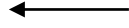


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

DOKTORA TEZİ

**“İDİYOPATİK İNTRAKRANİYAL HİPERTANSİYON (İİH)
HASTALIĞINDA ANTİNÖRONAL MEMBRAN
ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI”**

BERRAK YETİMLER

**DANIŞMAN
PROF. DR. ERDEM TÜZÜN**

**SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI
İLERİ NÖROLOJİK BİLİMLER DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İleri Nörolojik Bilimler Programında Doktora öğrencisi Berrak YETİMLER tarafından Prof. Dr. Erdem TÜZÜN'ün danışmanlığında hazırlanan "İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH) Hastalığında Antinöronal Membran Antikorlarının Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 15/04/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri-Danışman
Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
İstanbul Üniversitesi,
Aziz Sancar
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Sinirbilim Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Betül BAYKAN BAYKAL
İstanbul Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Nöroloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Maslak YILMAZ
İstanbul Üniversitesi,
Aziz Sancar
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü,
Sinirbilim Anabilim Dalı

Jüri

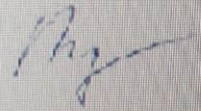
Doç. Dr. Erdiç DURSUN
İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Yasemin GÜRSOY ÖZDEMİR
Koç Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Nöroloji Anabilim Dalı

BEYAN

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



Berrak Yetimler

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 26443

Danışman hocam Prof. Dr. Erdem Tüzün'e doktora eğitimim boyunca bana kazandırdıkları, sabrı ve dostluğu için teşekkür eder ve aynı zamanda öğrencilerinin e-maillerine en hızlı yanıt veren danışman hoca olma ünvanı sebebiyle kendisini tebrik ederim.

İkinci danışmanın Doç. Dr. Cem İsmail Küçükali'ye yardımları ve bu çalışmanın koordinasyonundaki yoğun desteği için,

Prof. Dr. Betül Baykan'a çalışmanın klinik kısmındaki işbirliği, tam desteği ve anlayışı ile disiplinlerarası bir çalışma yapmanın ayrıcalığını olabilecek en keyifli şekilde yaşattığı için; Doç.Dr. Duygu Gezen Ak ve Doç. Dr. Erdinç Dursun ve sevgili ekibine, çalışmamın birçok ayağındaki laboratuvar çalışmaları, sağladıkları destek ve laboratuvarlarında kendi ortamında çalışıyor gibi rahat ve samimi hissetmemi sağladıkları için; Doç. Dr. Gürler Akpınar ve Murat Kasap'a GC-MS çalışmalarındaki destekleri ve bana öğrettikleri için; Dr. Özkan Özdemir'e biyoenformatik analizler konusundaki desteği için çok teşekkür ederim.

Special thanks to Dr. Lars Komorowski for all the help and collaboration. Thank you; Dr.Socrates and John Tzartos for all the help in validation studies.

Doç. Dr. Vuslat Yılmaz'a lab.da bana kattıkları ve tezimdiki içten destekleri için; doktora hayatım boyunca bana birçok şey katan, öğrettikleri ile yol aldığım tüm hocalarıma, eğitimim boyunca her an samimiyetle destek olan Doç. Dr. Nurcan Orhan'a çok teşekkür ederim. Klinik verilere ulaşmamı ve verilerin mantıklı bir şekilde nasıl kaydedilebileceğini öğrenmemi sağlayan Dr. Çağrı Ulukan'a güler yüzle ayırdığı bütün boş olmayan vakitleri ve emeği için çok teşekkür ederim. Olgulara ilişkin geçmiş dönemde yaptıkları çalışmaların verilerini benimle paylaşarak çalışma üzerinde birçok şey öğrenmemi sağlayan, fikir ve katkılarını benimle paylaşan Dr. Esme Ekizoğlu ve Güneş Altıokka-Uzun; çok teşekkürler.

Olgu örneklerinin toplanmasında ve örneklerle erişimimde bana her daim sabırla yardım eden Biyolog Sema İçöz'e, kesitlerin alınması sırasında sabırla ve inanılmaz bir titizlikle bana yardımcı olan Dr. Yıldız Tütüncü'ye ve aynı şekilde Biyolog Hatice Taşlı ve tüm BOS Patoloji Lab.1 çalışanlarına; beni birkaç kere hipoglisemiden kurtarmışlıkları için de teşekkürler. Dr. Sibel Yentür'e; İTF Nöroloji Bölümü 5.Kat hemşire ve personeline; klinik arşive ulaşmamda bana sabırla ve güler yüzle yardım eden sekreterimiz Kadir Ergin'e teşekkür ederim.

Bölüme girdiğim andan beri her projede sabırla ve dostluğuyla yanımda olan, lab. pratiği konusunda inanılmaz tecrübe edinmemi sağlayan Canan Ulusoy'a; lab.da beraber geçirdiğimiz tüm delirmeceli müzikli deney seansları için; Murat Giriş'e, bana deneyimi ve pratiğiyle birçok teknik öğrettiği, deneylerim esnasında yardımlarıyla beni stresten defalarca kurtardığı ve dostluğu için; Ece Erdağ'a deney sürecindeki bütün yardımları, öğrettikleri ve desteği için; Uğur Akcan'a sağladığı tüm desteği, öğrettikleri, trollükleri ve lab.da her türlü sorunuma sakinlik getiren çözümleri için,

Değerli lab. arkadaşlarım Ece Akbayır, Melis Şen, Hande Yüceer ve Elif Şanlı, Şenol Işıldak, Zerrin Karaaslan ve Deniz Kınık'a dostlukları, yardımları ve diğer projelerdeki yükümü hafifleterek tezimde bana her an destek oldukları için, gülümseyen bir çalışma ortamı yarattıkları için; sekreterlerimiz Çiğdem Aksu Karakaş ve Pınar Güngör'e bütün yardımları için teşekkürler.

Enstitümüzde günümü güzelleştiren insanlardan Gülce Özçit, Sercan Şeker ve Seda Büker ve Zeynep Küçük'e bütün destek ve muhabbetleri için; lab.ımızın eski müritleri; Arda Örcen, Nazlı Yalçinkaya, Melike Küçükerden ve Hazal Haytural'a dostlukları ve katkıları için; doktora yoldaşım Merve Savaş'a tüm yardımları ve dostluğu için,

Bütün DETAE halkına; hocalarım, personel, öğrenciler ve set ekibine,

Kendi sağlık dertleri arasında araştırma hakkında benden bir sürü şey dinlemeye zaman ayırıp çalışmaya katılmaya onay veren ve vermeyen tüm İİH hastalarına; çalışmaya katılmak için kendileri onay vermemiş olsalar da canlarını vermiş olan tüm hayvanlara,

Hane ahalisi; Sena Karahan ve Beril Özortakçı'ya dostlukları, sınırsız destekleri, sabırları ve tüm kahkahalar için,

Bu süreçte her türlü teknik, moral ve vitamin destek hattında 7/24 yer alan, moralimi her daim yüksek tutan dostlarım Erkin Tüzüner, Derya Çam, Levent Tarçın ve Funda Diken'e,

Bu süreçte nefes almayı unutmamamı, bedenimin ve nefesimin kıymetini hatırlamamı sağlayan Müge Değirmenci, Nazlı Uçar ve Deniz Şaraph. Teşekkürler.

Özgen Berkol Doğan Bilimkurgu Kütüphanesi'ne,

Özellikle de Kolombiya'da yetişmiş *Coffea arabica* bitkisi çekirdeklerine,

Doktora hayatım boyunca bilimin, bilim insanı olmanın ne olduğu ve ne olmadığı konusunda bana unutamayacağım katkılar sağlayan bütün deneyimlerime teşekkür ederim.

Beni her koşulda, her halimle seven, bana benden daha çok inanan ve eğitim hayatımı her daim destekleyen, yüzlerce kilometre öteden beni gülümseten ailem; annem Sibel, babam Erdi, ağabeyim Berk ve eşi Didem, okyanus ötesi desteğiyle dayım Ahmet Şatır ve rahmetli anneannem Sevinç Şatır. Umarım teşekkür borcumu size layığı ile ödeyebilirim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. BOS ve BOS Döngüsü.....	6
2.2. İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon.....	11
2.2.1. Epidemiyoloji.....	11
2.2.2. Klinik Bulgular	12
2.2.3. Risk Faktörleri.....	14
2.2.4. Tanı ve Tedavi	15
2.2.5. Patogeneze	17
2.2.5.1. Artmış BOS üretimi	18
2.2.5.2. BOS Geri Emilimindeki Bozukluklar	18
2.2.5.3. Transvers Venöz Sinüs Stenoze	18
2.2.5.4. Trombofilik Etkenler.....	18
2.2.5.5. Vitamin A Metabolizmasındaki Anormallikler	18
2.2.5.6. Obezite	19
2.2.5.7. Hormonlar	20
2.2.5.8. Akuaporinler	21
2.2.5.9. Na ⁺ /K ⁺ ATPaz (Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfataz) İyon Pompası ..	22
2.3. İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon'da İnflamasyon Bulguları.....	24
2.4. Antinöronal ve Antigial Membran Antikorları	26
2.4.1. Antigial Antikorlar.....	32

2.4.1.1. Anti-AQP4 Antikorları.....	32
2.4.1.2. Anti-MOG Antikorları	34
2.4.1.3. Anti-MBP Antikorları	34
2.4.1.4. Anti-GFAP Antikorları	35
2.4.1.5. Anti-AGNA (anti-SOX1) Antikorları	37
2.4.1.6. Anti-CRMP (CV2) Antikorları	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Olgu Alımı	39
3.2. Serum ve Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Örneklerinin Alınması	40
3.3. Deney Hayvanları	40
3.4. İmmünohistokimyasal Boyamalar	40
3.4.1. Perfüzyon	40
3.4.2. Beyin Kesitlerinin Elde Edilmesi.....	41
3.4.3. İmmünohistokimya	41
3.5. İmmünopresipitasyon.....	43
3.5.1. Nöroblastoma Kültürü.....	43
3.5.2. Hücre Lizatının Hazırlanması	43
3.5.3. Sefaroz Boncukların Hazırlanması	44
3.5.4. Pre-Clear Protokolü.....	44
3.5.5. İmmünopresipitasyon.....	44
3.6. Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (LC-MS) Çalışmaları.....	45
3.6.1. Proteinlerin Kütle Spektrometresi Analizine Hazırlanması.....	45
3.6.2. LC Parametreleri	45
3.6.3. Data-Bağımlı Veri Toplama.....	47
3.6.4. Peptit ve Protein Tanımlama.....	47
3.7. Hücre Bazlı Deneyler.....	48
4. BULGULAR.....	50
4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özetleri	50
4.2. Antinöronal Membran Antikoru Taraması Sonuçları	51
4.3. İmmünohistokimya	52
4.4. Hedef Proteinin Belirlenmesi.....	54
4.4.1. Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi (LC-MS).....	54
4.5. Validasyon Çalışmaları.....	58

4.5.1. Na ⁺ /K ⁺ ATPaz (Sodyum-Potasyum ATPaz) İyon Pompası İçin Validasyon Çalışmaları	58
4.5.2. Glial Fibriler Asidik Protein - Alfa (GFAP - α) İçin Validasyon Çalışmaları	58
4.5.2.1. Hücre Bazlı Testler ile Validasyon Çalışmaları.....	58
4.5.2.2. Ticari Beyin Kesitleri ile İmmünfloresan Çalışmaları	63
5. TARTIŞMA	65
KAYNAKLAR	71
HAM VERİLER	100
FORMLAR	101
ETİK KURUL KARARI	103
PATENT HAKKI İZNİ	106
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	107
ÖZGEÇMİŞ	108

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Modifiye edilmiş Dandy Kriterleri. (Friedman ve ark. 2013).....	15
Tablo 2-2: Nöronal hücre yüzey proteinleri ve sinaptik reseptörlere karşı antikorlar ile ilişkili oldukları sendromlar.....	29
Tablo 3-1: nHPLC’de analitik kolona uygulanan mobil fazların gradyanları	46
Tablo 4-1: Araştırmaya dahil edilen İİH olgularına ilişkin demografik ve klinik veriler.	51
Tablo 4-2: İmmünohistokimya çalışması yapılan İİH olgularına ait değerlendirmeler..	52
Tablo 4-3: LC-MS analizleri sonucunda hastalarda en yüksek oranda ortak olarak bulunan ancak negatif ve sağlıklı kontrollerde bulunmadığı belirlenen proteinler	55
Tablo 4-4: Hücre bazlı testlerde anti-GFAP- α IgG belirlenen olgulara ait klinik ve demografik bilgiler.	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: KBB ve KBOSB oluşturan morfolojik yapıların şematik gösterimi (Tumani ve ark. 2017).	8
Şekil 4-1: Sıçan beyni üzerinde 1:100 dilüe edilen 8 numaralı olgu serumu ile hipokampal CA bölgelerinde görülen boyanma paterni, 40 x objektif ile. (DAB; kahverengi renkte, hematoksilin; mor renkte)	53
Şekil 4-2: Sıçan beyni üzerinde 1:100 dilüe edilen 8 numaralı olgu serumu ile serebellar Purkinje hücrelerinde bölgelerinde görülen boyanma paterni	53
Şekil 4-3: 26 numaralı İİH olgusunun LC-MS analizine ait tüm iyon kromatogramı. ..	54
Şekil 4-4: 51 İİH numaralı olgusunun, atak döneminde alınmış serum örneği ile 1:800 dilüsyonda inkübe edilen HEK293 hücrelerindeki antikor reaksiyonu.	61
Şekil 4-5: Pozitif kontrol olarak kullanılan GFAP meningoensefalitli olgunun BOS örneği ile 1:4 dilüsyonda inkübe edilen HEK293 hücrelerindeki antikor reaksiyonu....	62
Şekil 4-6: 51 numaralı olgunun 1:10 oranında dilüe edilen serumu ile sekonder antikor olarak FITC konjuge antikor (yeşil) kullanılarak serebellum kesitleri ile yapılan immünfloresan teste ait iki farklı bölgeden (A ve B) elde edilmiş görüntüler	63
Şekil 4-7: 11 numaralı olgunun 1:10 oranında dilüe edilen serumu ile sekonder antikor olarak FITC konjuge antikor (yeşil) kullanılarak serebellum kesitleri ile yapılan immünfloresan teste ait iki farklı bölgeden (A ve B) elde edilmiş görüntüler..	64

