

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hürü Rabia GÜLEÇ

**SPİNAL MÜSKÜLER ATROFİ'LI ERİŞKİN HASTALARDA
TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ PERİYODUNDA SERUM VE
BEYİN OMURİLİK SIVISI (BOS)'NDA İNTERLÖKİN DÜZEYİ
VE HAMMERSMİTH FONKSİYONEL TEST SONUÇLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2021

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SPİNAL MÜSKÜLER ATROFİ'Lİ ERİŞKİN HASTALARDA TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ PERİYODUNDA SERUM VE BEYİN OMURİLİK SIVISI (BOS)'NDA İNTERLÖKİN DÜZEYİ VE HAMMERSMİTH FONKSİYONEL TEST SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Hürü Rabia GÜLEÇ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ
Yıl: 2021, Sayfa:83
Jüri : Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ
: Doç. Dr. Özge ÖZALP YÜREĞİR
: Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR

Spinal müsküler atrofi (SMA), motor nöronların kaybı sonucu kaslarda güçsüzlük ve atrofinin görüldüğü kalıtsal nöromüsküler hastalıktır. SMA'ya, SMN1 genindeki delesyon veya mutasyonların sebep olduğu survival motor proteinin yetersizliği yol açar. SMN1 geninin telomerik kopyası olan SMN2 hastalığın oluşmasının önüne geçememektedir. Tedavide SMN proteini miktarını arttırmak için SMN2 geni hedeflenmiştir. Nusinersen, SMN2 geninin mRNA splicingini değiştiren ve bu sayede tam uzunlukta ve kararlı SMN proteininin üretimini artıran bir antisens oligonükleotiddir.

Bu çalışmada; SMA tedavisi için yakın zamanda onay alan ilk ilaç olan Nusinersen tedavisi alan 21 hastada ilacın etkinliğinin değerlendirmesi için Hammersmith fonksiyonel testi yapılmış ve tedavi öncesi ve sonrası alınan kan ve beyin omurilik sıvısı örneklerinden interlökin IL-1, IL-6, IL-8 ve IL-12 seviyeleri ölçülmüştür.

Anahtar Kelimeler: SMA, Nusinersen, interlökin, HFMSE

ABSTRACT

MSc THESIS

COMPARISON OF INTERLEUKIN LEVELS AND HAMMERSMITH FUNCTIONAL TEST RESULTS IN SERUM AND CEREBROSPINAL FLUID (CSF) BEFORE AND DURING TREATMENT IN ADULT PATIENTS WITH SPINAL MUSCULAR ATROPHY

Hürü Rabia GÜLEÇ

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ

Year:2021, Pages: 83

Jury: : Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ

: Assoc Prof. Dr. Özge ÖZALP YÜREĞİR

: Dr. Sinan KANDIR

Spinal muscular atrophy (SMA) is an inherited neuromuscular disease, muscle weakness and atrophy are observed as a result of the loss of motor neurons. SMA is resulting in deficiency of the survival motor protein caused by deletion or mutations in the SMN1 gene. SMN2, a telomeric copy of the SMN1 gene, cannot prevent the disease. The SMN2 gene is targeted to increase the amount of SMN protein in treatment. Nusinersen is an antisense oligonucleotide that alters the mRNA splicing of the SMN2 gene, thereby increasing the production of the full-length and stable SMN protein.

In this study, Hammersmith functional test was performed in 21 patients receiving Nusinersen therapy, which is the first drug for the treatment of SMA and interleukin IL-1, IL-6, IL-8 and IL-12 levels were measured from blood and cerebrospinal fluid samples taken before and after treatment.

Keywords: SMA, Nusinersen, interleukin, HFMSE

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Spinal müsküler atrofi (SMA), motor nöronların kaybına ve özellikle proksimal kaslarda gszlge neden olan, nadir, otozomal resesif kalıtılan nöromüsküler bir hastalıktır. Yaklaşık 1/6000-10 000 doğumda görülür ve başlangıç yaşı ve motor fonksiyona göre dört farklı klinik alt tipe ayrılır. Hastalığa büyük çoğunlukla SMN1 (telomerik survival motor nöron geni) genindeki homozigot ekzon 7 ve 8 delesyonları sonucu ortaya çıkan SMN proteini eksikliği sebep olur. SMN geni, tüm ökaryotik hücrelerde eksprese edilir ve hücre canlılığı için gereklidir. SMN seviyelerini arttırmak için terapötik olarak hedeflenebilen SMN1 geninin sentromerik kopyası SMN2 geninin transkripsiyonu sonrası splicing sırasında çoğunlukla ekzon 7 atlanmakta ve stabil olmayan ve yetersiz miktarda SMN proteini sentezlenmektedir.

Nörolojik hastalıkların genetik temellerinin belirlenmesi, bu hastalıkları tedavi etmek için yeni yaklaşımların gelişmesini sağlamıştır. SMA tedavisinde amaç, doğru hücrelerdeki SMN proteininin ekspresyon seviyelerini doğru zamanda arttırmaktır. Hastaların büyük çoğunluğunda bulunan SMN2 geni ekspresyonunu arttırmak için çeşitli mekanizmaları hedefleyen moleküller, antisens oligonükleotid veya gen terapisi yaklaşımları, SMN eksikliği olan hayvan modellerinde sağkalımı uzatmış ve motor fonksiyonunu geliştirdiği gözlemlenmiştir.

SMA tedavisinde etkili olduğu görülen ilk molekül olan ve hastalarda uygulaması FDA tarafından yakın tarihte onaylanan Nusinersen, hastalarda bulunan SMN2 geni ile üretilen SMN protein seviyelerini SMN2'nin pre-mRNA splicingini değiştirerek artırmayı hedefleyen bir antisens oligonükleotiddir. Nusinersen tedavisi, bebekler ve çocuklarda motor fonksiyon üzerinde ve klinik olarak anlamlı etki göstermiştir. Nusinersen, intratekal enjeksiyon yoluyla doğrudan beyin omurilik sıvısına uygulanır. Bununla birlikte, merkezi sinir sistemine ilaç verilmesi önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Nusinersen alan hastalar için etkinlik değerlendirmeleri, uygun standartlaştırılmış motor ölçekleri ile yapılmaktadır.

Bu tez çalışmasına Mart 2019- Mart 2020 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakóltesi Nöroloji Anabilim Dalı Nöromüsküler Hastalıklar Polikliniđi'ne başvuran Spinal Müsküler Atrofi tanısıyla takip edilen ve MLPA yöntemi ile 5.kromozomunda SMN1 delesyon varlığı saptanan, semptomların başlama yaşı, hastalık süresi, SMN2 kopya sayısı bilinen ve Nusinersen tedavisi uygulanan 21 hasta ile yaş grupları ve cinsiyet dağılımı benzer 26 sağlıklı birey alınmıştır. Yetişkin hastalarda tedavinin güç ve fonksiyon üzerindeki etkileri ile intratekal uygulamanın sekonder komplikasyonlarını değerlendirmek amaçlanmıştır. Hastalara tedavi öncesi ve sonrası Hammersmith fonksiyonel testi yapılmış, hastalardan alınan serum ve beyin omurilik sıvısı örneklerinden sandviç ELISA yöntemi ile IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 düzeyleri ölçülmüştür.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca bana her konuda yardımcı olan ve yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Tezimin deneylerini gerçekleőtirmem için gerekli örnekleri toplama aşamasında yardımcı olan başta Başak Elçin ATEŞ olmak üzere tüm nöroloji ve beyin cerrahi bölümü asistanlarına, laboratuvar aşamasında yol göstericiliği ve emeği için Arő. Gör. Yusuf DÖĖÜŐ'e, verilerin analizini yapan Gizem Gül KOÇ'a teşekkür ederim. Her ne olursa olsun desteğini esirgemeyen, yanımda olan aileme en içten sevgilerim ile çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Tarihçe	2
1.2. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	3
1.3. Klinik Bulgular ve Tanı	4
1.4. Moleküler genetik	9
1.5. Klinik Yönetim / Tedavi	16
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	31
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Hastaların Seçimi	33
3.2. Hastalarda SMN1 delesyonu ve SMN2 kopya sayısının belirlenmesi.....	34
3.3. İnterlökkin düzeylerinin belirlenmesi	36
3.4. Verilerin Değerlendirilmesi	40
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	41
4.1.Hammersmith Test Sonuçları.....	43
4.2.İnterlökkin Düzeyleri	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	75
EKLER.....	77



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. SMN1 allel frekansları.....	4
Çizelge 1.2. Klinik sınıflandırma.....	6
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun özellikleri.....	41
Çizelge 4.2. Tedavi öncesi ve sonrasında HFMSE skorları.....	43
Çizelge 4.3. Cinsiyete ve mobilite durumuna göre HFMSE skoru değişimi	44
Çizelge 4.4. Tedavi öncesi ve sonrası serum interleokin düzeyleri	46





ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. Ön boynuz hücreleri ve kaslarda histopatoloji	2
Şekil 1.2. Genetik altyapı belirlenmesi sonrası Nusinersenin keşif ve gelişimi	3
Şekil 1.3. Tanısal algoritma	9
Şekil 1.4. Pre- mRNA splicing mekanizması	10
Şekil 1.5. 5.kromozom üzerindeki SMN1 ve SMN2 genleri	11
Şekil 1.6. SMN1 geninin yapısı	12
Şekil 1.7. SMN1 ve SMN2 geni nükleotid farklılıkları	12
Şekil 1.8. SMN geninin transkripsiyonu	13
Şekil 1.9. Motor ünitenin gelişiminde SMN proteininin rolü	14
Şekil 1.10. SMN proteini lokalizasyonu ve fonksiyonları	15
Şekil 1.11. Tedavi yönetimi	19
Şekil 1.12. SMN2 geni ve Nusinersen etki mekanizması	22
Şekil 1.13. Risdiplam molekülünün kimyasal yapısı	23
Şekil 1.14. Gen terapisinde kullanılan viral vektör.....	23
Şekil 3.1. MLPA reaksiyonu	34
Şekil 3.2. MLPA yöntemi ile tespit edilen delesyon örneği	35
Şekil 3.3. Genetik tanı raporu örneği	36
Şekil 3.4. Seyreltme aşamaları.....	37
Şekil 3.5. ELISA kaplarında renk oluşumu	38
Şekil 3.6. İnkübatör.....	39
Şekil 3.7. ELİSA okuyucu	40
Şekil 4.1. Kopya sayılarına göre hastalar.....	41
Şekil 4.2. Mobilite durumlarına göre hastalar.....	42



SİMGELER VE KISALTMALAR

AAV	: Adeno assosiye virüs
ALS	: Amyotrofik lateral skleroz
ASO	: Antisens oligonükleotid
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CI	: Güven aralığı (confidence interval)
DCs	: Dentritik hücreler
DTR	: Derin tendon refleksleri
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FDA	: Gıda ve İlaç Kurumu (Food and Drug Administration)
GTF2H2	: General transcription factor IIH subunit 2
HDAC	: Histon deasetilaz
HFMSE	: Hammersmith Fonksiyonel Motor Ölçeği
HRP	: Horseradish peroxidase
IL	: İnterlökin
ISS	: Intronic splice silencer
kDa	: Kilodalton
MLPA	: Çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu
MS	: Multipl skleroz
NAIP	: Nöronal apoptozis inhibitör protein
qPCR	: Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
SMA	: Spinal müsküler atrofi
SMN	: Survival motor nöron
SSS	: Santral sinir sistemi

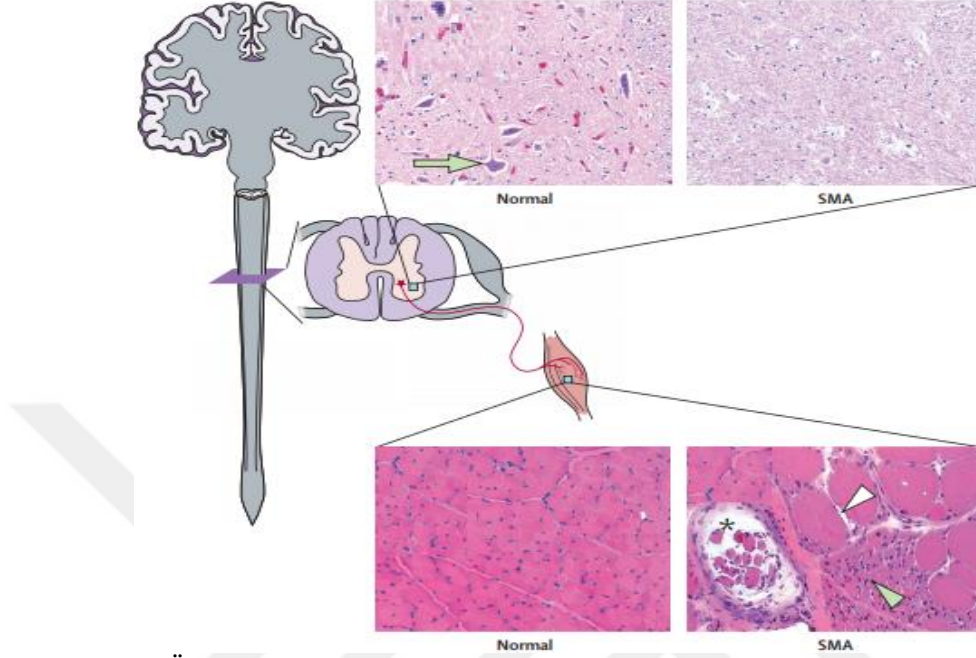


1. GİRİŞ

Spinal müsküler atrofi (SMA) omuriliğin ön boynuzundaki alfa motor nöronların dejenerasyonuna bağlı ilerleyici kas güçsüzlüğü ile karakterize bir nöromüsküler hastalıktır (Farrar ve ark., 2017; Tisdale ve ark., 2015). SMA'nın en yaygın biçimi olan 5q SMA, tüm vakaların % 95'inden fazlasını oluşturur (Kolb ve ark., 2011). Hastalık 5. kromozomun q kolu üzerinde lokalize SMN1(telomerik) ve SMN2(sentromerik) olmak üzere iki kopya halinde bulunan SMN geninin genellikle telomerik kopyada homozigot ekzon 7 ve 8 delesyonu sonucu ortaya çıkan fonksiyonel SMN proteini miktarının azalması sonucu oluşur (Şekil 1.1) (Kolb veKissel, 2011).

Semptomlar genellikle başlangıç yaşına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bebeklerde şiddetli hipotoni ve beslenme güçlükleri ile prezente olurken daha sonraki aylarda merdiven çıkmada güçlük ve sık düşmeler görülür (W. David Arnold ve ark., 2015). Erişkin başlangıçlı formda, hafif proksimal kas güçsüzlüğü şeklinde kendini gösterir (Tisdale vePellizzoni, 2015). Kas güçsüzlüğü, simetrik olma eğilimindedir, distalden çok proksimalde hakim olup alt ekstremiteler üst ekstremitelerden daha çok etkilenir. Özellikle erken başlangıçlı formlarda hastalığın ilerleyen dönemlerinde cerrahi müdahale gerektirecek düzeyde skolyoz ve eklem kontraktürleri gibi skeletal deformiteler ve solunumsal problemlere tabloya eşlik eder (D'Amico ve ark., 2011).

Hastalarda bulunan SMN2, hatalı splicing nedeniyle SMN proteini eksikliğini telafi edemez (Jones ve ark., 2003; Lorson ve ark., 1999; MacLeod ve ark., 1999; N. N. Singh ve ark., 2017). SMA, semptom başlangıcı yaşı ve motor becerilere göre farklı fenotiplerde kendini gösterebilir (çizelge1.2).



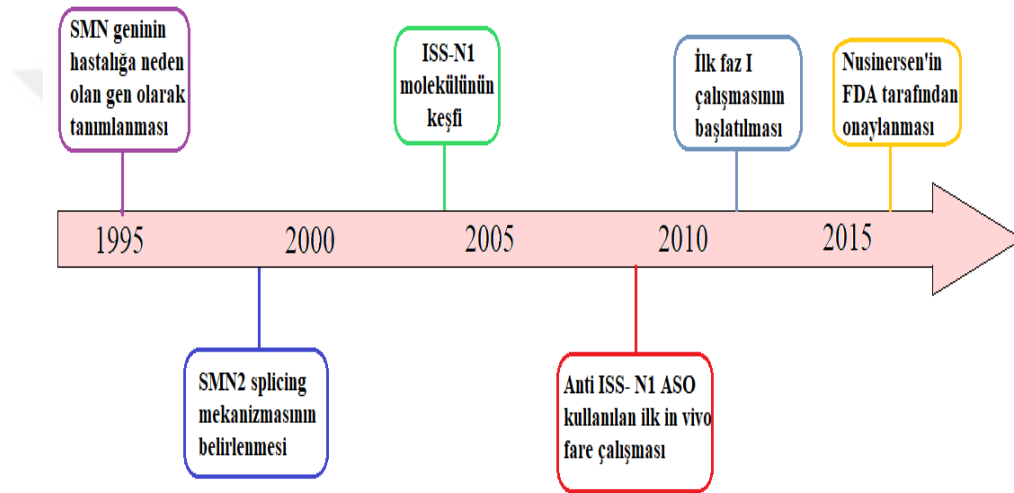
Şekil 1.1. Ön boynuz hücreleri ve kaslarda histopatoloji (Lunn ve ark., 2008)

1.1. Tarihçe

SMA, ilk olarak Guido Werdnig (1891) tarafından 2 bebekte ve aynı yıllarda Johan Hoffmann tarafından 7 ek vakada tanımlanmış olup, birçok hekim tarafından benzer klinik bulguları farklı şiddette gösteren değişken yaş gruplarında hastalar bildirilmiştir. Farklı fenotiplerin görülmesi sonucu, 1991 yılında uluslararası bir konsorsiyumda hastalık başlıca 3 tipe ayrılmıştır (Migita ve ark., 2003; Pearn, 1978; Sheth ve ark., 2013).

SMN geni, 1995 yılında SMA oluşumuna sebep olan gen olarak tanımlanmış ve bu da SMA hayvan modellerinin oluşturulmasına, SMN protein seviyelerini arttırmak için terapötik yaklaşımların geliştirilmesine yol açmıştır. Tedavilerde fonksiyonel değerlendirme için Hammersmith motor ölçeği, 2003 yılında araştırma aracı olarak geliştirilmiştir. Son yıllarda terapötik yaklaşımlar giderek artmaktadır, Araştırmacılar, SMN2 geninde ekzon 7'nin atlanmasını ve SMN Δ 7 üretimini artıran bir ISS dizisi tanımlamış, sonrasındaki çalışmalar, bu bölgeye bağlanan antisens

oligonükleotidlerin ekzon 7 inklüzyonunu ve tam uzunlukta SMN protein üretimini artırdığını göstermiştir, tedavide etkin ilk ilaç olan Nusinersen 2016 Aralık ayında ABD Gıda ve İlaç Kurumu tarafından onaylanmıştır (Şekil 1.2) (Dubowitz, 2009; Hua ve ark., 2008; Kolb ve Kissel, 2011; Main ve ark., 2003; Munsat ve ark., 1992; Ross ve ark., 2019; N. K. Singh ve ark., 2006; Ching H Wang ve ark., 2007).



Şekil 1.2. Genetik altyapı belirlenmesi sonrası Nusinersenin keşif ve gelişimi (Ross ve Kwon, 2019)

Nusinersen, tüm SMA tipleri için için FDA onayı almasına rağmen, ilk klinik çalışmalar mekanik ventilasyon desteği almayan tip I ve II tanısı alan yetişkin olmayan hastalarla sınırlıydı.

1.2. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Otozomal resesif kalıtılan en yaygın ikinci hastalık olan SMA'nın insidansı ve prevalansı çalışmalar arasında farklılık gösterir, insidansı farklı çalışma gruplarında 1/6000 – 1/10000 arasında bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğu genetik tanıdan ziyade klinik tanıya dayanmaktadır ve genellikle Avrupa merkezli küçük

kohortlardan oluşmaktadır. Prevalansının yaklaşık olarak 100.000 kişide 1-2 olduğu tahmin edilmektedir ve bu oran en yaygın SMA tipindeki büyük ölçüde kısalmış yaşam beklentisinden etkilenmektedir (Mailman ve ark., 2002; Verhaart ve ark., 2017).

Sağlıklı popülasyonlarda SMA'nın taşıyıcı sıklığı incelendiğinde sadece taşıyıcı frekansında değil, aynı zamanda SMN geni kopya sayısında da farklılıkların olduğu görülmüştür (çizelge 1.1) (MacDonald ve ark., 2014; Verhaart ve ark., 2017). Farklı toplumlarda 1/8 ve 1/105 arasında değişen frekanslara sahip SMA taşıyıcıları tespit edilmiştir, örneğin Avrupa popülasyonlarında yaklaşık 1/47 olan taşıyıcı sıklığı Afrika kökenli Amerikalılarda yaklaşık 1/72 olarak tespit edilmiştir (Lorson ve ark., 2010; Ogino ve ark., 2002). Taşıyıcı oranının yüksek olduğu göz önünde bulundurularak SMA hastalarının kardeş ve yakınlarına genetik danışmanlık önerilir.

Çizelge 1.1. SMN1 allel frekansları (Sugarman ve ark., 2012)

Etnik köken (n)	Kopya Sayısı (%)			
	0	%95 CI	1	2
Tüm gruplar (68471)	0.92	(0.87-0.98)	92.02	7.04
Avrupa (24471)	1.06	(0.97-1.16)	95.3	3.63
Aşkenazi Yahudisi (5806)	0.73	(0.59-0.91)	91.91	7.34
Asya (4647)	0.83	(0.66-1.05)	94.42	4.74
Afrika kökenli Amerikan(4883)	0.68	(0.52-0.91)	71.79	27.51
Bilinmeyen (17235)	0.91	(0.81-1.03)	92.09	6.98

1.3. Klinik Bulgular ve Tanı

Yutma, nefes alma ve hareket etme gibi temel insan davranışları alt motor nöronun fonksiyonu olup karmaşık nöronal ağlar içindeki motor nöronların koordineli aktivitesi, motor fonksiyon için kritik öneme sahiptir. Bu ağın bozulması,

en yaygın iki motor nöron hastalığı olan spinal müsküler atrofi (SMA) ve amyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi hastalıklara yol açar.

Semptomlar arasında dilde fasikülasyon, ellerde tremor, ekstremitelerde proksimal kas gruplarında simetrik güçsüzlük ve özellikle kuadriseps kasında atrofi görülür (Brahe ve ark., 1995). Geçmiş yıllarda tanı kas biyopsisi ve elektromiyografik yöntemlerle konulurken, moleküler yöntemlerin gelişmesi akabinde moleküler çalışmalar altın standart tanı yöntemi olmuştur (Şekil 1.3) (W. David Arnold ve ark., 2015). Tanı amaçlı yapılan moleküler çalışmalarda, çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (MLPA), kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) veya yeni nesil dizileme (NGS) yöntemleri kullanılabilir (Arkblad ve ark., 2009; Feng ve ark., 2017).

SMA'da motor nöronlar ve nöromüsküler kavşak dışında, kardiyovasküler sistem, akciğer, kemik, bağırsak, karaciğer, pankreas, dalak ve testis dahil olmak üzere diğer dokular da düşük SMN seviyelerinden etkilenir. Multisistemik bir hastalık olduğundan dolayı hastaların takibi uzman bir nörolog tarafından gerektiğinde gastroenterolog, ortopedist, göğüs hastalıkları hekimlerine başvurulabilecek şekilde yapılmalıdır (D'Amico ve ark., 2011; N. N. Singh ve ark., 2017).

