ 'dur. EDSS skorları açısından gruplar arası anlamlı farklılık yoktur ($p=0,162$). Ayrıca EDSS skorları yaş, cinsiyet ve hastalık süreleri açısından da kıyaslanmıştır. Grup 1'de yaş ile EDSS arasında pozitif yönde orta güçte anlamlı ($p=0,001$ ve $r=0,405$), hastalık süresi ile EDSS arasında ise pozitif yönde güçlü şekilde anlamlı ($p=0,001$ ve $r=0,701$) ilişki mevcuttur. Grup 2'de hastalar arasında EDSS ile yaş ve hastalık süresi bakımından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,699$ ve $p=0,061$). Her iki grupta da cinsiyetler arasında EDSS açısından anlamlı fark saptanmamıştır (Grup 1 için $p=0,926$ ve Grup 2 için $p=0,521$). (Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.)

Tablo 4.1. Genel Tanımlayıcı Özellikler-1, Gruplara Göre Yaş, EDSS ve Hastalık Süresi Ortalamaları, EDSS: Expanded Disability Status Scale

	Grup 1 (n=71)	Grup 2 (n=71)	Grup 3 (n=39)	P
YAŞ	33,96 ± 12,6	35,49 ± 9,46	27,26 ± 7	0,001*F
SÜRE	4,35 ± 4,9	9,03 ± 5,14	-	0,001*F
EDSS	2,13 ± 1,36	2,28 ± 1,19	-	0,162F

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, F Mann Whitney U testi, FKruskal Wallis ve Dunn testi

Çoklu karşılaştırmalar

	P
Grup1-Grup2	0,099
Grup2-Grup3	0,001*
Grup1-Grup3	0,004*

Tablo 4.2. Genel Tanımlayıcı Özellikler-2, Gruplara Göre Cinsiyet ve İlaç Kullanım Oranları

		GRUP			
		Grup 1	Grup 2	Grup 3	
		N (%)	N (%)	N (%)	P
Cinsiyet	E	30 (42,3)	30 (42,3)	19 (48,7)	0,771
	K	41 (57,7)	41 (57,7)	20 (51,3)	
İlaç kullanım	VAR	46 (64,8)	71 (100)	-	0,001*
	YOK	25 (35,2)	0 (0)	-	

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Ki-kare testi

Tablo 4.3. Genel Tanımlayıcı Özellikler-3, EDSS'nin Yaş ve Hastalık Süresiyle İlişkisi, EDSS: Expanded Disability Status Scale, $r = 0-0,2$ çok zayıf, $r = 0,2-0,4$ zayıf, $r = 0,4-0,6$ orta, $r = 0,6-0,8$ yüksek, $r = 0,8-1$ çok yüksek korelasyon

GRUP			EDSS	YAŞ	SÜRE
Grup1	EDSS	r	1,000	,405**	,701**
		P	.	,000	,000
		N	71	71	71
	YAŞ	r	,405**	1,000	,363**
		P	,000	.	,002
		N	71	71	71
	SÜRE	r	,701**	,363**	1,000
		P	,000	,002	.
		N	71	71	71
Grup 2	EDSS	r	1,000	,047	,224
		P	.	,699	,061
		N	71	71	71
	YAŞ	r	,047	1,000	,516**
		P	,699	.	,000
		N	71	71	71
	SÜRE	r	,224	,516**	1,000
		P	,061	,000	.
		N	71	71	71

* $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı, r: Spearman rank korelasyon katsayısı

** $r > 0,2$ düzeyinde anlamlı

Tablo 4.4. Genel Tanımlayıcı Özellikler-4, EDSS'nin Cinsiyetle İlişkisi
EDSS: Expanded Disability Status Scale

		E (n=30)	K (n=41)	P
Grup 1	EDSS	2,13 ± 1,38	2,12 ± 1,36	0,926
Grup 2	EDSS	2,17 ± 1,21	2,37 ± 1,18	0,521

* $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı, Mann Whitney U testi

4.2 Oksidatif Stres Belirteçleri ile İlgili Parametreler

Çalışmada Grup 1, MS atağı geçiren hastalardan atak döneminde alınan serum örnekleri, metilprednizolon tedavisi sonrası alınan örneklerle karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.5. Oksidatif Stres Belirteçleri-1, Grup 1 Tedavi Öncesi ve Sonrası Değerler

	Tedavi öncesi (n=71)	Tedavi sonrası (n=71)	P
HİF-1A	2,31 ± 3,32	2,19 ± 2,79	0,643
HSP-70	18,95 ± 23,38	16,40 ± 15,81	0,189
MMP-7	2,16 ± 2,11	1,83 ± 1,55	0,044*
VEGF-A	122,58 ± 136,42	121,53 ± 125,45	0,184

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Wilcoxon testi

Tablo 4.5’de gösterildiği gibi, tedavi öncesi ve sonrası değerler kıyaslandığında, oksidatif stres belirteci olarak seçilen 4 molekülden sadece MMP-7 serum düzeyleri tedavi sonrası dönemde anlamlı derecede azalmıştır(p=0,044). HIF-1 α , HSP-70 ve VEGF-A serum düzeylerinde tedavi öncesi ve sonrası anlamlı farklılık olmamıştır. (p=0,643, p=0,189, p=0,184)

4 molekül için de Grup 1 tedavi öncesi, Grup 2 ve Grup 3’ ün ortalama değerleri Tablo 4.6’da, bu moleküllerin serum düzeylerinin gruplar arası kıyaslamaları da Tablo-18’de gösterilmiştir. Grup 1 ve 2 arasında hiçbir molekülde anlamlı farklılık bulunmazken (p=0,060, p=0,191, p=0,529, p=0,045) moleküllerin tamamında Grup 3’ün değerleri, hem Grup 1 ile hem de Grup 2 ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. (p=0,016, p=0,001, p=0,015, p=0,001, p=0,005, p=0,001, p=0,009, p=0,001)

Tablo 4.6. Oksidatif Stres Belirteçleri-2, 4 Molekülün Gruplara Göre Ortalama Değerleri

	Grup 1 (n=71)	Grup 2 (n=71)	Grup 3 (n=39)	P
HİF-1A	2,31 ± 3,32	3,08 ± 4,74	3,71 ± 3,24	0,001*
HSP-70	18,95 ± 23,38	19,8 ± 21,11	27,47 ± 26,13	0,002*
MMP-7	2,16 ± 2,11	2,32 ± 2,14	3,38 ± 2,41	0,003*
VEGF-A	122,58 ± 136,42	164,9 ± 177,92	213,99 ± 150,35	0,001*

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi

Tablo 4.7. Oksidatif Stres Belirteçleri-3, 4 Molekülün Gruplar Arası Karşılaştırması

HİF-1A	P	HSP-70	P
Grup1-Grup2	0,060	Grup1-Grup2	0,191
Grup2-Grup3	0,016*	Grup2-Grup3	0,015*
Grup1-Grup3	0,001*	Grup1-Grup3	0,001*
MMP-7	P	VEGF-A	P
Grup1-Grup2	0,529	Grup1-Grup2	0,045
Grup2-Grup3	0,005*	Grup2-Grup3	0,009*
Grup1-Grup3	0,001*	Grup1-Grup3	0,001*

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi

Tablo 4.8. Oksidatif Stres Belirteçleri-4, Grup 1 için 4 Molekülün Yaş, Hastalık Süresi ve EDSS ile Olan İlişkileri,

EDSS: Expanded Disability Status Scale,

r=0-0,2 çok zayıf, r=0,2-0,4 zayıf, r=0,4-0,6 orta, r=0,6-0,8 yüksek, r=0,8-1 çok yüksek korelasyon

			YAŞ	SÜRE	EDSS	HİF-1A	HSP-70	MMP-7	VEGF-A
Grup 1	YAŞ	r	1,000	,363**	,405**	-,060	-,100	-,050	-,008
		P	.	,002	,000	,620	,406	,679	,946
		N	71	71	71	71	71	71	71
	SÜRE	r	,363**	1,000	,701**	,023	-,054	,000	,085
		P	,002	.	,000	,848	,658	,999	,481
		N	71	71	71	71	71	71	71
	EDSS	r	,405**	,701**	1,000	,172	,051	,121	,106
		P	,000	,000	.	,151	,671	,314	,380
		N	71	71	71	71	71	71	71
	HİF-1A	r	-,060	,023	,172	1,000	,794**	,598**	,592**
		P	,620	,848	,151	.	,000	,000	,000
		N	71	71	71	71	71	71	71
	HSP-70	r	-,100	-,054	,051	,794**	1,000	,631**	,641**
		P	,406	,658	,671	,000	.	,000	,000
		N	71	71	71	71	71	71	71
	MMP-7	r	-,050	,000	,121	,598**	,631**	1,000	,648**
		P	,679	,999	,314	,000	,000	.	,000
		N	71	71	71	71	71	71	71
	VEGF-A	r	-,008	,085	,106	,592**	,641**	,648**	1,000
		P	,946	,481	,380	,000	,000	,000	.
		N	71	71	71	71	71	71	71

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, **r>0,2 düzeyinde anlamlı, r: Spearman rank korelasyon katsayısı

Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’da gösterildiği gibi Grup 1 ve 2 için, 4 molekülün de serum düzeyleri yaş, cinsiyet ve EDSS skorundan etkilenmemektedir. Bu 4 molekülün serum düzeyleri birbirleriyle orta-yüksek seviyede anlamlı korelasyon göstermektedir.