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- 11 β -HSD1: 11-beta hidroksisteroid dehidrogenaz tip 1
- ADEM: Akut dissemine ensefalomyelit
- AMPA: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionik asit AMPA
- ANA: Antinökleer antikor (ANA)
- AQP: Akuaporin
- ATP1A3: Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfataz α -3 alt birimi
- BKİ: Beden kitle indeksi
- BOS: Beyin omurilik sıvısı
- °C: Santigrat derece
- cDNA: Komplementer DNA
- DAB: 3,3'-Diaminobenzidin)
- DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindole
- dH₂O: Distile su
- DM: Diabetes mellitus
- DNA: Deoksiribonökleik asit
- DPPX: Dipeptidyl aminopeptidase-like protein 6
- FASP: Filter Aided Sample Preparation
- FITC: Floresan izosiyanat
- GA: Görme alanı
- GABA: Gamaaminobütirik asit
- GFAP: Glial Fibriler Asidik Protein
- GFP: Green Fluorescent Protein
- HCD: Yüksek enerjili kollizyon ayırımı
- HEK293: İnsan Embriyonik Böbrek 293
- HPLC: High performance liquid chromatography
- IgG: İmmünoglobulin G
- IL: İnterlökin

İİFT: İndirekt immünfloresan testi

İİH: İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon

İKB: İntrakraniyal basınç

İP: İmmünopresipitasyon

KBB: Kan-Beyin Bariyeri

LC-MS: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

LGI: Anti-leucine-rich glioma inactivated-1

mGluR5: Metabotropik glutamat reseptörü 5

Miyelin Oligodendrosit Glikoprotein (MOG)

mmH₂O: Milimetre su

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MRV: Manyetik rezonans venografi

MS: Multipl skleroz

MSS: Merkezi sinir sistemi

Na⁺/K⁺ ATPaz: Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfataz

NMDAR: N-metil-D-aspartat tipi glutamat reseptörü

NMO: Nöromiyelitis optika

OKB: Oligoklonal bant

PBS: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi

PEI: Polietilenimin

PKOS: Polikistik over sendromu

PLL: Poli-L-Lizin

ROHHAD: Rapid-onset Obesity with Hypothalamic dysfunction, Hypoventilation, and Autonomic Dysregulation

VK: Vizyon kaybı

µl: Mikrolitre

ÖZET

Yetimler, B. (2019). İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH) Hastalığında Antinöronal Membran Antikorlarının Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH), sekonder sebeplerle açıklanamayan ve artmış kafa içi basıncı, baş ağrısı ve görsel bozukluklar gibi çeşitli özelliklerle kendini gösteren bir nörolojik sendromdur. Tipik hasta grubu, doğurganlık çağındaki aşırı kilolu kadınlardır. Günümüzde İİH patogenezi, net olarak anlaşılamamış durumdadır. Son yıllarda İİH etiyojisi üzerine yapılan araştırmalarda immünolojik faktörler, yeni bir ilgi odağı haline gelmektedir. Çeşitli nörolojik ve psikiyatrik sendrom ile ilişkilendirilen antinöronal membran antikorları, nöroimmünolojik çalışmalarda ilgi çekici bir alan oluşturmuştur. Antinöronal membran antikorlarının tanımlanması, tanı ve tedavide büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, İİH olgularında antinöronal membran antikorları taranarak, olgu serum ve BOS örneklerinin hedeflediği aday bir antijen belirlenmesi ve böylece bu sendromun patogenezi açıklayabilecek immünolojik bir mekanizma önerilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya 58 adet İİH olgusu dahil edilmiş; serum ve BOS örnekleri elde edilmiştir. Olgu serumları ile nöroblastoma hücrelerinde yapılan immünpresipitasyon çalışmalarıyla elde edilen antijen kompleksleri, Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (LC-MS) yöntemiyle analiz edilmiştir. Değerlendirmelerin sonucunda İİH olgu serumlarının hedeflediği aday antijenler olarak Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının alfa alt birimleri ve glial fibriler asidik protein (GFAP) belirlenmiştir. Yapılan doğrulama çalışmalarında olgu serum ve BOS'larında Na^+/K^+ ATPaz'ın alfa-3 alt birimine karşı antikor belirlenememiştir. GFAP için yapılan hücre bazlı testlerde ise 2 olgu serumunda GFAP antikor belirlenmiş; bir olgudaki GFAP antikor konsantrasyonu, atak döneminde remisyon dönemine kıyasla daha yüksek seviyede bulunmuş, BOS örneklerinde ise antikor belirlenememiştir. Bulgular, İİH ile ortak bazı semptomlara sahip bir astrositopati olan GFAP antikor ilişkili meningoensefalit tablosunun, İİH olgularında hafif bir formda seyrediyor olma ihtimalini önermektedir. Bununla birlikte bu bulguların netlik kazanması için daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon, Nöroimmünoloji, Antinöronal Membran Antikorları, Sodyum-Potasyum ATPaz, Glial fibriler asidik protein

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 26443

ABSTRACT

Yetimler, B. (2019). Investigation of Antineuronal Antibodies in Idiopathic Intracranial Hypertension (IIH). İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Neuroscience, Doctoral Thesis. İstanbul.

Idiopathic Intracranial Hypertension (IIH) is a neurological syndrome presented with features like increased intracranial pressure, headache and visual disturbances which cannot be explained by secondary causes. Typical patient group is overweight women in reproductive age. The pathogenesis of IIH is not clearly understood. Recently, immunological factors have become a new area of interest.

Various neurological and psychiatric syndromes have been associated with antineuronal membrane antibodies. Identification of these antibodies is very important in diagnosis and treatment.

In this study, we aimed to search for antineuronal membrane antibodies in IIH cases and to identify a target antigen in order to suggest inflammatory factors related to IIH pathogenesis.

58 IIH cases were included in the study and sera and CSF samples were obtained. Antigen complexes from sera were isolated by immunoprecipitation using neuroblastoma cells, then analyzed by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) method. Na⁺/K⁺ATPase ion pump alpha-3 subunit and glial fibrillary acidic protein (GFAP) were determined as candidate target antigens. IIFT tests were made for validation of Na⁺/K⁺ATPase alpha-3 subunit antibodies but the results were negative for both sera and CSF. Cell-based assays were used for GFAP antibodies and found positive in two patients. Concentration of GFAP antibody in one case's serum was higher during the attack period compared to serum obtained during remission. For all CSF samples, the results were negative. IIH and GFAP meningoencephalitis share some symptoms. Therefore we may suggest that IIH may represent a slight form of GFAP astrocytopathy. These results are needed to be clarified by further studies.

Key Words: Idiopathic Intracranial Hypertension, Neuroimmunology, Antineuronal membrane antibodies, Sodium-Potassium ATPase, Glial fibrillary acidic protein

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 26443

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH), diğer bir yaygın adıyla Psödotümör Serebri; artmış kafaiçi basıncı, baş ağrısı, görsel bozukluklar, papilödem, pulsatil tinnitus gibi semptomların görüldüğü ve intrakraniyal basınç artışını açıklayabilecek sekonder etkenlerin bulunmadığı bir nörolojik sendromdur. İİH, çocuk ve yaşlı popülasyonda da görülebilmekle birlikte, hasta popülasyonu dramatik bir çoğunlukla üreme çağındaki aşırı kilolu kadınlardan oluşmaktadır. (Thurtell ve Wall, 2013)

Günümüzde İİH tanısı, modifiye edilmiş Dandy kriterleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. İİH tanısı, temel olarak nörolojik değerlendirmenin sonucunda intrakraniyal basınca doğrudan neden olabilecek faktörlerin dışlanması yoluyla gerçekleştirilmektedir (Friedman ve ark. 2013).

İİH insidansı, yetişkinlerde 100,000 kişide 1-2 olarak değerlendirilmektedir ancak klinik değerlendirilmede papilödemsiz İİH gibi tanısı atlanabilen vakalar göz önüne alındığında, bu oranın daha yüksek olabileceği tahmin edilmektedir. İİH için tipik hasta grubu olan 18-45 yaş arasındaki obez kadın popülasyon ile sınırlandırıldığında ise tahmini olarak 100,000 kişide 12-32 gibi daha yüksek bir insidans kaydedilmiştir. Ancak İİH ile obez profilin bilinen ilişkisi değerlendirildiğinde ve dünya genelinde obezitenin hızlı bir artış gösterdiği düşünüldüğünde, bu oranlarda artış görülmesi beklenmektedir. (Raouf ve ark. 2011; Peng ve ark. 2012; Batra ve Sinclair, 2014; Kesler ve ark. 2014).

Tedavi, genel olarak intrakraniyal basınca bağlı olarak görme kaybı gelişiminin önlenmesi üzerinedir. Tedavide çoğunlukla bir karbonik anhidraz inhibitörü olan asetazolamid ve bazı durumlarda ek tedavi ajanları kullanılmaktadır. Obez hasta profili ile İİH arasındaki yakın ilişki nedeniyle, İİH hastaları semptomların iyileşmesi için tedavi amaçlı olarak kilo vermeye yönlendirilmektedir. İntrakraniyal basıncın uzun süreli ilaç tedavisine rağmen düzenlenemediği ve görsel semptomların kötüye gittiği durumlarda, hastalar optik sinir fenestrasyonu ve şant tedavisi gibi cerrahi tedavilere yönlendirilebilmektedir. Mevcut ilaç tedavilerine ve hatta cerrahi tedavi yöntemlerine rağmen bazı hastalarda semptomlar iyileşme göstermemektedir ve aynı zamanda nüks de görülebilmektedir (Kosmorsky, 2014; Kanagalingam ve Subramanian, 2018).

İİH, hastaların yaşadığı şiddetli baş ağrısı ve hastaların yaklaşık %25'inin intrakraniyal basınca bağlı olarak kalıcı görme kaybı yaşama riski altında olduğu göz önüne alındığında, bu sendromun hastalar için hayat kalitesini olumsuz yönde etkileyen bir tablo oluşturduğu dikkate alınmalıdır. (Daniels ve ark. 2007; Shah ve ark. 2008; Kosmorsky, 2014)

Günümüzde İİH, hala etyopatogenezi tam olarak anlaşılamamış bir hastalıktır. İİH'da görülen intrakraniyal basınç artışını açıklamak üzere uzun yıllardır anormal A vitamini metabolizması, beyin omurilik sıvısı (BOS) üretimi ve BOS geri emiliminde bozukluklar, obezite ve hormonal etkenler, trombofilik etkenler, akuaporinler gibi birçok olası etkenle ilişkili mekanizmalar önerilmiştir. Bununla beraber İİH sendromunun oluşumunu açıklayabilecek bir hipotez üzerinde henüz uzlaşma sağlanamamıştır. Ek olarak önerilen bu hipotezlerin, hastalığın ezici bir çoğunluk sergileyen obez ve üreme çağındaki kadın hasta seçimini açıklayabilecek kapsamda olması gerekliliğinin altı çizilmelidir (Dhungana ve ark. 2010; Batra ve Sinclair, 2014; Wakerley ve ark. 2015; Burkett ve Ailani, 2018).

Son zamanlarda ise İİH patogenezi üzerine yapılan çalışmalarda inflamatuvar etkenlerin etkisi yeni bir araştırma odağı haline gelmiştir. Hasta profilinin kadın olması ve obezitenin de inflamatuvar profile ilişkilendirilmesi ve bu anlamda elde edilen çeşitli bulgular, immünolojik çalışmaların İİH araştırmaları için önemli bulgular sağlayabileceğindüşündürmektedir (Lyon ve ark. 2003; Sinclair ve ark. 2008; Dhungana ve ark. 2009; Ball ve ark. 2009; Altıokka-Uzun ve ark. 2015; Altıokka-Uzun ve ark. 2017; Samancı ve ark. 2017).