Birden fazla fenotip tanımlandığı bu hastalık, 1991 yılında Musküler Distrofi Derneği (MDA) tarafından desteklenen Uluslararası Spinal Musküler Atrofi Konsorsiyumu tarafından motor fonksiyon düzeyi (yani oturma veya ayakta durma) ve başlangıç yaşı dikkate alınarak SMA Tip 1, Tip 2 ve Tip 3 şeklinde sınıflandırılmıştır (Munsat ve Davies, 1992). Daha sonraki yıllarda Tip 3 başlangıç yaşına göre kendi içinde a ve b olmak üzere iki gruba ayrılırken yetişkin başlangıçlı vakalar için tip 4 sınıflamaya eklenmiştir (Çizelge 1.2). Ayrıca doğum öncesi başlayan ve haftalar içinde ölümlerle sonlanan vakalar ise tip 0 olarak kabul edilmiştir (Russman, 2007; Zerres ve ark., 1999).

Çizelge 1.2. Klinik sınıflandırma (Kolb veKissel, 2011)

Tip	Başlangıç yaşı	Motor beceri	Diğer bulgular	Yaşam süresi	SMN2 #
0	Prenatal	Yok solunum desteği ihtiyacı	Ciddi neonatal hipotoni Ağır güçsüzlük Arefleksi Doğumda solunum yetmezliği Fasyal dipleji Fetal hareketlerde azalma Atrial septal defekt Arthrogryposis	<1 ay	1
1	0 – 6 ay	desteksiz oturamaz	Baş kontrolünün kaybı Hafif eklem kontraktürleri Normal veya minimal fasyal dipleji Değişken emme ve yutma problemleri	<2 yıl	2
2	< 18 ay	oturabilir yürüyemez	Motor becerilerde kayıp; gelişimsel gecikme Derin tendon refleksleri hipoaktif veya yitik Proksimal kas güçsüzlüğü Parmaklarda postüral tremor	>2 yıl	3,4
3 3a 3b	> 18 ay 18 ay - 3 yaş > 3 yaş	belirli bir yaşa kadar yürüyebilir; koşamaz	Proksimal kas güçsüzlüğü (merdivenlerde zorluk, koşamama) Motor becerilerin kaybı Yorgunluk Parmaklarda postüral tremor Patellar refleks kaybı	Erişkin	3,44
4	>21 yaş	Normal	Yorgunluk Proksimal kas zayıflığı	Erişkin	4–8

SMA tip 0

Spinal müsküler atrofi tip 0, şiddetli güçsüzlük ve hipotoni ile başvuran, fetal hareketlerde azalma öyküsü olan yenidoğanları tanımlamak için kullanılır. Bu

formda, güçsüzlük muhtemelen doğum öncesi başlar. Nörolojik muayenede tip 0 olan bebeklerde arefleksi, fasiyal dipleji, atriyal septal defektler ve eklem kontraktürleri güçsüzlüğe eşlik edebilir. Solunum yetmezliği erken dönemde önemli bir sorundur. Yaşam beklentisi azalır ve çoğu 6 aylıktan sonra hayatta kalmaz (Kolb veKissel, 2011) (Çizelge1.2).

SMA tip 1

Hastalığın klinik bulguları ilk kez Werdnig ve Hoffmann tarafından tanımlandığı için Werdnig-Hoffman hastalığı olarak da bilinen tip 1 (MIM #253300) SMA hastası bebekler, 6 aylıktan önce hipotoni, zayıf kafa kontrolü, azalmış veya yitik derin tendon refleksleri ile başvurur. Hastalar desteksiz oturamazlar. Ağır hipotoniye bağlı olarak yatarken bir "kurbağa bacağı" duruşu olarak adlandırılan postür ortaya çıkabilir. Diyafram göreceli olarak korunmakla birlikte interkostal kaslardaki zayıflık, çan şeklinde bir göğüs ve bazen "abdominal solunum" olarak adlandırılan bir solunum modeli oluşturabilir. Bulber etkilenme aspirasyon riskiyle birlikte yutma ve beslenmede güçlük yaratır. Reflü ve azalmış öksürük gücü, yutma güçlüğü aspirasyon ve tekrarlayan pulmoner enfeksiyon riski oluşturur (D'Amico ve ark., 2011; Kolb veKissel, 2011) Bilevel pozitif hava yolu basıncı aleti ile gece ve bazen gündüz non-invaziv ventilasyona ihtiyaç vardır, beslenmeye yönelik yapılan gastrotomi, yaşam kalitesini artırırken, yaşam süresini uzatabilir (Gregoretti ve ark., 2013). Trakeostomi ve kalıcı ventilasyon ile müdahale de mümkündür ve yaşam beklentisini uzatabilir; ancak bu, hastayı takip ve eden hekim aile tarafından ortak verilecek bir karardır. Bu hastalarda kognitif fonksiyonlar normaldir (Kolb veKissel, 2011; Lefebvre ve ark., 1995). Ağır SMA tip I vakalarında yapılan otopsi sonucunda konjenital kalp defekti gözlenmiştir (Shababi ve ark., 2010)

SMA tip 2

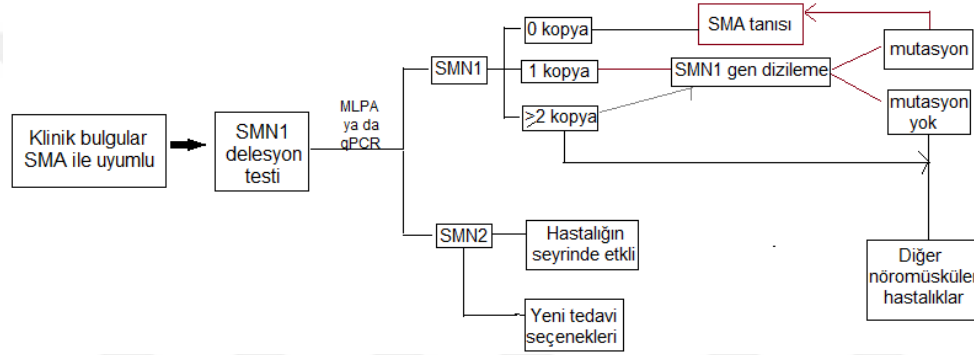
Tip 2 SMA'lı (MIM #253550) çocuklar gelişimlerinin bir döneminde yardımsız olarak oturabilirler, ancak asla bağımsız olarak yürüyemezler (Çizelge1.2). Semptomlar genellikle doğumdan 6 ila 18 ay sonra ortaya çıkar. Bu form, SMA vakalarının yaklaşık % 20 ila % 30'unu oluşturur ve çoğu SMA tip II hastasında üç SMN2 kopyası bulunur (Verhaart ve ark., 2017). Bağımsız yürüyememeye ek olarak, sık görülen diğer semptomlar ellerde ince titreme, dilde fasikülasyon, eklem kontraktürleri ve skolyozdur. Skolyoz ve zayıf interkostal kaslar, restriktif akciğer hastalığına neden olabilir ve non-invaziv mekanik ventilasyon ihtiyacı yaratabilir. Yutma güçlüğü tip I hastalara göre daha az olup beslenme güçlüğü çiğneme kaslarının güçsüzlüğüne bağlı olarak gelişir (D'Amico ve ark., 2011).

SMA tip 3

SMA tip 3 (MIM #253400), vakalarının yaklaşık % 10 ila % 20'sini oluşturur ve semptomlar 18 aylıktan yetişkinliğe kadar ortaya çıkar. Kugelberg-Welander hastalığı olarak da adlandırılan tip 3 SMA'lı çocuklar ve yetişkinler, yaşamlarının bir noktasında yardımsız yürüyebilirler (Çizelge1.2). Tip 3 hastaların çoğu üç veya dört SMN2 kopyasına sahiptir (W. D. Arnold ve ark., 2015; Wadman ve ark., 2017). Semptomlar 3 yaşından önce başlamış ise başlangıçtan 10, 20 ve 40 yıl sonra yürüme olasılığı sırasıyla %73, %44 ve %34, 3 yaşından sonra başlamış ise %97, %89 ve %67'dir (Zerres ve Davies, 1999). Bu hastalarda solunumsal problemler çok azdır veya hiç görülmez (Kolb ve Kissel, 2011). Mobilize hastalarda proksimal güçsüzlüğe bağlı anormal yürüyüş paterni görülürken immobil hastalarda sıklıkla skolyoz gelişir. Bu grupta kognitif fonksiyonlar normal olup ve yaşam süresi değişmez (D'Amico ve ark., 2011; Madsen ve ark., 2015; Zerres ve Davies, 1999).

SMA tip 4

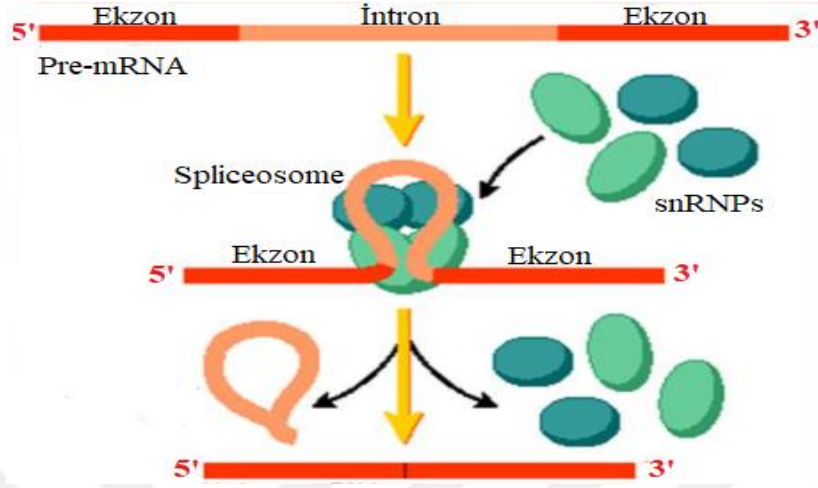
Tip 4 SMA (MIM #271150), hastalığın erişkin formu olup vakalarının < % 5'ini oluştururlar. En hafif seyirli ve en nadir görülen SMA tipidir, bulgular SMA tip 3'e benzese de genellikle daha hafif olup 20-40 yaşları arasında kollarda ve bacaklarda güçsüzlükle prezente olur, bu vakalar ambulatuardır. Yaşam süresi etkilememektedir (Essawi ve ark, 2012).



Şekil 1.3. Tanısal algoritma (Mercuri ve ark., 2018)

1.4. Moleküler genetik

Ökaryot genler, proteinleri kodlayan ekzon dizileri ve araya giren kodlama yapmayan intron dizilerinden oluşmaktadır. Kodlama yapan diziler genellikle genin küçük bir parçasıdır. Hem ekzon hem intron dizilerinin transkripsiyonu yapılır. RNA sentezlendikten sonra intron dizileri 'splicing' ile çıkarılır. İntronların çıkarılması ve ekzonların birleştirilmesi, ekleme bölgelerini, ekzon-intron sınırındaki dizileri ve ESE gibi yardımcı splicing elemanlarını tanıyan bir makromoleküler kompleks olan 'spliceosome' tarafından gerçekleştirilir. Bu süreç mRNA'yı oluşturduğu için 'pre-mRNA splicing' olarak adlandırılır (Şekil 1.4) (Krämer, 1996; Tacke ve ark., 1999; Wahl ve ark., 2009). Birçok hastalık hatalı splicing ile ilişkilidir (Cooper ve ark., 2009).



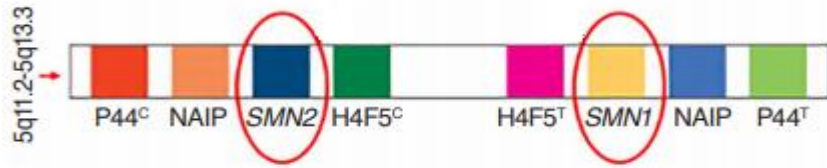
Şekil 1.4. Pre- mRNA splicing mekanizması (Cooper ve ark., 2009)

SMN1 ve SMN2

Hastalığın genetik etiolojinin keşfedilmesinden önce, SMA'nın değişik formlarla başlaması ve seyretmesi klinisyenlerin aklına "Bir gen kusuru nasıl olur da bu kadar farkı klinik tablolar yaratabilir?" sorusunu getirmiştir. Bu bilmecenin çözümü, 1995 yılında Melki laboratuvarı tarafından, tipine bakılmaksızın SMA vakalarının % 95'inin kromozom 5q13 üzerindeki SMN1 genindeki homozigot delesyondan kaynaklandığının keşfedilmesiyle başlamıştır (Lefebvre ve ark., 1995).

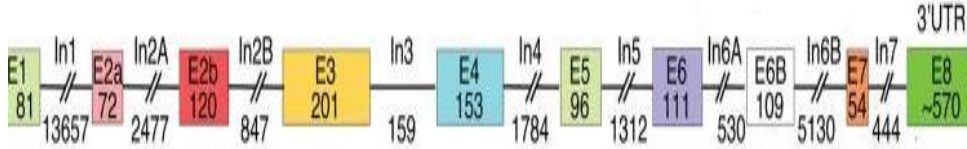
Geniş ölçekli inverted duplikasyon ve delesyonların bulunduğu 5q13.2 bölgesi (yaklaşık 500 kb), en az dört gen ve tekrarlayan diziler içerir. Bölgedeki bilinen genler, SMN(survival of motor neuron) geninin telomerik(SMN1 veya SMNt) ve sentromerik(SMN2 veya SMNc) kopyası, NAIP (neuronal apoptosis inhibitory protein gene), P44 ve H4F5 genleridir (Şekil 1.4). Tüm bu genleri kapsayan homozigot delesyonlar SMA hastalarında bulunmasına rağmen, büyük oranda SMN1(MIM# 600354) genindeki frameshift ve nokta mutasyonları da dahil olmak üzere bir dizi intragenik mutasyon veya delesyonların hastalığa neden olduğu, SMN2 (MIM# 601627) kopya sayısı ve tam uzunlukta SMN2 transkript düzeyinin hastalarda kontrollere göre daha az olduğu ve kopya sayısının SMA fenotipini

etkilediği tespit edilmiştir (He ve ark., 2013; Lefebvre ve ark., 1995; MacLeod ve ark., 1999; Madsen ve ark., 2015; Mailman ve ark., 2002; Sel ve ark., 2012). Nadir olarak SMN1 geninde homozigot mutasyonu olmasına rağmen asemptomatik aile üyeleri de tespit edilmiştir (Prior ve ark., 2004).



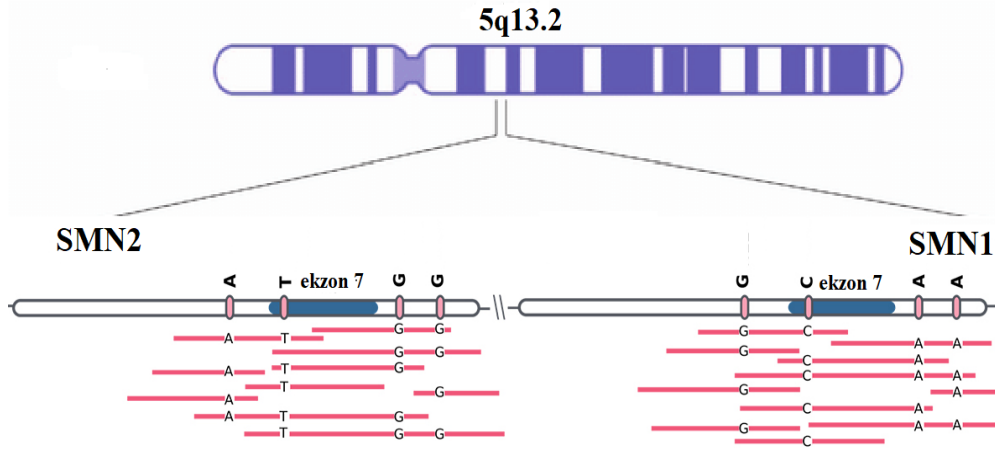
Şekil 1.5. 5.kromozom üzerindeki SMN1 ve SMN2 genleri (Rao ve ark., 2018)

İnsanlarda bir tandem duplikasyon, SMN2 olarak adlandırılan SMN gen lokusunun ikinci bir kopyasının oluşmasına yol açmıştır. SMN2, SMN1'den yaklaşık 875 kb uzaklıktadır, ~6 kb uzunluğunda promotör diziye sahiptir. Transkripsiyon seviyeleri stres gibi belirli koşullar altında farklı şekilde düzenlenebilir. Yaklaşık 20 kb uzunluğundaki SMN geni, 1, 2A, 2B, 3, 4, 5, 6, 6B, 7 ve 8 olmak üzere 10 ekzondan oluşur (Şekil 1.5) (Bürglen ve ark., 1996; Chen ve ark., 2020; Rochette ve ark., 2001; R. N. Singh ve ark., 2018). Hastaların % 96.4 gibi yüksek bir oranında SMN1 ekzon 7 ve 8 veya yalnızca ekzon 7'nin homozigot delesyonu mevcutken, %3.6'sında farklı bir kromozomda bir mutasyon veya bileşik heterozigozite vardır. SMA hastalarının yaklaşık %2'sinde görülen de novo mutasyonlar, çoğunlukla mayoz sırasında kopyalı bölgeler arasında eşit olmayan krossingover nedenlidir. Kontrollerin yaklaşık %5'inde SMN2'nin homozigot delesyonu görülür ancak klinik fenotip oluşturmaz (Junnila ve ark., 2019; Prior ve ark., 2010; Wirth, 2000).



Şekil 1.6. SMN1 geninin yapısı (R. N. Singh veSingh, 2018)

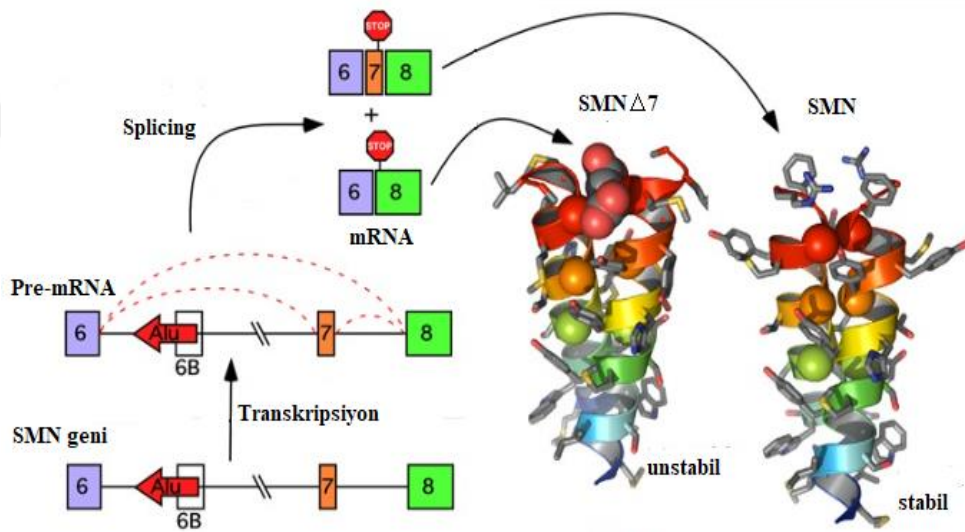
SMN1 ve SMN2 genlerinin her ikisi de SMN proteinini kodlar, ancak aralarında beş nükleotid farkı vardır, bunlar; intron 6 (-45); ekzon 7(+6); intron 7(+100); intron 7(+214); ekzon 8(+245) bölgelerindedir, tanımlanan nükleotid farklılıklarının hiçbiri amino asit dizisini değiştirmez (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. SMN1 ve SMN2 geni nükleotid farklılıkları (Junnila ve ark., 2019)

SMN1 transkriptlerinin %95'i ekson 7'yi içerirken, SMN2 mRNA'larının %80-95'i ekson 7'den yoksundur. Transkriptlerin analizleri, kodon 280'deki C-T transisyonunun bir ESE (exonic splicing enhancer) dizisini etkilediği, ekzon 7'nin atlanmasına ve daha kısa bir izoform, SMN2Δ7'nin üretimine yol açtığı, az kararlı ve tahmini % 10 ila %50'si tam uzunlukta olan protein üretimine sebep olduğunu göstermiştir (Şekil 1.10) (Hofmann ve ark., 2000; Lorson ve ark., 1999; R. N. Singh veSingh, 2018). Ekson 7, 54 nükleotidden oluşan bir bölgedir, SMN stabilitesinde

kritik bir rol oynayan son 16 amino asidi kodlar ve tam uzunlukta protein üretimi için translasyon sonlandırma sinyalini içerir, ekzon atlandığında translasyon ekzon 8'in 5' ucunda sonlanır(Şekil 1.8) (Cho ve ark., 2010; Lorson ve ark., 2010). Ayrıca ekzon 7 dizisinin sitoplazmada SMN'nin lokalizasyonunu belirlemede önemli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (H. L. Zhang ve ark., 2003).

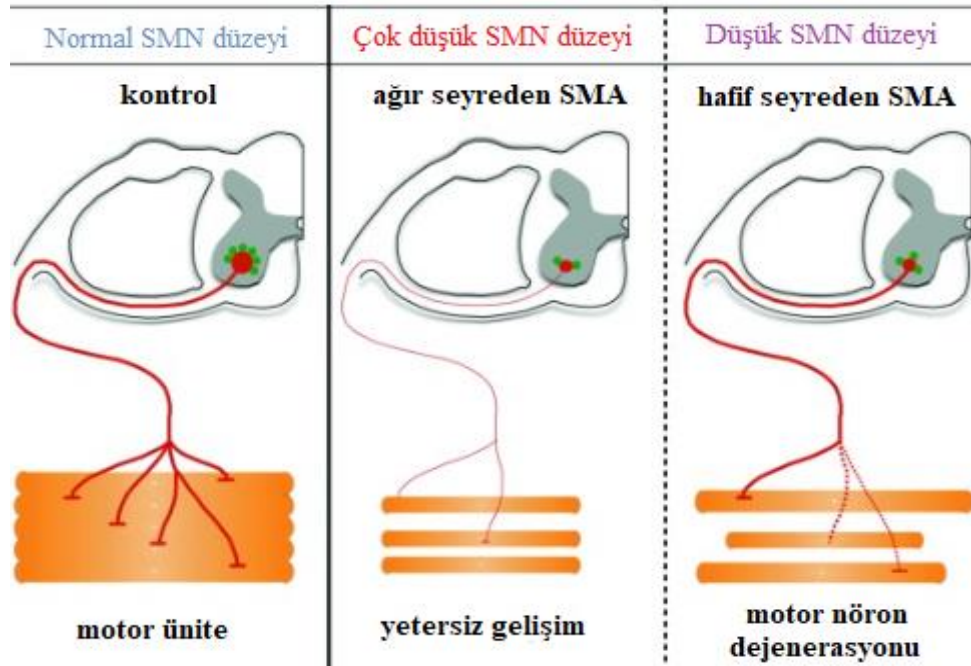


Şekil 1.8. SMN geninin transkripsiyonu (Eric W Ottesen ve ark., 2017)

SMN geni ekspresyonu her hücrede yapılır ve embriyogenez sırasında çoğu dokuda yüksek düzeyde SMN ekspresyonu vardır, nispeten yüksek olan beyin ve omurilik dışındaki tüm dokularda doğumdan sonra önemli bir azalma olur (Boda ve ark., 2004; La Bella ve ark., 1998; Novelli ve ark., 1997; Shababi ve ark., 2014). SMN ekspresyonu ve SMN genlerindeki kopya sayısı farklılıkları ve SMN lokalizasyonu; amyotrofik lateral skleroz (ALS), erkek infertilitesi, strese bağlı hastalıklar ve metabolik bozukluklar da dahil olmak üzere diğer birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Butchbach, 2016; Lorson ve ark., 1999; R. N. Singh ve Singh, 2018).