Tablo 4.9. Oksidatif Stres Belirteçleri-5, Grup 2 için 4 Molekülün Yaş, Hastalık Süresi ve EDSS ile Olan İlişkileri, EDSS: Expanded Disability Status Scale, r= 0-0,2 çok zayıf, r= 0,2-0,4 zayıf, r= 0,4-0,6 orta, r= 0,6-0,8 yüksek, r= 0,8-1 çok yüksek korelasyon

			YAŞ	SÜRE	EDSS	HİF-1A	HSP-70	MMP-7	VEGF-A
Grup 2	YAŞ	r	1,000	,516**	,047	-,105	-,142	-,212	-,214
		P	.	,000	,699	,384	,239	,076	,072
		N	71	71	71	71	71	71	71
	SÜRE	r	,516**	1,000	,224	-,048	-,126	-,072	-,092
		P	,000	.	,061	,693	,297	,549	,446
		N	71	71	71	71	71	71	71
	EDSS	r	,047	,224	1,000	,032	-,013	,040	,042
		P	,699	,061	.	,793	,912	,742	,727
		N	71	71	71	71	71	71	71
	HİF-1A	r	-,105	-,048	,032	1,000	,795**	,577**	,841**
		P	,384	,693	,793	.	,000	,000	,000
		N	71	71	71	71	71	71	71
	HSP-70	r	-,142	-,126	-,013	,795**	1,000	,651**	,743**
		P	,239	,297	,912	,000	.	,000	,000
		N	71	71	71	71	71	71	71
	MMP-7	r	-,212	-,072	,040	,577**	,651**	1,000	,608**
		P	,076	,549	,742	,000	,000	.	,000
		N	71	71	71	71	71	71	71
	VEGF-A	r	-,214	-,092	,042	,841**	,743**	,608**	1,000
		P	,072	,446	,727	,000	,000	,000	.
		N	71	71	71	71	71	71	71

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, r: Spearman rank korelasyon katsayısı

**r>0,2 düzeyinde anlamlı

Tablo 4.10. Oksidatif Stres Belirteçleri-6, Grup 1 ve Grup 2 için 4 Molekülün Cinsiyet ile Olan İlişkisi

		E	K	P
Grup1	HİF-1A	2,63 ± 4,07	2,08 ± 2,69	0,474
	HSP-70	19,94 ± 25,47	18,23 ± 22,04	0,762
	MMP-7	2,26 ± 2,38	2,1 ± 1,93	0,991
	VEGF-A	139,63 ± 171,1	110,12 ± 104,74	0,561
Grup 2	HİF-1A	4,08 ± 6,6	2,35 ± 2,53	0,295
	HSP-70	24,27 ± 28,24	16,52 ± 13,24	0,311
	MMP-7	2,57 ± 2,59	2,14 ± 1,75	0,889
	VEGF-A	173,53 ± 183,55	158,59 ± 175,71	0,820

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Mann Whitney U testi

Tablo 4.10'da gösterildiği gibi Grup 1 ve Grup 2 için 4 molekülün serum düzeyleri de cinsiyetler arasında anlamlı farklılık göstermemektedir.

Tablo 4.11. Oksidatif Stres Belirteçleri-7, Grup 1 için 4 Molekülün İlaç Kullanımı ile Olan İlişkisi

		İlaç kullanımı VAR (n=46)	İlaç kullanımı YOK (n=25)	P
Grup1	HİF-1A	2,34 ± 3,4	2,26 ± 3,26	0,782
	HSP-70	18,38 ± 21,78	20 ± 26,54	0,700
	MMP-7	2,2 ± 2,13	2,1 ± 2,12	0,665
	VEGF-A	131,22 ± 152,24	106,7 ± 102,11	0,535

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Mann Whitney U testi

Grup 1 için, hastalık modifiye edici ilaç kullanan ve kullanmayanlar kıyaslandığında 4 molekülün de serum düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. (Tablo 4.11.)

Tablo 4.12. Oksidatif Stres Belirteçleri-8, Grup 3 için 4 Molekülün Cinsiyet ile Olan İlişkisi

		E	K	P
Grup 3	HİF-1A	4,36 ± 3,88	3,1 ± 2,43	0,431
	HSP-70	30,84 ± 33,4	24,27 ± 16,93	0,955
	MMP-7	3,73 ± 2,82	3,05 ± 1,96	0,593
	VEGF-A	204,25 ± 142,35	223,24 ± 160,72	0,790

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Mann Whitney U testi

Tablo 4.12 ve Tablo 4.13'te gösterildiği gibi Grup 3 için 4 molekülün de serum düzeyleri cinsiyetler arasında anlamlı farklılık göstermemekte, yaş ile de anlamlı oranda değişmemektedir.

Tablo 4.13. Oksidatif Stres Belirteçleri-9, Grup 3 için 4 Molekülün Yaş ile Olan İlişkisi, r=0-0,2 çok zayıf, r=0,2-0,4 zayıf, r=0,4-0,6 orta, r=0,6-0,8 yüksek, r=0,8-1 çok yüksek korelasyon

GRUP			YAŞ	HİF-1A	HSP-70	MMP-7	VEGF-A
Grup 3	YAŞ	r	1,000	,086	,005	,019	-,086
		P	.	,603	,976	,910	,601
		N	39	39	39	39	39
	HİF-1A	r	,086	1,000	,916**	,825**	,835**
		P	,603	.	,000	,000	,000
		N	39	39	39	39	39
	HSP-70	r	,005	,916**	1,000	,818**	,850**
		P	,976	,000	.	,000	,000
		N	39	39	39	39	39
	MMP-7	r	,019	,825**	,818**	1,000	,688**
		P	,910	,000	,000	.	,000
		N	39	39	39	39	39
	VEGF-A	r	-,086	,835**	,850**	,688**	1,000
		P	,601	,000	,000	,000	.
		N	39	39	39	39	39

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, r: Spearman rank korelasyon katsayısı

**r>0,2 düzeyinde anlamlı

Her 3 Grup için de yaş, hastalık süresi ve EDSS skoru medyan değerleri Tablo 4.14'te gösterilmiştir. Yine aynı tabloda Grup 1 için 4 molekülün de tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum düzeylerinin medyan değerleri ile Grup 2 ve Grup 3 için 4 molekülün de serum düzeylerinin medyan değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Değişkenlerin Medyan (%25-%75) Değerleri,
TÖ: Tedavi Öncesi, TS: Tedavi Sonrası

	GRUP								
	Grup1			Grup 2			Grup 3		
	Medyan	%25	%75	Medyan	%25	%75	Medyan	%25	%75
YAŞ	32,00	24,00	42,00	35,00	29,00	42,00	26,00	22,00	33,00
SÜRE	3,00	,00	7,00	8,00	5,00	12,00	.	.	.
EDSS	2,00	1,00	3,00	2,00	2,00	4,00	.	.	.
HİF-1A TÖ	1,27	,89	2,08	1,40	1,09	2,93	2,64	1,42	4,71
HİF-1A TS	1,22	,95	1,89
HSP-70 TÖ	10,41	8,34	16,54	11,22	9,13	19,72	19,43	10,59	31,72
HSP-70 TS	9,97	8,72	13,75
MMP-7 TÖ	1,64	,98	2,26	1,70	1,06	2,32	2,50	1,44	4,59
MMP-7 TS	1,42	,95	2,12
VEGF-A TÖ	75,27	67,03	107,20	87,95	70,33	173,50	153,95	91,74	320,61
VEGF-A TS	82,59	63,82	121,03

5- TARTIŞMA

Bu çalışmada kronik seyirli, progresif ve dejeneratif bir hastalık olan Multipl Skleroz'un etyolojisinde son yıllarda birçok araştırmaya konu olan oksidatif stresin ve bunun belirteci olarak kullanılabilen HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 moleküllerinin hastalık oluşumuna katkılarını araştırmayı amaçladık.

Çalışma 102 kadın ve 79 erkek toplam 181 gönüllüden oluşmaktadır. Hastalar arasında ise 82 kadın 60 erkek yer almaktadır. Birçok çalışmada gösterildiği gibi bizim çalışmamızda da kadınların sayısı erkeklerden fazladır.(21,22,43) Hasta yaşları en düşük 18 en yüksek 60 olup ortalama 33,5' tir. En erken tanı alan hasta 18 yaşında en geç tanı alan hasta 44 yaşındadır. Hastalık başlangıç yaşı ortalama 28'dir. Hastaların yaş ortalamaları ve hastalık başlangıç yaşları bakımından Türkiye'de yapılan ve farklı bölgeleri içine alan prevalans çalışmalarına benzer oranlar tespit edilmiştir.(187,188) Çalışmaya alınan hastaların hastalık tanısı aldığından beri geçen süre ortalama 6,69 yıl, EDSS skorları ortalaması ise 2,2' idi. Hastalık süresi ile EDSS skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,001$, $r=0,701$). EDSS skoru yükseldikçe hasta yaşının da arttığı görüldü ($p=0,001$, $r=0,405$). Bu durumun hastalığın kronik ve progresif seyirli doğası ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Başlıca stresle indüklenen ısı şoku proteini-70'in (HSP-70) sentezi inflamasyon tarafından indüklenir. Serumdaki HSP-70'in MS'te enflamatuvar ve nörodejeneratif süreçleri ayırt etmek için potansiyel bir biyobelirteç olarak hizmet edip edemeyeceğini belirlemeyi amaçlayan bir çalışmada MS'li hastalar, sağlıklı gönüllülerden önemli ölçüde daha yüksek HSP-70 serum düzeyleri göstermiştir. (189) Çalışma bu yönüyle bizim çalışmamızdan ayrılmaktadır. Bizim sonuçlarımız bu çalışmaya zıt şekilde sağlıklı gönüllülerde daha yüksek HSP-70 serum düzeyleri göstermektedir.