Bazı çalışmalarda, İİH hastalarının BOS'larında inflamasyona ilişkin çeşitli biyobelirteçlere rastlanmıştır. Örnek olarak bir kemokin olan (C-C motif) ligand 2 (CCL2), kontrollere kıyasla İİH hastalarının BOS'larında anlamlı derecede daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur (Dhungana ve ark. 2009).

Nöroimmünolojinin özellikle son yıllarda birçok değerli bulgular sağlamış olan bir araştırma alanı, antinöronal membran antikorlarıdır. Çeşitli nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarda, pareneoplastik özellik gösteren veya göstermeyen birçok antinöronal ve antiglial antikor tanımlanmıştır. Bu antikorların tanımlanması ile birçok sendromun tanı ve tedavi sürecinde önemli gelişmelerin sağlanması mümkün olmaktadır. Bu anlamda

İİH olgularında antinöronal ve/veya antiglial antikorlarının varlığının veya yokluğunun tanımlanması önemli bir adım olacaktır (Dalmau ve ark. 2017).

Çalışma kohortumuzun küçük bir kısmı ile daha önce gerçekleştirilen antinöronal membran antikor taramasında, bazı olgu serumlarının kortikal ve nöronal hücre kültüründe yüzey antijenleri ile reaktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Altıokka-Uzun ve ark. 2017). Bu bulgular, İİH olgularında antinöronal membran antikorlarının varlığının etkili olabileceğini önermiştir. Araştırmamızda, İİH olgularında antinöronal antikorların varlığını ve olgu serumlarındaki antikorlar tarafından hedeflenen bu antinöronal membran antikorlarının tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla, literatürde antikor tanımlama çalışmalarında kullanılan ve güvenilir sonuçlar sağlayan yöntemler kullanılarak, İİH olguları serumlarından antinöronal membran antikorları ile ilişkili antijenlerin immünopresipitasyon yöntemi ile izole edilerek, Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) Çalışmaları ile tanımlanması amaçlanmıştır. Literatürde şu ana kadar İİH olgularında antinöronal membran antikorlarını tanımlayan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu anlamda bu araştırma bir ilk olması açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, antinöronal antikorların İİH hastalarında analitik yöntemlerle tanımlanması hedeflenmiştir. İİH olgularında antinöronal yüzey proteinlerini hedefleyen antikorların tespit edilmesi durumunda, idiyopatik olan bu sendromun patogenezi anlamak için değerli bulgular elde edilmesi amaçlanmıştır. Antikorların tespit edilmesi ve tanımlanması durumunda, İİH patogenezi için inflamatuvar bazı önermeler getirilebilecek ve bu sendrom için yeni tedavi seçeneklerinin gündeme gelmesi mümkün olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH), herhangi bir intrakraniyal patolojinin veya intrakraniyal hipertansiyona neden olabilecek sekonder sebeplerin görülmediği, artmış beyin omurilik sıvısı (BOS) basıncı ile karakterize nörolojik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Dhungana ve ark. 2010).

İİH için tipik hasta grubu, dramatik bir çoğunlukla doğurganlık çağındaki aşırı kilolu kadınlardır. İİH, aynı zamanda çocuklarda, erkeklerde ve daha yaşlı insanlarda da ortaya çıkabilmektedir (Thurtell ve Wall, 2013). Görülme sıklığının kadın:erkek oranının 8:1 olması nedeniyle, İİH cinsiyet organları ile ilişkili olmayan hastalıklar içerisinde en fazla asimetrik dağılım gösteren hastalıklardan biri olarak bilinmektedir (Kosmorsky, 2014; Daniels ve ark. 2007).

Yetişkinlerde İİH insidansı 100,000 kişide 1-2'dir (Raouf ve ark. 2011). Ancak bu oran, doğurganlık çağında (18-45 yaş) olan obez kadınlar grubu ile sınırlandırıldığında, tahmini olarak 100,000 kişide 12-32 gibi daha yüksek bir insidans göstermektedir (Kesler ve ark. 2014).

İİH hastalığında yaygın olarak görülen semptomlar arasında baş ağrısı, görme kaybı, pulsatil tinnitus ve sırt ile boyun ağrıları sayılabilir. Bununla birlikte klinikte hastalarda görülen semptomlar büyük bir çeşitlilik gösterebilmektedir ve bu nedenle tanı aşamasında gecikmelere neden olabilmektedir. İİH hastalığı etkin bir şekilde tedavi edilemezse, görme ile ilişkili ciddi morbiditelere yol açabilmektedir (Markey, 2016).

Günümüzde İİH tanısı için modifiye edilmiş Dandy kriterleri kullanılmaktadır. Bu kriterler içerisinde hastada artmış kafa içi basıncının olması, papilödemin tipik olarak gözlenmesi ve belirlenmiş sekonder bir etmenin olmaması sayılabilir (Friedman ve ark.2013). Bununla birlikte klinikte papilödem gözlenmeyen İİH hastalarına da (papilödemsiz İİH) rastlanmaktadır. Hastalarda görülen semptomlar, haftalardan birkaç aya kadar değişen bir süre içerisinde değişim gösterebilmekle birlikte ani başlangıçlı olarak da ortaya çıkabilmektedir (Cleves-Bayon, 2018).

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon için, psödötümör serebri veya benign intrakraniyal hipertansiyon tanımları da kullanılmaktadır. Ancak hastalık gidişatı her zaman “benign” bir seyir göstermemektedir ve hastada bir sekel oluşmaması için bazı

durumlarda zorlu bir hastalık yönetim sürecine ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca İİH'da her zaman için bir yalancı tümörün varlığından söz edilememektedir. Bu gibi nedenlerden dolayı klinisyenler tarafından hastalık için bu tanımlar yerine İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon tanımı güncel olarak tercih edilmektedir (Johnston, 2001).

2013'den itibaren, nörogörüntüleme teknolojisindeki ilerlemeler ve sekonder etkenlere bağlı hastalar gibi nedenler ile kapsayıcı bir terim olarak "psödotümör serebri sendromu" kullanılmaya başlanmıştır (Burkett ve Ailani, 2018). Bu sınıflandırma sistemine göre İİH; primer psödotümör serebri sendromu olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte çeşitli ilaçlara ya da tıbbi durumlara veya venöz sinüs trombozu gibi tanımlanabilir etkenlere bağlı olarak gelişen psödotümör serebri sendromu ise sekonder psödotümör serebri sendromu olarak adlandırılmaktadır (Friedman ve ark. 2013).

Baş ağrısı, İİH hastalarında en sık görülen semptom olup; hastaların %90-94'ü kliniğe geldiklerinde baş ağrısı yaşadıklarını ifade etmektedir (Francis ve Quiros, 2014). Hastaların yaşadıkları baş ağrıları ağır şiddette olabilmektedir ve bu durum sağlıkla ilişkili yaşam kalitesi (SİYK) ölçekleri ile elde edilen skorlara göre hayat kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Daniels ve ark. 2007).

Geçici görsel karartılar, pulsatil tinnitus, binoküler horizontal diplopi gibi diğer semptomlar da hastalar tarafından ifade edilen diğer semptomlar arasında yer almaktadır. Hastalarda görülen papilödem genellikle bilateral olmakla birlikte bazı durumlarda asimetric görünümde olabilmektedir (Kanagalingam ve Subramanian, 2018; Bidot ve ark. 2015).

Papilödeme bağlı olarak kalıcı görme kaybı, İİH hastalığı için en ciddi morbidite olarak kabul edilmektedir. İİH'da yaygın olarak görme alanındaki anormallikler olmaktadır ve bu anormallikler hastaların yaklaşık %50'sinde görülmektedir. Hastaların %25'ine kadar olan bir kısmında ise unilateral veya bilateral ciddi görme kayıpları oluşmaktadır (Shah ve ark. 2008; Kosmorsky, 2014).

Hastalığın tedavisi, temel olarak görmenin korunması ve görme kaybının engellenmesi ile baş ağrısı gibi semptomların kontrolüne dayanmaktadır (Kanagalingam ve Subramanian, 2018;). Hasta için uygulanan tedavi; semptomların, perimetri ile belirlenen görme kaybının şiddetine ve hastalık sürecine göre şekillenmektedir. Tanısal olarak gerçekleştirilen lomber ponksiyonlar sonrasında semptomlarda genellikle geçici bir hafifleme görülebilmektedir ancak bu durum çok nadiren kalıcı bir gerileme

sağlamaktadır. Uygulanan tedavi yöntemlerinden bağımsız olarak İİH, kronik bir hastalık olduğu için hastaların yakın takibi gereklidir (Thurtell ve Wall, 2013).

Günümüzde İİH için en etkin tedavi yöntemleri olarak hastanın kilo vermesi, karbonik anhidraz inhibitörleri (örn; asetazolamid) ve diüretikler kullanılmaktadır. Bazı durumlarda kısa süreli steroid tedavisine de başvurulabilmektedir. Bununla birlikte görsel kayıp bu tedavilere rağmen devam ediyorsa; bazı hastalara şant tedavisi, optik sinir kılıfı fenestrasyonu ve endovasküler tedaviler gibi cerrahi tedavi yöntemleri önerilebilmektedir. İİH açısından asemptomatik hastalarda ise tedaviye gerek duyulmamaktadır (Kosmorsky, 2014; Peng ve ark. 2012).

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon sendromunun patogenezi günümüzde hala net olarak bilinmemektedir. Hastalıkla ilişkili olarak BOS dinamiklerinde üretim/emilim dengesinin bozulduğu yönünde çeşitli teoriler sunulmuştur. Bu hasta grubunda BOS üretiminin aşırı olduğuna ilişkin bir kanıt bulunamamıştır (Wakerley ve ark. 2015). İİH patogenezi ile ilişkisi henüz anlaşılamayan BOS döngüsünün normal işleyişini daha iyi anlamak amacıyla günümüzde birçok araştırma yapılmaya devam etmektedir.

2.1. BOS ve BOS Döngüsü

Beyin yüzeyi, kafatası ve 3 tabakadan oluşan meninksler ile korunmaktadır. En dışta sert dura tabakası yer alırken onun altında ise araknoid ve pia tabakalarından oluşan “leptomeninks” yer almaktadır. Memeli merkezi sinir sistemi, beyin omurilik sıvısı (BOS) içerisinde yer almaktadır. BOS, temel olarak dolaşımdaki plazmadan sentezlenen kompleks bir sekresyon olup; beyin içerisindeki ventriküler bölgelerde (bağlantılı lateral, 3. ve 4.ventriküllere) ve beyin dışında ve spinal kordda yer alan ektraventriküler bölgelerde (genellikle BOS’un çoğunun yer aldığı subaraknoid boşluklarda) eşit olmayan bir biçimde dağılım göstermektedir (Davson ve Segal, 1996; Pizzo ve Thorne, 2017; Thorne, 2014).

Beyin omurilik sıvısı (BOS) renksiz ve berrak bir sıvıdır. Kandan elde edilen bir ultrafiltrat olup; temel olarak koroid pleksuslar tarafından üretilmektedir. Sinir sistemi içerisinde BOS’un birçok işlevi bulunmakta olup; bunlar arasında yapısal, hidrodinamik, metabolik ve immünolojik işlevler bulunmaktadır. BOS’un önemli bir işlevi ise mekanik korumadır. Başın hızlı ve sert hareketlerinde, hafif travmalar durumunda, kafatası ve beyin arasında çarpmaya karşı bir bariyer oluşturmaktadır.

Beyin omurilik sıvısı, aynı zamanda merkezi sinir sisteminde (MSS) elektrolit dengesini ve sistemik asit-baz dengesini sağlayarak homeostazın devamına yardımcı olmaktadır. Diğer önemli işlevleri arasında; nöron ve glial hücrelerin ihtiyaç duyduğu besin maddelerinin taşınması için bir ortam oluşturmak, MSS içerisinde hücrel metabolizma sonucu oluşan atık maddelerin uzaklaştırılması için bir lenfatik sistem oluşturmak ve hormonların, nörotransmitterlerin, salgılatıcı faktörlerin ve diğer nöropeptitlerin MSS boyunca iletiminin sağlanması yer almaktadır (Tumani ve ark. 2017; Brinker ve ark. 2014).