SMN Proteini

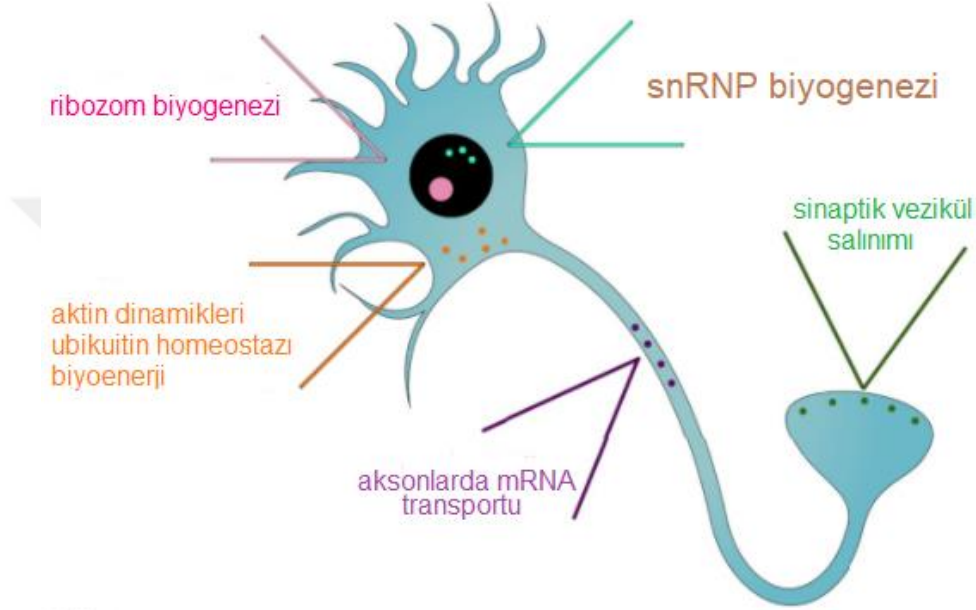
SMN 294 aminoasitten oluşan ve 38 kDa kütleli küçük bir proteindir. Memeli organizmalarının tüm dokularında hem sitoplazmada hem de çekirdekte bulunur ve hücre canlılığı için gereklidir, özellikle prenatal ve perinatal dönemde olmak üzere motor nöronlarda ekspresyonu yüksektir(Coover ve ark., 1997; d'Ydewalle ve ark., 2015; Owen ve ark., 2000). SMN'nin hem hücre kültüründe hem de in vivo olarak özellikle aksonlar, postsinaptik nöromusküler kavşak ve çizgili kasların Z-bantlarında bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 1.9) (Fan ve ark., 2002; Oskoui ve ark., 2008).



Şekil 1.9. Motor ünitenin gelişiminde SMN proteininin rolü (d'Ydewalle ve Sumner, 2015)

SMN, gemin ve unrip proteinleri ile birlikte, spliceosomal snRNP proteinleri ile etkileşime girerek, sitoplazmada snRNP birleşmesinde, pre-mRNA oluşumunda ve dolayısıyla mRNA biyogenezinde önemli bir rol oynamaktadır, ayrıca hücre içi

trafik, DNA onarımı, sinyal moleküllerinin tanınması, telomeraz aktivitesi, selenoprotein sentezi, endositoz ve otofajide de görev alır (Gabanella ve ark., 2007; Gennarelli ve ark., 1995; Pellizzoni ve ark., 1998; R. N. Singh ve ark., 2017).



Şekil 1.10. SMN proteini lokalizasyonu ve fonksiyonları (Bowerman ve ark., 2017)

SMN oligomerizasyonunu ve kompleks oluşumunu inhibe eden mutasyonlar tam uzunlukta SMN yarı ömrünü azaltmıştır. SMN eksikliği, nöronal homeostazi sağlayan birçok hücresel yolu etkiler, nöromusküler kavşakta morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olur. SMA hastalarında aktin dinamikleri, ubikuitin homeostazi, endositoz ve mitokondriyal fonksiyonda bozukluklar görülebilmektedir. SMN proteini miktarı ile SMA fenotipi arasında doğrudan bir korelasyon vardır (Şekil 1.10) (Duque ve ark., 2015; Gabanella ve ark., 2007).

1.5. Klinik Yönetim / Tedavi

Son on yılda, klinisyenlerin bu hastaların çoğunda gelişen çoklu solunum, beslenme, ortopedik, rehabilite edici, duygusal ve sosyal sorunları yönetme becerilerinde belirgin bir gelişme olmuştur. Bu bağlamda kayda değer bir başarı, Wang tarafından geliştirilen ve 2007'de yayınlanan ve daha sonra güncellenen yönetsel algoritma geliştirilmiştir. Bu algoritma SMA'lı hastalarda yaşlandıkça gelişen çok sayıda klinik problemi yönetmede yol gösterici bir klavuz niteliği taşımaktadır (Ching H Wang ve ark., 2007).

Solunum

Tip 1 ve 2 SMA'lı bebek ve çocuklarda en sık ölüm nedeni genellikle solunum yetmezliğidir. Pediatrik yaş grubunda nöromusküler hastalıklara aşina olan deneyimli bir göğüs hastalıkları uzmanı ile hastalığın ilk tanı sürecini akabinde hasta yönetimi açısından konsültasyon ile tedavi ve takip protokolü oluşturulması önemlidir. Bu hastalarda diyaframın görece korunduğu ekspiratuar kasların erken tutulumu ile karakterize bir tablo söz konusudur (Kuru ve ark., 2009). Tip 1 SMA'lı bebeklerde, noninvaziv solunum desteğinin erken uygulanmasının sağ kalım ve yaşam kalitesini iyileştirdiği gösterilmiştir. Noninvaziv mekanik ventilasyon efektif uygulandığında ve iyi tolere edildiğinde hemodinamik dengeyi etkilemez ve kemosensitiviteyi artırabilir ve gündüz hiperkapnik ventilatuar tabloyu düzeltir. Bu derecede solunum güçsüzlüğü olan hastalarda, mukus tıkanmasına bağlı olarak artan aspirasyon ve hipoksemi riskinin yanı sıra tekrarlayan pulmoner enfeksiyon riskinin artmasına neden olan zayıf bir öksürük gücü vardır. Mukus tıkaçı riski taşıyan bebekler, gece boyunca oksimetre ile izlenmelidir ve manuel emme gibi yardımcı hava yolu temizleme yöntemleri önerilmelidir. Akut geçimli enfeksiyon tabloları sırasında uygun antibiyoterapi uygulanmalıdır. Noninvaziv mekanik ventilasyonun yetersiz kaldığı olgularda trakeostomi açılarak kalıcı ventilasyon desteği

sağlanmalıdır. Bu aşamadan sonra bu hastaların takibi palyatif bakım ekibini içeren çok disiplinli bir yaklaşım gerektirmektedir (Schroth, 2009).

Tip 2 veya ayakta olmayan SMA'lı hastalarda (yani hastalığın ilerlemesiyle ambulasyon yeteneğini kaybeden tip 3 vakalarda) solunumsal yönetim tip 1 ile aynıdır, ancak komplikasyonlar daha az şiddetlidir. Öksürük gücü, solunum kaslarının fonksiyonel durumu vizitlerde monitorize edilmelidir. Gerekli vakalarda non-invaziv ventilasyon desteği sağlanmalıdır. Nokturnal hipoventilasyon non-invaziv ventilasyonla tedavi edilmelidir (Markström ve ark., 2010).

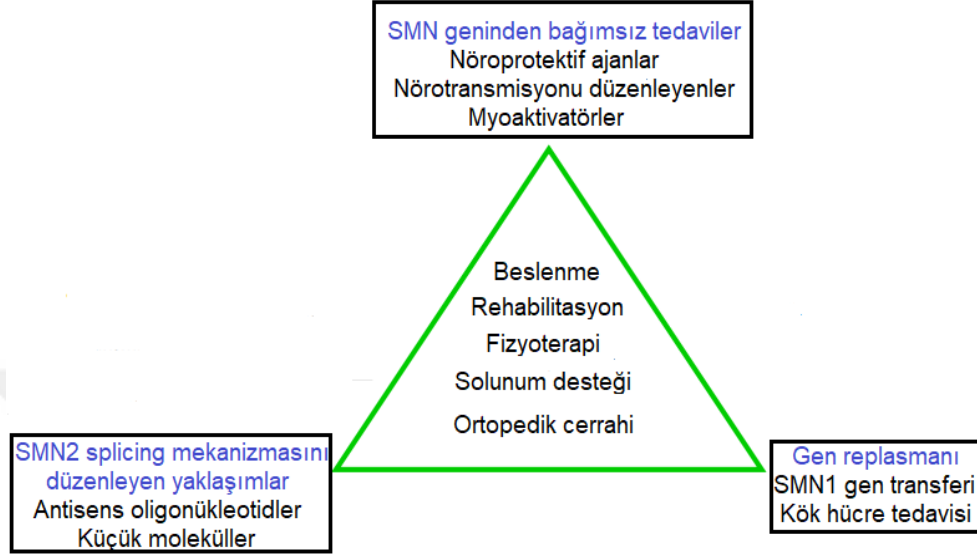
Beslenme

SMA'lı bireylerde gastrointestinal komplikasyonlar yaygındır ve bunun hareketsizlik ve beslenme yetersizliklerinden mi kaynaklandığı yoksa hastalığın doğasının bir parçası olup olmadığı net değildir. Yutma güçlüğüne bağlı olarak hastaların beslenme süresi uzar ve çabuk yorulurlar. Bulber disfonksiyon aspirasyon riskini de beraberinde getirir. Ayrıca gastrointestinal reflü, mide boşalmasında gecikme ve kabızlık görülebilir (Ionasescu ve ark., 1994). Beslenme güçlüğü ve disfaji ile ilişkili aspirasyon riski yönetiminde öncelikle yiyeceklerin kıvamında değişiklik yapmak gerekir. Yarı katı ve kıvam koyulaştırıcı maddeler içecek ve yiyeceklere eklenebilir (Durkin ve ark., 2008). Bu hastalarda doğru beslenme çok önemlidir. Kötü beslenme ve açlık dönemlerinden kaçınılmalıdır çünkü bu davranışlar kas kütesinin azalmasına ve ardından işlev bozukluğunun daha da artmasına neden olabilir. Bu komplikasyonları yönetmek için, büyüme eğrisini korumak ve yetersiz veya aşırı beslenmeden kaçınmak amacıyla hastalar diyetisyene de yönlendirilmeli ve her birey kendi özelinde değerlendirilmelidir. Yaş ilerledikçe kemik mineral yoğunluğunda azalma eğilimi nedeniyle yeterli D vitamini ve kalsiyum alımı sağlanmalıdır (Finkel ve ark., 2018).

Skeletal Problemler

Güçsüzlük ve hareket kısıtlılığı pek çok kas-iskelet sistemi sorununa neden olur. Erken teşhis ve uygun yönetim, yaşam kalitesinin artmasına, fiziksel kapasitenin korunmasına yardımcı olur. SMA'lı ambulatuvar olmayan bireylerde, kontraktürler yaygındır ve esnekliği korumak ve kontraktürleri önlemek için düzenli germe ve esnetme programları tedavinin ana hedeflerinden biridir. Manuel ve motorlu tekerlekli sandalyeler 18–24 aylıkken başlatılabilir. Biraz ağırlık taşıyabilen ve bir miktar gövde kontrolüne sahip çocuklar ayak bileği-ayak ortezleri ile mobil halde kalabilir. Fizik tedavi, yüzme, su terapisi önerilebilir (Montes ve ark., 2010). Skolyoz, SMA'lı hemen hemen ambulatuvar olmayan vakaların çoğunda görülür (Haaker ve ark., 2013). Skolyoz, tedavi edilmediğinde göğüs kafesi deformitelerine ve ardından solunumsal problemlere neden olur. Spinal füzyon ve destek, skolyoz için tercih edilen tedavilerdir, ancak bunların etkinliği konusunda net bir fikir birliği yoktur (Fujak ve ark., 2005).

Hastalığın genetik mekanizmasının keşfi öncesi benzer nörolojik bozukluklarda kullanılan anterior boynuz hücrelerine yönelik nöroprotektif ilaçlar (küçük moleküller veya kök hücrelerle), enerji metabolizmasını, kas gücünü ve işlevini geliştirmeye odaklanan yaklaşımlar bulunur (Şekil 1.11) (Angelozzi ve ark., 2008; Oskoui ve Kaufmann, 2008; Parente ve ark., 2018; C. H. Wang ve ark., 2008). SMA'da çeşitli hasta grupları mevcut olduğundan dolayı tedaviler farklı alt tiplerde farklı etkinlik göstermektedir.



Şekil 1.11. Tedavi yönetimi (Tizzano ve ark., 2017)

Nöroprotektif ajanlar, spinal müsküler atrofide motor nöron kaybını ve hastalığın ilerlemesini geciktirmek veya sınırlamak için kullanılabilir. Olesoxime molekülü bu tedaviye bir örnektir ve mitokondriden kalsiyum salınımını engelleyerek ve fare modellerinde motor nöron kaybını geciktirdiği görülmüştür. (Juntas Morales ve ark., 2017). Spinal musküler atrofi, diğer motor nöron hastalıklarına göre (amyotrofik lateral skleroz gibi) daha yavaş ilerler, bu da spinal musküler atrofiyi nöroprotektif ajanlarla müdahaleye daha uygun hale getirir, ancak özellikle genetik tarama yoluyla erken tanı almış bireylerde uygulanabilir (Swoboda ve ark., 2007). Bu tür moleküller genetik tedavilerle birlikte kullanıldığında da etkili olabilir.

Kök hücre temelli tedaviler, motor nöron fonksiyonunu korumak ve hücre popülasyonunu yenilemek gibi önemli faydalar sağlayabilir. Nöral kök hücrelerin veya öncülerinin doğrudan omuriliğe veya intratekal uygulama ile verilmesi farelerde fenotipik düzelmeyi sağlamıştır (Corti ve ark., 2006).

Bazı nadir hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynayan genetik mekanizmaların aydınlatılması, transgenik fare modellerini kullanarak klinik öncesi araştırmaların yapılmasına ve birçok terapatik tedavinin gelişmesine olanak sağlamıştır. Hayvan modellerinde terapötik stratejilerin test edilmesi genellikle patofizyolojik süreçlerin açıklığa kavuşturulmasında önemli bir rol oynar; bununla birlikte, laboratuvarında basit görülen şey genellikle klinikte daha karmaşık olabilmektedir.

SMA'nın genetik alt yapısının keşfinin ardından SMN bağımlı tedavi seçeneklerinin ortaya çıkmıştır, bunlar; antisens oligonükleotidler veya küçük moleküller ile hastaların çoğunda mevcut olan SMN2 geni transkripsiyonunu modüle ederek bu genin, SMN1 geni gibi işlev görmesini sağlayarak SMN proteini seviyesini arttırmaya odaklanan tedaviler ve SMN1 gen replasmanı tedavileridir (Oskoui ve Kaufmann, 2008; Parente ve Corti, 2018; Simoens ve ark., 2017; Swoboda ve ark., 2007). SMN2 geninin transkripsiyonel regülasyonunu sağlayan kontrol mekanizmalarını bilmek, yeterli miktarda SMN proteini üretmek için terapötik hedeflerin belirlenmesine yönelik önemli araştırma alanlarından biri olmuştur (Ahmad ve ark., 2016; Stein ve ark., 2017) Histon deasetilaz inhibitörleri (valporik asit, sodyum bütirat, fenilbutirat ve trikostatın A), endojen SMN2 promotör aktivitesini kontrol ederek SMN seviyelerini artırır; ancak, gen spesifik değildir ve hedef dışı etkilere sahip olabilir (Hamilton ve ark., 2013; Kolb ve Kissel, 2011).

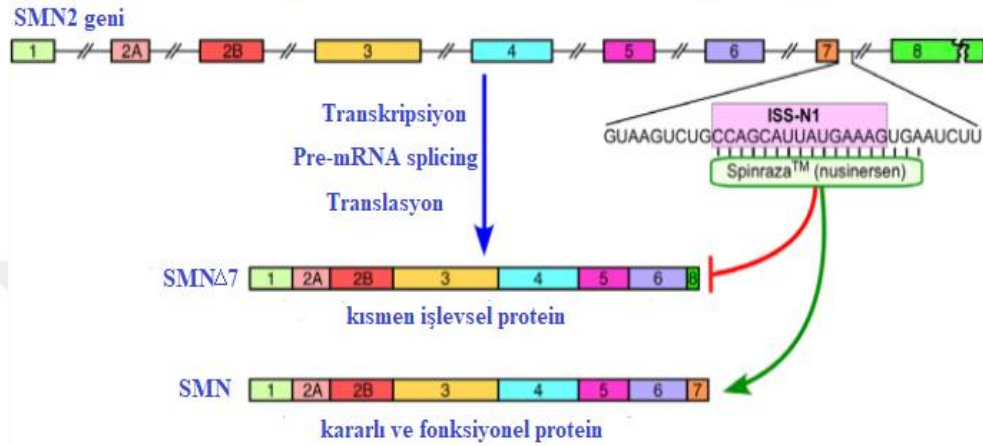
SMA tedavisi için Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından Aralık 2016'da onay alan ilk ilaç olan Nusinersen, ilk olarak hastalığın en erken ve en ağır formu olan, yaşamın ilk 6 ayında semptomların başladığı SMA tip I hastalarına uygulanmış ve hastalığın klinik seyrinde, ölüm oranında belirgin azalma görülmüştür (Prakash, 2017). Nusinersen bir antisens oligonükleotiddir (ASO).

Antisens Oligonükleotidler

Antisens oligonükleotidler, hedef RNA'ya bağlanarak gen ekspresyonunu düzenlemek ve gereken protein üretimini sağlamak veya toksik bir maddeyi ortadan kaldırmak amacıyla tasarlanan tek iplikli kısa yapay nükleotid dizileridir. Bu yöntem belirli bir nükleotid dizisini hedefler, bu nedenle potansiyel hedef dışı etkileri sınırlar (A. H. M. Burghes ve ark., 2010; Hamilton ve Gillingwater, 2013; Wertz ve ark., 2016). Kanser, Duchenne müsküler distrofisi, familial hiperkolesterolemi, HIV ve spinal müsküler atrofi gibi nadir genetik hastalıkların tedavisinde kullanılabilirler. İdeal bir antisens oligonükleotid, iyi çözünürlüğe, yeterli dağılıma, yüksek stabiliteye ve düşük toksisiteye sahip olmalıdır.

SMA hastalarının büyük çoğunluğu farklı kopya sayılarında da olsa, antisens oligonükleotidlere ideal bir hedef olan SMN2 genine sahiptir. Nusinersen, SMA hastalarında SMN proteininin ekspresyonunu doğru hücrede doğru zamanda arttırmak için tasarlanmış bir antisens oligonükleotittir, SMN2 intron 7'de 'splicing silencer' bölgeyi hedef alır ve inaktive eder (Şekil 1.12). 7.5 kDa ağırlığındadır, kan beyin bariyerini geçemez, intratekal enjeksiyon yoluyla uygulanır. Merkezi sinir sistemi, Nusinersen'in ana etki alanıdır. Araştırmalar, tedavi alan bebeklerin otopsislerinde, Nusinersen'in periferik dokularda (örneğin böbrek, karaciğer, iskelet kası) da bulunduğunu ve beyin omurilik sıvısından sistemik dolaşıma geçtiğini doğrulamıştır. Nusinersen'in eliminasyonu (yarı ömrü) beyin omurilik sıvısında 135-177 gün, plazmada yaklaşık 63-87 gün olarak tahmin edilmektedir. Klinik çalışmalarda farmakokinetik analizden elde edilen verilere göre, yaş ve BOS hacmine göre dozaj kullanmasına rağmen, Nusinersen'in BOS yarı ömrünün yaşa veya vücut ağırlığına bağlı olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, her yaş ve ağırlık için sabit bir doz önerilmiştir (Biliouris ve ark., 2018; Gidaro ve ark., 2019; Hoy, 2017; Hua ve ark., 2007; Kolb ve Kissel, 2011; Neil ve ark., 2019; N. N. Singh ve ark., 2004). Uygulanan hastalarda en sık görülen yan etkiler solunum yolu

enfeksiyonları ve kabızlık olmuştur. Trombositopeni ve böbrek toksisitesi olasılığı da önemlidir (Stein veCastanotto, 2017).

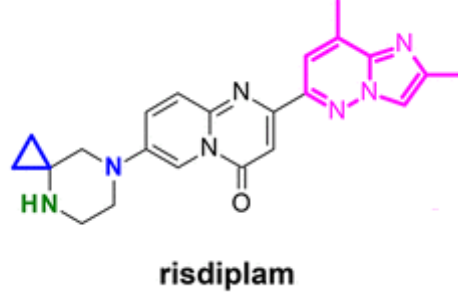


Şekil 1.12. SMN2 geni ve Nusinersen etki mekanizması (Ottesen, 2017)

Küçük Moleküller

SMN2 genini spesifik olarak hedef alan ve oral olarak alınabilen küçük moleküller, SMA tedavisi için geliştirme aşamasındadır ve klinik denemeleri yapılmaktadır. Oral ilaç alımı, antisens oligonükleotidlere göre daha avantajlıdır, çünkü lomber ponksiyon ihtiyacını ortadan kaldırır, sadece santral sinir sistemi değil, diğer organlar da hedeflenir (Parente veCorti, 2018).

Risdiplam (RG7916) ve Branaplam (LMI070), SMN üretimini arttırmak için SMN2 splicing mekanizmasını değiştiren, oral olarak alınan iki bileşiktir (Şekil 1.13). Risdiplam, SMN2 pre-mRNA'sını intron 7'de 5' (5' ss) ve ekzon 7'de ESE2 dizilerine bağlanır. Bu özgül bağlanma sayesinde tam uzunlukta SMN mRNA ve protein seviyeleri artarken, hedef dışı etkiler önlenir. Risdiplam tedavisi 2020'de 2 ay ve üzeri tüm SMA tipleri için FDA onayı almıştır, Branaplam ise SMA tip 1 hastalarında faz II aşamasındadır ve pre-semptomatik vakalarda da çalışmalar devam etmektedir (Dangouloff ve ark., 2019; Dhillon, 2020; Naryshkin ve ark., 2014; Ratni ve ark., 2018).