Multipl skleroz hastalarının BOS'undaki Anti HSP-70 otoantikörlerinin inflamasyonu artırmada patofizyolojik bir rolü olup olmadığını araştıran bir başka çalışmada ise BOS'ta yüksek Anti HSP-70 titresine sahip hastaların kanında, insan monositik hücre hattı TH-1'de HSP-70 ile indüklenen proinflamatuvar sitokin ve kemokin üretiminin arttığı gösterilmiştir.(190) Biz serumda HSP-70 düzeyleri ölçmüştük.

Bu çalışmada ise HSP-70'e karşı oluşan antikorlar BOS'ta ölçülmüş ve hastalarda yüksek tespit edilmiştir. Çalışma bu şekliyle bizim sonuçlarımıza zıt veriler sunmaktadır.

İranlı hastalarda ısı şok proteini 70 (HSP-70) ile MS riski arasındaki ilişkiyi rs1061581 gen polimorfizmini genotipleyerek belirlemeyi amaçlayan bir vaka-kontrol çalışması RRMS hastaları ve kontroller arasında rs1061581 genotip ve alel frekanslarının dağılımında anlamlı bir fark ortaya koyamamış, ayrıca vaka grubunda HSP-70 gen polimorfizmi ile klinik değişkenler arasında da bir ilişki tespit edememiştir.(191) Bu çalışma da sonuçlar paralellik gösterse de genetik çalışma olması yönüyle bizim çalışmamızdan ayrılmaktadır.

HSP-70'in sadece proinflamatuvar değil aynı zamanda immün düzenleyici yanıtları da indüklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, HSP-70'in antiinflamatuvar kapasitesinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Farklı açılardan HSP-70'in MS'teki rollerini göstermeyi amaçlayan ayrıntılı bir çalışmada mekanizmaları açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır.(169) Bizim çalışmamızda HSP-70 serum düzeylerinin literatüre zıt şekilde sağlıklı gönüllülerin serumunda daha yüksek seviyelerde bulunduğu tespit edilmiş ($p=0,002$), atak geçirenler ile remisyondaki hastaların serum düzeyleri arasında ise anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir ($p=0,191$). (Tablo 4.6-Tablo 4.7) Çalışmada literatür ile uyumlu olarak HSP-70 serum düzeyleri tüm gruplarda; yaş, cinsiyet, hastalık süresi, EDSS skoru ve hastalık modifiye edici tedavi kullanım durumundan etkilenmemiştir. (Tablo 4.8-Tablo 4.13)

Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α (HIF-1 α) seviyelerinin kanda artışı ile karakterize edilen hipoksi benzeri doku değişiklikleri, multipl skleroz (MS) hastalarının normal görünen beyaz cevher ve predemiyelinizan lezyonlarında tanımlanmıştır. HIF-1 α ekspresyonu, inflamatuvar demiyelinizasyonun patogenezinde katkıda bulunabilir. Bu hipotezi test etmek amacıyla MS için bir fare modeli olan deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) başlangıcı ve ilerlemesi üzerindeki HIF-1 α 'nın hücreye özgü genetik ablasyonunun veya aşırı ekspresyonunun etkisini analiz eden bir çalışmada, HIF-1 α fare omuriliğinde esas olarak astrositler ve mikrogliya/makrofajlarda gösterilmesine rağmen, bu hücrelerde HIF-1 α 'nın genetik

ablasyonu klinik semptomları düzeltmemiş, aşırı ekspresyonu ise omurilik iltihabı ve demiyelinizasyonun derecesini değiştirmemiştir.(11) Çalışma hayvan deneyi olması ve incelenen örneklerde HIF-1 α düzeylerinin yüksek tespit edilmesi yönüyle bizim çalışmamızdan ayrılmakta, düzeylerin klinik semptomlarla ilişkisiz olması yönüyle ise çalışmamızla paralellik göstermektedir.

MS lezyonlarının gelişim mekanizmalarını inceleyen başka bir çalışmada ise lezyon gelişiminden önce beyaz cevherden kan akışının bozulmasının süreci hızlandırdığı, bu bozulmanın kısıtlı venöz dönüş, bozulmuş arteriyel besleme veya bu faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanabileceği ve akış yeterince bozulduğunda, HIF-1 α seviyelerinde artış tespit edileceği öne sürülmüştür.(192) Biz ise hasta gruplarında HIF-1 α serum düzeylerini sağlıklı gönüllülere oranla düşük tespit etmiştik.

HIF-1 α 'nın nörodejenerasyonla ilişkisini araştıran başka bir çalışmada ise nörodejeneratif süreçlerin gelişimi sırasında HIF-1 α 'nın hem koruyucu hem de zararlı etkilerden sorumlu olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmada hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α 'nın (HIF-1 α) hipoksinin ciddiyetine bağlı olarak "koruyucu transkripsiyon faktörü" veya "öldürücü faktör" (p53 ile ilişkili olduğunda) olarak iki yönlü bir role sahip olduğu gösterilmiştir.(193) Çalışmamızda ise HIF-1 α serum düzeylerinin literatür ile uyumsuz şekilde sağlıklı gönüllülerin serumunda daha yüksek seviyelerde bulunduğu tespit edilmiş (p=0,001), atak geçirenler ile remisyondaki hastaların serum düzeyleri arasında ise anlamlı fark olmadığı görülmüştür (p=0,060). (Tablo 4.6-Tablo 4.7) Çalışmada literatür ile uyumlu olarak HIF-1 α serum düzeyleri tüm gruplarda; yaş, cinsiyet, hastalık süresi, EDSS skoru ve hastalık modifiye edici tedavi kullanım durumundan etkilenmemiştir. (Tablo 4.8-Tablo 4.13)

Vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A), başlangıçta anjiyogenezi uyaran ve kan damarlarının geçirgenliğini artıran bir endotelial hücreye özgü büyüme faktörüdür. Son araştırmalar VEGF-A'nın nöronlar ve aksonlar üzerinde de doğrudan etkiler gösterdiğini, normal ve hastalık koşullarında SSS'de nörotrofik bir faktör olarak hareket ettiğini göstermektedir.(194)

PPMS'li hastalarda intratekal inflamasyonun derecesini ve bunun hastalık aktivitesinin biyobelirteçleri ve ciddiyeti ile ilişkisini araştırmak için yapılan

Danimarka merkezli bir çalışmada kontrol grubu olarak alınan RRMS hastalarının BOS örneklerinde VEGF-A seviyelerinin sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu gösterilmiştir.(195) Bu çalışmada VEGF-A düzeylerinin BOS'ta ölçülmüş olması ve hastalarda sağlıklı gönüllülere kıyasla yüksek seviyeler tespit edilmesi bizim çalışmamıza zıt sonuçlar göstermektedir.

Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) ile ilişkili faktörlerin multipl skleroz şiddeti ile ilişkisini araştırmayı amaçlayan bir vaka-kontrol çalışmasında ise MS hastalarında VEGFR1 eksprese eden hücrelerin dolaşım düzeyinde ve VEGF'nin serum seviyesi ve onun reseptörü-1'in (sVEGFR1) çözünebilir formunun düzeylerinde sağlıklı kontrollere göre artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca EDSS skoru ile sVEGFR1 arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiş, MS'in anjiyojenik ve enflamatuar fenomenleri sırasında VEGFR1'in dolaşımdaki membranöz ve çözünür formunun arttığı ortaya konmuştur. Çalışmada, böyle bir artışın semptomları şiddetlendirebileceği ve daha fazla sakatlığa neden olabileceği öne sürülmüştür.(196) Çalışmada düzeyi bakılan VEGF ve VEGFR1 moleküler benzerlik olsa da bizim baktığımız VEGF-A ile farklı moleküllerdir. Hem bu yönüyle hem de sonuçların hastalarda sağlıklı gönüllülere oranla yüksek serum düzeyleri göstermesi yönüyle bizim çalışmamıza ters düşmektedir. Ayrıca bu yüksek serum düzeylerinin hastalarda sakatlık oranını artırabileceği düşüncesi bizim çalışmamızda ilişkisiz bulunan sonuçlara uymamaktadır.

2021 yılında Çin merkezli yapılan bir Mendel randomizasyon çalışmasında, büyüme faktörlerinin Multipl Skleroz (MS) riski üzerindeki temel rollerini araştırmak amaçlanmış, Fibroblast büyüme faktörü (FGF) 23, büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15), insülin büyüme faktörü 1 (IGF1), insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler 3 (IGFBP3) ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) için genetik enstrümantal değişkenler elde edilmiştir. Çalışma sonuçlarında, genetik olarak tahmin edilen dolaşımdaki FGF23 seviyeleri, MS riski ile ilişkilendirilmiş, GDF1, IGF1, IGFBP3 ve VEGF'nin MS riskleri üzerindeki nedensel rollerine dair kanıt sağlanamamıştır.(197) Genetik çalışma olması ve bakılan molekülün benzerlik gösterse de bizim baktığımız molekülden farklı olması bizim çalışmamızdan ayrılan yönlerdir.