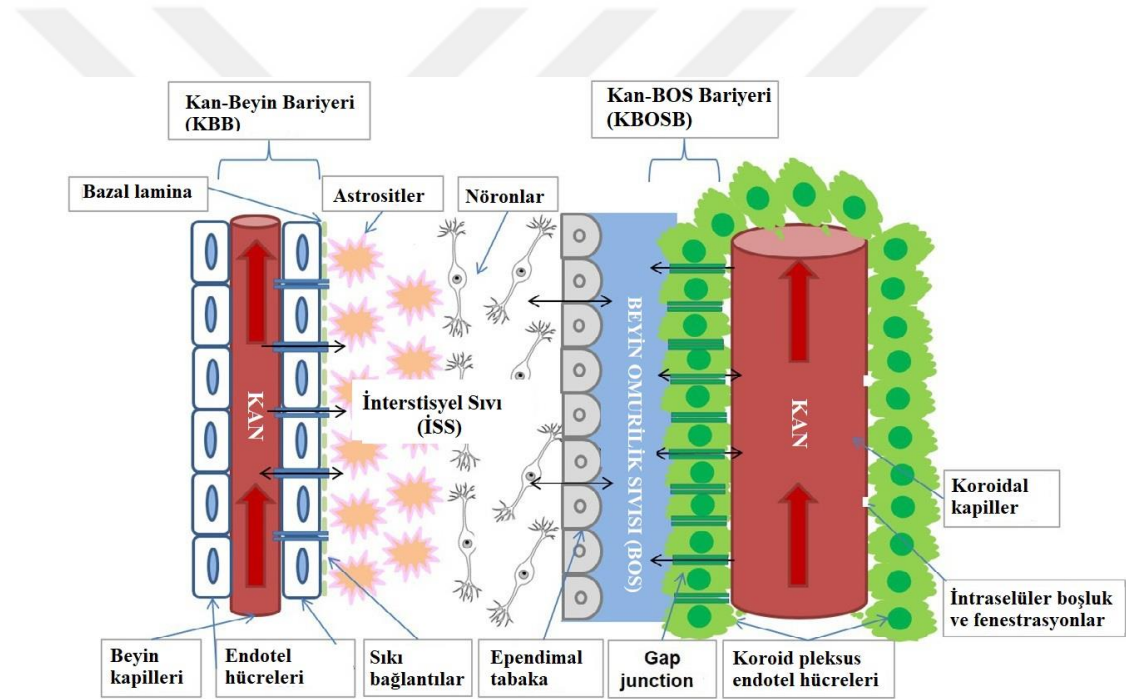
İnsan sinir sisteminde yaklaşık olarak 140 ml BOS bulunmaktadır. Beyin omurilik sıvısı, 4.ventrikülleri (20 ml), spinal subaraknoid boşluğu (30 ml) ve kranial subaraknoid boşluğu (90 ml) doldurmaktadır. BOS üretimi ve kana absorpsiyonu döngüsü günde 4-5 kere tekrarlanmaktadır (Oldendorf, 1972; Pardridge, 2011). Beyin-omurilik sıvısı, koroid pleksus epiteli tarafından sentezlenmektedir (Praetorius ve Nielsen, 2006) ve daha sonra lateral ventriküllerden geçerek üçüncü ve dördüncü ventriküllere geçmektedir, buradan kranial ve subaraknoid boşluklara devam ederek son olarak araknoid villusların etrafındaki periferik kan dolaşımının superior sagittal sinusları içerisine absorbe edilmektedir (Stiebel-Kalish ve ark. 2013).

Nöron ve glialar arasında yer alan 40-60 nm genişliğindeki dar ekstraselüler boşluk ise interstisyel sıvı (İSS) ile doludur. Beyinde yer alan interstisyel sıvı, sistemik kan dolaşımından etkin bir biçimde ayrı tutulmaktadır. İSS sıklıkla BOS ile bileşim açısından benzer olarak değerlendirilse de; bu durum ancak beyinde ventriküler ve beyin/spinal kord yüzeyi arayüzleri için doğrudur. Bunun nedeni; hem difüzyon oranının bu arayüzlerden uzaklaştıkça azalması, hem de hücreler aracılığıyla ve diğer bazı ekstraselüler boşluk bileşenleri ile taşınan çeşitli moleküllerin, göreceli olarak hücre bulundurmayan BOS ile karşılıklı değişiminin mümkün olmamasıdır (Syková ve Nicholson, 2008; Thorne ve Nicholson, 2006; Wolak ve Thorne, 2013).

Beyin bariyerini oluşturan üç temel bariyer sistemi bulunmaktadır: Bunlar; Kan-Beyin Bariyeri (KBB), kan-BOS bariyeri (KBOSB) ve dış beyin bariyeridir (DBB). Sirkumventriküler organlar ise üçüncü ve dördüncü ventriküller etrafında yer almaktadır ve özel endotelial hücreler ile çevrili olup, KBOSB için istisnai bir durum oluşturmaktadır. Bu organlar beyin bariyerinin kapsamı dışında yer almaktadır (Jimenez ve ark. 2014; Siso ve ark. 2010; Nakada ve Kwee, 2018; Langlet ve ark. 2013).

BOS kompartmanı, vasküler sistemden kan-BOS bariyeri ile ayrılmaktadır. Beyindeki homeostazdan sorumlu bir yapı olan kan-beyin bariyeri ise beyin parankimi ve vasküler sistem arasında yer almaktadır (Tumani ve ark. 2017). Kan-BOS bariyerini oluşturan temel yapı, koroid pleksus epitelidir. Normal kılcıl damarlarda olduğu gibi, koroid pleksusta yer alan kılcıl damarlar da fenestrasyonlu yapıdadır. Bununla birlikte koroid pleksus epitelinin apikal uçları, sıkı bağlantılar ile sağlam bir biçimde kaplanmış durumdadır (Lippoldt ve ark. 2000).

Bu sayede BOS'a koroid pleksus üzerinden serbest difüzyonun gerçekleşmesi önlenmektedir (Nakada ve Kwee, 2018). Kan-BOS ve Kan-Beyin bariyerini oluşturan yapılar Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2-1: KBB ve KBOSB oluşturan morfolojik yapıların şematik gösterimi (Tumani ve ark. 2017'den uyarlanmıştır.).

Beyinde nöronlar ve gliaların homeostazı için son derecede hassas bir mikroçevreye ihtiyaç duyulmaktadır. Nöronal mikroçevrenin kan dolaşımından etkin bir şekilde ayrı tutularak, aynı zamanda gerekli olan gazların, besin maddelerinin ve metabolizma sonucu oluşan atık moleküllerin ve hücre artıklarının etkin bir şekilde karşılıklı değişiminin sağlanabilmesi gerekmektedir. Beyinde bu durum, kritik ara

yüzler arasında dinamik bir değişimin gerçekleşmesine olanak sağlayan bölmelenmeler ile sağlanmaktadır (Abbott ve ark. 2018).

Beyin omurilik sıvısı (BOS), beyindeki birçok nörolojik hastalığın anlaşılabilmesine olanak sağlamaktadır ve bu nedenle örneklenmesi tanısal ve tedavisel açıdan temel öneme sahiptir. Bu hastalıklar arasında inflamasyon, enfeksiyon veya immünolojik kökenli diğer hastalıklar sayılabilir. İnterstisyel sıvı ve BOS'un ventiküllerin ependimal hattı boyunca sürekliliği sayesinde BOS patolojik süreçleri yansıtan bir örnek oluşturmaktadır. İSS ve BOS, enerji gerektiren mekanizmalarla aktif olarak sentezlenmektedir. Temel olarak koroid pleksusta yer alan epitel hücreleri BOS üretirken; kılcal damarlar ve hücresel metabolizma ile ise İSS üretilmektedir. Sürekli olarak gerçekleşen BOS ve İSS sıvılarının üretim süreçlerinin her ikisinde de sodyum-potasyum ATPaz elektrolit pompaları görev almaktadır. BOS'un değerlendirilmesi ile klinisyenlerin hastada görülen moleküler ve fizyolojik olayları anlaması mümkün olabilmektedir (Rosenberg, 2017).

Hassas bir yapıda olan beyinin dışta yer alan tabakalar sayesinde korunmasının yanı sıra; kan dolaşımında yer alan hücrelerden, proteinlerden ve aynı zamanda toksik elektrolit seviyelerinden uzak tutulması gerekmektedir. Bu nedenle kan dolaşımının BOS ve İSS'ye karışmaması çok önemlidir. Çeşitli çoklu katmanlar sayesinde, beyindeki stabil iç ortam korunarak hücrelerin normal işlevlerine devam edebilmesi mümkün olabilmektedir. Bu korumayı sağlayan ilk tabaka, sıkı bağlantılar ile bir arada tutulan endotelial hücrelerdir (Hawkins ve Davis, 2005).

Beyinde BOS/İSS arasındaki bir diğer önemli arayüz de koroid pleksuslarda yer almaktadır. Son olarak, kan beyin bariyerindeki (KBB) bir diğer bölge ise subaraknoid boşlukta yer alan araknoid villus hücreleridir. Bu hücreler, BOS/İSS içeriğini kana transfer etmektedir. Bütün bu ara yüzlerin ortak özelliği, birbirlerine sıkı bağlantılar ile bağlanmış olmalarıdır. Rosenberg, 2017).

Beyinde yer alan bu özel ara yüzler sayesinde, beyinde immünolojik reaksiyonlar oldukça kısıtlı bir biçimde gerçekleşmektedir. Bu nedenle beyin, "immünolojik olarak ayrıcalıklı" bir bölge olarak kabul edilmektedir (Barker ve Billingham; 1977). Her bir ara yüzde yer alan sıkı bağlantılar, kandaki hücrelerin girişini ve aynı zamanda elektrolit seviyelerinde dalgalanmaların oluşumunu engellemektedir. Beyinde metabolik ürünlerin uzaklaştırılması ve besin maddelerinin

taşınması gibi fonksiyonları gerçekleştirebilecek gerçek bir lenfatik sistem bulunmamaktadır. BOS ve İSS ise lenfatik işlevleri yerine getirdikleri için “üçüncü sirkülasyon” olarak adlandırılmaktadırlar. Bütün bu kompleks ara yüz sistemleri, beyinde lenfatik dolaşımı oluşturarak hücreler arasında ve perivasküler boşluk boyunca moleküllerin taşınmasını sağlamaktadır. (Cushing, 1925; Milhorat, 1975).

Normalde, BOS üretiminin ve absorpsiyonunun dengeli bir biçimde gerçekleştiği kabul edilmektedir. Yetişkinler için toplam BOS hacmi, spinal kanalda 100ml’ye kadar yer almak üzere toplam 90 ila 200 ml arasındadır (McComb, 1983; Brinker ve ark. 2014; Edsbacke ve ark. 2011).

BOS döngüsünün bozulduğu durumlarda, sıvı üretimi ve emilimi dengesi bozulmaktadır. Örnek olarak; koroid pleksusta yer alan bir papillom sonucunda BOS üretimi artış gösterebilirken, ventriküler sistem içerisinde veya subaraknoid boşlukta BOS akışının obstrüksiyonu sonucunda BOS emiliminin azalması ile hidrosefali gerçekleşebilmektedir (Milhorat, 1975; Leinonen ve ark. 2017).

İnsan vücudunda yer alan birçok organda, kan perfüzyonu için çevresel basınç ya düşüktür ya da atmosferik basınç ile ilişkilidir. Ancak sert bir yapı olan kafatası ile çevrelenen ve korunan beyin için bu durum farklılık göstermektedir. İntrakraniyal basınçtaki (İKB) bir artış, kan akışını engelleyerek iskemiye neden olabilmektedir. İntrakraniyal basınç ise; serebral kandan (diğer bir deyişle İKB’nin vasküler bileşeni) ve BOS’un sirkülasyonundan (BOS sirkülasyonu bileşeni) ile oluşmaktadır (Kasprowicz ve ark. 2016).

BOS basıncında oluşan anormalliklere klinikte sıklıkla rastlanabilmektedir. Bu anormallikler sonucunda en belirgini baş ağrısı olmak üzere bir dizi semptom ortaya çıkabilmektedir. BOS basıncındaki değişikliklere bağlı olarak gerçekleşen klinik tablolar, büyük çeşitlilik göstermektedir. Bu değişimlere bağlı olarak gerçekleşen baş ağrısı ise birçok primer baş ağrısı sendromuna önemli derecede benzerlik gösterebilmektedir. BOS basıncındaki artış, primer veya sekonder nedenlere bağlı olabilmektedir. Bununla birlikte, BOS basıncında patolojik seviyelerde gerçekleşen düşüş, genellikle meninjiyal bir yırtılma sonucu BOS’un sızıntısı ile gerçekleşmektedir (Hoffmann, 2017).

BOS üretimi ve hidrodinamiği üzerine kabul edilen geleneksel hipotezlere göre BOS, koroid pleksuslar tarafından sentezlendikten sonra ventriküler boşluklara geçerek

subaraknoid boşluğa ulaşarak son olarak araknoid villuslar boyunca venöz sinüslere absorbe edilmektedir (Dandy, 1919). Bununla birlikte daha sonra yapılan birçok çalışmada, koroid pleksusların BOS sentezinin ana kaynağı olmadığını gösteren, BOS fizyolojisi üzerine yeni görüşler elde edilmiştir (Flexner ve Winters, 1932; Hammock ve Milhorat, 1973; Orešković ve ark. 2001; Klarica ve ark. 2009). Bu araştırmalar, BOS dinamiği üzerine klasik görüş ile farklılık gösteren yeni sonuçlar sağlamıştır (Chikly ve Quaghebeur, 2013).

BOS dinamiğinin incelenmesi üzerine floresan işaretli moleküller ile gerçekleştirdikleri in vivo deneyler sonucunda Iliff ve arkadaşları, “glenfatik sistem” (glia + lenfatik sistem) adını verdikleri oldukça önemli bir hipotez ortaya koymuşlardır. Araştırmalarının sonuçları, beyindeki klirens sistemi hakkında yeni bulgular sağlamıştır. Bulgulara göre BOS sirkülasyonu, merkezi sinir sistemi dahilinde beyin içerisinde ve dışarısında yer alan bütün kan damarları boyunca paravasküler bir sistemle gerçekleşmektedir (Iliff ve ark. 2012). Günümüzde BOS fizyolojisine ilişkin araştırmalar ve hipotezlere gün geçtikçe yenileri eklenmektedir. Bu yeni hipotezler, MSS hidrodinamiğinin ve bununla ilişkili patolojilerin anlaşılması için değerli katkılar sağlamaktadır (Abbott ve ark. 2018).