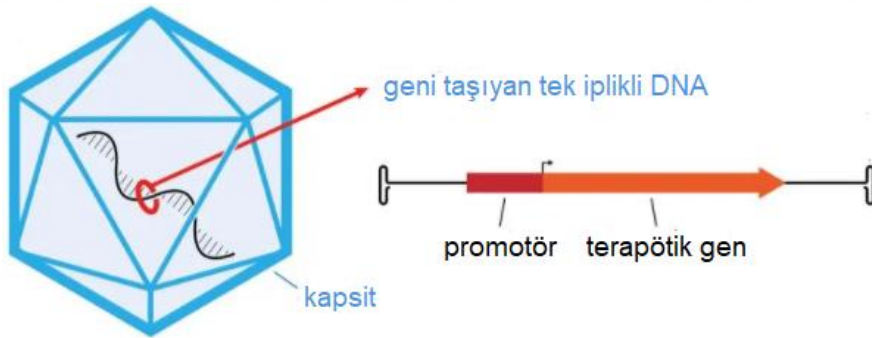


Şekil 1.13. Risdiplam molekülünün kimyasal yapısı (Ratni ve ark., 2018)

Gen Replasmanı

İstenen genin sağlıklı bir kopyasının, genellikle viral vektörler ile aktarımı tek gen hastalıklarının tedavisinde yeni yaklaşımlardan biridir. AAV, gen tedavisinde hücrelere gen aktarımı için kullanılan küçük, zarfsız bir virüstür (Şekil 1.14).

Viral aracılı SMN gen transferi, prelinik çalışmalarda oldukça başarılı olmuştur.



Şekil 1.14. Gen tedavisinde kullanılan viral vektör (Tretiakova ve ark., 2018)

SMN1 geni diğer genlere göre küçüktür ve viral bir vektöre aktarılabilir. AAV9, santral sistemine transfekte edebilir, kan beyin bariyerini geçebilir, intravenöz olarak verilebilir, kendi kendine replike olmaz, patojenik değildir ve konak genomuna entegre olmaz. AVXS-101 olarak bilinen vektör bir promotörün

kontrolü altında kodlama yapan, fonksiyonel insan SMN1 genini taşıyor, verilen genin transkripsiyonu sonrasında SMN protein sentezini sağlamak için tasarlanmıştır. Farelerde ve primatlarda motor nöronların korunmasını ve farelerde SMA fenotipinin neredeyse tamamen düzeltilmesini sağlamıştır. Umut verici bir ilaç olan Zolgensma (AVXS-101) , 2 yaşından küçük hastaların tedavisi için Mayıs 2019'da FDA tarafından onaylanmıştır. Zolgensma tek doz intravenöz olarak verilir. SMA tip 1 hastaları, 6 yaşından küçük SMA tip 2 hastalarında büyük kapsamlı çalışmalar devam etmektedir ve pre-semptomatik vakalarda intratekal enjeksiyonu değerlendiren Faz I çalışması da devam etmektedir (Al-Zaidy ve ark., 2019; Lowes ve ark., 2017; Mendell ve ark., 2017; Schuster ve ark., 2014).

Teorik olarak, gen terapisi SMA tedavisinde en makul ve etkili yaklaşımlardan biri gibi görünmektedir. Bu tedavinin en önemli avantajı, sadece tek uygulama ile anlamlı klinik yarar elde etme olasılığıdır, ancak bu tür ilaçların uzun vadeli yan etkileri bilinmemektedir (High ve ark., 2016; Parente ve Corti, 2018).

Tüm bu tedavi seçeneklerini değerlendirmek amacıyla çeşitli fonksiyonel testlerden yararlanılmaktadır. Gün koşullarında Sağlık Bakanlığı tarafından Nusinersen sağaltımı öncesi ve takibinde Hammersmith Fonksiyonel Motor Ölçek puanı dikkate alınmaktadır.

Hammersmith Fonksiyonel Motor Ölçeği

Spinal Musküler Atrofi tedavisindeki son gelişmeler, tedavideki başarıyı test etmek ve klinik değerlendirme için, motor becerilerdeki küçük değişikliklere duyarlı, güvenilir, çocuklarda kullanıma uygun ve geçerli fonksiyonel testlerin geliştirilmesini gerektirmiştir (Krosschell ve ark., 2006). Uluslararası bir çalışma ile (SMA REACH UK, Italian SMA Network ve PNCRN USA), Hammersmith fonksiyonel motor ölçeği (HFMS) ve genişletilmiş versiyonu (HFMSE), SMA için tasarlanmıştır (Main ve ark., 2003; McGraw ve ark., 2017; O'Hagen ve ark., 2007; Ramsey ve ark., 2017). HFMSE desteksiz mobilize olan SMA tip 3 ve daha ağır

seyreden SMA tip 3 de dahil olmak üzere hastaların değerlendirilmesine olanak sağlar, tedavi sonrası karşılaştırma için uygun bit test olduğu söylenebilir ve dünyadaki çeşitli merkezlerde farklı çalışmalarda da vakaların değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Bunlardan biri de sodyum fenilbutirat verilen SMA tip 2 hastalarının değerlendirildiği çalışmadır (Main ve ark., 2003; Eugenio Mercuri ve ark., 2016).

HFMSE testi, oturma, yatar pozisyonda yuvarlanma, yatar pozisyonda başını kaldırma, kalkma, diz çökme, ayakta durma ve adım atma, zıplama, merdiven çıkma gibi hareketlerin skorlandığı 33 maddeden oluşur (Ek-1). Her madde, “destek almadan yapar” için 2, “destek ile yapar” için 1 ve “yapamaz” için 0 puan alınan bir skorlama sisteminde değerlendirilir. Tüm maddelerin puanları toplanır, toplam skor 0 ile 66 arasında değişir (Krosschell ve ark., 2006; Main ve ark., 2003; E. Mercuri ve ark., 2016; O'Hagen ve ark., 2007). 33 maddenin tümü; puanlama kriterleri, psikometrik özellikleri ve klinik çalışmalarda kullanım kolaylığı açısından ilgili uzmanlar tarafından tartışılmıştır. Verilen skorun işlev/yetenekte belirgin bir değişikliği göstermesini sağlamak için; modern psikometri ve Rasch analizi kullanılmıştır (Ramsey ve ark., 2017).

Tedavi planlanan her bir hastanın mevcut durumu HFMSE ile değerlendirilmekte ve tedavi etkinliği, tedaviye devam edilip edilemeyeceği kararı ölçek puanlarındaki artışa göre yapılmaktadır. Çalışmamızda Nusinersen tedavisi uygulanan SMA hastalarında tedavinin HFMSE'nin global puanı, her bir alt başlığı yanı sıra bölgesel dağılım üzerindeki etkisine ait skorlar karşılaştırılmıştır. Motor fonksiyonun değerlendirildiği bu testin yanı sıra tedavinin hastaların bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini gözlemlemek açısından bazı sitokin gruplarının düzeyleri de ölçülmüştür. Bu nedenle burada sitokinler hakkında kısa bilgiler aktarılmıştır.

Sitokinler

Çok hücreli organizmaların, hücrelerinin işleyişi, büyüme ve çoğalması için uygun ortamı korumaları gerekmektedir. Sinir sistemi ve endokrin sistem, homeostazın korunmasında önemli rol oynar. Merkezi sinir sisteminin (CNS) gelişimi ve fizyolojisinin çoğu, sitokin ağları aracılığıyla yönetilir. Bazı durumlarda kontrolsüz bir şekilde çoğalan veya organizmaya dış ortamdan dahil olan yabancı hücreler homeostazın sağlanmasına engel olur, bu zararlı hücreleri veya toksik ajanları ortadan kaldıran mekanizmalar hayati öneme sahiptir. 130'dan fazla çeşidi olduğu bilinen sitokinler, enfeksiyon, inflamasyon ve malignitede hücresel aktiviteleri uyaran veya baskılayan, otokrin, parakrin veya endokrin şekilde işleyen bağışıklığı düzenleyen, genellikle glikozile edilmiş ve bağışıklık sistemi, epitel, endotel ve stroma dahil olmak üzere farklı hücreler tarafından üretilen küçük (<30 kDa) proteinlerdir. Sitokinlerin ekspresyonu ve aktivitesi; hızlı çoğalma evreleri (örneğin embriyogenez ve doku onarımı), doku düzensizliği (örneğin kronik inflamatuvar hastalık ve tümör büyümesi), enfeksiyon ve travma gibi 'stres' koşullarında artar. Sitokinler uykunun düzenlenmesinde, uzun süreli hafızanın oluşturulmasında ve hatırlanmada, kök hücre farklılaşmasında, aşı etkinliğinde ve allogreft reddinde de rol alabilmektedir. Spesifik uyaranlara verilen yanıtta sitokinlerin lokalizasyonu ve ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalar, sitokinlerin sinir sisteminde önemli etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Dejeneratif hastalıklarda (örneğin Alzheimer hastalığı), SSS'de bulunan hücreler, proinflamatuvar sitokinleri üretirler (Baldo, 2014; Becher ve ark., 2017; Dinarello, 2007; Holtmann ve ark., 1995; Hopkins ve ark., 1995; Rothaug ve ark., 2016). Nöroinflamasyonun SMA'da rol oynadığı gösterilmiştir (Rindt ve ark., 2015)

Biyolojik özellikleri veya pleiotropizm, bir sitokinin ayırt edici özelliğidir. İnterferonlar, interlökinler, kemokin ailesi, mezenkimal büyüme faktörleri, tümör nekroz faktörü ailesi ve adipokinler bilinen sitokinlerdir (Dinarello, 2007).

İnterlökinler

Birbirleriyle ilişkili farklı gen ürünleri olan interlökinler, hem pro-inflamatuar (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8) hem anti-inflamatuar (IL-4, IL-10, IL-13) etki gösterebilen geniş bir sitokin ailesidir. T hücreleri, makrofajlar ve T ve B hücrelerinin gelişimini ve farklılaşmasını teşvik eden endotel hücreleri ve hematopoetik hücreler tarafından sentezlenirler (Dinarello, 2007; Moreno-Martinez ve ark., 2019; Stoycheva ve ark., 2005). İnterlökinler bazı nörolojik hastalıkların oluşumu ve ilerlemesinde rol alabilmektedir(Becit, 2008)

İnterlökin-1

İlk tanımlanan sitokinlerden olan interlökin 1 (IL-1), 2.kromozamda yer alan iki farklı gen tarafından kodlanan IL-1 α ve IL-1 β olarak adlandırılan iki alt tipe sahip, proinflamatuar bir sitokindir (Dinarello, 1994; Lafage ve ark., 1989; Shaftel ve ark., 2008). Mononükleer fagositler tarafından salgılanır ve hem doğuştan gelen bağışıklık sistemi hücrelerinin(nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri gibi)aktivasyonunda hem de adaptif bağışıklıkta inflamatuvar yanıtların oluşturulmasında ve düzenlenmesinde rol oynar (Roitt ve ark., 2001; Simi ve ark., 2007).

IL-1 molekülleri klasik proinflamatuar sitokinler olarak kabul edilse de, işlevleri inflamasyon ile sınırlı değildir, fizyolojik ve patolojik fonksiyonlar, uyku, hamilelik, depresyon, iştah kaybı, metabolizma, ve öğrenme de dahil olmak üzere geniş bir yelpazede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca, IL-1 ve TNF endojen pirojenlerdir, sinerjik olarak hareket ederler ve ateş, kas proteolizi, anoreksi ve hipoglisemiye neden olurlar (Stoycheva veMurdjeva, 2005). IL-1, hem akut hem de kronik nörodejeneratif hastalıklarda, çoğunlukla mikroglia tarafından nöronal hasara yanıt olarak hızla eksprese edilir ve yüksek endojen veya ekzojen IL-1 seviyesi hasarı belirgin şekilde artırır (Allan ve ark., 2005; Dinarello, 2009; Gabay

ve ark., 2010; Khazim ve ark., 2018; Schett ve ark., 2016; Simi ve ark., 2007; Sims ve ark., 2010).

İnterlökin-6

İlk olarak 1980'lerde tanımlanan IL-6, hem bağışıklık hücreleri (T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar ve mikroglia) hem de diğer hücreler (kas hücreleri, fibroblastlar, endotel hücreleri, tümör hücreleri, nöronlar) tarafından salgılanabilir (Dinarello, 2000; Pedersen ve ark., 2008; Rothaug ve ark., 2016). IL-6 geni kromozom 7p21 üzerinde bulunur (Y. Wang ve ark., 2018). 184 amino asitten oluşan IL-6, düşük molekül ağırlıklı (24 kD), pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar özellik gösterebilen bir sitokindir (Dumont ve ark., 2003; Christoph Garbers ve ark., 2015). T ve B hücrelerinin farklılaşması, antikor üretimi, hematopoez, zarar gören dokunun bütünlüğünü korumak için önemli olan sistemik yanıt oluşturma(örneğin, akut faz tepkisi veya glukokortikoid indüksiyonu), embriyonik ve nöronal gelişimde rol alır (Dinarello, 2000; C. Garbers ve ark., 2013; Hopkins ve Rothwell, 1995; Kishimoto, 1989)

İnterlökin-6 (IL-6), oligodendrositlerin farklılaşmasını, sinaptik plastisite, periferik sinirlerin rejenerasyonunda çok önemlidir ve nörotrofik bir faktör olarak işlev görür. İnflamatuar hastalıkların patogeneğinde ve sinir dokusunun fizyolojik homeostazında önemli bir rol oynar. Multipl skleroz (MS), Parkinson ve Alzheimer hastalığı gibi nöropatolojik değişiklikler beyinde artmış IL-6 ekspresyonu ile ilişkilidir ayrıca IL-6, menenjitin ayırıcı tanısı için biyomarker olarak kullanılabilir (Benveniste, 1998; Carlson ve ark., 1999; Dano ve ark., 2016; Li ve ark., 1997; Rothaug ve ark., 2016; Schafer ve ark., 1999).

İnterlökin-8

IL-8, CXC kemokin ailesinin bir üyesidir, IL-8'i kodlayan gen 4q13.3 bölgesinde yer almaktadır. İnflamatuar uyaranlara (örneğin, interlökin-1 veya tümör

nekroz faktörü) maruz kalan fagositler ve mezenkimal hücreler tarafından üretilir. IL-8, genellikle kemokin reseptörü 1 (CXCR1) ve 2 (CXCR2)'ye bağlanarak etki gösterir. Kemotaksis, ekzositoz ve anjiyogenezi aktive eder. Birçok sitokinden farklı olarak, nötrofil için hedef özgülüğüne sahiptir, nötrofilleri periferik kandan inflamasyon bölgesine çeker (Baggiolini ve ark., 1992; Bickel, 1993; Dong ve ark., 2015; Hull ve ark., 2001; Palomino ve ark., 2015; J. J. Wang ve ark., 2018).

IL-8, nötrofil aktivitesini düzenleyerek vücudun savunma mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır ancak inflamasyona bağlı olarak dolaşımında IL-8'in uzun süreli varlığı, farklı derecelerde doku hasarına neden olabilir(Dong veZheng, 2015). IL-8, bazı kanser türlerinin oluşumunda ve ilerlemesinde rol oynamaktadır. Ayrıca, bazı araştırmalar IL-8'in nöron kültürlerinde toksik olduğunu göstermiştir(J. J. Wang ve ark., 2018)

İnterlökin-12

İnterlökin-12, T hücresi ve doğal katil hücrelerinin yanıtlarını düzenleyen, interferon- γ (IFN- γ) üretimini indükleyen, T helper 1 (TH1) hücrelerinin farklılaşmasında(hücre aracılı bağışıklığın düzenlenmesi) ve doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık arasındaki bağlantıda önemli rolü olan disülfit bağı ile bağlanan 40 kDa (p40) ve 35 kDa (p35) alt biriminden oluşan heterodimerik bir pro-inflamatuar sitokindir. Alt birimlerin genleri farklı kromozomlarda bulunmaktadır. IL-2 beta 1 ve beta 2 olarak adlandırılan iki alt birimden oluşan yüksek afiniteli bir reseptör aracılığıyla etki gösterir(Brunda, 1994). Fagositler ve dendritik hücrelerin alt kümeleri (DCs), enfeksiyonlar sırasında patojenlere yanıt olarak IL-12'nin üretimini sağlarlar. IL-12'nin çeşitli patojenlere yanıt olarak üretimindeki farklılık, IL-12'yi kodlayan genin ekspresyonunun düzenlenmesine,ve diğer bazı sitokinlerin regülasyonuna bağlıdır. IL-12, sedef hastalığı, multipl skleroz, viral ensefalit, romatoid artrit ve Crohn hastalığı gibi inflamatuvar hastalıkların oluşumunda rol oynamaktadır. Çok çeşitli tümör modellerinde güçlü antitümör aktivitesine sahip

olduğu da gösterilmiştir(Barrie III ve ark., 2005; Gately ve ark., 1998; Hsieh ve ark., 1993; Katiyar, 2007; Kobayashi ve ark., 1989; Stoycheva veMurdjeva, 2005).



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Çoğu klinik çalışma, SMA tanısı konan semptom gösteren bebek ve çocukların tedavisine odaklanmıştır. SMN ekspresyonunu in vitro olarak artırabilen mevcut FDA onaylı ilaçlar kullanılarak yapılan klinik çalışmalarda plaseboya göre belirgin bir farklılık görülmemiştir. Transkripsiyonu artırmak için histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri ile tedavi gibi SMN ekspresyonunu arttırmaya yönelik diğer yaklaşımlar, SMA tedavisi için yeterli etkinlik göstermemiştir (Z. Zhang ve ark., 2013).

Nusinersen, çocuk ve yetişkin hastaları tedavi etmek için onaylanan ilk ilaçtır. Çalışmalardan elde edilen veriler çeşitli hasta gruplarında tedavinin güvenliğini ve etkinliğini doğrulamıştır (Dangouloff ve Servais, 2019; Mullard, 2015).

Finkel ve ark., faz 2 klinik çalışması, erişkin olmayan spinal müsküler atrofi hastalarda intratekal Nusinersen uygulamasının güvenliğini ve tolere edilebilirliğini, farmakokinetiğini ve klinik etkinliğini değerlendirmiştir. Uygun katılımcılar, SMN1 homozigot gen delesyonu veya mutasyonu olan 3 hafta ile 6 ay arasında semptomların başladığı hastalardı. Hastalara yan etki değerlendirmeleri, fiziksel ve nörolojik muayene, beyin omurilik sıvısı laboratuvar testleri ve elektrokardiyografi yapılmıştır. Bu çalışmada, ilaç bebeklerde iyi tolere edildi ve 32 aylık tedavi boyunca verilen dokuz doza kadar herhangi bir güvenlik sorunu tespit edilmedi. Ancak 16 katılımcıda 77 ciddi yan etki bildirilmiştir, en yaygın olanı bebeklerde solunum yetmezliği veya solunum yolu enfeksiyonları olmuştur, geçici, asemptomatik nötropeni ve hafif bir kusma olayı da bildirilmiştir. Birçok katılımcıda en az bir kategoride motor gelişim gözlenmiştir (Finkel ve ark., 2016).

Mercuri ve ark., 6. aydan sonra semptom başlangıcı olan 126 çocukta, çift kör, faz 3 çalışmasını gerçekleştirmiştir. Çocuklara, 1, 29, 85 ve 274.günlerde 12 mg'lık dozda Nusinersen uygulaması plasebo grubu da olmak üzere uygulanmıştır. Tedavinin değerlendirilmesi Hammersmith fonksiyonel motor testi (HFMSE) ile

yapılmış olup, son test skorunda klinik olarak anlamlı bir artışa (≥ 3 puan) sahip, en az iki motor beceride iyileşmeyi gösteren ($P < 0.001$) bir sonuç elde edilmiştir. Yan etkiler, Nusinersen grubunda ve kontrol grubunda benzer oranda gözlemlenmiştir (Mercuri ve ark., 2018).

Darras ve ark., intratekal Nusinersen ile tedavi edilen bebekleri ve çocukları kapsayan yedi tamamlanmış klinik çalışmadan elde edilen verileri değerlendirmiştir. Çalışmalardan ikisi, bebeklerde (SMA tip I veya II), kalan beşi, çocuk ve ergenlerde (SMA Tip II veya III) yapılmıştır. Güvenlik ve yan etki değerlendirmeleri, fiziksel ve nörolojik muayeneleri, klinik laboratuvar testleri ve elektrokardiyogramları içeren araştırmalar yapılmıştır. En sık görülen yan etkiler, üst solunum yolu enfeksiyonu, nazofarenjit, kusma, baş ağrısı ve kabızlık olmuştur. Bu yan etkiler lomber ponksiyon prosedürü ile ilişkilendirilmiş, Nusinersen ile ilgili herhangi bir güvenlik sorunu düşünülmemiştir. Çalışma, bebek ve çocuklarda görülen motor fonksiyon üzerindeki önemli ve klinik olarak anlamlı etkileri ile birlikte erken tedavinin önemini vurgulamaktadır (Darras ve ark., 2019).

İmmün yanıt, başlangıç ve başlangıç sonrası antitruv antikoru (ADA) karşılaştırılması yapılan hastalarda değerlendirilmiştir. Beş hastada (%4) antikor gelişmiş; üç hastada geçici, ikisinde kalıcı olduğu tespit edilmiştir. İlacın etkinliği ve tolere edilebilirliğini değerlendirmek için daha fazla veriye ihtiyaç vardır (Hoy, 2017). Karşılaştırma amacıyla diğer fonksiyonel test sonuçlarını içeren çalışmalara tartışma bölümünde değinilecektir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu yüksek lisans tez projesi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 4 Eylül 2019(45 nolu karar) tarihinde araştırma etiği yönünden değerlendirilip uygun görülmüştür. Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji polikliniğine başvuran moleküler çalışmalar akabinde kesin SMA tanısı olan hastalar alınmıştır.

3.1. Hastaların Seçimi

Çalışmaya SMN1 geninde delesyon tespit edilen, SMN2 geni kopya sayısı bilinen ve Nusinersen uygulaması onaylanan yetişkin 21 SMA hastası ve yaş ve cinsiyet uyumlu 26 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Alınan bilgilendirilmiş onam formu akabinde ilk doz, 29., 85. ve 274. günlerde olmak üzere belirli bir protokol çerçevesinde ilaç intratekal olarak uygulanmıştır. Hastalık ve HFMSE hakkında hizmet içi eğitim almış aynı kişi tarafından ilk doz öncesi ve her uygulama akabinde HFMSE uygulanmıştır. Her uygulamaya ait HFMSE skorları karşılaştırılmıştır. Ayrıca test üst ekstremité , gövde ve alt ekstremité olarak üç alt gruba ayrılmış, ilacın hangi bölge üzerinde daha etkili olduğu belirlenmeye çalışılmıştır.

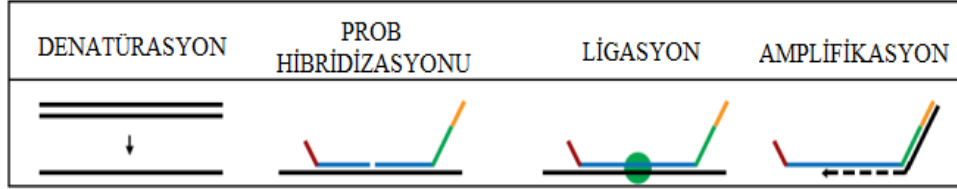
SMA hastalarının tedavî öncesi beyin omurilik sıvısı ve 9-10 saat açlığı takiben sarı kapaklı biyokimya tüplerine periferik kan örnekleri alınmış, santrifüj edilerek ayrılan serumlar çalışma günü IL-1, IL-6 , IL-8, IL-12 düzeyleri belirlenmek amacıyla tekrar çözdürülene kadar Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Laboratuvarında -80°C’de saklanmıştır. Aynı şekilde her tedavi öncesi yapılan olan Hammersmith fonksiyonel testi ile hastaların fizyolojik açıdan değişimleri değerlendirilmiştir. Tedavî sonrası kan ve idrar tetkikleri ile takip yapıp, yan etkiler not edilmiştir.