MS ve deneysel otoimmün ensefalomyelitteki (EAE) nörodejenerasyon sürecinde VEGF-A/VEGFR2 sinyal yolağının rolünü keşfetmeyi amaçlayan bir hayvan deneyi çalışmasında, omurilikte VEGF-A ekspresyonunun azaldığı ve EAE farelerinin omuriliğindeki alt motor nöronlarda VEGFR2'nin aktive olduğu gösterilmiştir.(198) Çalışma hayvan deneyi olması ve alınan örneklerin omurilik kesitlerinden oluşması yönüyle çalışmamızdan ayrılmakla birlikte, hastalarda VEGF-A düzeylerinin düşük tespit edilmesi yönüyle çalışmamıza paralellik göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise VEGF-A serum düzeylerinin literatür ile uyumsuz şekilde sağlıklı gönüllülerin serumunda daha yüksek seviyelerde bulunduğu tespit edilmiş ($p=0,001$), atak geçirenler ile remisyondaki hastaların serum düzeyleri arasında ise anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p=0,045$). (Tablo 4.6-Tablo 4.7) Çalışmada literatür ile uyumlu olarak VEGF-A serum düzeyleri tüm gruplarda; yaş, cinsiyet, hastalık süresi, EDSS skoru ve hastalık modifiye edici tedavi kullanım durumundan etkilenmemiştir. (Tablo 4.8-Tablo 4.13)

Matris metaloproteinazlar ve bunların doku inhibitörlerinin, erişkin başlangıçlı multipl sklerozun patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiş ve MS'de yerleşik bir tedavi olan IFN- β 'ya yanıtın takibinde biyobelirteç olarak kullanılması önerilmiştir. Pediatrik popülasyona ilişkin verileri incelemeyi amaçlayan bir çalışmada ortalama MMP-7 serum seviyeleri hastalarda kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuş ve tedavi edilen grupta önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir.(199) Çalışma bu yönüyle bizim çalışmamıza benzerlik göstermektedir ancak pediatrik popülasyon seçilmiş olması ile ayrılmaktadır.

MMP ve inhibitörlerinin MS patogeneindeki yeri ve hastalığın seyrindeki rolünü araştırmayı amaçlayan bir vaka kontrol çalışmasında ise hastaların atak ve remisyon dönemindeki MMP-9 ve TIMP düzeyleri ile MMP-9/TIMP-1 oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş, hasta grubunda ataklar sırasındaki MMP-9 ve TIMP-1 seviyeleri ile MMP-9/TIMP-1 oranı remisyon dönemine göre anlamlı fark gösterilememiştir.(200) Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak MMP-7 serum düzeyleri bakılmış ve yine bu çalışmayla uyumsuz olacak şekilde sağlıklı kontrol grubunda hasta gruplarına göre yüksek serum seviyeleri tespit edilmiştir. Aynı aileye ait moleküller olmasına rağmen bu moleküler farklılık dikkate değerdir. Çalışmanın bizim sonuçlarımız ile benzer yönü ise atak dönemi hastaları ile remisyon

grubu arasında molekül serum düzeyleri açısından anlamlı fark tespit edilememiş olmasıdır.

Batı İran'dan 125 MS ve 235 sağlıklı bireyin alındığı bir vaka kontrol çalışmasında, MMP-2 C-735T ve MMP-9 C-1562T varyantlarının etkisini ve bunların MMP-7 A-181G ile sinerjizminin MS'e duyarlılık üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Hem MMP-2 C hem de MMP-7 G allellerinin birlikte bulunması, MS riskinde 1,82 kat artış ile ilişkilendirilmiş, MMP-9 C ve MMP-7 G alelleri arasında MS riskini 1,5 kat artıran bir sinerji tespit edilmiştir. Ayrıca haplotip CAG'ye kıyasla haplotip MMP-9 T, MMP-7 G ve MMP-2 C'nin (TGC) varlığının, MS riskini 3,13 kat artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışma, gen-gen etkileşimlerinin ve tek gen yerine daha fazla genin varyantlarının MS duyarlılığında rol oynayabileceğini düşündürmüştür. MMP-2, MMP-7 ve MMP-9 genlerinin varyantları arasındaki sinerjinin MS riskini artırabileceği öne sürülmüştür.(201) Her ne kadar MMP-7'nin MS ile ilişkisini göstermeyi amaçlasa da bu çalışma PCR metodu ile yapılmış bir genotip çalışması olması yönüyle bizim çalışmamızdan ayrılmaktadır. Biz MMP-7 serum düzeylerini ELİSA ile ölçerek hastalık ilişkisini araştırmayı amaçlamıştık. Bizim çalışmamızda MMP-7 serum düzeylerinin literatür ile uyumsuz şekilde sağlıklı gönüllülerin serumunda daha yüksek seviyelerde bulunduğu tespit edilmiş ($p=0,003$), atak ile remisyon grubu serum düzeyleri arasında ise anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p=0,529$). (Tablo 4.6-Tablo 4.7) Çalışmada literatür ile uyumlu olarak MMP-7 serum düzeyleri tüm gruplarda; yaş, cinsiyet, hastalık süresi, EDSS skoru ve hastalık modifiye edici tedavi kullanım durumundan etkilenmemiştir. (Tablo 4.8-Tablo 4.13)

Akut MS atağında MMP aktivitesinin rolünü belirlemek için, MS'li hastaların BOS'undaki MMP düzeyini ölçmeyi amaçlayan bir çalışmada, akut MS atağını tedavi etmek için steroid verilen hastalardan ($n=7$), 3 gün IVMP (1g/gün) öncesi ve sonrası BOS örnekleri alınmış, MMP, 92-kDa tip IV kollajenaz (jelatinaz B)'nin steroidlerden önce 216 ± 70 olan düzeyinin tedaviden sonra 54 ± 26 seviyelerine düştüğü ($p<0.046$) tespit edilmiştir.(202) Bizim çalışmamızda ise IVMP tedavisi sonrası bu 4 molekülün de düzeylerinde azalma tespit edilse de sadece MMP-7'deki düşüş istatistiksel anlamlı olarak görülmüştür.(Tablo 4.5) Bu çalışma BOS örneklerinin incelenmesi yönüyle çalışmamızdan ayrılrsa da sonuçlar itibari ile benzerlik göstermektedir. Diğer 3 molekül için IVMP tedavisine yanıtı gösteren yeterli literatür verisi yoktur.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

142 hasta ve 39 sağlıklı gönüllüden oluşan Relapsing Remitting Multipl Skleroz (RRMS) tanısı ile takip edilen hastalarda, HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 moleküllerinin oksidatif stres belirteci olarak kullanım durumlarının belirlenmesi ve hastalık oluşumuna katkılarının araştırılmasının amaçlandığı bu prospektif çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara göre; HSP-70, HIF-1 α , VEGF-A ve MMP-7 moleküllerinin serum düzeyleri sağlıklı gönüllülerde, hastalara oranla yüksek tespit edilmiştir. Atak hastalarında metilprednizolon tedavisi sonrası 4 molekülün de düzeylerinde azalma tespit edilse de sadece MMP-7'deki düşüş istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür. Moleküllerin serum düzeyleri hastalarda; yaş, cinsiyet, hastalık süresi, EDSS skoru ve hastalık modifiye edici tedavi kullanım durumundan etkilenmemiştir.

Bu sonuçlara göre, bu 4 molekülün serum düzeylerinin ELİSA yöntemi ile tespitinin MS hastalığında oksidatif stres belirteci olarak kullanılmasının, literatürdeki çelişkili sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde güvenilir parametreler olmadığı, yine literatür verilerine göre bu moleküllerin BOS'ta ölçümlerinin veya gen polimorfizmlerinin araştırılması yöntemlerinin serum düzeylerine oranla daha tutarlı sonuçlar gösterebileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın en büyük kısıtlılığı hasta sayımızın düşük olmasıdır. Daha büyük hasta sayıları ve daha uzun süren takiplerle prospektif çalışmalar yapılması bu konuda daha net bilgiler verecektir.

Oksidatif stres ve bunun belirteçlerinin doğru anlaşılmasının gelecekte MS tedavisi için yeni umutlar doğuracağı ve araştırmacılara yeni pencereler açacağı düşünüldüğünde, çalışmamızdan elde edilen sonuçların literatüre katkı sağlayacağı ve benzer araştırmalara yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

7-KAYNAKLAR

1. Murúa SR, Farez MF, Quintana FJ. The Immune Response in Multiple Sclerosis. *Annu Rev Pathol* 2022 ; 17:121–39.
2. Pegoretti V, Swanson KA, Bethea JR, Probert L, Eisel ULM, Fischer R. Review Article Inflammation and Oxidative Stress in Multiple Sclerosis: Consequences for Therapy Development. *Oxid Med Cell Longev* 2020; 2020: 7191080
3. Tafti D., Ehsan M. Multipl Skleroz. *StatPearls* 2022
4. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008;372(9648):1502–17.
5. Lassmann H. Pathogenic Mechanisms Associated With Different Clinical Courses of Multiple Sclerosis. *Front Immunol* 2019;9
6. Weiner HL. A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2008 ;255 Suppl 1(SUPPL. 1):3–11.
7. Li R, Patterson KR, Bar-Or A. Reassessing B cell contributions in multiple sclerosis. *Nat Immunol.* 2018;19(7):696–707.
8. Kutzelnigg A, Lassmann H. Pathology of multiple sclerosis and related inflammatory demyelinating diseases. *Handb Clin Neurol* 2014;122:15–58.
9. Mansilla M.J., Montalban X., Espejo C. Heat Shock Protein 70: Roles in Multiple Sclerosis. *MolecularMedicine.* 2012;18:1018–28.
10. Afshar B, Ganjalikhani-Hakemi M, Khalifezadeh Esfahani Z, Eskandari N, Shaygannajad V, Hosseininasab F, et al. Evaluating the Effects of Epigallocatechin-3-Gallate on HIF-1 α Protein and RORC Gene Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients With Multiple Sclerosis. *Basic Clin Neurosci* ;12(4):533–40.