2.2. İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon

2.2.1. Epidemiyoloji

İİH hastalığının insidansı, ülkeden ülkeye göre değişiklik gösterebilmektedir. Örnek olarak ABD’de yıllık insidans oranı, genel nüfusta 100.000 kişide 0.90–1.07 (Durcan ve ark. 1988); 15-44 yaş arası kadınlarda ise 3.3/100,000 oranındadır (Radhakrishnan ve ark. 1993). 20-44 yaş arası olan ve ideal kilosunun %20 ve üzerindeki kadınlarda ise bu oran 19.3’e çıkmaktadır (Durcan ve ark. 1988). ABD’de yapılan başka bir çalışmaya göre ise toplum genelinde İİH prevalans oranı tahmini olarak 8.6 vaka olarak kaydedilmiştir (Friesner ve ark. 2011).

Japonya’da gerçekleştirilen bir çalışmada ise, 100.000 kişide 0.03 vaka gibi düşük bir yıllık insidans oranı kaydedilmiştir (Yabe ve ark. 2000). Buna karşılık Libya’da ise genel popülasyonda yıllık insidans oranı 100.000 kişide 2.2 vaka olarak belirtilmiştir (Radhakrishnan ve ark. 1993).

Daha düşük bir oranda olmakla birlikte, erkek, çocuk ve yaşlı hastalarda da İİH görülebilmektedir. Pediatrik bir grup İİH hastasında yapılan çalışmada, çocuklarda İİH'nin nadir olduğu kaydedilmiştir. Aynı zamanda ergenlik öncesindeki İİH hastaları için bir cinsiyet etkisi görülmemiştir ve obezitenin bu grupta yüksek bir oranda olmadığı belirtilmiştir (Cinciripini ve ark. 1999).

Yetişkin İİH hastaları arasındaki erkek hasta oranı %10'dan daha düşüktür. Kadınlarda olduğu gibi, erkek İİH hastaları da genellikle obezdir (Chen ve Wall, 2014). Bununla birlikte, erkeklerde görsel semptomların daha kötü seyir gösterdiği ve ağır derecede görme kaybı oluşma riskinin kadınlara kıyasla yaklaşık iki kat daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Bruce ve ark. 2009).

Kadın cinsiyeti ve obezitenin hastalıkla yüksek derecede ilişkisi bulunmaktadır. İİH, düşük bir insidansa sahip olmasına rağmen, son zamanlarda yapılan araştırmaların sonuçları, İİH hastası sayısının giderek arttığını göstermektedir. Bu durumun, dünya genelinde obezite oranının giderek artmakta olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Örnek olarak, ABD'de 1990 yılında toplumdaki obezite oranı %11.6 iken bu oran 2014 yılında %33.9'a kadar yükselmiştir. (Batra ve Sinclair, 2014; WHO, 2013).

İİH ile ilgili epidemiyolojik oranlar, özellikle papilödemli İİH hastaları gibi klinikte tanı konulamamış hastaların bulunma olasılığından dolayı gerçekte daha yüksek olabilir. Bu olasılıklar değerlendirildiğinde, gerçek İİH prevalansının obez kadınlar arasında daha yüksek olmak üzere toplum genelinde 10.000 kişide 1 kadar yüksek olabileceği önerilmektedir (Peng ve ark. 2012).

2.2.2. Klinik Bulgular

İdiyopatik intrakraniyal hipertansiyon, birçok hastada şiddetli baş ağrısı, görsel bozukluklar ve bilateral papilödemle birlikte ortaya çıkmaktadır (Mollan ve ark. 2014)

Tanı konulma esnasında hastaların yaklaşık %93'ünde baş ağrısı şikayeti görülmektedir. Baş ağrısı ise genellikle sürekli veya her gün ya da neredeyse her gün olabilmektedir (Craig ve ark. 2001; Yri ve ark. 2012).

İİH hastalarında görülen baş ağrısının karakteristik bir özelliği bulunmamaktadır ve diğer baş ağrısı türlerine benzerlik gösterebilmektedir. Baş ağrısı; kronik migren, kronik gerilim tipi baş ağrısını veya her ikisini birden taklit edebilmektedir. Bu hasta

grubunda görülen baş ağrısı, fokal olmaktan ziyade genellikle yaygın özellik göstermektedir. Aynı zamanda baş ağrısına pulsatil özellikler de eşlik etmektedir (Jensen ve ark. 2016).

Artmış intrakraniyal basınca bağlı diğer baş ağrılarında olduğu gibi, İİH hastalarında da baş ağrısı hastalarda uyanma sonrasında daha kötü olabilmektedir. Aynı zamanda Valsalva manevrası ile de ağrı artmaktadır (Kosmorsky, 2014). Baş ağrısı oldukça şiddetli olabilmektedir ve bu durum, Sağlıkla İlişkili Yaşam Kalitesi ölçeklerinden elde edilen skorlara göre hastaların hayat kalitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Daniels ve ark. 2007). Bununla birlikte, hastaların yaklaşık %10'unda ise, baş ağrısı yönünden hiçbir semptom görülmemektedir (Weig, 2002).

İİH hastalarında, görsel bozukluklara sıklıkla rastlanmaktadır. Bunlar arasında; görme keskinliğinde azalma, görsel alanda kayıplar ve fotopsi yer almaktadır. Sıklıkla kör noktada büyüme ve/veya kısmi inferior arkuat defekte de rastlanmaktadır (Pollak ve ark. 2013; Keltner ve ark. 2014).

İİH hastalarının % 40-95'inde papilödeme (optik diskte şişme) rastlanmaktadır (Digre ve ark. 2009, Mathew ve ark. 1996; Degnan ve Levy, 2011). Papilödemi olan hastalar, genellikle geçici görsel karartılar yaşamaktadır. Bu durum, papilödemnin neden olduğu artmış optik sinir basıncı, retinal iskemi veya optik sinirde geçici iskemi kaynaklı olabilmektedir (Jensen ve ark. 2016). Papilödem, asimetrik veya tek taraflı olabilmektedir (Maxner ve ark. 1987; Wall ve White, 1998). Ancak papilödem seviyesi, baş ağrısı sıklığı veya yoğunluğu ile bir korelasyon göstermemektedir (Digre ve ark. 2009).

Papilödem, İİH için karakteristik semptomlardan birisi olarak kabul edilse de; papilödemsiz İİH hastaları da bulunmaktadır (Marcelis ve Silberstein, 1991; Wang ve ark. 1998). Bu tür vakalarda, İİH, diğer kronik baş ağrılarından tanısal açıdan zorlukla ayırt edilebilmektedir (Dhungana ve ark. 2010).

İİH hastalarında tek taraflı veya çift taraflı 6.kraniyal sinir felcine bağlı olarak horizontal diplopi de görülebilmektedir, bu durumun nedeni ise tam olarak bilinmemektedir (Hoffmann, 2017; Ducros ve Biousse, 2015).

Pulsatil tinnitus da İİH hastalarından yaygın olarak görülmektedir. Ses genellikle tek taraflı olmaktadır (Giuseffi ve ark. 1991; Wall, 2010). İİH ile ilişkili yaygın olarak

görülen diğer semptomlar arasında; baş dönmesi, bulantı ve kusma sayılabilir (Dhungana ve ark. 2010).

İİH hastalarında, koku ile ilişkili bozukluklar da yaygın olarak görülebilmektedir. Bu durum araştırmalarda uzun zamandır ihmal edilmiş olmakla birlikte, klinik ve klinik öncesi olarak hiposmi İİH hastalarını %80'e varan bir oranda etkileyebilmektedir (Kunte ve ark 2013).

Yapılan bazı çalışmalarda, kognitif açıdan da İİH hastalarında anlamlı derecede bozukluklar olduğu gösterilmiştir. Bu bozukluklar özellikle sözel testler ve hafıza ile ilişkili olarak gösterilmiştir (Yri ve ark. 2014).

2.2.3. Risk Faktörleri

İİH hastalarında yüksek oranda obezite görülmesi nedeniyle, kilonun hastalık süreci ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, beden kitle indeksi (BKİ) ve İİH riski arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; BKİ arttıkça, İİH için risk de artmaktadır. Aynı zamanda, obez olmayan hastalarda düşük oranlarda (%5-15) kilo alımının dahi İİH gelişimi için daha yüksek riskle ilişkili olduğu kaydedilmiştir (Daniels ve ark. 2007).

İİH hastalarının yaklaşık %90'ından fazlasının kadın olması nedeniyle cinsiyetin de İİH için temel risk faktörlerinden biri olduğu söylenebilir. Günümüzde hasta profilindeki bu cinsiyet baskınlığının nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak bu baskınlık, kadınlarda ergenlik öncesinde kendisini göstermemektedir. Bu durum, hastalığın patofizyolojisinde hormonların rol oynadığını düşündürmektedir (Cinciripini ve ark. 1999). Aynı zamanda, adipoz doku ve obezite de cinsiyet hormonları üzerinde etkili olduğundan, hormonların hastalıkla ilişkisi muhtemel bir olasılık olarak değerlendirilmektedir ancak bu konuda yapılan çalışmalar kesin bir sonuç sağlayamamıştır (Chen ve Wall, 2014; Samancı ve ark. 2017).

Polikistik over sendromu (PKOS) gibi çeşitli hastalıkların da İİH için bir risk faktörü olabileceği önerilmekle birlikte; bu hastalıkların kendisinin mi, yoksa ilişkili olduğu obezitenin mi esas risk faktörünü oluşturduğu konusu tartışmalıdır (Cosar ve ark. 2008).

A vitamininin hipervitaminozunun ve çeşitli vitamin A türevlerinin İİH için bir risk faktörü olduğu uzun süredir bilinmektedir (Rodahl ve Moore, 1943; Libien ve

Blaner, 2007). Tetrasiklinler (doksisisiklin vb.) gibi çeşitli ilaçların kullanımı da İİH sendromunun gelişimi için risk faktörleri arasındadır (Friedman ve ark. 2004).

2.2.4. Tanı ve Tedavi

İİH tanısı, genellikle hastanın hikâyesi ve oftalmolojik bulgulara dayanarak yapılmaktadır. Ancak özellikle de venöz sinüs trombozu olmak üzere artmış kafa içi basıncına neden olabilecek diğer etkenlerin dışlanması gerekmektedir. Bu nedenle, tanısal lomber ponksiyon ile BOS basıncının değerlendirilmesi öncesinde nöroradyolojik değerlendirmenin yapılması zorunludur (Wakerley ve ark. 2015).

İİH tanısı için modifiye edilmiş Dandy kriterleri kullanılmaktadır (Dandy, 1937; Friedman ve ark. 2013). Modifiye edilmiş Dandy kriterleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (Friedman ve ark. 2013).

Tablo 2-1: Modifiye edilmiş Dandy Kriterleri. (Friedman ve ark. 2013)

İİH Tanısı İçin Gerekli Kriterler:

A. Papilödem

B. Kraniyal sinir anormallikleri haricinde normal nörolojik muayene bulguları

C. Nörogörüntüleme: MRG'de hidrosefali, kitle veya yapısal lezyonlar ve anormal meninjiyal kontraslanmanın görülmediği normal beyin parenkimi

D. Normal BOS biyokimyası

E. Yüksek BOS açılış basıncı: Erişkinler için > 250 mmSu, çocuklarda > 280mmSu, çocuk obez-sedatize değilse > 250 mmSu

Papilödemsiz İİH Tanısı İçin Gerekli Kriterler:

Papilödem görülmediğinde, İİH tanısı B-E kriterleri sağlanıyorsa ve tek ya da çift taraflı abduzens felci ile tanı konulabilir.

Papilödem veya 6.sinir felcinin olmaması durumunda İİH tanısı yapılabilmesi için:

B-E kriterleri ve aşağıdaki nörogörüntüleme kriterlerinden en az üçü sağlanmış olmalıdır:

1. Boş sella
2. Globe posteriorunda düzleşme olması
3. Perioptik subaraknoid boşlukta şişkinlik (optik sinir kıvrımlanması var veya yok.)
4. Transvers venöz sinüs stenozu.

Hasta eğer A – E maddelerindeki bütün kriterleri sağlamakta ise kesin İİH tanısı almaktadır. Papilödem olmayan olgularda ise B-E arası kriterlerin sağlanıyor olması ve buna ek olarak da tek veya çift taraflı abducens siniri felcinin bulunması, papilödemsiz İİH tanısı için gereklidir. Eğer hasta A-D arasındaki kriterlere uyuyorsa tanı muhtemel İİH olarak değerlendirilmektedir (Friedman, 2013)

İİH için hastalık yönetimi ve tedavi biçimleri olarak, hastanın kilo vermesi, ilaç tedavileri ve cerrahi yöntemler olarak özetlenebilir (Kanagalingam ve Subramanian, 2018).