3.2. Hastalarda SMN1 delesyonu ve SMN2 kopya sayısının belirlenmesi

Kopya sayısı farklılıkları, insan DNA'sında önemli bir genetik varyasyon kaynağıdır ve çok sayıda hastalıkta rol oynar. Çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (MLPA), tek bir reaksiyonda birçok DNA dizisinin kopya sayısını belirlemek için kullanılan yarı kantitatif, otomatik olmayan bir tekniktir.

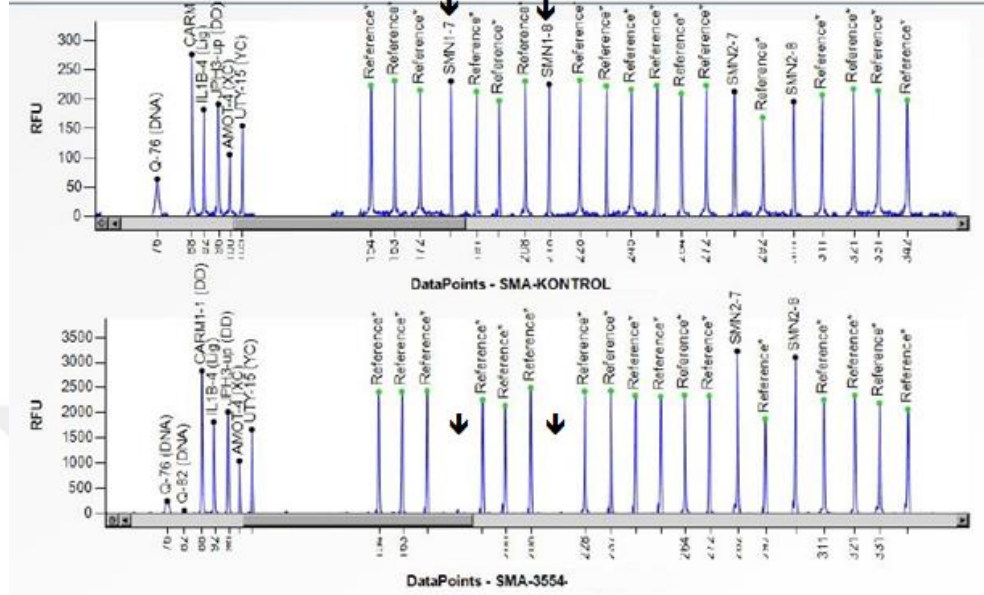
MLPA yöntemi, her biri belirli kısa DNA dizilerini tespit eden problemlerin amplifikasyonuna dayanır. MLPA reaksiyonu, 4 safhada gerçekleşmektedir (Şekil 2.1);

1. DNA denatüre edilir.
2. MLPA problemlerinin hibridizasyonu ve ligasyonu sağlanır.
3. PCR reaksiyonu gerçekleştirilir.
4. Prob zincirleri elektroforeze tabi tutularak farklı uzunluktaki DNA parçaları ayrıştırılır ve miktarları belirlenir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. MLPA reaksiyonu (Massalska ve ark., 2013)

Hastalarda SMN1 geninde delesyon olup olmadığı ve SMN2 kopya sayısı, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında MLPA yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.2. MLPA yöntemi ile tespit edilen delesyon örneği



ÇÜ AGENTEM
Çukurova Üniversitesi
Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Tedavi Merkezi



Hastanın Adı/Soyadı:	
Protokol No/TC Kimlik No:	
Başvuru Tarihi:	
Rapor Tarihi:	
Refere Edilen Hekim/Kurum:	ÇÜTF Balcalı Hastanesi
Klinik Tanı:	Spinal Musküler Atrofi (SMA) Taşıyıcılık Kuşkusu
Materyal Türü:	Priferik Kan
Araştırılan Gen/Bölge:	SMN1 Geni Ekzon 7 ve 8 Delesyon- Duplikasyon Analizi (MLPA) SMN2 Geni Ekzon 7 ve 8 Delesyon-Duplikasyon Analizi (MLPA)
Yöntem/Yapılan Çalışmalar:	MLPA / SALSA MLPA 060 SMA probemix kiti
SONUÇ	
	KOPYA SAYISI
	EKZON 7 EKZON 8
SMN1	0 0
SMN2	3 3
Yorum :	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bu çalışma sonucu kişide, çalışılan bölgelerde SMN1 geninde ekzon 7 ve 8'de homozigot delesyon, SMN2 geninde ekzon 7 ve 8'de heterozigot duplikasyon saptanmıştır. 2. Sonuç SMA tanısı lehinedir. 3. SMN2 kopya sayısının artmış olması nedeniyle klinik bulgulardan daha hafif olması beklenebilir. 4. Taşıyıcılığın saptanması amacıyla aynı çalışmanın anne-babada yapılması önerilir.

Şekil 3.3. Genetik tanı raporu örneği

3.3. İnterlökin düzeylerinin belirlenmesi

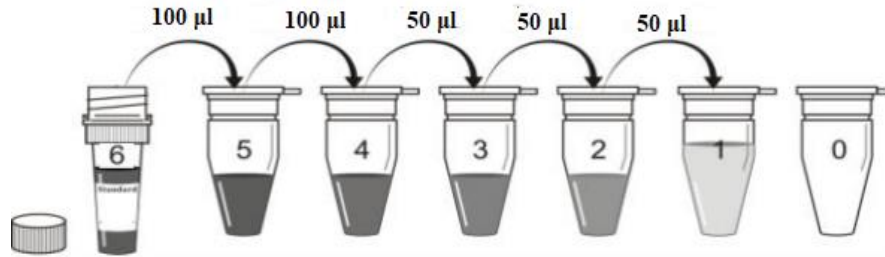
-80°C'de saklanan beyin omurilik sıvısı ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirilmiş, kontrol için sağlıklı bireylerden alınan serum örnekleri ile birlikte ölçüme hazırlanmıştır.

Ölçümler, sandviç ELISA tekniğinin kullanıldığı ticari kit (Human Interleukin ELISA Kit, SinoGeneClon Biotech, Hangzhou, China) ile yapılmıştır. ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) antijen ya da antikor miktarının

tespiti için kullanılan biyokimyasal yöntemdir. Yöntemin temeli, immün sistemin ürettiği antikorların özgül olarak antijeni tanımasına dayanır. Antijen yüzeye bağlanıp enzim ile işaretlenmiş antikor ile birleştirilir, ölçüm için genellikle enzimin renk değişimini sağlayan bir solüsyon ile etkileşimi sağlanır. Özgül olmayan bağlanmaları önlemek amacıyla uygun solüsyonlar ile yıkama işlemi yapılır. Ölçüm için genellikle spektrofotometre kullanılır (Hosseini ve ark., 2018; Yılmaz ve ark., 2018).

Kitler; microplate (12x8 mikrokuyucuklu), standart , standart diluent, enzim konjugat (HRP), sample diluent, kromojen A, kromojen B, stop solüsyonu ve yıkama solüsyonundan oluşmaktadır. İçeriklerinde bulunan prosedür ışığında her bir kit için aşağıdaki adımlar takip edilmiştir.

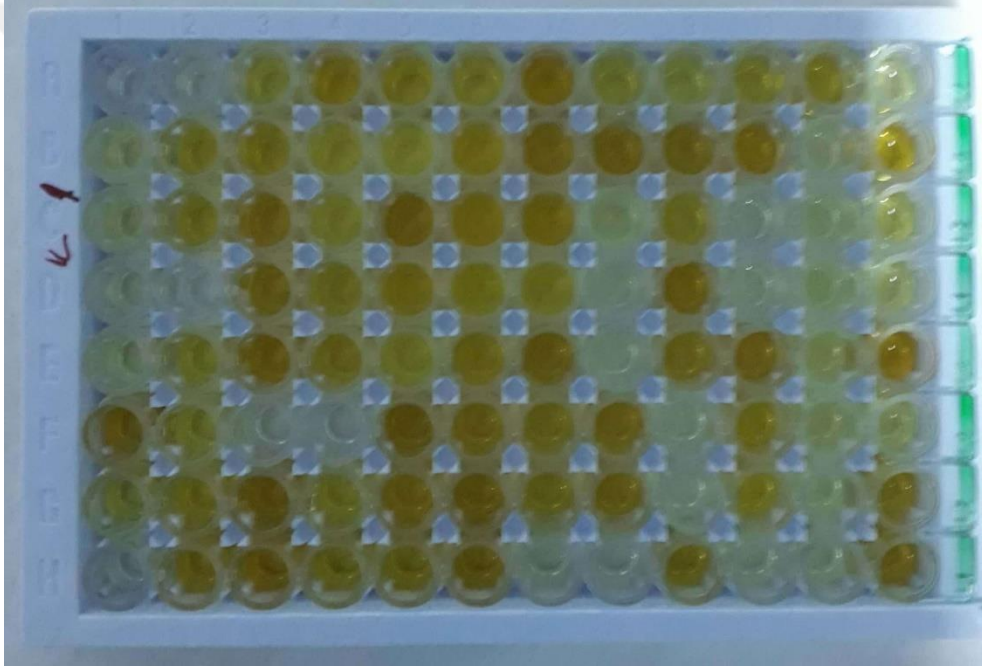
Yıkama solüsyonu (20 ml, 30x) deiyonize su ile seyreltilip istenilen konsantrasyona (1x) getirildi. Standartlar hazırlanırken, ilk olarak her tüpe 50 µl standart diluent çözeltisi eklendi, daha sonra her bir interlökin için ayrı ayrı şekil 3.4'deki seyreltme aşamaları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Seyreltme aşamaları

Standartlar için belirlenen kuyucuklara her bir standarttan 50 µl , örneklere ait kuyucuklara ise 40 µl sample diluent çözeltisi ve 10 µl örnek eklendi. 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Boş kuyucuk hariç her bir kuyucuğa 50 µl HRP konjugat eklenip 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Kromojen A ve

kromojen B solüsyonlarının her birinden bütün kuyucuklara 50 µl eklendi, ışıktan korunan ortamda 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi (Şekil 3.6). Renk değişimi gerçekleştiikten sonra (Şekil 3.5) (mavi renk sarıya döndüğünde) her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi. Ardından kuyucuklardaki absorbans, ELISA okuyucu (BioTek , Elx800 , USA) cihazda 450 nm'de ölçüldü (Şekil 3.7). Standart konantrasyonu değerlerinin kullanıldığı eğriden yola çıkarak örneklerin konantrasyonu hesaplandı.



Şekil 3.5. ELISA kaplarında renk oluşumu



Şekil 3.6. İnkübatör



Şekil 3.7. ELİSA okuyucu

3.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada hasta yaşı, hastalık başlangıç yaşı ve hastalık süresi için frekans ve yüzdeler hesaplanmış, istatistiksel analizlere başlamadan önce, verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov–Smirnov normality testi ile belirlenmiştir. Hastalık yaşı, süresi, cinsiyet, SMN2 gen kopya sayısı ve mobilite değişkenine göre ölçeğin puanları arasındaki farkın anlamlılığını test etmek için non-parametrik Mann Whitney-U testi, her bir uygulamadan elde edilen skorlar arasındaki farkın anlamlılığını test etmek için non-parametrik Wilcoxon Signed Ranks Testi uygulanmış, tedavi yanıtının cinsiyet değişkenine bağımlı olup olmadığını anlamak için ise Chi-Square testi kullanılmıştır. Bu işlemler için SPSS istatistik programı (SPSS 15.0) ve Excel programlarından yararlanılmıştır.

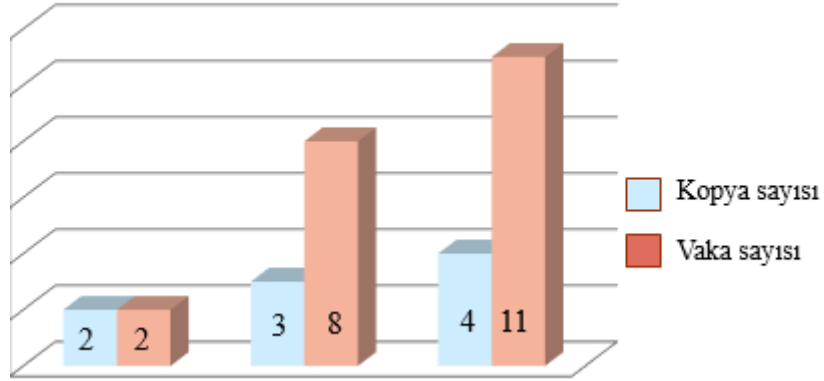
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Hastalarımızın 18'i (%85,7) erkek, 3'ü (%14,3) kadın olup; ortalama yaş $28,5 \pm 7,5$ (19-41) , ortalama hastalık başlangıç yaşı $8,3 \pm 4,8$ (1-16) , ortalama hastalık süresi ise $20,2 \pm 7,9$ (5- 35) yıldır. Kontrol bireylerin yaş ortalamaları 28,3'tür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun özellikleri

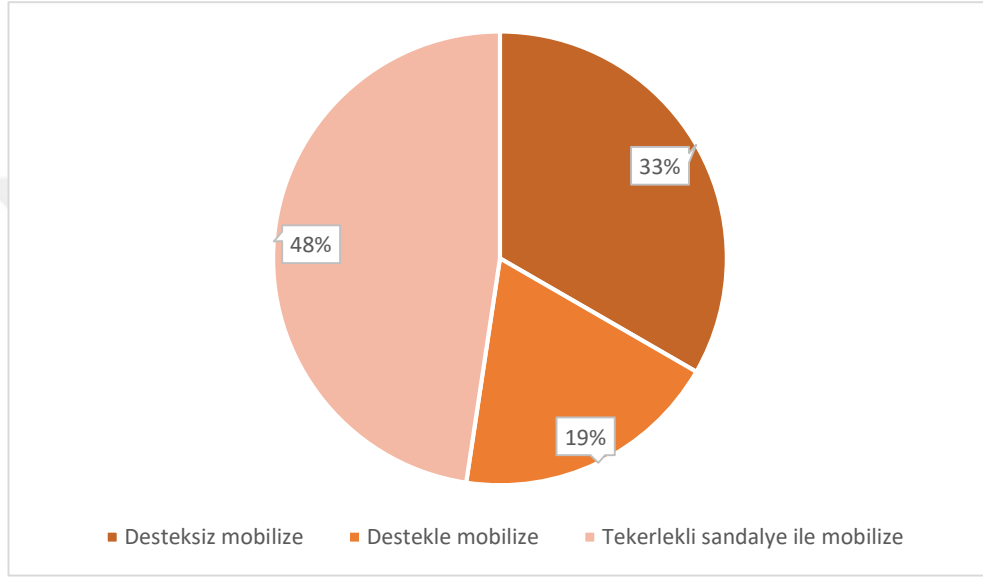
	Hasta	Kontrol
Sayı(E/K)	21(18/3)	26(10/16)
Yaş	$28,48 \pm 7,52$	$28,35 \pm 4,73$
Hastalık başlangıç yaşı	$8,26 \pm 4,81$	
Hastalık süresi	$20,21 \pm 7,92$	

Moleküler inceleme sonucunda SMN2 kopya sayıları hastaların 2'sinde (%9,5) 2, 8'inde (%38,1) 3, 11'inde (%52,4) ise 4 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Kopya sayılarına göre hastalar

Desteksiz mobilize 7 (%33,3), destekle mobilize 4 (%19), tekerlekli sandalye ile mobilize 10 (%47,6) hasta olup (Şekil 4.2), en fazla skor artışı mobilize olan hastalarda görülmüş, ayrıca bu artışın üst ekstremitelerde motor fonksiyonunda belirgin olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.2. Mobilite durumlarına göre hastalar

Hastaların 4'ünde minimal, 2'sinde orta, 2'sinde ise ileri derecede skolyoz tespit edilmiştir. Hastalarda spontan solunum mevcut olup, solunum yetmezliğini destekler muayene ve laboratuvar bulgusu yoktur.

İntratekal Nusinersen uygulaması sonrasında lomber fonksiyonun yan etkileri olarak kabul edilen baş ağrısı, bulantı, kusma ve sırt ağrısı gibi bazı şikayetler haricinde herhangi bir güvenlik, tolare edilebilirlik sorunu ortaya çıkmamıştır. Tedavi sonrası nörolojik muayenelerde de anormallik görülmemiştir.

4.1.Hammersmith Test Sonuçları

SMA hastalarında genel motor becerilerin değerlendirilmesi için kullanılan HFMSE testi skoru, farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılmıştır. SMA tip 2 ve 3 hastalarında yapılan retrospektif çalışmalarda, yılda ortalama 0.5 HFMSE skor azalışı gözlemlenmiştir, skorda ≥ 3 puanlık bir değişiklik genellikle klinik olarak anlamlı olarak görülür. Hastalık süresinin, HFMSE test sonuçlarındaki artış oranı ile ters orantılı olması beklenmekte, tedaviye erken başlamanın, güçsüzlüğün ilerlemesini yavaşlatacağı düşünülmektedir. (Jochmann ve ark., 2020; Swoboda ve ark., 2010; Wadman ve ark., 2018; Walter ve ark., 2019).

Bu çalışmada, tedavi öncesi ortalama HFMSE skoru 32,62 iken, tüm hastaların katıldığı ikinci doz öncesi yapılan değerlendirmede ortalama skor 38,17'ye yükselmiştir($p>0,05$). HFMSE testinin maddeleri ekstremitelere göre gruplandırıldığında en fazla skor artışı, üst ekstremiteler ve gövde ile ilgili maddelerde görülmüştür, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir($p>0,05$) (Çizelge 4.2).

Çizelge 3.2. Tedavi öncesi ve sonrasında HFMSE skorları

	Tedavi öncesi	2.doz öncesi	3.doz öncesi	4.doz öncesi
N	21	21	18	11
HFMSE skoru	32,62±18,35	38,14±16,37	38,17±16	39,64±14,85
Üst ekstremiteler	6,38±2,51	7,67±0,91	7,78±9,43	8±0
Gövde	17,62±8,26	20,19±7,1	20,56±6,9	22±4,31
Alt ekstremiteler	8,62±0,94	10,29±10,09	9,83±10,32	9,64±11,33
p (tedavi öncesi- doz)	-	>0,05	>0,05	>0,05

Tedavinin cinsiyet değişkeninden etkilenmediği ($p>0,05$) ancak hastalık süresi, hastaların mobilite durumu ve SMN2 kopya sayısı ile HFMSE skorunun pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Cinsiyete ve mobilite durumuna göre HFMSE skoru değişimi

	Tedavi öncesi HFMSE skoru	Tedavi sonrası HFMSE skoru
Erkek	30±18,09	35,83±16,08
Kadın	48,33±12,5	52±12,12
Desteksiz mobilize hastalar	52,57±5,65	56,71±4,07
Destekle mobilize hastalar	38,5±9	41,5±7,76
Tekerlekli sandalye ile mobilize hastalar	16,3±8,93	23,8±7,94

Sonuçlarımız, Nusinersen'in hastalığın erişkin formunda (SMA tip 2 ve 3) güvenli olduğunu göstermektedir. 11 aylık sürenin ardından, Nusinersen ile tedavi edilen tip 2 ve 3 SMA hastalarının çoğunda HFMSE fonksiyonda bir iyileşme gözlemledik. Her ne kadar HFMSE skorunda bir iyileşme görülse de bunun her hastanın nörolojik muayenesine yansıdığı net olarak söylenemez. Oysa Szabo ve ark. kendi hasta gruplarında Nusinersen'in SMA'lı heterojen bir çocuk popülasyonunda güvenli ve etkili bir tedavi olduğunu, bir yıllık bir sürenin ardından, tedavi edilen tip 1, 2 ve 3 SMA hastalarının çoğunda motor fonksiyonda bir iyileşme gözlemlediklerini ileri sürmüşlerdir. Bu değişikliklerin sadece istatistiksel olarak anlamlı değil, aynı zamanda yaşam kalitelerinde iyileşme bildiren hastaları için klinik olarak da anlamlı olduğunu bildirmişlerdir (Szabó ve ark., 2020).

ENDEAR klinik çalışmasında SMA tip 1 hastalarında 13 aylık takip sonrasında %71 oranında klinik (CHOP INTEND skorunda >4 puanlık iyileşme) gösterilmiştir (Finkel ve ark., 2017). Bu klinik çalışmanın ardından, CHOP INTEND ölçeğinde başlangıca göre 1058. güne kadar 16.8 puanlık bir ortalama iyileşme gözlemlendi. Bununla birlikte, çok daha geniş ölçekli bir tip 1 SMA hastası grubu

çalışmasında, Nusinersen ile tedavi ve 6 aylık bir takip süresinden sonra, % 42-77 yanıt oranı gözlemlenmiştir.

Walter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, dokuz hastanın HFSME skorunda artış görülmüş, beşi >3 puan almıştır, diğer fonksiyonel değerlendirmelerde, 5. ve 6. doz sonrası 6MWT (altı metre yürüme testi), RULM(üst ekstremité değerlendirme testi)'nde istatistiksel olarak anlamlı gelişmeler gözlemlenmiş, motor fonksiyonlarda hafif iyileşme veya stabilizasyon eğilimi görülmüştür($p<0,05$). Hastalığın doğal seyirindeki kronik ilerleme göz önüne getirildiğinde, stabilizasyon veya iyileşme önemlidir. Bu çalışmada, yaş ve hastalık süresinin tedavi yanıtı üzerinde olumsuz etkisi görülmemiştir (Walter ve ark., 2019).

Jochmann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 10 ay sonrasında üç hastada ortalama +9.3 puan, altı hastada ortalama +5 puan artış gözlemlenmiştir. 6MWT yapılan tek hasta başlangıçta 275 m, 6 ayda 327 m ve 14 ayda 343 m (+%25) yürümüştür (Jochmann ve ark., 2020).

Bu çalışmada hasta sayımızın az ve hasta yaşı, başlangıç skorları, SMA tipi, mobilite durumu, skolyoz varlığı açısından heterojen bir grup olması ve tez süresi boyunca tedavi sürecinin kısa olması nedeniyle, değerlendirmelerden klinik yararlanma hakkında istatistiksel olarak kesin olarak doğrulanmış sonuçlar alınamaz. Tedaviye başlamadan önce, semptomların başlangıcından bu yana ortalama ne kadar süre geçtiği önemlidir.

4.2.İnterlökin Düzeyleri

Labaratuvar testleri sonucu elde edilen verilere göre kontrol grubu serum interlökin düzeyleri ile tedavi öncesi hastalardan elde edilen serum interlökin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$). Kontrol bireylerin ortalama serum IL-1 düzeyi 786,41 ng/mL, IL-6 düzeyi 36,36 ng/mL, IL-8 düzeyi 5445,44 ng/mL ve IL-12 düzeyi 94,45 ng/mL olarak tespit edilmiştir.