11. Le Moan N, Baeten KM, Rafalski VA, Ryu JK, Coronado PER, Bedard C, et al. Hypoxia Inducible Factor-1 α in Astrocytes and/or Myeloid Cells Is Not Required for the Development of Autoimmune Demyelinating Disease. *eNeuro*. 2015;2(2).
12. McNamee EN, Korns Johnson D, Homann D, Clambey ET. Hypoxia and hypoxia-inducible factors as regulators of T cell development, differentiation, and function. *Immunol Res*. 2013 ;55(1–3):58–70.
13. Deng W, Feng X, Li X, Wang D, Sun L. Hypoxia-inducible factor 1 in autoimmune diseases. *Cell Immunol*. 2016 ;303:7–15.
14. Azimi G, Ranjbaran F, Arsang-Jang S, Ghafouri-Fard S, Mazdeh M, Sayad A, et al. Upregulation of VEGF-A and correlation between VEGF-A and FLT-1 expressions in Iranian multiple sclerosis patients. *Neurological Sciences*. 2020 ;41(6):1459–65.
15. Cossins JA, Clements JM, Ford J, Miller KM, Pigott R, Vos W, et al. Enhanced expression of MMP-7 and MMP-9 in demyelinating multiple sclerosis lesions. *Acta Neuropathol*. 1997;94(6):590–8.
16. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis – a review. *Eur J Neurol*. 2019;26(1):27–40.
17. Dighriri IM, Aldalbahi AA, Albeladi F, Tahiri AA, Kinani EM, Almohsen RA, et al. An Overview of the History, Pathophysiology, and Pharmacological Interventions of Multiple Sclerosis. 2023;
18. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis – a review. *Eur J Neurol*. 2019;26(1):27–40.
19. Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: An update. *Neurological Sciences*. 2001;22(2):117–39.
20. Bejar JM, Ziegler DK. Onset of Multiple Sclerosis in a 24-Month-Old Child. *Arch Neurol*. 1984;41(8):881–2.

21. Börü ÜT, Duman A, Kulualp AŞ, Güler N, Taşdemir M, Yılmaz Ü, et al. Multiple sclerosis prevalence study the comparison of 3 coastal cities, located in the black sea and mediterranean regions of Turkey. *Medicine (United States)*. 2018;97(42).
22. Akdemir N, Terzi M, Arslan N, Onar M. Prevalence of Multiple Sclerosis in the Middle Black Sea Region of Turkey and Demographic Characteristics of Patients. *Noro Psikiyatr Ars*. 2017;54(1):11–4.
23. Michel L. Environmental factors in the development of multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. 2018;174(6):372–7.
24. Wu DJ, Adamopoulos IE. Autophagy and autoimmunity. *Clinical Immunology*. 2017;176:55–62.
25. Garg N, Smith TW. An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. *Brain Behav*. 2015;5(9).
26. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple Sclerosis. *N Engl J Med*. 2018;378(2):169.
27. Stinissen P, Raus J, Zhang J. Autoimmune Pathogenesis of Multiple Sclerosis: Role of Autoreactive T Lymphocytes and New Immunotherapeutic Strategies. *Crit Rev Immunol*. 1997;17(1):33–75.
28. Wekerle H. B cells in multiple sclerosis. *Autoimmunity*. 2017;50(1):57–60.
29. Greenfield AL, Hauser SL. B-cell Therapy for Multiple Sclerosis: Entering an era. *Ann Neurol*. 2018;83(1):13–26.
30. Connick P., Kolappan M., Crawley C. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol* . 2012;11:150–6.
31. Moutsianas L, Jostins L, Beecham AH, Dilthey AT, Xifara DK, Ban M, et al. Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis. *Nat Genet*. 2015;47(10):1107.

32. Eraksoy M, Kurtuncu M, Akman-Demir G, Kilinc M, Gedizlioglu M, Mirza M, et al. A whole genome screen for linkage in Turkish multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2003;143(1–2):17–24.
33. Weiner HL., Stankiewicz JM. Multiple sclerosis: diagnosis and therapy. 2012. 128–328 p.
34. Bray PF, Bloomer LC, Salmon VC, Bagley MH, Larsen PD. Epstein-Barr Virus Infection and Antibody Synthesis in Patients With Multiple Sclerosis. *Arch Neurol.* 1983;40(7):406–8.
35. Koskderelioglu A, Afsar I, Pektas B, Gedizlioglu M. Is *Toxoplasma gondii* infection protective against multiple sclerosis risk? *Mult Scler Relat Disord.* 2017;15:7–10.
36. Fabis Pedrini MJ, Seewann A, Bennett KA, Wood AJT, James I, Burton J, et al. *Helicobacter pylori* infection as a protective factor against multiple sclerosis risk in females. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(6):603–7.
37. Jaruvongvanich V, Sanguankeo A, Jaruvongvanich S, Upala S. Association between *Helicobacter pylori* infection and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord.* 2016;7:92–7.
38. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol.* 2007;61(6):504–13.
39. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: The role of infection. *Ann Neurol.* 2007;61(4):288–99.
40. Hernán MA, Jick SS, Logroscino G, Olek MJ, Ascherio A, Jick H. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain.* 2005;128(6):1461–5.
41. Riise T, Nortvedt MW, Ascherio A. Smoking is a risk factor for multiple sclerosis. *Neurology.* 2003;61(8):1122–4.
42. Caroline C. Whitacre. Sex differences in autoimmune disease. Vol. 2. *Nature Immunology*; 2001. 777–780 p.

43. Börü ÜT, Bilgiç AB, Toksoy CK, Yılmaz AY, Tasdemir M, Sensöz NP, et al. Prevalence of Multiple Sclerosis in a Turkish City Bordering an Iron and Steel Factory. *Journal of Clinical Neurology*. 2018;14(2):234–41
44. Kasper LH, Shoemaker J. Multiple sclerosis immunology. *Neurology*. 2010;74(1 Supplement 1):S2–8.
45. Racke M. Immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Ann Indian Acad Neurol*. 2009;12(4):215.
46. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nature Reviews Immunology*. 2015;15(9):545–58.
47. ALTINTAŞ A. Multipl Sklerozun İmmunopatogenezi ve Patolojisi. *Turkiye Klinikleri J Neurol*. 2009;2(2):1–8.
48. Weber MS, Hemmer B. Cooperation of B cells and T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Results Probl Cell Differ*. 2010;51:115–26.
49. McGinley MP, Goldschmidt CH, Rae-Grant AD. Diagnosis and Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *JAMA*. 2021;325(8):765–79.
50. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions. *Neurology*. 2014;83(3):278.
51. Eshaghi A, Young AL, Wijeratne PA, Prados F, Arnold DL, Narayanan S, et al. Identifying multiple sclerosis subtypes using unsupervised machine learning and MRI data. *Nat Commun*. 2021;12(1).
52. Gaitán MI, Sanchez M, Farez MF, Fiol MP, Ysraelit MC, Solomon AJ, et al. The frequency and characteristics of multiple sclerosis misdiagnosis in Latin America: A referral center study in Buenos Aires, Argentina. *Multiple Sclerosis Journal*. 2022;28(9):1373–81.

53. Carvalho V, Soares C, Gomes I, Carvalho A, Serrazina F, Rodrigues SG, et al. RISCOP–Cognitive profile in a Portuguese cohort of radiological isolated syndrome patients: A case-control study. *Mult Scler Relat Disord*. 2021;50:102832.
54. Sorensen PS, Sellebjerg F, Hartung HP, Montalban X, Comi G, Tintoré M. The apparently milder course of multiple sclerosis: changes in the diagnostic criteria, therapy and natural history. *Brain*. 2020;143(9):2637–52.
55. Liu Y, Duan Y, Yu C, Qin W, Chen H, Dong H, et al. Clinical isolated syndrome: A 3-year follow-up study in China. *Clin Neurol Neurosurg*. 2011;113(8):658–60.
56. Sombekke MH, Wattjes MP, Balk LJ, Nielsen JM, Vrenken H, Uitdehaag BMJ, et al. Spinal cord lesions in patients with clinically isolated syndrome. *Neurology*. 2013;80(1):69–75.
57. Morrissey SP, Miller DH, Kendall BE, Kingsley DPE, Kelly MA, Francis DA, et al. The significance of brain magnetic resonance imaging abnormalities at presentation with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis: A 5-year follow-up study. *Brain*. 1993;116(1):135–46.
58. Fisniku LK, Brex PA, Altmann DR, Miszkiet KA, Benton CE, Lanyon R, et al. Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain*. 2008;131(3):808–17.
59. Wawrziczny E, Corrairie A, Antoine P. Relapsing-remitting multiple sclerosis: an interpretative phenomenological analysis of dyadic dynamics. *Disabil Rehabil*. 2019;43(1):76–84.
60. Zanghi A, D'Amico E, Patti F. Immunosuppression in relapsing remitting multiple sclerosis: moving towards personalized treatment. *Expert Rev Neurother*. 2020;20(8):771–82.
61. Li M, Chen H, Yin P, Song J, Jiang F, Tang Z, et al. Identification and Clinical Validation of Key Extracellular Proteins as the Potential Biomarkers in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2021;12.