İİH ve obezite arasındaki kuvvetli bağlantı göz önüne alındığında, İİH tedavi sürecinin en önemli aşamalarından birini kilo kaybı oluşturmaktadır. Toplam vücut ağırlığının %5-10'luk bir kaybının dahi papilödem ve semptomların kontrolünde etkili olduğu kaydedilmiştir (Wong ve ark. 2017).

Morbid obeziteye sahip ve görme kaybının hızla gerçekleştiği hastalarda, diyet ve diğer tedavi yöntemleri işe yaramadığında bariatrik cerrahi ile tedavi uygulanabilmektedir. Bariatrik cerrahi uygulanan İİH hastalarına ilişkin küçük gruplarla yapılan çalışmalarda, papilödem ve intrakraniyal basınçta anlamlı iyileşmeler sağlandığı kaydedilmiştir (Fridley ve ark. 2011). Ancak bariatrik cerrahinin etkinliğinin uzun dönemde yan etkileriyle beraber değerlendirilmesi için randomize kontrollü çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Jensen ve ark. 2016).

Kilo kaybı, uzun dönemde etki sağlamaktadır ve aslında bir hayat biçimi yönetimi olduğu için hasta tarafından hızlı bir şekilde gerçekleştirilemeyebilmektedir. Bu durum, özellikle papilödeme bağlı görme kayıpları gibi hastalık etkilerinin hızlı bir şekilde düzenlenebilmesi amacıyla ilaç tedavisini gerekli kılmaktadır. Hastanın semptomları ve görme alanı bozuklukları kötüye gittiğinde, kilo kaybı ile birlikte ilaç tedavisi de uygulanmalıdır (Kanagalingam ve Subramanian, 2018).

Bir karbonik anhidraz inhibitörü olan asetazolamid tedavi için öncelikli olarak tercih edilen ilaçtır. İİH hastalarında BOS basıncını, muhtemelen BOS üretimini azaltmak yoluyla düşürdüğü gösterilmiştir (McCarthy ve Reed, 1974) Hastaların yaklaşık olarak yarısında semptomların kontrolünde etkili olmaktadır ve uzun süreli kullanımında nükslerin önlenmesinde etkili olabilmektedir. Bununla birlikte asetazolamid, yan etkilerinden dolayı hasta tarafından iyi tolere edilemeyebilmektedir.

Migrenin profilaktik tedavisinde ve epilepside kullanılan, zayıf bir karbonik anhidraz inhibitörü olan topiramate da İİH tedavisinde, özellikle baş ağrısının en baskın semptom olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Yan etkisi olan iştah kaybı da kilo kontrolü için fayda sağlayabilmektedir. (Jensen ve ark. 2016). 40 hasta ile gerçekleştirilen bir çalışmada, hafif derecede papilödem ve baş ağrısının tedavisinde topiramatin etkili olduğu kaydedilmiştir (Celebisoy ve ark. 2007).

İİH tedavisinde bir dönem yaygın olarak steroidler de kullanılmıştır ancak uzun dönemde kilo alımı gibi İİH hastalığı için özellikle istenmeyen yan etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle steroid ile tedavi rutin olarak pek tercih edilmemektedir (Thurtel ve Wall, 2013).

Girişimsel tedavi yöntemleri arasında lomber ponksiyon ve cerrahi yöntemler bulunmaktadır. Tanısal amaçlı yapılan lomber ponksiyon sonrası çoğu hastada baş ağrısı gibi bazı semptomlarda geçici bir iyileşme sağlanabilmektedir (Yri ve Jensen, 2015). Nadir durumlarda bazı hastalarda lomber ponksiyon sonrası hastalıkta remisyon görülebilmektedir (De Simone, ve ark. 2005). İİH tedavisinde bazı durumlarda tedavi amaçlı olarak da lomber ponksiyon uygulanabilmektedir ancak bu yöntem standart tedavi olarak tercih edilmemektedir (Thurtel ve Wall, 2013)

İlerleyici görme kaybının önlenmesi için veya hastalığın başlangıcının fulminan olduğu durumlarda, diğer tedavi yöntemleri işe yaramadığında hastalar cerrahi yöntemlere yönlendirilebilmektedir. En yaygın olarak kullanılan yöntemler, BOS diversiyonu (ventriküloperitoneal ve lumboperitoneal şant) ve optik sinir kılıfı fenestrasyonudur. Bazı durumlarda dural venöz sinüse stent yerleştirilmesi işlemi de uygulanabilmektedir. İİH tedavisinde cerrahi yöntemlerin etkinliği ve uzun dönemli etkilerinin değerlendirilmesi için ise daha geniş klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Jensen ve ark. 2016).

2.2.5. Patogenezi

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon hastalığının patogenezi, günümüzde hala net olarak anlaşılamamıştır ve hastalık gelişimini açıklayabilecek ortak bir teoride uzlaşma sağlanamamıştır. Hastalık patogenezinin açıklanması için oluşturulacak hipotezlerin, İİH'nin neden özellikle obez ve doğurganlık çağındaki kadınlarda yoğun bir biçimde görüldüğünü de açıklayacak, çoklu mekanizmaları içeren önermeler getirmelidir. Önerilen klasik patogenezi mekanizmaları, beyindeki su içeriği, artmış

BOS üretimi, azalmış BOS emilimi ve artmış serebral venöz basıncı üzerine yoğunlaşmaktadır (Biousse ve ark. 2012).

2.2.5.1. Artmış BOS üretimi

Artmış BOS üretiminin İİH ile ilişkili olabileceği düşünülmekle birlikte bu konuda yapılan çalışmalarda, birbirini doğrulayan sonuçlar elde edilememiştir (Donaldson, 1979; Malm ve ark. 1992). Koroid pleksuslarda bir papillom olması durumunda BOS üretimi artış göstermektedir ve ventriküllerde genişleme ile hidrosefali oluşmaktadır. Bununla birlikte İİH hastalarında ventriküller normal görünümündedir (Eisenberg ve ark. 1974).

2.2.5.2. BOS Geri Emilimindeki Bozukluklar

BOS geri emilimindeki azalmanın, intrakraniyal basınç artışı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. İzotop infüzyonu ile gerçekleştirilen bazı çalışmalarda, İİH hastalarında klirenste bir yavaşlama gösterilmiştir. (Johnston, 1973; Malm ve ark. 1992)

2.2.5.3. Transvers Venöz Sinüs Stenoza

Özellikle transvers sinüste gerçekleşen venöz sinüs stenoza, İİH'da yaygın olarak görülmektedir ve son zamanlarda patogenezi ile ilişkili olabileceği üzerinde daha çok durulmaktadır (Markey ve ark. 2016). Ancak yapılan bir çalışmada, stenoza derecesinin BOS basıncı veya klinik sonlanımla ilişkisi bulunamamıştır (Riggeal ve ark. 2013).

2.2.5.4. Trombofilik Etkenler

İİH hastalarında artmış kafa içi basıncına neden olabileceği düşünülen bir diğer etmen de, serebral toplardamarlar içerisinde trombofili kaynaklı olarak mikrotromboz oluşumudur. Mikrotromboz oluşumunun BOS emiliminde bozukluklara neden olabileceği önerilmektedir (Kesler ve ark. 2010; Glueck ve ark. 2005).

2.2.5.5. Vitamin A Metabolizmasındaki Anormallikler

İİH patogenezi ile ilişkili olarak uzun süredir iyi tanınan etkenlerden biri de anormal vitamin A metabolizmasıdır. Retinol intoksikasyonunun İİH'ye neden olabileceği uzun süredir bilinmektedir (Rodahl ve Moore, 1943; Fishman, 2002) Çeşitli çalışmalarda serumdaki A vitamini düzeyleri ile ilişkili birbirinden çeşitli sonuçlar kaydedilmekle birlikte (Libien ve Blaner, 2007), bazı çalışmalarda İİH hastalarının BOS'larında retinol seviyelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Tabassi ve ark. 2005, Warner ve ark. 2007). Ayrıca retinol bağlayıcı protein seviyelerinin hastaların BOS'unda daha yüksek, serumunda ise daha düşük seviyede bulunduğu gösterilmiştir (Warner ve ark. 2007). Vitamin A ile İİH arasındaki ilişkinin, adipoz dokunun aktif hormonal işlevleri ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Örneğin, adipoz doku kökenli retinol bağlayıcı proteinin, insülin hassasiyetini düzenlediği önerilmektedir (Yang ve ark. 2005)

2.2.5.6. Obezite

İİH hastalığı, en sık olarak çocuk doğurma yaşındaki obez kadınlarda görülmektedir. Bu durum da hastalığın vücut kilosu ile kuvvetli bir ilişkisi olduğunu göstermektedir. Bu konuda geliştirilen ilk teorilerden biri, artmış abdominal kütlenin fiziksel etkisinin sonucu olarak göğüs içi basıncını yükselterek venöz basıncın artmasına neden olduğu yönündedir (Sugerman ve ark. 1997). Bu durum, klinikte kilo veren hastalarda iyileşmenin görülmesi ile uyumludur. Bununla birlikte, bu teoriye göre obez insanlarda yüksek oranda İİH görülmesi beklenirken, İİH nadir görülen bir hastalık olup; çoğunlukla kadınlar olmak üzere erkekleri de etkileyen bir hastalıktır (Hannerz ve Ericson, 2009).

Obez olan veya olmayan bireylerde vücut ağırlığının %5-15'lik bir artışının dahi hastalık oluşumu ve tekrarlanması için risk oluşturduğu kaydedilmiştir (Daniels ve ark. 2007; Ko ve ark. 2011). Obez olmayan hastalarda ($BKİ < 30\text{kg/m}^2$) dahi orta derecede bir kilo alımı, İİH gelişimi için risk oluşturmaktadır ve %15'lik bir kilo alımına kadar bu risk aşamalı olarak artış göstermektedir (Daniels ve ark. 2007). Bu durum, hastaların kilo verme öncesi İKB, papilödem ve baş ağrısı gibi semptomlarının, zayıflamalarından sonra anlamlı derecelerde iyileşme gösterdiğine ilişkin bulgular sağlayan bir prospektif çalışma ile doğrulanmıştır (Sinclair ve ark. 2010). Bununla birlikte hastalık

semptomlarındaki iyileşme ile kilo verme arasındaki nedensel ilişki bilinmemektedir (Markey ve ark. 2016).

Obezite ve İİH arasındaki ilişki, net olarak bilinmemektedir. Özellikle etkilenen hasta grubunun profili, cinsiyetle ilişkili veya bazı hormonal etkenlerin risk oranını arttırdığını düşündürmektedir (Chan ve ark. 2017). Obezite ile ilişkili önerilen etyopatolojik mekanizmalar arasında, obez hastalarda yaygın olarak görülen artan merkezi venöz basınç, çeşitli hormonal ve metabolik değişimler gibi faktörler bulunmaktadır (Ooi ve ark. 2008).

Obezitede kilonun dağılımının da hastalıkla ilişkisi bulunmaktadır. Abdominal obezitedekinden farklı olarak, bel/kalça oranının, diğer bir deyimle kalçadaki yağ dağılımının daha yüksek olması İİH ile ilişkili bulunmuştur (Kesler ve ark. 2010)

Etkilenen grup ağırlıklı olarak doğurganlık çağındaki obez kadınlar olduğundan; adipokinler gibi adipoz doku sinyal faktörleri, steroid hormonlar ve İKB düzenlenmesi üzerindeki etkileri çeşitli araştırmalarda incelenmiştir (Chan ve ark. 2017).

2.2.5.7. Hormonlar

Hasta profilinin dramatik bir seçim göstermesi nedeniyle patogeneзде hormonların etkisi üzerinde de çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bir çalışmada, BOS'daki östron düzeyinin İİH hastalarında kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu kaydedilmiştir ancak çalışma küçük bir örneklemele gerçekleştirilmiştir (Donaldson ve Horak, 1982). Bazı çalışmalarda, glukokortikoidlerin de iatrojenik kullanımda İKB artışına neden olabileceği, ancak İKB artışının glukokortikoidlerin kesilmesi ile ilişkili olduğu kaydedilmiştir (Newton ve Cooper, 1994; Zada ve ark.2010).

Hiperandrojenizm de İİH ile ilişkili bulunan etkenler arasındadır. Dolaşımdaki androjen seviyelerindeki yükselmenin, kadınlarda hastalık başlangıcının daha erken yaşta gerçekleşmesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, hiperandrojenizme neden olan bir hastalık olan polikistik over sendromunun da İİH ile ilişkisi olduğu önerilmektedir (Klein ve ark. 2013).

Bir adipokin olan leptin, hipotalamusta doyma hissini düzenlemektedir ve İİH ile ilişkili olabileceği önerilmektedir (Chan, 2017). Leptin seviyelerinin, yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu, ancak bu ilişkinin beden

kitle indeksleri eşleştirildiğinde görülmediği kaydedilmiştir (Lampl ve ark. 2002; Wall ve ark. 2014). Yapılan bir diğer çalışmada ise, leptin seviyelerinin İİH hastalarında kontrollere kıyasla anlamlı bir farklılık göstermediği ifade edilmiştir (Samancı ve ark. 2017).