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum interlökin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ($p > 0.05$). Tedavi öncesi ortalama IL-1 düzeyi 1064,09 ng/mL, IL-6 düzeyi 20,25 ng/mL, IL-8 düzeyi 1758,08 ng/mL ve IL-12 düzeyi 120,54 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Tedavi sonrasında ise ortalama IL-1 düzeyi 1207,85 ng/mL, IL-6 düzeyi 18,61 ng/mL, IL-8 düzeyi 1958,13 ng/mL ve IL-12 düzeyi 118,5 ng/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4. Tedavi öncesi ve sonrası serum interlökin düzeyleri

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	p
IL-1	1064,09±543,3	1207,85±452,15	>0,05
IL-6	20,25±15,59	18,61±13,54	>0,05
IL-8	1758,08±2219,4	1958,13±2286,08	>0,05
IL-12	120,54±101,01	118,52±118	>0,05

Hastalardan tedavi sonrası alınan BOS örneklerinde ortalama IL-1 düzeyi 1047,20 ng/mL, IL-6 düzeyi 27,63 ng/mL, IL-8 düzeyi 2808,26 ng/mL, IL-12 düzeyi 73,20 ng/mL olarak tespit edilmiştir.

Santral sinir sisteminde bağışıklık aktivasyonu, çoğunlukla viral enfeksiyonlarda ve nörodejeneratif hastalıklarda görülmektedir. Nöroinflamasyon, mikroglia ve astrositlerin aktivasyonunu ve periferik bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunu kapsayan hücrel ve moleküler süreçleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir (Ransohoff ve ark., 2009). Sitokinler, enfeksiyon, otoimmünite, inflamasyon ve malignitede hücrel aktiviteyi uyaran veya baskılayan otokrin, parakrin veya endokrin bir şekilde işlev gören bağışıklık ve inflamatuvar yanıtın modülatörleridir (Borish ve ark., 2003; Vacchelli ve ark., 2013). Geleneksel olarak, nöroinflamasyonun, nöron kaybına yanıt olarak ortaya çıkan ve ilk olarak hücre hasarını sınırlamayı ve SSS yenilenmesini teşvik etmeyi amaçlayan ikincil, karmaşık bir hücrel olay olduğu düşünülmektedir. Artan kanıtlar, nöroinflamasyonun

asında nöronal hayatta kalmayı bozabileceği ve böylece dejeneratif sürecin ilerlemesini ve yayılmasını uyarabileceği olasılığını desteklemektedir. Tedaviden sonra inflamatuvar yanıtın olası indüksiyonu dikkate alınmalıdır. Bağışıklık sisteminde bir bozulma, SMA hastalarını enfeksiyona daha yatkın hale getirebilir veya mevcut durumlarını ağırlaştırabilir (Delves ve ark., 2000). Spinal müsküler atrofi hastalarında tedavi sonrası interlökin düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu çalışmada kontrol grubu ile tedavi öncesi ve sonrası hasta örnekleri sonuçları karşılaştırıldığında interlökin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık söz konusu değildir (Çizelge 4.3).



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

SMA, RNA metabolizmasında önemli rol oynayan genlerle ilişkili nörolojik rahatsızlıktan biridir (A. H. Burghes ve ark., 2009). SMA hastalığının SMN1 delesyon ve mutasyonları ile ilişkili olduğunun tespit edilmesinden bu yana geçen zamanda, birçok önemli keşif, SMA patogenezinin anlaşılmasını ve tedavi seçeneklerinin farklılaşmasını sağlamıştır. Tedavi seçeneklerinden en dikkat çeken neredeyse tüm SMA hastalarında bulunan SMN2 geninde ekzon 7'nin atlanmasını önleyen antisens oligonükleotidlerdir (R. N. Singh ve Singh, 2018; Wertz ve Sahin, 2016). Nusinersen SMA hastalarının tedavisinde FDA tarafından onaylanan ilk ilaçtır.

Hastaların sahip olduğu motor beceriler, farklı SMN2 kopya sayıları, hastaların yaşı ve diğer hastalık modifiye edici faktörlerin varlığı tedavinin etkinliğini değiştiren faktörler arasındadır. Nusinersen'in akut immün yanıt nedeniyle tamamen kullanılamaz hale gelebileceği bazı durumlar olabilir (N. N. Singh ve ark., 2017). Uygun bir SMA terapisinin tasarlanması ve optimize edilmesinde dikkate alınması gereken kritik konu, müdahalenin zamanlamasıdır. Araştırmalar sonucu hastaların, semptom başlangıcından aylar sonra değil, semptomlar gözlemlendikten hemen sonra veya semptomatik olarak tedavi edildiğinde daha iyi sonuç elde edileceğini göstermektedir. Vücudun hücreleri ve dokuları farklı zamanlarda ve oranlarda gelişir ve olgunlaşır, düşük SMN seviyeleri farklı birçok somatik dokuyu etkileyebilir, bu durum SMA'da tedaviyi karmaşık hale getirir. Çoğu SMA hastası, motor fonksiyonun kaybından sonra teşhis edildiğinden, tedavilerin etkinliği az sayıda mevcut motor nöron sebebiyle sınırlı olabilmektedir. Lomber enjeksiyonların periferik kusurları tamamen iyileştirip iyileştiremeyeceği bilinmemektedir, verilen tedavinin bazı hücreler ve dokular için yararlı olabildiği, diğerleri için etkisiz kaldığı düşünülmektedir (Bebbe ve ark., 2010; Hamilton ve Gillingwater, 2013; Ottesen ve ark., 2016). Hedeflenen dokunun farklı ASO molekül veya kombinasyonları ile tedaviden nasıl etkilenebileceği bilinmemektedir

ve bu nedenle antisens oligonükleotidler gelecekteki araştırmalar için ilgi çekicidir, ayrıca ilacın beyin ve omuriliğe etkili bir şekilde verilmesi için invaziv olmayan prosedürler geliştirilmelidir (Ottesen, 2017).

Nusinersen ile tedavi edilen yetişkin SMA hastalarında güç ve fonksiyon üzerindeki etkinliği belirsizliğini korumaktadır, Yetişkin SMA hastalarında Nusinersen'in rolünü daha iyi anlamak için daha fazla veriye ihtiyaç vardır. Bu hastalarda çoğunlukla görülen skolyoz ve/veya spinal füzyon nedeniyle, Nusinersen uygulamasında kullanılan intratekal uygulama, zorlayıcı olabilmektedir ve sekonder komplikasyonlar ciddi sonuçlar doğurabilmektedir. Ayrıca, tedavinin sosyal maliyeti de göz önünde bulundurulmalıdır. SMA tip 2 ve SMA tip 3 hastaları için tahmini ömür boyu tıbbi destek maliyeti sırasıyla 8.4 ve 6.4 milyon dolar olarak tahmin edilmiştir (Drugs ve ark., 2018; Klug ve ark., 2016). Bu nedenle, tedavinin potansiyel yararı, yararın riske oranı ve daha da önemlisi, tedavinin maliyet etkinliği değerlendirmede önemlidir (Dangouloff veServais, 2019; Geraci ve ark., 2018; Sleigh ve ark., 2011). SMN 'splicing' mekanizmasını yönlendiren düzenleyicileri keşfetmeye devam ettikçe, terapötiklerin etkinliğinin artırılması beklenmektedir (Bebée ve ark., 2010). Nusinersen tedavisinde kazanılan deneyimler, motor nöron hastalıkları ve diğer genetik hastalıklar için tedavilerin geliştirilmesi için önemlidir.

Halihazırda hastalığın tedavisi için yürütölen veya Faz I aşaması kurgulanan pek çok çalışma olmakla birlikte gerek kendi gözlemlerimiz gerekse de bu hastalıkla uğraşan hekimlerin deneyimleri hastalığın mümkün olduğunca erken teşhis edilmesi ve klinik bulgular aşıkar hale gelmeden motor nöronların korunmasını gerektiğini göstermektedir (Prior ve ark., 2010). Motor fonksiyonların etkilenmesine bağlı disabilite geliştikten sonra ilaç uygulamaktan ziyade, yenidoğan taramaları yapmak prognozu değiştiren en önemli unsurdur. Yenidoğan taraması aynı zamanda hastaların beslenme, fizik tedavi ve solunum bakımı gibi alanlarda proaktif tedavi almasını sağlar (Ahmad ve ark., 2016; Bebee ve ark., 2010; Dangouloff veServais, 2019; Moshe-Lilie ve ark., 2019; Reed ve ark., 2018).

SMA tüm popülasyonlarda mevcut olduğundan, taşıyıcı testi ırk veya etnik kökene bakılmaksızın yapılmalıdır. Her bir tarama programının yararını ve etkinliğini değerlendirmek için farklı ülkelerdeki daha büyük popülasyonların analizlerine ihtiyaç vardır. Araştırmalar SMA taşıyıcı taramasının dünya çapında yapılması gerektiğini göstermektedir. Yerel ve ulusal hasta kayıtlarını güncellemek ve hasta dernekleri ile etkileşimde bulunmak önemlidir (Su ve ark., 2011).





KAYNAKLAR

- Ahmad, S., Bhatia, K., Kannan, A., Gangwani, L. (2016). Molecular Mechanisms of Neurodegeneration in Spinal Muscular Atrophy. *Journal of experimental neuroscience*, 10, 39-49. doi:10.4137/JEN.S33122
- Al-Zaidy, S. A., Mendell, J. R. (2019). From Clinical Trials to Clinical Practice: Practical Considerations for Gene Replacement Therapy in SMA Type 1. *Pediatr Neurol*, 100, 3-11. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.007
- Allan, S. M., Tyrrell, P. J., Rothwell, N. J. (2005). Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol*, 5(8), 629-640. doi:10.1038/nri1664
- Angelozzi, C., Borgo, F., Tiziano, F. D., Martella, A., Neri, G., Brahe, C. (2008). Salbutamol increases SMN mRNA and protein levels in spinal muscular atrophy cells. *J Med Genet*, 45(1), 29-31. doi:10.1136/jmg.2007.051177
- Arkblad, E., Tulinius, M., Kroksmark, A. K., Henricsson, M., Darin, N. (2009). A population-based study of genotypic and phenotypic variability in children with spinal muscular atrophy. *Acta Paediatr*, 98(5), 865-872. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.01201.x
- Arnold, W. D., Kassar, D., Kissel, J. T. (2015). Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve*, 51(2), 157-167. doi:10.1002/mus.24497
- Arnold, W. D., Kassar, D., Kissel, J. T. (2015). Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve*, 51(2), 157-167. doi:10.1002/mus.24497
- Baggiolini, M., Clark-Lewis, I. (1992). Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS letters*, 307(1), 97-101.
- Baldo, B. A. (2014). Side effects of cytokines approved for therapy. *Drug Saf*, 37(11), 921-943. doi:10.1007/s40264-014-0226-z

- Barrie III, A. M., Plevy, S. E. (2005). The interleukin-12 family of cytokines: Therapeutic targets for inflammatory disease mediation. *Clinical and Applied Immunology Reviews*, 5(4), 225-240.
- Bebee, T. W., Gladman, J. T., Chandler, D. S. (2010). Splicing of the Survival Motor Neuron genes and implications for treatment of SMA. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 15, 1191-1204. doi:10.2741/3670
- Becher, B., Spath, S., Goverman, J. (2017). Cytokine networks in neuroinflammation. *Nat Rev Immunol*, 17(1), 49-59. doi:10.1038/nri.2016.123
- Becit, K. S. (2008). Parkinson hastalığı ile interlökin-1 (IL-1) gen ailesi polimorfizmleri arasındaki ilişkinin moleküler düzeyde incelenmesi.
- Benveniste, E. N. (1998). Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev*, 9(3-4), 259-275. doi:10.1016/s1359-6101(98)00015-x
- Bickel, M. (1993). The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. *J Periodontol*, 64(5 Suppl), 456-460.
- Biliouris, K., Gaitonde, P., Yin, W., Norris, D. A., Wang, Y., Henry, S., . . . Trame, M. N. (2018). A Semi-Mechanistic Population Pharmacokinetic Model of Nusinersen: An Antisense Oligonucleotide for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 7(9), 581-592. doi:10.1002/psp4.12323
- Boda, B., Mas, C., Giudicelli, C., Nepote, V., Guimiot, F., Levacher, B., . . . Simonneau, M. (2004). Survival motor neuron SMN1 and SMN2 gene promoters: identical sequences and differential expression in neurons and non-neuronal cells. *Eur J Hum Genet*, 12(9), 729-737. doi:10.1038/sj.ejhg.5201217
- Borish, L. C., Steinke, J. W. (2003). 2. Cytokines and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(2), S460-S475.
- Bowerman, M., Becker, C. G., Yáñez-Muñoz, R. J., Ning, K., Wood, M. J. A., Gillingwater, T. H., Talbot, K. (2017). Therapeutic strategies for spinal

- muscular atrophy: SMN and beyond. *Dis Model Mech*, 10(8), 943-954. doi:10.1242/dmm.030148
- Brahe, C., Servidei, S., Zappata, S., Ricci, E., Tonali, P., Neri, G. (1995). Genetic homogeneity between childhood-onset and adult-onset autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet*, 346(8977), 741-742. doi:10.1016/s0140-6736(95)91507-9
- Brunda, M. J. (1994). Interleukin-12. *Journal of Leukocyte Biology*, 55, 280-280.
- Burghes, A. H., Beattie, C. E. (2009). Spinal muscular atrophy: why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick? *Nat Rev Neurosci*, 10(8), 597-609. doi:10.1038/nrn2670
- Burghes, A. H. M., McGovern, V. L. (2010). Antisense oligonucleotides and spinal muscular atrophy: skipping along. *Genes & development*, 24(15), 1574-1579. doi:10.1101/gad.1961710
- Butchbach, M. E. (2016). Copy Number Variations in the Survival Motor Neuron Genes: Implications for Spinal Muscular Atrophy and Other Neurodegenerative Diseases. *Front Mol Biosci*, 3, 7. doi:10.3389/fmolb.2016.00007
- Bürglen, L., Lefebvre, S., Clermont, O., Burlet, P., Viollet, L., Cruaud, C., . . . Melki, J. (1996). Structure and organization of the human survival motor neurone (SMN) gene. *Genomics*, 32(3), 479-482. doi:10.1006/geno.1996.0147
- Carlson, N. G., Wiegand, W. A., Chen, J., Bacchi, A., Rogers, S. W., Gahring, L. C. (1999). Inflammatory cytokines IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6, and TNF-alpha impart neuroprotection to an excitotoxin through distinct pathways. *J Immunol*, 163(7), 3963-3968.
- Chen, X., Sanchis-Juan, A., French, C. E., Connell, A. J., Delon, I., Kingsbury, Z., . . . Eberle, M. A. (2020). Spinal muscular atrophy diagnosis and carrier screening from genome sequencing data. *Genet Med*, 22(5), 945-953. doi:10.1038/s41436-020-0754-0

- Cho, S., Dreyfuss, G. (2010). A degron created by SMN2 exon 7 skipping is a principal contributor to spinal muscular atrophy severity. *Genes & development*, 24(5), 438-442. doi:10.1101/gad.1884910
- Cooper, T. A., Wan, L., Dreyfuss, G. (2009). RNA and disease. *Cell*, 136(4), 777-793. doi:10.1016/j.cell.2009.02.011
- Coovert, D. D., Le, T. T., McAndrew, P. E., Strasswimmer, J., Crawford, T. O., Mendell, J. R., . . . Burghes, A. H. (1997). The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*, 6(8), 1205-1214. doi:10.1093/hmg/6.8.1205
- Corti, S., Locatelli, F., Papadimitriou, D., Donadoni, C., Del Bo, R., Crimi, M., . . . Comi, G. P. (2006). Transplanted ALDHhiSSC1o neural stem cells generate motor neurons and delay disease progression of nmd mice, an animal model of SMARD1. *Hum Mol Genet*, 15(2), 167-187. doi:10.1093/hmg/ddi446
- D'Amico, A., Mercuri, E., Tiziano, F. D., Bertini, E. (2011). Spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis*, 6, 71. doi:10.1186/1750-1172-6-71
- d'Ydewalle, C., Sumner, C. J. (2015). Spinal muscular atrophy therapeutics: where do we stand? *Neurotherapeutics*, 12(2), 303-316.
- Dangouloff, T., Servais, L. (2019). Clinical Evidence Supporting Early Treatment Of Patients With Spinal Muscular Atrophy: Current Perspectives. *Ther Clin Risk Manag*, 15, 1153-1161. doi:10.2147/tcrm.S172291
- Dano, I. D., Sadou, H., Issaka, B., Oukem-Boyer, O. O. M. (2016). Measurement of Interleukin-6 in Cerebrospinal Fluid for the Diagnosis of Bacterial Meningitis. *Pak J Biol Sci*, 19(4), 185-190. doi:10.3923/pjbs.2016.185.190
- Darras, B. T., Farrar, M. A., Mercuri, E., Finkel, R. S., Foster, R., Hughes, S. G., . . . Gheuens, S. (2019). An Integrated Safety Analysis of Infants and Children with Symptomatic Spinal Muscular Atrophy (SMA) Treated with Nusinersen in Seven Clinical Trials. *CNS Drugs*, 33(9), 919-932. doi:10.1007/s40263-019-00656-w

- Delves, P. J., Roitt, I. M. (2000). The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*, 343(1), 37-49. doi:10.1056/nejm200007063430107
- Dhillon, S. (2020). Risdiplam: first approval. *Drugs*, 1-6.
- Dinarello, C. A. (1994). The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *The FASEB Journal*, 8(15), 1314-1325.
- Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508.
- Dinarello, C. A. (2007). Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol*, 37 Suppl 1, S34-45. doi:10.1002/eji.200737772
- Dinarello, C. A. (2009). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*, 27, 519-550. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132612
- Dong, R., Zheng, S. (2015). Interleukin-8: A critical chemokine in biliary atresia. *J Gastroenterol Hepatol*, 30(6), 970-976. doi:10.1111/jgh.12900
- Drugs, C. A. f., Health, T. i. (2018). Pharmacoeconomic review report. *Nusinersen (Spinraza)(Biogen Canada Inc.). Ottawa (ON): Canadian agency for drugs and technologies in Health.*
- Dubowitz, V. (2009). Ramblings in the history of spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord*, 19(1), 69-73. doi:10.1016/j.nmd.2008.10.004
- Dumont, A. S., Dumont, R. J., Chow, M. M., Lin, C.-l., Calisaneller, T., Ley, K. F., . . . Lee, K. S. (2003). Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery*, 53(1), 123-135.
- Duque, S. I., Arnold, W. D., Odermatt, P., Li, X., Porensky, P. N., Schmelzer, L., . . . Burghes, A. H. (2015). A large animal model of spinal muscular atrophy and correction of phenotype. *Ann Neurol*, 77(3), 399-414. doi:10.1002/ana.24332
- Durkin, E. T., Schroth, M. K., Helin, M., Shaaban, A. F. (2008). Early laparoscopic fundoplication and gastrostomy in infants with spinal muscular atrophy type I. *J Pediatr Surg*, 43(11), 2031-2037. doi:10.1016/j.jpedsurg.2008.05.035

- Fan, L., Simard, L. R. (2002). Survival motor neuron (SMN) protein: role in neurite outgrowth and neuromuscular maturation during neuronal differentiation and development. *Hum Mol Genet*, *11*(14), 1605-1614. doi:10.1093/hmg/11.14.1605
- Farrar, M. A., Park, S. B., Vucic, S., Carey, K. A., Turner, B. J., Gillingwater, T. H., . . . Kiernan, M. C. (2017). Emerging therapies and challenges in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol*, *81*(3), 355-368. doi:10.1002/ana.24864
- Feng, Y., Ge, X., Meng, L., Scull, J., Li, J., Tian, X., . . . Zhang, J. (2017). The next generation of population-based spinal muscular atrophy carrier screening: comprehensive pan-ethnic SMN1 copy-number and sequence variant analysis by massively parallel sequencing. *Genet Med*, *19*(8), 936-944. doi:10.1038/gim.2016.215
- Finkel, R. S., Chiriboga, C. A., Vajsar, J., Day, J. W., Montes, J., De Vivo, D. C., . . . Bishop, K. M. (2016). Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet*, *388*(10063), 3017-3026. doi:10.1016/s0140-6736(16)31408-8
- Finkel, R. S., Mercuri, E., Darras, B. T., Connolly, A. M., Kuntz, N. L., Kirschner, J., . . . De Vivo, D. C. (2017). Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*, *377*(18), 1723-1732. doi:10.1056/NEJMoa1702752
- Finkel, R. S., Mercuri, E., Meyer, O. H., Simonds, A. K., Schroth, M. K., Graham, R. J., . . . Sejersen, T. (2018). Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 2: Pulmonary and acute care; medications, supplements and immunizations; other organ systems; and ethics. *Neuromuscul Disord*, *28*(3), 197-207. doi:10.1016/j.nmd.2017.11.004
- Fujak, A., Ingenhorst, A., Heuser, K., Forst, R., Forst, J. (2005). Treatment of scoliosis in intermediate spinal muscular atrophy (SMA type II) in childhood. *Ortop Traumatol Rehabil*, *7*(2), 175-179.