62. Correale J, Gaitán MI, Ysrraelit MC, Fiol MP. Progressive multiple sclerosis: from pathogenic mechanisms to treatment. *Brain*. 2017;140(3):527–46.
63. Sand IK. Classification, diagnosis, and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2015;28(3):193–205.
64. Ekici A. Radiological Isolated Syndrome. *Türkiye Klinikleri*. 2023;31–7.
65. Lebrun C, Bensa C, Debouverie M, Wiertlevski S, Brassat D, De Seze J, et al. Association Between Clinical Conversion to Multiple Sclerosis in Radiologically Isolated Syndrome and Magnetic Resonance Imaging, Cerebrospinal Fluid, and Visual Evoked Potential: Follow-up of 70 Patients. *Arch Neurol*. 2009;66(7):841–6.
66. Lebrun C, Bensa C, Debouverie M, De Seze J, Wiertlievski S, Brochet B, et al. Unexpected multiple sclerosis: follow-up of 30 patients with magnetic resonance imaging and clinical conversion profile. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(2):195–8.
67. O'Connor P. Key issues in the diagnosis and treatment of multiple sclerosis. An overview. *Neurology*. 2002;59(6 Suppl 3).
68. Fryze W, Zaborski J, Członkowska A. [Pain in the course of multiple sclerosis]. *Neurol Neurochir Pol*. 2002;36(2):275–84.
69. Nelson DA. Sensory symptoms of multiple sclerosis may be clues to causation: review and a hypothesis. *Del Med J*. 1992 Mar;64(3):205–13.
70. Ramirez Lassepas M, Tulloch JW, Quinones MR, Snyder BD. Acute Radicular Pain as a Presenting Symptom in Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*. 1992;49(3):255–8.
71. Kamogawa K, Okuda B. Useless hand syndrome with astereognosis in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2015;4(1):85–7.
72. Di Stefano G, Tinelli E, Truini A. An Unusual Case of Simultaneous Bilateral Trigeminal Neuralgia Due to Multiple Sclerosis. *J Oral Facial Pain Headache*. 2017;31(4):e4–6.

73. Zhang Y, Xu P, Deng Y, Duan W, Cui J, Ni C, et al. Effects of vibration training on motor and non-motor symptoms for patients with multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:960328.
74. Murat Terzi. Clinical and Radiological Features of Multiple Sclerosis: Three Case Reports . *Turk Norol Derg.* 2009;15(3):72–8.
75. Edip Aktin. Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, Nöroloji. Öge A.E., editor. Vol. 4. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004. 508–552 p.
76. Tzelepis GE, McCool FD. Respiratory dysfunction in multiple sclerosis. *Respir Med.* 2015;109(6):671–9.
77. Burgos-Blasco B, Madrigal-Sanchez R, Llorente-la Orden C, Oreja-Guevara C, Santos-Bueso E. Natural history and optic neuritis in multiple sclerosis. *Anales de Pediatría (English Edition).* 2022;96(1):66–8.
78. Alcubierre R, Sánchez-Dalmau BF, Muñoz S. Multiple sclerosis in ophthalmology: beyond optic neuritis. *Med Clin (Barc).* 2020;155(2):70–6.
79. Kang H, Liu Z, Li H, Chen T, Ai N, Xu Q, et al. Simultaneous bilateral optic neuritis in China: clinical, serological and prognostic characteristics. *Acta Ophthalmol.* 2019;97(3):e426–34.
80. Erdoğan S, Sorgun MH, Yalçındağ N, Atilla H, Yücesan C. Bilateral optic neuritis in a patient with Behçet's disease who respond to therapeutic plasma exchange. *Saudi Journal of Ophthalmology.* 2015;29(4):298–300.
81. Singh P, Karmacharya S, Rizyal A, Rijal AP. Idiopathic Bilateral Optic Neuritis. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ).* 17(65):66–9.
82. Panginikkod S, Rayi A, Rocha Cabrero F, Rukmangadachar LA. Uhthoff Phenomenon. *StatPearls* 2023.

83. Dhanapalaratnam R, Markoulli M, Krishnan A V. Disorders of vision in multiple sclerosis. *Clin Exp Optom*. 2022;105(1):3–12.
84. Zainal Abidin N, Tuan Jaffar TN, Ahmad Tajudin LS. Wall-Eyed Bilateral Internuclear Ophthalmoplegia as an Early Presentation of Multiple Sclerosis. *Cureus*. 2023; 15(3):e36835
85. Simmons J, Rhodes M. Conservative and Surgical Management of Unilateral and Bilateral Internuclear Ophthalmoplegia (INO)—A Retrospective Analysis. *British and Irish Orthoptic Journal*. 2022;18(1):152–8.
86. Bet-Shlimon S, Etienne M. Isolated Abducens Palsy as the First Presenting Sign of Multiple Sclerosis. *Case Rep Neurol*. 2017;8(3):272–5.
87. Asai K, Inagaki M, Maegaki Y, Yamamoto T, Suzaki I, Ohta S. An early-onset case of multiple sclerosis with thalamic lesions on MRI. *Pediatrics International*. 1994;36(4):431–4.
88. Moroso A, Ruet A, Deloire M, Lamargue-Hamel D, Cubizolle S, Charré-Morin J, et al. Cerebellar Assessment in Early Multiple Sclerosis. *Cerebellum*. 2017;16(2):607–11.
89. Politte LC, Huffman JC, Stern TA. Neuropsychiatric manifestations of multiple sclerosis. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2008;10(4):318–24.
90. Silveira C, Guedes R, Maia D, Curreal R, Coelho R. Neuropsychiatric Symptoms of Multiple Sclerosis: State of the Art. *Psychiatry Investig*. 2019;16(12):877–88.
91. Nakipoglu GF, Kaya AZ, Orhan G, Tezen O, Tunc H, Ozgirgin N, et al. Urinary dysfunction in multiple sclerosis. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2009;16(10):1321–4.
92. Wang T, Huang W, Zhang Y. Clinical Characteristics and Urodynamic Analysis of Urinary Dysfunction in Multiple Sclerosis. *Chin Med J (Engl)*. 2016;129(6):645–50.

93. Demirkiran M, Sarica Y, Uguz S, Yerdelen D, Aslan K. Multiple sclerosis patients with and without sexual dysfunction: are there any differences? *Multiple Sclerosis Journal*. 2006;12(2):209–11.
94. Köseoğlu M, Gözübatık Çelik Rg, Tutuncu M, Bingöl A, Erbas B, Deringöl D, et al. Sexual dysfunction and associated risk factors in multiple sclerosis. *Journal of Surgery and Medicine*. 2020;4(9):779–83.
95. Mirmosayyeb O, Shaygannejad V, Nehzat N, Mohammadi A, Ghajarzadeh M. Prevalence of Seizure/Epilepsy in Patients with Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Prev Med*. 2021;12:14.
96. Shaygannejad V, Ashtari F, Zare M, Ghasemi M, Norouzi R, Maghzi H. Seizure characteristics in multiple sclerosis patients. *J Res Med Sci*. 2013 (Suppl 1):S74-7.
97. Beckmann Y, Türe S. Headache characteristics in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2019;27:112–6.
98. Chowdhury D. Association between Multiple Sclerosis and Headache: An Unresolved Conundrum. *Neurol India*. 2020;68(6):1338–9.
99. Husain F, Pardo G, Rabadi M. Headache and Its Management in Patients With Multiple Sclerosis. *Curr Treat Options Neurol*. 2018;20(4):10.
100. Sakakibara R. Gastrointestinal dysfunction in neuroinflammatory diseases: Multiple sclerosis, neuromyelitis optica, acute autonomic ganglionopathy and related conditions. *Auton Neurosci*. 2021;232:102795.
101. Khanna L, Zeydan B, Kantarci OH, Camilleri M. Gastrointestinal motility disorders in patients with multiple sclerosis: A single-center study. *Neurogastroenterology and motility*. 2022;34(8):e14326.
102. Poser S. [Sleep disorder in multiple sclerosis]. *Dtsch Med Wochenschr*. 1989;114(30):1175.

103. Schumacher Ga, Beebe G, Kibler Rf, Kurland Lt, Kurtzke Jf, Mcdowell F, Et Al. Problems Of Experimental Trials Of Therapy In Multiple Sclerosis: Report By The Panel On The Evaluation Of Experimental Trials Of Therapy In Multiple Sclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1965;122:552–68.
104. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol.* 1983;13(3):227–31.
105. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018;17(2):162–73.
106. Baydar C. Multiple Skleroz Tanısı ve Tanı Testleri. In: Özşimşek A., editor. *Güncel Nöroloji Çalışmaları II. Akademisyen Kitabevi;* 2022. p. 57–63.
107. Rotstein D, Montalban X. Reaching an evidence-based prognosis for personalized treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(5):287–300.
108. Kurtzke JF. Historical and clinical perspectives of the expanded disability status scale. *Neuroepidemiology.* 2008;31(1):1–9.
109. Çınar BP, Yorgun YG. What We Learned from The History of Multiple Sclerosis Measurement: Expanded Disability Status Scale. *Noro Psikiyatrs Ars.* 2018;55(Suppl 1):S69–75.
110. Hauser SL, Cree BAC. Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *Am J Med.* 2020;133(12):1380-1390.e2.
111. Berkovich RR. Acute Multiple Sclerosis Relapse. *Continuum (Minneap Minn).* 2016;22(3):799–814.
112. Repovic P. Management of Multiple Sclerosis Relapses. *Continuum (Minneap Minn).* 2019;25(3):655–69.
113. Becker DE. Basic and Clinical Pharmacology of Glucocorticosteroids. *Anesth Prog.* 2013;60(1):25–32.