11- beta hidrosisteroid dehidrogenaz tip 1 enzimi (11β -HSD1), kortizonu aktif kortizol formuna çeviren ve dokuya özgü glukokortikoid seviyelerinin düzenlenmesini sağlayan bir enzimdir. 11β -HSD1, obezite, tip 2 diyabet gibi çeşitli hastalıklarla ilgili olarak araştırmacıların ilgisini çeken bir konu oluşturmaktadır. 11β -HSD1 enziminin ekspresyonu ve aktivitesi özellikle adipoz dokuda yüksektir. Aynı zamanda glukokortikoid yollarına ilişkin bileşenler ve 11β -HSD1 enzim aktivite ve ekspresyonu, koroid pleksuslarda da görülmektedir (Rauz ve ark. 2003; Sinclair ve ark. 2007).

Hem koroid pleksuslar, hem de gözdeki silialı epitel hücreleri, 11- beta hidrosisteroid dehidrogenaz tip 1 enzime (11β -HSD1) sahiptir. 11β -HSD1, hem göz içerisindeki saydam sıvının salgılanmasında rol oynamaktadır (Rauz ve ark. 2003), hem de BOS salgılanmasında bir rolü bulunabilir. Bu enzimin inhibisyonu sonucunda göz içi basıncında azalma görülürken; aynı zamanda düşük kalorili diyetle kafa içi basınçta düşüş ve azalmış 11β -HSD1 aktivitesi birbiriyle ilişkili bulunmuştur (Rauz ve ark. 2003; Sinclair ve ark. 2010). Bütün bu bilgiler, 11β -HSD1 enziminin BOS dinamiği üzerinde ve dolayısıyla İİH üzerinde etkili olabileceğini önermektedir (Sinclair ve ark. 2010).

2.2.5.8. Akuaporinler

Son zamanlarda üzerinde durulan olası patogenez mekanizmalarından biri de beyindeki su kanalları olan akuaporinlerdir (Biousse ve ark. 2012). BOS'un çoğunluğunun sentezlendiği koroid pleksuslarda yer alan akuaporin 1 (AQP1) kanallarının, patogenezde etkili olabileceği önerilmiştir (Damkier ve ark. 2013). Retinolun AQP1'in transkripsiyonunu uyarak bu yolla koroid pleksustaki su hareketini arttırdığı ve sonuç olarak artmış intrakraniyal basınca neden olabileceği kaydedilmiştir (Stiebel-Kalish ve ark. 2013). Yine bir su kanalı olan AQP-4'ün de suyun transmembran olarak hızlı hareketini sağlamaktadır ve beyindeki su dengesi ile yakın ilişkilidir. Ancak şu ana kadar yapılan çalışmalarda İİH ile AQP4 arasında bir

ilişki bulunamamıştır (Dhungana ve ark. 2010; Ekizoğlu ve ark. 2012; Kerty ve ark. 2013).

2.2.5.9. Na^+/K^+ ATPaz (Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfataz) İyon Pompası

İİH patogenezi ile ilişkili olabilecek bir diğer yapı ise Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasıdır. Na^+/K^+ ATPaz, sodyum iyonlarını BOS içerisine doğru pompalayarak ozmotik bir gradyent oluşturmak yoluyla AQP1 üzerinden su girişini kolaylaştırmaktadır (Damkier ve ark. 2013). Şu ana kadar yapılan araştırmalara göre, Na^+/K^+ ATPaz'ın İİH ile patogeneze açısından doğrudan bir ilişkisi gösterilmemiştir ancak koroid pleksus epitelindeki su transportunda temel rol oynadığı için patogeneze potansiyel olarak ilişkisi bulunabilecek yapılar arasında görülmektedir (Uldall ve ark. 2017).

Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının katalitik α alt birimleri (α -1, α -2, α -3 ve α -4); farklı kinetik özelliklere sahip olup; Na^+/K^+ ATPaz izoformları; dokuya ve hücre tipine göre farklı biçimlerde eksprese edilmektedir (Edwards ve ark. 2013; Li ve Langhans, 2015). Merkezi sinir sisteminde, temel olarak α -1, α -2, α -3 izoformları yer almaktadır: α 1 izoformu yaygın bir biçimde eksprese edilmektedir ve hücrede “housekeeping” işlevlere sahip olduğu düşünülmektedir. α 2 izoformu ise çoğunlukla astrositlerde ve olgunlaşmamış nöronlarda eksprese edilirken; α 3 izoformu sadece nöronlarda yer almaktadır (McGrail ve ark. 1991; Böttger ve ark. 2011; Kurauchi ve ark. 2018). Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının farklı kinetik özelliklere sahip olan α izoformlarının bu heterojen ekspresyonunun, farklı nöron gruplarının işlevsel farklılığına yönelik bir düzenleme olduğu öne sürülmektedir (Dobretsov ve Stimers, 2005).

Na^+/K^+ ATPaz iyon pompası, sodyum ve potasyum iyonlarının elektrokimyasal gradyenti üzerinde temel belirleyici işleve sahiptir (Skou ve Esmann, 1992; Clausen ve ark. 2017). Çeşitli biyolojik işlevlerinin yanında; böbreklerde idrar üretiminde ve gözde aköz humörün ve beyin-omurilik sıvısı (BOS) gibi çeşitli vücut sıvılarının elektrolit bileşiminin düzenlenmesinde Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının etkinliği kritik öneme sahiptir (Zlokovic ve ark. 1993; Féraille ve Doucet, 2001; Wetzel ve Sweadner, 2001).

Yapılan çalışmalarda Na^+/K^+ ATPaz'ın işlevsel bozuklukları sonucunda, çeşitli hareket bozukluklarından duygudurum bozukluklarına uzanan geniş bir çeşitlilikte

nörolojik ve psikiyatrik tabloların ortaya çıkabileceği gösterilmiştir. (Mynett-Johnson ve ark. 1998; Goldstein ve ark. 2006; Kirshenbaum ve ark. 2016; Holm ve Lykke-Hartmann, 2016) Ancak bu çeşitli hastalık gruplarının patogenezi ile Na^+/K^+ ATPaz'ın ilişkilerinin net olarak gösterilebilmesi için daha fazla bulguya ihtiyaç duyulmaktadır.

Ek olarak, çeşitli çalışmalarda nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olan α -synuclein (Shrivastava ve ark. 2015), SOD1 (Ruegsegger ve ark. 2016) ve amiloid- β (DiChiara ve ark. 2017) gibi birikimleri patojenik olaylara yol açan proteinlerin, doğrudan nöronal Na^+/K^+ ATPaz'ın $\alpha 3$ alt birimine bağlanarak Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde bozukluklara yol açtığı gösterilmiştir (Shrivastava ve ark. 2015; Ruegsegger ve ark. 2016; DiChiara ve ark. 2017).

Bir bitki steroidi olan ouabain ve dokularda yer alan ouabin benzeri bileşenler, Na^+/K^+ ATPaz'ı inhibe etmektedirler (Leenen ve ark. 1993). Endojen olarak üretilen ouabinlerin aşırı aktivasyonu, hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi çeşitli hastalıkların oluşum süreci ile ilişkilidir (MacGregor ve ark. 1981, Gottlieb ve ark. 1992; Simonini ve ark. 2018). Borsody ve ekibi, bu bilgilerden yola çıkarak İİH hastalığında endojen ouabin üretimi ile BOS üretim sürecindeki rolü bilinen Na^+/K^+ ATPaz enzimi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (Borsody ve ark. 2006). İİH olgularının BOS'larındaki endojen ouabin seviyelerinin, sağlıklı kontrol BOS'larındakine göre daha düşük olabileceğini öneren araştırmacılar, çalışmalarının sonunda BOS açılış basıncı ile ouabin benzeri bileşen seviyelerinin arasında zıt bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Kontrol grubunda ise açılış basıncı ve ouabin düzeyi arasında böyle bir korelasyon görülmemiştir. Çalışmada sadece 7 İİH olgusunun yer alması nedeniyle daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmakla birlikte; İİH hastalığında BOS basıncındaki artış ile Na^+/K^+ ATPaz'ın ilişkisi üzerine bu çalışma önemli bulgular sağlamıştır (Borsody ve ark. 2006).

Uldall ve ekibinin 2017 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada ise sağlıklı Sprague Dawley sıçanlara intraperitoneal olarak tek dozda verilen asetazolamidin, intrakraniyal basınç ve Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları in vivo ve in vitro çalışmaların sonucunda, asetazolamidin intrakraniyal basıncı azalttığı ve aynı zamanda koroid pleksus epitelindeki Na^+/K^+ ATPaz aktivitesini düşürdüğü kaydedilmiştir (Uldall ve ark. 2017).

İİH için bir hayvan modeli oluşturulamamakla birlikte obezite ile İİH arasındaki yakın ilişkiye dayanarak obez hayvanlar üzerinde çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Leptin genindeki mutasyon sonucunda genetik olarak obez olan Zucker sıçanları (Zhang ve ark. 1994) ile gerçekleştirdikleri bir başka çalışmada, yine Uldall ve ekibi, AQP1 ve Na^+/K^+ ATPaz'ın alfa-1 alt biriminin ekspresyon seviyelerini normal sıçanlarla karşılaştırmıştır (Uldall ve ark. 2017). Obez Zucker sıçanlarda intrakraniyal basınç normal sıçanlara kıyasla daha yüksek olarak kaydedilirken obez sıçanlarda AQP1 ekspresyonu daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte Na^+/K^+ ATPaz'ın alfa-1 alt biriminin ekspresyonu açısından obez ve normal Zucker sıçanlar arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Ancak araştırmacılar, sadece ekspresyon düzeyinin iyon pompasının aktivitesi üzerine kesin bir ilişki göstermekte yeterli olmayacağını vurgulamışlardır (Uldall ve ark. 2017).

İİH patogenezinde BOS dinamiğindeki olası bir bozulmanın etkileri, uzun süredir tartışılan hipotezlerden biri olmakla birlikte; Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının hastalık oluşumuyla ilişkisi üzerine literatürde çok az çalışma bulunmaktadır. Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının BOS üretim sürecindeki kritik önemi düşünüldüğünde, İİH için de bu iyon pompasının işlevlerinin patogenezele ilişkisinin anlaşılması hem bu sendromun oluşumunun daha iyi anlaşılması, hem de tedavisi için büyük önem taşımaktadır.

Bütün bu incelemelerin yanı sıra genetik olarak, mevcut çalışmalarda hastalık ile ilişkili herhangi bir gen bulunamamıştır. Aquaporin-4 geninin varyantları ile ilişkili bir bağlantı belirlenememişken (Kerty ve ark. 2013); Aquaporin-1 geninin up-regülasyonunun intrakraniyal basıncı arttırabildiği, down-regülasyonun ise BOS basıncını düşürebildiği öne sürülmüştür (Stiebel-Kalish ve ark. 2013)

BOS'da bulunan bazı biyobelirteçlerin de İİH patogenezi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Yapılan proteomik bir çalışmada anjiyotensinojenin down regüle olmasının artmış BOS üretimine neden olduğu ve İİH için bir biyobelirteç olabileceği kaydedilmiştir (Brettschneider ve ark. 2011).

2.3. İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon'da İnflamasyon Bulguları

Obezitenin inflamatuvar bir hastalık olarak da değerlendirilmeye başlanmasının sonucunda (Lyon ve ark. 2003), İİH ve obezitenin bilinen yakın ilişkisi nedeniyle inflamasyon ve İİH ilişkisi de araştırma konusu olmuştur. Hastalığın çoğunlukla genç

kadınlarda gözlenmesi, bazı olgularda eşlik eden otoimmün hastalıkların bulunması, bazı olgularda steroid tedavisine yanıt gözlenmesi, çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin düzeylerinde artış saptanması ve bazı olgularda antinöronal antikorların tanımlanmış olması İİH patogenezinde inflamatuvar mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Sinclair ve ark. 2008; Altıokka-Uzun ve ark 2015; Altıokka-Uzun ve ark. 2017; Samancı ve ark. 2017)

Bazı çalışmalarda, İİH hastalarının BOS'larında inflamasyona ilişkin çeşitli biyobelirteçlere rastlanmıştır. Örnek olarak bir kemokin olan (C-C motif) ligand 2 (CCL2), kontrollere kıyasla İİH hastalarının BOS'larında anlamlı derecede daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur (Dhungana ve ark. 2009).

Adiposit kökenli bir hormon ve sitokin olarak değerlendirilen leptinin iştah düzenlenmesinin yanı sıra immünolojik fonksiyonlara da sahip olduğu düşünülmektedir (La Cava ve Matarese, 2004).

Yapılan bazı çalışmalarda, hem zayıf hem de obez İİH hastalarında, serum leptin seviyelerin zayıf ve obez kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur (Lampl ve ark. 2002; Subramanian ve ark. 2004). Ball ve ekibinin gerçekleştirdiği çalışmada, İİH hastalarının BOS'larında daha yüksek konsantrasyonda leptin bulunmuştur. İnterlökin 1 (IL-1), İnterlökin 8, (IL-8), İnterlökin 1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktör α (TNF α) seviyelerinde ise kontrollere kıyasla anlamlı bir fark belirlenememiştir (Ball ve ark. 2009).