- Gabanella, F., Butchbach, M. E., Saieva, L., Carissimi, C., Burghes, A. H., Pellizzoni, L. (2007). Ribonucleoprotein assembly defects correlate with spinal muscular atrophy severity and preferentially affect a subset of spliceosomal snRNPs. *PLoS One*, 2(9), e921. doi:10.1371/journal.pone.0000921
- Gabay, C., Lamacchia, C., Palmer, G. (2010). IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol*, 6(4), 232-241. doi:10.1038/nrrheum.2010.4
- Garbers, C., Aparicio-Siegmund, S., Rose-John, S. (2015). The IL-6/gp130/STAT3 signaling axis: recent advances towards specific inhibition. *Current opinion in immunology*, 34, 75-82.
- Garbers, C., Scheller, J. (2013). Interleukin-6 and interleukin-11: same same but different. *Biol Chem*, 394(9), 1145-1161. doi:10.1515/hsz-2013-0166
- Gately, M. K., Renzetti, L. M., Magram, J., Stern, A. S., Adorini, L., Gubler, U., Presky, D. H. (1998). The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immunol*, 16, 495-521. doi:10.1146/annurev.immunol.16.1.495
- Gennarelli, M., Lucarelli, M., Capon, F., Pizzuti, A., Merlini, L., Angelini, C., . . . Dallapiccola, B. (1995). Survival motor neuron gene transcript analysis in muscles from spinal muscular atrophy patients. *Biochem Biophys Res Commun*, 213(1), 342-348. doi:10.1006/bbrc.1995.2135
- Geraci, A. P., Black, K., Jin, M., Rimler, S., Evans, A. (2018). Transforaminal lumbar puncture for intrathecal nusinersen administration. *Muscle Nerve*. doi:10.1002/mus.26082
- Gidaro, T., Servais, L. (2019). Nusinersen treatment of spinal muscular atrophy: current knowledge and existing gaps. *Dev Med Child Neurol*, 61(1), 19-24. doi:10.1111/dmcn.14027
- Gregoretto, C., Ottonello, G., Chiarini Testa, M. B., Mastella, C., Ravà, L., Bignamini, E., . . . Cutrera, R. (2013). Survival of patients with spinal

- muscular atrophy type 1. *Pediatrics*, 131(5), e1509-1514.
doi:10.1542/peds.2012-2278
- Haaker, G., Fujak, A. (2013). Proximal spinal muscular atrophy: current orthopedic perspective. *Appl Clin Genet*, 6(11), 113-120. doi:10.2147/tacg.S53615
- Hamilton, G., Gillingwater, T. H. (2013). Spinal muscular atrophy: going beyond the motor neuron. *Trends Mol Med*, 19(1), 40-50. doi:10.1016/j.molmed.2012.11.002
- He, J., Zhang, Q.-J., Lin, Q.-F., Chen, Y.-F., Lin, X.-Z., Lin, M.-T., . . . Chen, W.-J. (2013). Molecular analysis of SMN1, SMN2, NAIP, GTF2H2, and H4F5 genes in 157 Chinese patients with spinal muscular atrophy. *Gene*, 518(2), 325-329.
- High, K. A., Anguela, X. M. (2016). Adeno-associated viral vectors for the treatment of hemophilia. *Hum Mol Genet*, 25(R1), R36-41. doi:10.1093/hmg/ddv475
- Hofmann, Y., Lorson, C. L., Stamm, S., Androphy, E. J., Wirth, B. (2000). Htra2-beta 1 stimulates an exonic splicing enhancer and can restore full-length SMN expression to survival motor neuron 2 (SMN2). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(17), 9618-9623. doi:10.1073/pnas.160181697
- Holtmann, H., Resch, K. (1995). Cytokines. *Naturwissenschaften*, 82(4), 178-187. doi:10.1007/bf01143192
- Hopkins, S. J., Rothwell, N. J. (1995). Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci*, 18(2), 83-88.
- Hosseini, S., Vázquez-Villegas, P., Rito-Palomares, M., Martínez-Chapa, S. O. (2018). Fundamentals and History of ELISA: The Evolution of the Immunoassays Until Invention of ELISA. In *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)* (pp. 1-18): Springer.
- Hoy, S. M. (2017). Nusinersen: First Global Approval. *Drugs*, 77(4), 473-479. doi:10.1007/s40265-017-0711-7
- Hsieh, C. S., Macatonia, S. E., Tripp, C. S., Wolf, S. F., O'Garra, A., Murphy, K. M. (1993). Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by

- Listeria-induced macrophages. *Science*, 260(5107), 547-549.
doi:10.1126/science.8097338
- Hua, Y., Vickers, T. A., Baker, B. F., Bennett, C. F., Krainer, A. R. (2007). Enhancement of SMN2 exon 7 inclusion by antisense oligonucleotides targeting the exon. *PLoS Biol*, 5(4), e73. doi:10.1371/journal.pbio.0050073
- Hua, Y., Vickers, T. A., Okunola, H. L., Bennett, C. F., Krainer, A. R. (2008). Antisense masking of an hnRNP A1/A2 intronic splicing silencer corrects SMN2 splicing in transgenic mice. *Am J Hum Genet*, 82(4), 834-848. doi:10.1016/j.ajhg.2008.01.014
- Hull, J., Ackerman, H., Isles, K., Usen, S., Pinder, M., Thomson, A., Kwiatkowski, D. (2001). Unusual haplotypic structure of IL8, a susceptibility locus for a common respiratory virus. *Am J Hum Genet*, 69(2), 413-419. doi:10.1086/321291
- Ionasescu, V., Christensen, J., Hart, M. (1994). Intestinal pseudo-obstruction in adult spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*, 17(8), 946-948. doi:10.1002/mus.880170816
- Jochmann, E., Steinbach, R., Jochmann, T., Chung, H. Y., Rödiger, A., Neumann, R., . . . Grosskreutz, J. (2020). Experiences from treating seven adult 5q spinal muscular atrophy patients with Nusinersen. *Therapeutic advances in neurological disorders*, 13, 1756286420907803. doi:10.1177/1756286420907803
- Jones, H. R., Darryl, C., Darras, B. T. (2003). *Neuromuscular disorders of infancy, childhood, and adolescence: a clinician's approach*: Butterworth-Heinemann.
- Junnila, H., Valori, M., Korppoo, A., Koskinen, L., Salminen, E., Gall, K., . . . Salmenpera, P. (2019). *Accurately resolving copy number variation in highly homologous SMN1 and SMN2 genes using next-generation sequencing and rhPCR*. Paper presented at the EUROPEAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS.

- Juntas Morales, R., Pageot, N., Taieb, G., Camu, W. (2017). Adult-onset spinal muscular atrophy: An update. *Rev Neurol (Paris)*, 173(5), 308-319. doi:10.1016/j.neurol.2017.03.015
- Katiyar, S. K. (2007). Interleukin-12 and photocarcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol*, 224(3), 220-227. doi:10.1016/j.taap.2006.11.017
- Khazim, K., Azulay, E. E., Kristal, B., Cohen, I. (2018). Interleukin 1 gene polymorphism and susceptibility to disease. *Immunol Rev*, 281(1), 40-56. doi:10.1111/imr.12620
- Kishimoto, T. (1989). The biology of interleukin-6. *Blood*, 74(1), 1-10.
- Klug, C., Schreiber-Katz, O., Thiele, S., Schorling, E., Zowe, J., Reilich, P., . . . Nagels, K. H. (2016). Disease burden of spinal muscular atrophy in Germany. *Orphanet J Rare Dis*, 11(1), 58. doi:10.1186/s13023-016-0424-0
- Kobayashi, M., Fitz, L., Ryan, M., Hewick, R. M., Clark, S. C., Chan, S., . . . Trinchieri, G. (1989). Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med*, 170(3), 827-845. doi:10.1084/jem.170.3.827
- Kolb, S. J., Kissel, J. T. (2011). Spinal muscular atrophy: a timely review. *Arch Neurol*, 68(8), 979-984. doi:10.1001/archneurol.2011.74
- Krämer, A. (1996). The structure and function of proteins involved in mammalian pre-mRNA splicing. *Annu Rev Biochem*, 65, 367-409. doi:10.1146/annurev.bi.65.070196.002055
- Krosschell, K. J., Maczulski, J. A., Crawford, T. O., Scott, C., Swoboda, K. J. (2006). A modified Hammersmith functional motor scale for use in multi-center research on spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord*, 16(7), 417-426. doi:10.1016/j.nmd.2006.03.015
- Kuru, S., Sakai, M., Konagaya, M., Yoshida, M., Hashizume, Y., Saito, K. (2009). An autopsy case of spinal muscular atrophy type III (Kugelberg-Welander

- disease). *Neuropathology*, 29(1), 63-67. doi:10.1111/j.1440-1789.2008.00910.x
- La Bella, V., Cisterni, C., Salaun, D., Pettmann, B. (1998). Survival motor neuron (SMN) protein in rat is expressed as different molecular forms and is developmentally regulated. *Eur J Neurosci*, 10(9), 2913-2923. doi:10.1111/j.1460-9568.1998.00298.x
- Lafage, M., Maroc, N., Dubreuil, P., de Waal Malefijt, R., Pebusque, M. J., Carcassonne, Y., Mannoni, P. (1989). The human interleukin-1 alpha gene is located on the long arm of chromosome 2 at band q13. *Blood*, 73(1), 104-107.
- Lefebvre, S., Burglen, L., Reboullet, S., Clermont, O., Burlet, P., Viollet, L., . . . et al. (1995). Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell*, 80(1), 155-165. doi:10.1016/0092-8674(95)90460-3
- Li, A. J., Katafuchi, T., Oda, S., Hori, T., Oomura, Y. (1997). Interleukin-6 inhibits long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Brain Res*, 748(1-2), 30-38. doi:10.1016/s0006-8993(96)01283-8
- Lorson, C. L., Hahnen, E., Androphy, E. J., Wirth, B. (1999). A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(11), 6307-6311. doi:10.1073/pnas.96.11.6307
- Lorson, C. L., Rindt, H., Shababi, M. (2010). Spinal muscular atrophy: mechanisms and therapeutic strategies. *Hum Mol Genet*, 19(R1), R111-118. doi:10.1093/hmg/ddq147
- Lowes, L., Al-Zaidy, S., Shell, R., Arnold, W., Rodino-Klapac, L., Prior, T., . . . Kissel, J. (2017). AVXS-101 phase 1 gene therapy clinical trial in SMA type 1: patients treated early with the proposed therapeutic dose were able to sit unassisted at a younger age. *Neuromuscular Disorders*, 27, S208-S209.

- Lunn, M. R., Wang, C. H. (2008). Spinal muscular atrophy. *Lancet*, 371(9630), 2120-2133. doi:10.1016/s0140-6736(08)60921-6
- MacDonald, W. K., Hamilton, D., Kuhle, S. (2014). SMA carrier testing: a meta-analysis of differences in test performance by ethnic group. *Prenat Diagn*, 34(12), 1219-1226. doi:10.1002/pd.4459
- MacLeod, M. J., Taylor, J. E., Lunt, P. W., Mathew, C. G., Robb, S. A. (1999). Prenatal onset spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol*, 3(2), 65-72. doi:10.1053/ejpn.1999.0184
- Madsen, K. L., Hansen, R. S., Preisler, N., Thogersen, F., Berthelsen, M. P., Vissing, J. (2015). Training improves oxidative capacity, but not function, in spinal muscular atrophy type III. *Muscle Nerve*, 52(2), 240-244. doi:10.1002/mus.24527
- Mailman, M. D., Heinz, J. W., Papp, A. C., Snyder, P. J., Sedra, M. S., Wirth, B., . . . Prior, T. W. (2002). Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med*, 4(1), 20-26. doi:10.1097/00125817-200201000-00004
- Main, M., Kairon, H., Mercuri, E., Muntoni, F. (2003). The Hammersmith functional motor scale for children with spinal muscular atrophy: a scale to test ability and monitor progress in children with limited ambulation. *Eur J Paediatr Neurol*, 7(4), 155-159. doi:10.1016/s1090-3798(03)00060-6
- Markström, A., Cohen, G., Katz-Salamon, M. (2010). The effect of long term ventilatory support on hemodynamics in children with spinal muscle atrophy (SMA) type II. *Sleep Med*, 11(2), 201-204. doi:10.1016/j.sleep.2009.08.014
- Massalska, D., Bijok, J., Zimowski, J. G., Józwiak, A., Jakiel, G., Roszkowski, T. (2013). Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)--new possibilities of prenatal diagnosis. *Ginekol Pol*, 84(6), 461-464. doi:10.17772/gp/1605

- McGraw, S., Qian, Y., Henne, J., Jarecki, J., Hobby, K., Yeh, W. S. (2017). A qualitative study of perceptions of meaningful change in spinal muscular atrophy. *BMC Neurol*, 17(1), 68. doi:10.1186/s12883-017-0853-y
- Mendell, J. R., Al-Zaidy, S., Shell, R., Arnold, W. D., Rodino-Klapac, L. R., Prior, T. W., . . . Kaspar, B. K. (2017). Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*, 377(18), 1713-1722. doi:10.1056/NEJMoa1706198
- Mercuri, E., Darras, B. T., Chiriboga, C. A., Day, J. W., Campbell, C., Connolly, A. M., . . . Finkel, R. S. (2018). Nusinersen versus Sham Control in Later-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*, 378(7), 625-635. doi:10.1056/NEJMoa1710504
- Mercuri, E., Finkel, R., Montes, J., Mazzone, E. S., Sormani, M. P., Main, M., . . . De Vivo, D. C. (2016). Patterns of disease progression in type 2 and 3 SMA: Implications for clinical trials. *Neuromuscul Disord*, 26(2), 126-131. doi:10.1016/j.nmd.2015.10.006
- Mercuri, E., Finkel, R., Montes, J., Mazzone, E. S., Sormani, M. P., Main, M., . . . De Vivo, D. C. (2016). Patterns of disease progression in type 2 and 3 SMA: Implications for clinical trials. *Neuromuscul Disord*, 26(2), 126-131. doi:10.1016/j.nmd.2015.10.006
- Migita, M., Migita, M., Uchikoba, Y., Orimo, H., Shimada, T., Shimada, T., . . . Fukunaga, Y. (2003). Genetic diagnosis of Werdnig-Hoffmann disease: a problem for application to prenatal diagnosis. *J Nippon Med Sch*, 70(1), 45-48. doi:10.1272/jnms.70.45
- Montes, J., McDermott, M. P., Martens, W. B., Dunaway, S., Glanzman, A. M., Riley, S., . . . Finkel, R. S. (2010). Six-Minute Walk Test demonstrates motor fatigue in spinal muscular atrophy. *Neurology*, 74(10), 833-838. doi:10.1212/WNL.0b013e3181d3e308

- Moreno-Martinez, L., Calvo, A. C., Munoz, M. J., Osta, R. (2019). Are Circulating Cytokines Reliable Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis? *Int J Mol Sci*, 20(11). doi:10.3390/ijms20112759
- Moshe-Lilie, O., Nizar, C., Visser, A., Dimitrova, D., Karam, C. (2019). Nusinersen in Adults with Spinal Muscular Atrophy, A Single Center Experience (P4.4-015). *Neurology*, 92(15 Supplement), P4.4-015.
- Mullard, A. (2015). 2014 FDA drug approvals. In: Nature Publishing Group.
- Munsat, T. L., Davies, K. E. (1992). International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany). *Neuromuscul Disord*, 2(5-6), 423-428. doi:10.1016/s0960-8966(06)80015-5
- Naryshkin, N. A., Weetall, M., Dakka, A., Narasimhan, J., Zhao, X., Feng, Z., . . . Metzger, F. (2014). Motor neuron disease. SMN2 splicing modifiers improve motor function and longevity in mice with spinal muscular atrophy. *Science*, 345(6197), 688-693. doi:10.1126/science.1250127
- Neil, E. E., Bisaccia, E. K. (2019). Nusinersen: A Novel Antisense Oligonucleotide for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics : JPPT : the official journal of PPAG*, 24(3), 194-203. doi:10.5863/1551-6776-24.3.194
- Novelli, G., Calzà, L., Amicucci, P., Giardino, L., Pozza, M., Silani, V., . . . Dallapiccola, B. (1997). Expression study of survival motor neuron gene in human fetal tissues. *Biochem Mol Med*, 61(1), 102-106. doi:10.1006/bmme.1997.2590
- O'Hagen, J. M., Glanzman, A. M., McDermott, M. P., Ryan, P. A., Flickinger, J., Quigley, J., . . . De Vivo, D. C. (2007). An expanded version of the Hammersmith Functional Motor Scale for SMA II and III patients. *Neuromuscul Disord*, 17(9-10), 693-697. doi:10.1016/j.nmd.2007.05.009
- Ogino, S., Leonard, D. G., Rennert, H., Ewens, W. J., Wilson, R. B. (2002). Genetic risk assessment in carrier testing for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet*, 110(4), 301-307. doi:10.1002/ajmg.10425

- Oskoui, M., Kaufmann, P. (2008). Spinal muscular atrophy. *Neurotherapeutics*, 5(4), 499-506. doi:10.1016/j.nurt.2008.08.007
- Ottesen, E. W. (2017). ISS-N1 makes the First FDA-approved Drug for Spinal Muscular Atrophy. *Transl Neurosci*, 8, 1-6. doi:10.1515/tnsci-2017-0001
- Ottesen, E. W., Howell, M. D., Singh, N. N., Seo, J., Whitley, E. M., Singh, R. N. (2016). Severe impairment of male reproductive organ development in a low SMN expressing mouse model of spinal muscular atrophy. *Sci Rep*, 6, 20193. doi:10.1038/srep20193
- Owen, N., Doe, C. L., Mellor, J., Davies, K. E. (2000). Characterization of the Schizosaccharomyces pombe orthologue of the human survival motor neuron (SMN) protein. *Hum Mol Genet*, 9(5), 675-684. doi:10.1093/hmg/9.5.675
- Palomino, D. C., Marti, L. C. (2015). Chemokines and immunity. *Einstein (Sao Paulo)*, 13(3), 469-473. doi:10.1590/s1679-45082015rb3438
- Parente, V., Corti, S. (2018). Advances in spinal muscular atrophy therapeutics. *Therapeutic advances in neurological disorders*, 11, 1756285618754501-1756285618754501. doi:10.1177/1756285618754501
- Pearn, J. (1978). Incidence, prevalence, and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy. *J Med Genet*, 15(6), 409-413. doi:10.1136/jmg.15.6.409
- Pedersen, B. K., Febbraio, M. A. (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiological reviews*, 88(4), 1379-1406.
- Pellizzoni, L., Kataoka, N., Charroux, B., Dreyfuss, G. (1998). A novel function for SMN, the spinal muscular atrophy disease gene product, in pre-mRNA splicing. *Cell*, 95(5), 615-624. doi:10.1016/s0092-8674(00)81632-3
- Prakash, V. (2017). Spinraza-a rare disease success story. *Gene Ther*, 24(9), 497. doi:10.1038/gt.2017.59

- Prior, T. W., Snyder, P. J., Rink, B. D., Pearl, D. K., Pyatt, R. E., Mihal, D. C., . . . Garner, S. (2010). Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet A*, *152a*(7), 1608-1616. doi:10.1002/ajmg.a.33474
- Prior, T. W., Swoboda, K. J., Scott, H. D., Hejmanowski, A. Q. (2004). Homozygous SMN1 deletions in unaffected family members and modification of the phenotype by SMN2. *Am J Med Genet A*, *130a*(3), 307-310. doi:10.1002/ajmg.a.30251
- Ramsey, D., Scoto, M., Mayhew, A., Main, M., Mazzone, E. S., Montes, J., . . . Muntoni, F. (2017). Revised Hammersmith Scale for spinal muscular atrophy: A SMA specific clinical outcome assessment tool. *PLoS One*, *12*(2), e0172346. doi:10.1371/journal.pone.0172346
- Ransohoff, R. M., Perry, V. H. (2009). Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol*, *27*, 119-145. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132528
- Rao, V. K., Kapp, D., Schroth, M. (2018). Gene therapy for spinal muscular atrophy: an emerging treatment option for a devastating disease. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*, *24*(12-a Suppl), S3-S16.
- Ratni, H., Ebeling, M., Baird, J., Bendels, S., Bylund, J., Chen, K. S., . . . Mueller, L. (2018). Discovery of Risdiplam, a Selective Survival of Motor Neuron-2 (SMN2) Gene Splicing Modifier for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA). *J Med Chem*, *61*(15), 6501-6517. doi:10.1021/acs.jmedchem.8b00741
- Reed, U. C., Zanuteli, E. (2018). Therapeutic advances in 5q-linked spinal muscular atrophy. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, *76*(4), 265-272.
- Rindt, H., Feng, Z., Mazzasette, C., Glascock, J. J., Valdivia, D., Pyles, N., . . . Lorson, C. L. (2015). Astrocytes influence the severity of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet*, *24*(14), 4094-4102. doi:10.1093/hmg/ddv148
- Rochette, C. F., Gilbert, N., Simard, L. R. (2001). SMN gene duplication and the emergence of the SMN2 gene occurred in distinct hominids: SMN2 is

- unique to Homo sapiens. *Hum Genet*, 108(3), 255-266.
doi:10.1007/s004390100473
- Roitt, I. M., Brostoff, J., Male, D. K. (2001). *Immunology*: Mosby Incorporated.
- Ross, L. F., Kwon, J. M. (2019). Spinal Muscular Atrophy: Past, Present, and Future. *Neoreviews*, 20(8), e437-e451. doi:10.1542/neo.20-8-e437
- Rothaug, M., Becker-Pauly, C., Rose-John, S. (2016). The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. *Biochim Biophys Acta*, 1863(6 Pt A), 1218-1227. doi:10.1016/j.bbamcr.2016.03.018
- Russman, B. S. (2007). Spinal muscular atrophy: clinical classification and disease heterogeneity. *J Child Neurol*, 22(8), 946-951. doi:10.1177/0883073807305673
- Schafer, K. H., Mestres, P., Marz, P., Rose-John, S. (1999). The IL-6/sIL-6R fusion protein hyper-IL-6 promotes neurite outgrowth and neuron survival in cultured enteric neurons. *J Interferon Cytokine Res*, 19(5), 527-532. doi:10.1089/107999099313974
- Schett, G., Dayer, J. M., Manger, B. (2016). Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol*, 12(1), 14-24. doi:10.1038/nrrheum.2016.166
- Schroth, M. K. (2009). Special considerations in the respiratory management of spinal muscular atrophy. *Pediatrics*, 123 Suppl 4, S245-249. doi:10.1542/peds.2008-2952K
- Schuster, D. J., Dykstra, J. A., Riedl, M. S., Kitto, K. F., Belur, L. R., McIvor, R. S., . . . Vulchanova, L. (2014). Biodistribution of adeno-associated virus serotype 9 (AAV9) vector after intrathecal and intravenous delivery in mouse. *Front Neuroanat*, 8, 42. doi:10.3389/fnana.2014.00042
- Sel, S. K., Kasap, H., Koç, F., Güzel, A. İ. (2012). Spinal Müsküler Atrofi ve Moleküler Genetiği. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 21(1), 1-26.
- Shababi, M., Habibi, J., Yang, H. T., Vale, S. M., Sewell, W. A., Lorson, C. L. (2010). Cardiac defects contribute to the pathology of spinal muscular

- atrophy models. *Hum Mol Genet*, 19(20), 4059-4071. doi:10.1093/hmg/ddq329
- Shababi, M., Lorson, C. L., Rudnik-Schoneborn, S. S. (2014). Spinal muscular atrophy: a motor neuron disorder or a multi-organ disease? *J Anat*, 224(1), 15-28. doi:10.1111/joa.12083
- Shaftel, S. S., Griffin, W. S., O'Banion, M. K. (2008). The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *J Neuroinflammation*, 5, 7. doi:10.1186/1742-2094-5-7
- Sheth, J., Patel, H., Mehta, S., Tewari, S., Sheth, F. (2013). Clinical and molecular characterization of patients with gross hypotonia and impaired lower motor neuron function. *Indian Pediatr*, 50(6), 591-593. doi:10.1007/s13312-013-0168-z
- Simi, A., Tsakiri, N., Wang, P., Rothwell, N. J. (2007). Interleukin-1 and inflammatory neurodegeneration. *Biochem Soc Trans*, 35(Pt 5), 1122-1126. doi:10.1042/bst0351122
- Simoens, S., Huys, I. (2017). Market access of Spinraza (Nusinersen) for spinal muscular atrophy: intellectual property rights, pricing, value and coverage considerations. *Gene Ther*, 24(9), 539-541. doi:10.1038/gt.2017.79
- Sims, J. E., Smith, D. E. (2010). The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol*, 10(2), 89-102. doi:10.1038/nri2691
- Singh, N. K., Singh, N. N., Androphy, E. J., Singh, R. N. (2006). Splicing of a critical exon of human Survival Motor Neuron is regulated by a unique silencer element located in the last intron. *Mol Cell Biol*, 26(4), 1333-1346. doi:10.1128/mcb.26.4.1333-1346.2006
- Singh, N. N., Androphy, E. J., Singh, R. N. (2004). In vivo selection reveals combinatorial controls that define a critical exon in the spinal muscular atrophy genes. *Rna*, 10(8), 1291-1305. doi:10.1261/rna.7580704