114. Miller DM, Weinstock-Guttman B, Béthoux F, Lee JC, Beck G, Block V, et al. A meta-analysis of methylprednisolone in recovery from multiple sclerosis exacerbations. *Mult Scler*. 2000;6(4):267–73.
115. Oliveri RL, Valentino P, Russo C, Sibilgia G, Aguglia U, Bono F, et al. Randomized trial comparing two different high doses of methylprednisolone in MS: a clinical and MRI study. *Neurology*. 1998;50(6):1833–6.
116. Kulu U, Tiftikcioglu BI, Zorlu Y, Cetiner M, Sener U, Tuna G, et al. Efficacy of Different Durations of Intravenous Methylprednisolone Treatment in Relapses of Multiple Sclerosis. *Noro Psikiyatrs Ars*. 2017;54(1):57–61.
117. Filippini G, Brusafferri F, Sibley WA, Citterio A, Ciucci G, Midgard R, et al. Corticosteroids or ACTH for acute exacerbations in multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;(4):CD001331.
118. Correia I, Ribeiro JJ, Isidoro L, Batista S, Nunes C, Macário C, et al. Plasma exchange in severe acute relapses of multiple sclerosis - Results from a Portuguese cohort. *Mult Scler Relat Disord*. 2018;19:148–52.
119. Bayry J, Hartung HP, Kaveri S V. IVIg for relapsing-remitting multiple sclerosis: promises and uncertainties. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(7):419–21.
120. Katz U, Kishner I, Magalashvili D, Shoenfeld Y, Achiron A. Long term safety of IVIg therapy in multiple sclerosis: 10 years experience. *Autoimmunity*. 2006;39(6):513–7.
121. Jakimovski D, Kolb C, Ramanathan M, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B. Interferon β for Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018 ;8(11).
122. Ziemssen T, Ashtamker N, Rubinchick S, Knappertz V, Comi G. Long-term safety and tolerability of glatiramer acetate 20 mg/ml in the treatment of relapsing forms of multiple sclerosis. *Expert Opin Drug Saf*. 2017;16(2):247–55.

123. Wolinsky JS, Borresen TE, Dietrich DW, Wynn D, Sidi Y, Steinerman JR, et al. GLACIER: An open-label, randomized, multicenter study to assess the safety and tolerability of glatiramer acetate 40 mg three-times weekly versus 20 mg daily in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2015;4(4):370–6.
124. Bar-Or A, Pachner A, Menguy-Vacheron F, Kaplan J, Wiendl H. Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis. *Drugs*. 2014;74(6):659–74.
125. Miller AE, Wolinsky JS, Kappos L, Comi G, Freedman MS, Olsson TP, et al. Oral teriflunomide for patients with a first clinical episode suggestive of multiple sclerosis (TOPIC): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2014;13(10):977–86.
126. Confavreux C, O'Connor P, Comi G, Freedman MS, Miller AE, Olsson TP, et al. Oral teriflunomide for patients with relapsing multiple sclerosis (TOWER): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2014;13(3):247–56.
127. O'Connor P, Wolinsky JS, Confavreux C, Comi G, Kappos L, Olsson TP, et al. Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2011 Oct 6;365(14):1293–303.
128. Vermersch P, Czonkowska A, Grimaldi LME, Confavreux C, Comi G, Kappos L, et al. Teriflunomide versus subcutaneous interferon beta-1a in patients with relapsing multiple sclerosis: a randomised, controlled phase 3 trial. *Mult Scler*. 2014;20(6):705–16.
129. Yang T, Tian X, Chen CY, Ma LY, Zhou S, Li M, et al. The efficacy and safety of fingolimod in patients with relapsing multiple sclerosis: A meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol*. 2020;86(4):637–45.
130. Kürtüncü M., Karabudak R., İdiman E. Multipl Sklerozda Oral Tedaviler. In: *Multipl Skleroz Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2016*. İstanbul: Galenos Yayınevi; 2016. p. 61–2.

131. Calabresi PA, Radue EW, Goodin D, Jeffery D, Rammohan KW, Reder AT, et al. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2014;13(6):545–56.
132. Kappos L, O'Connor P, Radue EW, Polman C, Hohlfeld R, Selmaj K, et al. Long-term effects of fingolimod in multiple sclerosis: the randomized FREEDOMS extension trial. *Neurology*. 2015;84(15):1582–91.
133. Cohen JA, Khatri B, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Montalban X, et al. Long-term (up to 4.5 years) treatment with fingolimod in multiple sclerosis: results from the extension of the randomised TRANSFORMS study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87(5):468–75.
134. Kappos L, Mehling M, Arroyo R, Izquierdo G, Selmaj K, Curovic-Perisic V, et al. Randomized trial of vaccination in fingolimod-treated patients with multiple sclerosis. *Neurology*. 2015;84(9):872–9.
135. Miller DH, Fox RJ, Phillips JT, Hutchinson M, Havrdova E, Kita M, et al. Effects of delayed-release dimethyl fumarate on MRI measures in the phase 3 CONFIRM study. *Neurology*. 2015;84(11):1145–52.
136. Gold R, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Giovannoni G, Selmaj K, et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2012;367(12):1098–107.
137. Kalincik T, Kubala Havrdova E, Horakova D, Izquierdo G, Prat A, Girard M, et al. Comparison of fingolimod, dimethyl fumarate and teriflunomide for multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(4):458–68.
138. Bompreszi R. Dimethyl fumarate in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: an overview. *Ther Adv Neurol Disord*. 2015;8(1):20–30.
139. Engelhardt B, Kappos L. Natalizumab: targeting alpha4-integrins in multiple sclerosis. *Neurodegener Dis*. 2008;5(1):16–22.
140. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2006;354(9):899–910.

141. Voloshyna N, Havrdová E, Hutchinson M, Nehrych T, You X, Belachew S, et al. Natalizumab improves ambulation in relapsing-remitting multiple sclerosis: results from the prospective TIMER study and a retrospective analysis of AFFIRM. *Eur J Neurol.* 2015;22(3):570–7.
142. Gündüz T., Yüksel B., Tamam Y.,İRkeç C., Karabudak R. Multipl Sklerozda Monoklonal Antikorlar. In: Efendi H., Kuşçu Yandım D., editors. *Multipl Skleroz Tanı Ve Tedavi Kılavuzu 2018.* İstanbul: Galenos Yayınevi; 2018. p. 86–95.
143. Baroncini D, Ghezzi A, Annovazzi PO, Colombo B, Martinelli V, Minonzi G, et al. Natalizumab versus fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis non-responding to first-line injectable therapies. *Mult Scler.* 2016;22(10):1315–26.
144. Cerny T, Borisch B, Introna M, Johnson P, Rose AL. Mechanism of action of rituximab. *Anticancer Drugs.* 2002;13 Suppl 2:S3-10.
145. Alcalá C, Gascón F, Pérez-Miralles F, Gil-Perotín S, Navarré A, Boscá I, et al. Efficacy and safety of rituximab in relapsing and progressive multiple sclerosis: a hospital-based study. *J Neurol.* 2018;265(7):1690–7.
146. Bar-Or A, Grove RA, Austin DJ, Tolson JM, VanMeter SA, Lewis EW, et al. Subcutaneous ofatumumab in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: The MIRROR study. *Neurology.* 2018;90(20):e1805–14.
147. Ruck T, Bittner S, Wiendl H, Meuth SG. Alemtuzumab in Multiple Sclerosis: Mechanism of Action and Beyond. *Int J Mol Sci.* 2015;16(7):16414–39.
148. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, Cohen JA, Confavreux C, Fox EJ, et al. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2012;380(9856):1829–39.
149. Riera R, Torloni MR, Martimbianco ALC, Pacheco RL. Alemtuzumab for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2023;6(6):CD011203.

150. Coles AJ, Jones JL, Vermersch P, Traboulsee A, Bass AD, Boster A, et al. Autoimmunity and long-term safety and efficacy of alemtuzumab for multiple sclerosis: Benefit/risk following review of trial and post-marketing data. *Mult Scler.* 2022;28(5):842–6.
151. Frau J, Coghe G, Lorefice L, Fenu G, Musu L, Cocco E. Efficacy and safety of alemtuzumab in a real-life cohort of patients with multiple sclerosis. *J Neurol.* 2019;266(6):1405–11.
152. Klein C, Lammens A, Schäfer W, Georges G, Schwaiger M, Mössner E, et al. Epitope interactions of monoclonal antibodies targeting CD20 and their relationship to functional properties. *MAbs.* 2013;5(1):22–33.
153. Akaishi T, Nakashima I. Efficiency of antibody therapy in demyelinating diseases. *Int Immunol.* 2017;29(7):327–35.
154. Lamb YN. Ocrelizumab: A Review in Multiple Sclerosis. *Drugs.* 2022 ;82(3):323–34.
155. Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, Giovannoni G, Hartung HP, Hemmer B, et al. Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 2017;376(3):221–34.
156. Stankiewicz JM, Kolb H, Karni A, Weiner HL. Role of immunosuppressive therapy for the treatment of multiple sclerosis. *Neurotherapeutics.* 2013 ;10(1):77–88.
157. Ashida S, Ochi H, Hamatani M, Fujii C, Nishigori R, Kawamura K, et al. Radiological and Laboratory Features of Multiple Sclerosis Patients With Immunosuppressive Therapy: A Multicenter Retrospective Study in Japan. *Front Neurol.* 2021;12:749406.
158. Otero-Romero S, Sastre-Garriga J, Comi G, Hartung HP, Soelberg Sørensen P, Thompson AJ, et al. Pharmacological management of spasticity in multiple sclerosis: Systematic review and consensus paper. *Mult Scler.* 2016 ;22(11):1386–96.