- Singh, N. N., Howell, M. D., Androphy, E. J., Singh, R. N. (2017). How the discovery of ISS-N1 led to the first medical therapy for spinal muscular atrophy. *Gene Ther*, 24(9), 520-526. doi:10.1038/gt.2017.34
- Singh, R. N., Howell, M. D., Ottesen, E. W., Singh, N. N. (2017). Diverse role of survival motor neuron protein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1860(3), 299-315.
- Singh, R. N., Singh, N. N. (2018). Mechanism of Splicing Regulation of Spinal Muscular Atrophy Genes. *Adv Neurobiol*, 20, 31-61. doi:10.1007/978-3-319-89689-2_2
- Sleigh, J. N., Gillingwater, T. H., Talbot, K. (2011). The contribution of mouse models to understanding the pathogenesis of spinal muscular atrophy. *Dis Model Mech*, 4(4), 457-467. doi:10.1242/dmm.007245
- Stein, C. A., Castanotto, D. (2017). FDA-Approved Oligonucleotide Therapies in 2017. *Mol Ther*, 25(5), 1069-1075. doi:10.1016/j.ymthe.2017.03.023
- Stoycheva, M., Murdjeva, M. (2005). Correlation between serum levels of interleukin-1 β , interleukin-1RA, interleukin-6, interleukin-10, interleukin 12, tumor necrosis factor- α and interferon- γ with some clinical and laboratory parameters in patients with salmonellosis. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 19(1), 143-146.
- Su, Y. N., Hung, C. C., Lin, S. Y., Chen, F. Y., Chern, J. P., Tsai, C., . . . Lee, C. N. (2011). Carrier screening for spinal muscular atrophy (SMA) in 107,611 pregnant women during the period 2005-2009: a prospective population-based cohort study. *PLoS One*, 6(2), e17067. doi:10.1371/journal.pone.0017067
- Sugarman, E. A., Nagan, N., Zhu, H., Akmaev, V. R., Zhou, Z., Rohlf, E. M., . . . Allitto, B. A. (2012). Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *Eur J Hum Genet*, 20(1), 27-32. doi:10.1038/ejhg.2011.134

- Swoboda, K. J., Kissel, J. T., Crawford, T. O., Bromberg, M. B., Acsadi, G., D'Anjou, G., . . . Simard, L. R. (2007). Perspectives on clinical trials in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol*, 22(8), 957-966. doi:10.1177/0883073807305665
- Swoboda, K. J., Scott, C. B., Crawford, T. O., Simard, L. R., Reyna, S. P., Krosschell, K. J., . . . Kissel, J. T. (2010). SMA CARNI-VAL trial part I: double-blind, randomized, placebo-controlled trial of L-carnitine and valproic acid in spinal muscular atrophy. *PLoS One*, 5(8), e12140. doi:10.1371/journal.pone.0012140
- Szabó, L., Gergely, A., Jakus, R., Fogarasi, A., Grosz, Z., Molnár, M. J., . . . Herczegfalvi, Á. (2020). Efficacy of nusinersen in type 1, 2 and 3 spinal muscular atrophy: Real world data from Hungarian patients. *Eur J Paediatr Neurol*, 27, 37-42. doi:10.1016/j.ejpn.2020.05.002
- Tacke, R., Manley, J. L. (1999). Determinants of SR protein specificity. *Curr Opin Cell Biol*, 11(3), 358-362. doi:10.1016/s0955-0674(99)80050-7
- Tisdale, S., Pellizzoni, L. (2015). Disease mechanisms and therapeutic approaches in spinal muscular atrophy. *Journal of Neuroscience*, 35(23), 8691-8700.
- Tizzano, E. F., Finkel, R. S. (2017). Spinal muscular atrophy: A changing phenotype beyond the clinical trials. *Neuromuscul Disord*, 27(10), 883-889. doi:10.1016/j.nmd.2017.05.011
- Tretiakova, A. P., Murphy, J. E., Binks, M., Mensah, P., Rabinowitz, J., McCarty, D. M., . . . Cheng, S. H. (2018). Realizing the promise of gene therapy through collaboration and partnering: Pfizer's view. *Nature*, 564(7735).
- Vacchelli, E., Eggermont, A., Fridman, W. H., Galon, J., Zitvogel, L., Kroemer, G., Galluzzi, L. (2013). Trial Watch: Immunostimulatory cytokines. *Oncoimmunology*, 2(7), e24850. doi:10.4161/onci.24850
- Verhaart, I. E. C., Robertson, A., Wilson, I. J., Aartsma-Rus, A., Cameron, S., Jones, C. C., . . . Lochmuller, H. (2017). Prevalence, incidence and carrier

- frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. *Orphanet J Rare Dis*, 12(1), 124. doi:10.1186/s13023-017-0671-8
- Wadman, R. I., Stam, M., Gijzen, M., Lemmink, H. H., Snoeck, I. N., Wijngaarde, C. A., . . . van der Pol, W. L. (2017). Association of motor milestones, SMN2 copy and outcome in spinal muscular atrophy types 0-4. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 88(4), 365-367. doi:10.1136/jnnp-2016-314292
- Wadman, R. I., Wijngaarde, C. A., Stam, M., Bartels, B., Otto, L. A. M., Lemmink, H. H., . . . van der Pol, W. L. (2018). Muscle strength and motor function throughout life in a cross-sectional cohort of 180 patients with spinal muscular atrophy types 1c-4. *Eur J Neurol*, 25(3), 512-518. doi:10.1111/ene.13534
- Wahl, M. C., Will, C. L., Lührmann, R. (2009). The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell*, 136(4), 701-718. doi:10.1016/j.cell.2009.02.009
- Walter, M. C., Wenninger, S., Thiele, S., Stauber, J., Hiebeler, M., Greckl, E., . . . Schoser, B. (2019). Safety and Treatment Effects of Nusinersen in Longstanding Adult 5q-SMA Type 3 - A Prospective Observational Study. *J Neuromuscul Dis*, 6(4), 453-465. doi:10.3233/jnd-190416
- Wang, C. H., Finkel, R. S., Bertini, E. S., Schroth, M., Simonds, A., Wong, B., . . . Crawford, T. O. (2007). Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *Journal of child neurology*, 22(8), 1027-1049.
- Wang, C. H., Lunn, M. R. (2008). Spinal muscular atrophy: advances in research and consensus on care of patients. *Curr Treat Options Neurol*, 10(6), 420-428. doi:10.1007/s11940-008-0044-7
- Wang, J. J., Williams, W., Wang, B., Wei, J., Lu, X., Cheng, J. W., . . . Li, F. (2018). Cytotoxic effect of interleukin-8 in retinal ganglion cells and its possible mechanisms. *Int J Ophthalmol*, 11(8), 1277-1283. doi:10.18240/ijo.2018.08.05

- Wang, Y., Chen, X., Chen, Y. (2018). Interleukin-6 gene -572G/C polymorphism and prostate cancer risk. *Afr Health Sci*, 18(2), 267-272. doi:10.4314/ahs.v18i2.10
- Wertz, M. H., Sahin, M. (2016). Developing therapies for spinal muscular atrophy. *Ann NY Acad Sci*, 1366(1), 5-19. doi:10.1111/nyas.12813
- Wirth, B. (2000). An update of the mutation spectrum of the survival motor neuron gene (SMN1) in autosomal recessive spinal muscular atrophy (SMA). *Hum Mutat*, 15(3), 228-237. doi:10.1002/(sici)1098-1004(200003)15:3<228::Aid-humu3>3.0.Co;2-9
- Yılmaz, S., Öztürk Sezgin, M., Dağıştanlı, F. (2018). Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri Genomik ve Proteomik Analizler. In: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Zerres, K., Davies, K. E. (1999). 59th ENMC International Workshop: Spinal Muscular Atrophies: recent progress and revised diagnostic criteria 17-19 April 1998, Soestduinen, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*, 9(4), 272-278. doi:10.1016/s0960-8966(99)00016-4
- Zhang, H. L., Pan, F., Hong, D., Shenoy, S. M., Singer, R. H., Bassell, G. J. (2003). Active transport of the survival motor neuron protein and the role of exon-7 in cytoplasmic localization. *J Neurosci*, 23(16), 6627-6637.
- Zhang, Z., Pinto, A. M., Wan, L., Wang, W., Berg, M. G., Oliva, I., . . . Dreyfuss, G. (2013). Dysregulation of synaptogenesis genes antecedes motor neuron pathology in spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(48), 19348-19353. doi:10.1073/pnas.1319280110

ÖZGEÇMİŞ

1995 yılında Adana’da doğdu. İlk, ortaöğretimini farklı şehirlerde, lise öğretimini Adana’da tamamladı. 2014-2018 yılları arasında İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü’nde lisans eğitimini aldı. 2018 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisans eğitimine başlamıştır.

Ulusal ve Uluslararası bilimsel toplantı/kongrelerde yer alan bildirimleri;

1. Poster presentation, Güleç R.,2019, Correlation between Hammersmith examination score and copy number of SMN2 gene in adult patients with Spinal Muscular Atrophy, Fens Regional Meeting, Beldrad
2. Spinal Müsküler Atrofiler, Biyoteknoloji Günleri, Çukurova Üniversitesi, Adana, 2019
3. Bir Aile İki Distrofi, Nörogenetik Sempozyumu, Adana, 2019

Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler;

1. Güleç R., Koç F. Mitokondriyal kas hastalıkları. Taşdemir N, editör. Kas Hastalıkları, 1.Baskı Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. p.49- 59.
2. Koç, F , Güleç, H , Gelincik, H , Bişgin, A . (2020). Melas Ailesi: Klinik - Genetik Korelasyon . Dicle Tıp Dergisi , 47 (3) , 749-754





EKLER



Smartnet & PNCR SMA için Hammersmith Fonksiyonel Motor Ölçeği							
İsim:		Doğum tarihi:					
Değerlendirme tarihi:		Test süresi:					
Spinal cerrahi tarihi:		Değerlendiren kişi:					
Lütfen bağımsız hareket düzeyinin mevcut olan en yüksekini yuvarlak içine alın LBC= Kontraktür ile sınırlanmış. Hiçbiri yuvarlanıy yerde ayaklarını sürür sürünür/emekler Koltuk değnekleri/kasnak/yürüme desteği ile yürür KAFO's/AFO's ile yürür bağımsız yürüme Yorum.....							
Test	Talimat	2	1	0	L B C	S=	Yorumlar S=Skor
1 Duvar/sandalye oturma Duvar kenarında veya duvar üzerinde/zemin üzerinde olabilir. En iyi gördüğünüzü kaydedin	3'e kadar sayıncaya kadar destek için ellerinizi kullanmadan duvar/sandalye üzerine oturabilir misiniz? (sırtınız desteksiz/ayak+/- destek)	3'e kadar veya daha fazla sayıncaya kadar hiç el desteği olmadan oturabilir.	3'e kadar satıncaya kadar dengeyi sağlamak için 1 el desteği gerekir.	Dengeyi sağlamak için iki el desteği gerekir. Oturulamaz.			Madde 1 Baskın spinal postür baskın bacak postürü
2 Uzun oturma bacaklar düz=dizler fonksiyona gelebilir, diz kapakları yukarı işaret eder, ayak bilekleri birbirinden <10cm uzak	3'e kadar satıncaya kadar zemin/duvar üzerinde destek için ellerinizi kullanmadan ve bacaklarınız düz olacak şekilde oturabilir misiniz?	3'e kadar sayıncaya kadar zemin/duvar üzerinde bacaklar düz olacak şekilde el desteği olmadan yürüyebilirler.	3'e sayıncaya kadar zemin/duvar üzerinde bacaklar düz olacak şekilde 1 elden destek alarak oturabilir.	3'e sayıncaya kadar iki eli kullanarak uzun oturabilir veya bacaklar düz bir şekilde oturamaz.			
3 Doğru dürüst oturmak için 1 el kulak seviyesinin üzerinde el başa dokunur	Boynunuzu bükmeden bir elinizi başınıza götürebilir misiniz?	Bir elini başına götürebilir. Baş ve gövde sabit kalır.	Sadece başını fleksiyona getirerek alını başına getirebilir.	Baş ve gövde hareketlerini kullansa bile elini başına getiremez.			Sağ/Sol
4 Doğru dürüst oturmak için ikinci el kulak seviyesinin üzerinde eller başa dokunur	Boynunuzu bükmeden her iki elinizi aynı anda başınıza kaldırabilir misiniz?	Kollar yanlardan ayrı olacak şekilde her iki elini başının üzerine yerleştirebilir. Baş ve gövde sabit kalır.	Ellerini başının üstüne yerleştirebilir fakat sadece başı fleksiyona getirerek veya yana eğilerek veya elleri yukarı sürerek veya bir tanesini bir	Her iki elini başının üstüne yeşeremez			
5 Supinden yan uzanma	Her iki yönde yan tarafınıza yuvarlanabilir misiniz?	Supin pozisyondan her iki öne	V yuvarlanmayı sadece tek yönde yapabilir	Her iki yönde yarım yuvarlanma yapamaz			Omuzlar yere dik

	Ellerinizi kullanmamama çalışın	yuvarlanma yapılabilir	Sağ/Sol			Gövde ve kalçalar vücut ile aynı hizada
6 Sağ tarafının üzerinde prondan supin pozisyona	Karnınızdan sırtınıza her iki yönde yuvarlanabilir misiniz?	Serbest kollar sağa doğru olacak şekilde supin pozisyona	İtip/Çekmek için kolları kullanarak supin pozisyona	Supin pozisyona dönemez		
7 Sol tarafın üzerinden prona		Serbest kollar sola doğru olacak şekilde supin pozisyona döner	İtip/Çekmek için kolları kullanarak supin pozisyona	Supin pozisyona dönemez		
8 Sağ tarafın üzerinde supinden pron pozisyona yuvarlanır	Her iki yönde sırtınızdan ön tarafınıza yuvarlanabilir misiniz?	Serbest kollar sağ tarafta olacak şekilde prona döner	Kollar üzerinde çekip/itererek prona döner	Prona dönemez		
9 Sol taraf üzerinde supinden prona yuvarlanır		Serbest kollar solda olacak şekilde prona döner.	Kollar üzerinde çekip/itererek prona döner	Prona dönemez		
10 Oturmadan uzanmaya	Kontrollü bir şekilde oturma pozistonundan oturma pozisyonuna geçebilir misiniz?	Yan yatma veya kıyafetleri kullanma yoluyla kontrollü bir şekilde uzanabilir.	Öne doğru çırpınarak ve yanlara yuvarlanarak uzanabilir.	Yapamaz veya düşer.		
11 Ön kol üzerinde destek alır	Ön kol üzerinde kendinizi destekleyebilir ve 3'e sayıncaya kadar bu şekilde	3'e sayıncaya kadar kafa yukarında dirsekler üzerinde destek sağlayabilir	Pozisyon verildiğinde bu pozisyonu 3'e sayıncaya kadar devam ettirir.	Yapamaz.		
12 Kafasını pron pozisyonundan kaldırır	Kollarınızı yanlarınızda tutarak başınız yukarda 3'e kadar sayıncaya kadar kendinizi kaldırabilir misiniz?	Kollar yanlarda 3'e kadar sayıncaya kadar pron pozisyonunda kafasını yukarı kaldırabilir	Kollar ön pozisyonda 3'e kadar sayıncaya kadar kafasını kaldırır	Yapamaz		
13 Uzanan kollar üzerinde destek alır	Düz kollarla 3'e kadar sayıncaya kadar kendinizi yukarı destekleyebilir misiniz?	3'e kadar sayıncaya kadar kafa yukarında uzanmış kollar üzerinde destek alabilir	Eğer yerleştirilirse 3'e kadar sayıncaya kadar uzanmış kollar üzerinde destek alabilir	Yapamaz		
14 Uzanmadan oturmaya	Karnınıza yuvarlanmadan uzanır pozisyonundan oturma	Yan uzanmayı kullanarak yapabilir	Pron pozisyonuna veya zemine doğru döner	Yapamaz		

	pozisyonuna geçebilir misiniz?						
15 Dört nokta diz çökme	Başınız yukarıda ve bunu 3'e sayıncaya kadar devam ettirerek elleriniz ve dizleriniz üzerinde durabilir misiniz?	Dört nokta diz çökmeyi elde eder 3'e kadar sayıncaya kadar baş yukarı	Pozisyon verildiğinde bu pozisyonu 3'e sayıncaya kadar devam ettirir	Yapamaz			
16 Emekleme	Öne doğru emekleyebilir misiniz?	Öne doğru emekleyebilir veya daha fazla kez 4 noktanın hepsini hareket ettirir	Dört noktanın hepsini sadece bir kez hareket ettirir	Yapamaz			
17 Başı supin pozisyonundan kaldırır	3'e sayıncaya kadar kollarınızı katlanmış tutarak ayak parmaklarınıza bakmak için başınızı kaldırabilir misiniz?	Supin pozisyonda baş orta hatta kaldırılmalıdır. Çene göğse doğru hareket eder. 3'e sayıncaya kadar devam	Baş kaldırılır fakat yan fleksiyon aracılığıyla veya boyun fleksiyonu olmadan 3'e sayıncaya kadar devam ettir.	Yapamaz			
18 Destekli ayakta durma	3'e sayıncaya kadar bir elinizi destek için kullanabilir misiniz?	3'e sayıncaya kadar bir eli kullanarak ayakta kalabilir	3'e sayıncaya kadar minimal gövde desteği ile (kalça değil) ayakta kalabilir	El desteği ile ayakta durabilir fakat 3'e sayıncaya kadar ek olarak düz/kalça desteğine gereksinimi vardır veya yapamaz			
19 Desteksiz ayakta kalabilir	3'e sayıncaya kadar herhangi bir şeyi tutmaya çalışmadan ayakta durabilir misiniz?	3'e kadar sayım süresinden sonra daha uzun süre bağımsız olarak ayakta durabilir	3'e sayıncaya kadar bağımsız olarak ayakta durabilir	Sadece bir an için ayakta durur (3'e kadar sayma süresinden daha kısa) veya yapamaz			
20 Adım atma	Herhangi bir yardım kullanmadan yürüebilir misiniz? Bana gösterin	Yardımsız olarak 4 adımdan fazla adım atabilir	Yardımsız olarak 2-4 adım atabilir	Yapamaz			
SKOR		2'lerin sayısı	1'lerin sayısı	0'ların sayısı	Toplam= /40		
Yorumlar							

NCR SMA için uzatılmış Hammersmith Fonksiyonel Motor Ölçeği (HFMS) eklenti modülü							
Test	Talimat	2	1	0	L B C	S	Yorumlar S=Skor
21 Supin pozisyonunda sağ kalça pozisyonu	Sağ dizinizi göğsünüze getirebilir misiniz?	Tam kalça fleksiyonu sağlandı.	Sağ kalça ve diz fleksiyonunu başlatır (mevcut hareket açıklığının %10'undan fazla)	Yapamaz			
22 Supin pozisyonunda sol kalça fleksiyonu	Sol dizinizi göğsünüze getirebilir misiniz?	Tam kalça fleksiyonu sağlandı	Sol kalça ve diz fleksiyonunu başlatır (hareket açıklığının %10'undan fazla)	Yapamaz			
23 Yüksek diz çökmeden sağ yarım diz çökmeye	Kollarınızı kullanmadan ayaklarınız yerde düz olacak şekilde sol bacağınızı yukarı getirebilir ve 10'a sayıncaya kadar bu şekilde kalabilir misiniz?	Geniş kollar için kullanılır, 102a sayıncaya kadar yarım diz çömelme pozisyonunda kollar serbest halde durur.	10'a sayıncaya kadar yarım diz çökme pozisyonunda kol desteği ile durur	Yapamaz			
24 Yüksek diz çökmeden sol yarım diz çökmeye	Kollarınızı kullanmadan ayaklarınız yerde düz olacak şekilde sağ bacağınızı yukarı getirebilir ve 10'a sayıncaya kadar bu şekilde kalabilir misiniz?	Geçiş için kollar kullanılır, 10'a sayıncaya kadar yarım diz çömelme pozisyonunda kollar serbest halde durur.	10'a sayıncaya kadar yarım diz çökme pozisyonunda kol desteği ile durur	Yapamaz			
25 Yüksek diz çökmeden sol bacağın öncülüğünde ayağa kalkma	Ellerinizi kullanmadan sol bacağınızla başlayarak bu pozisyondan ayağa kalkabilir misiniz? Gösterime ihtiyaç duyabilir	Kollar serbestken yapabilir	Her iki dizini değişimli olarak dinlendirebilir (kol desteği ile veya kol desteksiz)	Yapamaz			
26 Yüksek diz çökmeden sağ bacağın öncülüğünde ayağa kalkma	Ellerinizi kullanmadan sağ bacağınızla başlayarak bu pozisyondan ayağa kalkabilir misiniz? Gösterime ihtiyaç duyabilir	Kollar serbestken yapabilir	Her iki dizini değişimli olarak dinlendirebilir (kol desteği ile veya kol desteksiz)	Yapamaz			

27 Ayakta durmaktan oturmaya	Kontrollü bir şekilde yere oturabilir misiniz? Kollarınızı kullanmamaya çalışın	Kollar serbest olarak ve çömelmeden oturabilir	Yere oturur fakat kolları ve değnekleri kullanır	Yapamaz			
28 Çömelme	Çömelebilir misiniz? Çok alçak bir koltuğa oturacakmışınız gibi görünün	Kollar serbest olarak çömelir (kollar ve diz fleksiyonu en az 90 derece)	Çömelmeyi başlatır (&10'undan fazla) kol desteğini kullanır	Başlatamaz			
29 Öne doğru 12" zıplar	Her iki ayağınızla mümkün olduğunca uzağa bu çizgider diğer çizgiye zıplayabilir misiniz?	En az 12" zıplar, her iki ayak aynı anda	2-11" arası zıplar, her iki ayak aynı anda	Her iki ayak aynı anda zıplamayı başlatamaz			
30 Merdivenleri korkulukla çıkar	Merdivenleri çıkabilir misiniz? Bir korkuluk kullanabilirsiniz	Ayağını değiştirerek korkulukla 4 basamak çıkar	2-4 basamak çıkar, 1 korkuluk, herhangi bir patern	Bir korkulukla 2 basamak çıkamaz			
31 Merdivenleri korkulukla iner	Basamaklardan aşağı yürüebilir misiniz? Bir korkuluk kullanabilirsiniz	Ayağını değiştirerek korkulukla 4 basamak aşağı iner	2-4 basamak aşağı iner, 1 korkuluk, herhangi bir pater	Bir korkulukla 2 basamak inemez			
32 Merdivenleri korkuluksuz çıkar	Merdivenlerden çıkabilir misiniz? Bu sefer korkuluk kullanmamaya çalışın	Kollar serbest ayakları değiştirerek 4 basamak çıkar	Kollar serbest, herhangi bir paternde 2-4 basamak çıkar	Kollar serbestken 2 basamak çıkamaz			
33 Korkuluk olmadan basamakları iner	Basamaklardan aşağı yürüebilir misiniz? Bu sefer korkuluk kullanmamaya çalışın	Kollar serbest, ayağı değiştirerek 4 basamak iner	Kollar serbest herhangi bir paternde 2-4 basamak iner	Kollar serbestken 2 basamak inemez			
SKOR		2'lerin sayısı	1'lerin sayısı	0'ların sayısı			Toplam= /66