159. Pourmohammadi A, Riahi R, Hosseini SM, Adibi I. Pharmacological treatment of tremor in multiple sclerosis; a systematic review. *Mult Scler Relat Disord*. 2022;60:103722.
160. Vecchio M, Chiamonte R, DI Benedetto P. Management of bladder dysfunction in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis of studies regarding bladder rehabilitation. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2022;58(3):387–96.
161. Nourbakhsh B, Revirajan N, Morris B, Cordano C, Creasman J, Manguinao M, et al. Safety and efficacy of amantadine, modafinil, and methylphenidate for fatigue in multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, crossover, double-blind trial. *Lancet Neurol*. 2021;20(1):38–48.
162. Freiha J, Riachi N, Chalah MA, Zoghaib R, Ayache SS, Ahdab R. Paroxysmal Symptoms in Multiple Sclerosis-A Review of the Literature. *J Clin Med*. 2020;9(10).
163. Kipp M, Amor S. FTY720 on the way from the base camp to the summit of the mountain: relevance for remyelination. *Multiple Sclerosis Journal*. 2012;18(3):258–63.
164. Bo L, Geurts JJG, Mork SJ, Valk P. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2006;113(s183):48–50.
165. Ohl K, Tenbrock K, Kipp M. Oxidative stress in multiple sclerosis: Central and peripheral mode of action. *Exp Neurol*. 2016;277:58–67.
166. Miller E, Walczak A, Saluk J, Ponczek MB, Majsterek I. Oxidative modification of patient's plasma proteins and its role in pathogenesis of multiple sclerosis. *Clin Biochem*. 2012;45(1–2):26–30.
167. Gonsette RE. Neurodegeneration in multiple sclerosis: The role of oxidative stress and excitotoxicity. *J Neurol Sci*. 2008;274(1–2):48–53.
168. Greco A, Minghetti L, Sette G, Fieschi C, Levi G. Cerebrospinal fluid isoprostane shows oxidative stress in patients with multiple sclerosis. *Neurology*. 1999;53(8):1876–1876.

169. Mansilla MJ, Montalban X, Espejo C. Heat shock protein 70: roles in multiple sclerosis. *Mol Med*. 2012;18(1):1018–28.
170. Mosser DD, Morimoto RI. Molecular chaperones and the stress of oncogenesis. *Oncogene*. 2004;23(16):2907–18.
171. Becker T, Hartl FU, Wieland F. CD40, an extracellular receptor for binding and uptake of Hsp70-peptide complexes. *J Cell Biol*. 2002;158(7):1277–85.
172. Piret JP, Mottet D, Raes M, Michiels C. Is HIF-1alpha a pro- or an anti-apoptotic protein? *Biochem Pharmacol*. 2002;64(5–6):889–92.
173. Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med*. 2011;365(6):537–47.
174. Guan SY, Leng RX, Tao JH, Li XP, Ye DQ, Olsen N, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α : a promising therapeutic target for autoimmune diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2017;21(7):715–23.
175. Amini Harandi A, Siavoshi F, Shirzadeh Barough S, Amini Harandi A, Pakdaman H, Sahraian MA, et al. Vascular Endothelial Growth Factor as a Predictive and Prognostic Biomarker for Multiple Sclerosis. *Neuroimmunomodulation*. 2022;29(4):476–85.
176. Iacobaeus E, Amoudruz P, Ström M, Khademi M, Brundin L, Hillert J, et al. The expression of VEGF-A is down regulated in peripheral blood mononuclear cells of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *PLoS One*. 2011;6(5):e19138.
177. Azzouz M, Ralph GS, Storkebaum E, Walmsley LE, Mitrophanous KA, Kingsman SM, et al. VEGF delivery with retrogradely transported lentivector prolongs survival in a mouse ALS model. *Nature*. 2004;429(6990):413–7.
178. Tarkowski E, Issa R, Sjögren M, Wallin A, Blennow K, Tarkowski A, et al. Increased intrathecal levels of the angiogenic factors VEGF and TGF-beta in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurobiol Aging*. 2002;23(2):237–43.

179. Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, Beck H, Nuyens D, Brusselmans K, et al. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet.* 2001;28(2):131–8.
180. Su JJ, Osoegawa M, Matsuoka T, Minohara M, Tanaka M, Ishizu T, et al. Upregulation of vascular growth factors in multiple sclerosis: correlation with MRI findings. *J Neurol Sci.* 2006;243(1–2):21–30.
181. Graumann U, Reynolds R, Steck AJ, Schaeren-Wiemers N. Molecular changes in normal appearing white matter in multiple sclerosis are characteristic of neuroprotective mechanisms against hypoxic insult. *Brain Pathol.* 2003;13(4):554–73.
182. Proescholdt MA, Jacobson S, Tresser N, Oldfield EH, Merrill MJ. Vascular endothelial growth factor is expressed in multiple sclerosis plaques and can induce inflammatory lesions in experimental allergic encephalomyelitis rats. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002;61(10):914–25.
183. Cuzner ML, Gveric D, Strand C, Loughlin AJ, Paemen L, Opdenakker G, et al. The expression of tissue-type plasminogen activator, matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors in the central nervous system in multiple sclerosis: comparison of stages in lesion evolution. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996;55(12):1194–204.
184. Maeda A, Sobel RA. Matrix metalloproteinases in the normal human central nervous system, microglial nodules, and multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996;55(3):300–9.
185. Cossins JA, Clements JM, Ford J, Miller KM, Pigott R, Vos W, et al. Enhanced expression of MMP-7 and MMP-9 in demyelinating multiple sclerosis lesions. *Acta Neuropathol.* 1997;94(6):590–8.
186. Lindberg RL, De Groot CJ, Montagne L, Freitag P, van der Valk P, Kappos L, et al. The expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in lesions and normal appearing white matter of multiple sclerosis. *Brain.* 2001;124(Pt 9):1743–53.

187. Gökçe ŞF, Çiğdem B, Nemmezi Karaca S, Bolayır A, Kayım Yıldız Ö, Topaktaş AS, et al. Prevalence of multiple sclerosis in an urban population of Sivas province in Turkey. *Turk J Med Sci.* 2019;49(1):288–94.
188. Celik Y, Birgili O, Kiyat A, Guldiken B, Ozkan H, Yilmaz H, et al. Prevalence Of Multiple Sclerosis In The Metropolitan Area Of Edirne City, Turkey. *Medical Journal of Trakya University.* 2011;2:193-196.
189. Lechner P, Buck D, Sick L, Hemmer B, Multhoff G. Serum heat shock protein 70 levels as a biomarker for inflammatory processes in multiple sclerosis. *Mult Scler J Exp Transl Clin.* 2018;4(2):2055217318767192.
190. Yokota S ichi, Chiba S, Furuyama H, Fujii N. Cerebrospinal fluids containing anti-HSP70 autoantibodies from multiple sclerosis patients augment HSP70-induced proinflammatory cytokine production in monocytic cells. *J Neuroimmunol.* 2010;218(1–2):129–33.
191. Chavoshi Tarzjani SP, Shahzadeh Fazeli SAH, Sanati MH, Nabavi SM. Heat Shock Protein 70 and The Risk of Multiple Sclerosis in The Iranian Population. *Cell J.* 2019;20(4):599–603.
192. Juurlink BHJ. The evidence for hypoperfusion as a factor in multiple sclerosis lesion development. *Mult Scler Int.* 2013;2013:598093.
193. Merelli A, Rodríguez JCG, Folch J, Regueiro MR, Camins A, Lazarowski A. Understanding the Role of Hypoxia Inducible Factor During Neurodegeneration for New Therapeutics Opportunities. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(10):1484–98.
194. Ruiz de Almodovar C, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiol Rev.* 2009;89(2):607–48.
195. Talbot J, Højsgaard Chow H, Mahler M, Buhelt S, Holm Hansen R, Lundell H, et al. Relationship between cerebrospinal fluid biomarkers of inflammation and tissue damage in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* 2022;68:104209.

196. Kouchaki E, Otroshi Shahreza B, Faraji S, Nikoueinejad H, Sehat M. The Association between Vascular Endothelial Growth Factor-related Factors with Severity of Multiple Sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2016;15(3):204–11.
197. Lu H, Wu PF, Ma DL, Zhang W, Sun M. Growth Factors and Their Roles in Multiple Sclerosis Risk. *Front Immunol.* 2021;12:768682.
198. Stanojlovic M, Pang X, Lin Y, Stone S, Cvetanovic M, Lin W. Inhibition of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 Exacerbates Loss of Lower Motor Neurons and Axons during Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *PLoS One.* 2016;11(7):e0160158.
199. Yılmaz Ü, Gücüyener K, Atak A, Aral A, Gürkaş E, Demir E, et al. Matrix metalloproteinase-7 and matrix metalloproteinase-9 in pediatric multiple sclerosis. *Pediatr Neurol.* 2012;47(3):171–6.
200. Sanli A, Ozturk M, Soysal A, Doventas Y, Basoglu F, Gozubatik-Celik GR, et al. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in relapsing remitting multiple sclerosis: Possible markers and treatment agents. *Idegyogy Sz.* 2021;74(1–2):50–6.
201. Rahimi Z, Abdan Z, Rahimi Z, Razazian N, Shiri H, Vaisi-Raygani A, et al. Functional Promoter Polymorphisms of MMP-2 C-735T and MMP-9 C-1562T and Their Synergism with MMP-7 A-181G in Multiple Sclerosis. *Immunol Invest.* 2016;45(6):543–52.
202. Rosenberg GA, Dencoff JE, Correa N, Reiners M, Ford CC. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain barrier injury. *Neurology.* 1996;46(6):1626–32.