Tomlinson ve arkadaşlarının çalışmaları ile obezite, inflamasyon ve İİH arasında bağlantı oluşturabilecek bir etkileşim önerilmiştir. Bu çalışmalarda 11 β -HSD1 aktivitesinin TNF α , IL-1 β , IL-6 gibi çeşitli sitokinler ve leptin tarafından düzenlendiğini gösterilmiştir (Tomlinson ve ark. 2001; Tomlinson ve ark. 2002). Bu bulgular, İİH hastalığındaki obezite ile tetiklenmiş bozulmuş inflamatuvar sitokin ve adipokin mekanizmalarının 11 β -HSD1 aktivitesi ve glukokortikoid mekanizmasını etkileyebileceğini düşündürmektedir (Sinclair ve ark. 2008;). Buna ek olarak İİH hastalarının serum örneklerindeki IL-1 β seviyelerinin kontrollere göre daha yüksek; IL-8 ve TNF- α seviyelerinin ise daha düşük olduğunu da gösterilmiştir (Samancı ve ark. 2017).

Oligoklonal bantların (OKB) değerlendirilmesi, BOS'da ve serumda merkezi sinir sistemine ilişkin inflamatuvar olayların anlaşılmasını sağlayan bir araçtır.

Oligoklonal bantlar, temel olarak IgG moleküllerinden oluşmaktadır ve OKB bantlarına ilişkin paternler, özellikle multipl skleroz (MS) hastalarında iyi bilinen bir anormallik olup kesin tanı alan hastaların önemli bir kısmında oligoklonal bantlar görülebilmektedir (Correale ve Molinas, 2002). İİH hastalığında oligoklonal bantlar üzerine pek fazla sayıda araştırma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada, İİH hastalarının yaklaşık üçte birinde çeşitli paternlerde oligoklonal bantlar saptanmıştır. OKB pozitif hastaların, klinik açıdan OKB negatif hastalardan bir farkı görülmemiştir. Ek olarak, OKB pozitif olan İİH hastalarında IFN-gamma ve TNF-alfa seviyeleri daha yüksek bulunmuş ve bu durum, görme kaybı gelişimi riski ile ilişkili bulunmuştur (Altıokka-Uzun ve ark. 2015).

BOS'da İİH ile ilgili olabilecek biyobelirteçlerin belirlenmesi, patogenezin anlaşılabilmesi için önemli bir alan oluşturmaktadır ve araştırmacıların yeni ilgi alanlarından birini oluşturmaktadır (Chan, 2017). Yapılan bir çalışmada, İİH olgularının BOS örneklerinde SREB1, ZA2B, IGHA1, SERPINA1, serotransferrin, ve haptoglobulin proteinlerinin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmada anjiyotensinojen, hemopeksin, vitamin D bağlayıcı protein ve transtiretinin düzeylerinin ise azaldığı kaydedilmiştir (Brettschneider ve ark. 2011)

Edwards ve ekibinin gerçekleştirdiği bir çalışmada ise, İİH, MS ve diğer çeşitli inflamatuvar ve inflamatuvar olmayan nörolojik hastalık gruplarının dahil edildiği çalışmada, serum ve BOS örneklerinde çeşitli sitokin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre, İİH hastalarının BOS örneklerinde, diğer hastalık grupları ile kıyaslandığında, IL-2 ve IL-17 düzeylerinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu ve bu proinflamatuvar profilin patogeneze ilişkisi olabileceği önerilmektedir (Edwards ve ark. 2013).

Son olarak klinik bulguları İİH ile benzerlikler gösteren ROHHAD (Rapid-onset Obesity with Hypothalamic Dysfunction, Hypoventilation) sendromunda periaquaduktal gri madde ve hipotalamusta inflamasyon saptanması da İİH patogenezinde inflamatuvar köken hipotezini desteklemektedir (Chow ve ark. 2015).

2.4. Antinöronal ve Antigial Membran Antikorları

Otoimmünite, vücudun kendi yapılarına karşı hatalı olarak gelişen bir immünolojik yanıt olarak tanımlanmaktadır. Otoimmünite, sinir sistemine karşı geliştiğinde, merkezi ve periferik sinir sistemine ait hemen hemen her yapı hedef

olabilmektedir. Otoreaktif antikorlar veya diğer adıyla otoantikorlar; vücudun kendi yapılarına (otoantijen) bağlanan immünglobulinlerdir (Probst ve ark. 2014). Otoantikor üretiminin mekanizması henüz kesin olarak tanımlanmamış olmakla birlikte; bazı hassas bireylerde maruz kalınan bakteriyel veya viral enfeksiyonlar, tümörler ve doku travmaları gibi vücutta değişiklik veya hasara yol açan olayların otoantikor etkinliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Aminoff ve ark. 2016).

Merkezi veya periferik sinir sisteminin immünolojik yanıtlara bağlı olarak etkilenmesi durumunda, çeşitli nörolojik tablolar ortaya çıkabilmektedir. Ensefalomiyelit, periferik nöropatiler bu hastalıklara örnek olarak verilebilir. Guillain-Barré sendromunda görülebildiği gibi bazı durumlarda immünolojik yanıtlar, moleküler benzerliklere bağlı olarak paraenfeksiyöz biçimde gerçekleşmektedir (Van Coevorden-Hameete ve ark. 2014). Bazı durumlarda ise hastada görülen nörolojik sendromlar, paraneoplastik olarak ortaya çıkmaktadır. Paraneoplastik nörolojik sendromlar, tümör veya metastazın doğrudan hasarından ziyade, tümör hücrelerinin ektopik olarak nöronal antijenleri (onkonöronal antijenler) de sentezlemesi ile gerçekleşen immünolojik bir aktivasyonun sonucunda oluşan bozukluklardır (Lancaster, 2015). Paraneoplastik sendromlar, sinir sisteminin herhangi bir bölgesini etkileyebilmektedir ve çoğunlukla hastaya henüz kanser tanısı konulmamışken ortaya çıkmaktadır. (Darnell ve Posner, 2003).

Paraneoplastik sendromlarla ilişkili olarak ilk olarak Hu, Yo ve Ma2 gibi intraselüler nöral proteinlere karşı otoantikorlar tanımlanmıştır (Lancaster ve Dalmau, 2012). Bu otoantikorların, sitotoksik T hücreleri aracılığı ile gerçekleştirilen, paraneoplastik bir otoimmün yanıtı bağlı olduğu düşünülmektedir (Grativvol ve ark. 2018). Paraneoplastik nörolojik sendromlar kanser hastalarında, çoğunlukla hastaya henüz kanser tanısı konulmamışken ortaya çıkan bozukluklardır. (Darnell ve Posner, 2003). Yumurtalık (over) kanserinde görülen ve anti-Yo antikoruna ile ilişkili paraneoplastik serebellar dejenerasyon, paraneoplastik nörolojik sendromlara bir örnek olarak verilebilir. (van Coevorden-Hameete ve ark. 2014) Paraneoplastik otoantikorlar, ayırıcı tanı bakımından büyük öneme sahiptir ve kanser türüne spesifik olarak görülebilmektedir. Bu nedenle klinikte paraneoplastik antikorlar, erken tanı ve tedavi açısından değerli biyobelirteçler olarak değerlendirilmektedir (Vernino, 2007).

Nöral proteinlere karşı antikor oluşumu, immün sistem aracılı birçok nörolojik bozukluğun temelini oluşturmaktadır. Ortaya çıkan nörolojik tablolar, paraneoplastik olarak veya herhangi bir tümör olmaksızın ortaya çıkabilmektedir (Rosenfeld ve Dalmau, 2012). İntraselüler yapıları hedefleyen paraneoplastik antikorların tanımlanmasının ardından; son yıllarda nöron yüzey proteinleriyle ilgili çeşitli yapılara karşı birçok patojenik otoantikor tanımlanmaya başlanmıştır (Honnorat, 2014). Çoğunlukla paraneoplastik olmayan bu otoantikorlar, genellikle beyinde gerçekleşen inflamatuvar bir hasarla ilişkili olup; nöbetler, inme, görme ile ilişkili bozukluklar, psikoz benzeri semptomlar ve hareketle ilgili bozukluklara neden olabilmektedir (Scharf ve ark. 2015).

Otoantikorların merkezi sinir sisteminde sinaptik veya ekstra-sinaptik plazma membranlarındaki antijenlerin ekstrasellüler bölgelerini hedeflemesi durumunda ortaya çıkan nörolojik tablolar için otoimmün ensefalit tanımı kullanılmaktadır. (Leypoldt ve ark. 2015). Hastalarda çoğunlukla limbik ensefalit görülmekte birlikte; serebellar ataksi ve stiff-person sendromu gibi başka tablolar da görülebilmektedir (Van Coevorden-Hameete ve ark. 2014).

NMDAR (Dalmau ve ark. 2007), AMPAR (Lai ve ark. 2009), LGI1 (Irani ve ark. 2010), AQP4 (Lennon ve ark. 2005) CASPR2 (Lancaster ve ark. 2011), glisin reseptörü (Hutchinson ve ark. 2008), GABA_A (Petit-Pedrol ve ark. 2014) ve GABA_B reseptörleri (Lancaster ve ark. 2010), DPPX (Boronat ve ark. 2013), mGluR5 (Lancaster ve ark. 2011), ve IgLON5'e (Sabater ve ark. 2014) karşı otoantikorlar; hücre yüzey proteinlerine karşı tanımlanan otoantikorlar arasında yer almaktadır. Nöronal hücre yüzey proteinlerine ve sinaptik reseptörlere karşı gelişen otoantikorlar ve ilişkili oldukları sendromlar, Tablo 2.2'de özetlenmiştir (Dalmau ve ark. 2017).

Otoantikorlar; patojenik ve patojenik olmayan otoantikorlar olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Apatojenik antinöronal antikorlar, in vivo koşullarda ilgili antijenlere bağlanamamaktadır (Probst ve ark. 2014). Bununla birlikte hastaların beyinlerinde yapılan otopsi çalışmalarında yoğun T hücresi infiltrasyonu görülmüştür ve T hücrelerinin bunu perforin ve granzim enzimleri aracılığıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Bien ve ark. 2012). Nöronların transkripsiyon faktörleri, nükleer ve sitoplazma içi enzimler gibi intraselüler yapılarını hedefleyen antikorlar; nöral peptidlere özgü sitotoksik T hücresi aracılı hasara ait birer biyobelirteç işlevi

görmektedir (Albert ve ark. 1998; Pellkofer ve ark. 2004). Bu gruba örnek olarak klasik paraneoplastik sendromlarla ilişkili antikorlar olan CV2, Ri, Ta, Ma, Hu ve Yo antikorları verilebilir (Probst ve ark. 2014).

Hücre içi antijenik yapıları hedefleyen antikorların çoğu paraneoplastik antikorlardır. Bununla birlikte bu antikorlar, nöronda hücre bütünlüğünün korunduğu durumlarda hücre içerisine giriş sağlayamadıkları için doğrudan bir patojenik etki göstermemektedir. Buna ek olarak sitoplazmik ve nükleer paraneoplastik antikorlar ve ilişkili oldukları nörolojik sendromlar arasında doğrudan bir ilişki bulunmamaktadır. (Vernino, 2007). Bu özellikteki antikorlarla ilişkili tablolar, immünoterapiye genellikle zayıf yanıt verirler (Lancaster ve Dalmau, 2012).

Tablo 2-2: Nöronal hücre yüzey proteinleri ve sinaptik reseptörlere karşı antikorlar ile ilişkili oldukları sendromlar. (Dalmau ve ark. 2017).

Antikor	Ana Belirti	Ana Sendrom	İlişkili Kanser	Kanser Sıklığı
NMDA reseptörü	Yetişkinlerde psikiyatrik; çocuklarda nöbet ve diskinezi	NMDA reseptörü ensefaliti	Teratom	%40
AMPA reseptörü	Hafıza kaybı	Limbik ensefalit	Timoma, KHAK, diğer	%65
GABA_B reseptörü	Hafıza kaybı, nöbetler	Erken başlangıçlı nöbetlerle gelen limbik ensefalit	KHAK	%50
LGI1	Hafıza kaybı, nöbetler, FBD	Limbik ensefalit	Timoma	%5-10
CASPR2	Uyku bozuklukları, nöromiyotoni	Morvan sendromu, limbik ensefalit	Timoma	%20

GABA_A reseptörü	Nöbetler	Refrakter (dirençli) nöbetlerle birlikte ensefalit, status epileptikus	Timoma, diğer	%25
DPPX	Konfüzyon, hiperpleksi	diyare, Ensefalit, hiperpleksi	Lenfoma	< %10
Dopamin-2 reseptörü	Letarji, semptomlar, anormallikleri, bozuklukları	psikiyatrik hareket yürüyüş	Bazal ganglia ensefaliti	Bilinmiyor %0
mGluR5	Hafıza kaybı	Ensefalit	Hodgkin hastalığı	Birkaç vaka kaydedilmiş
Neurexin-3α	Konfüzyon, nöbetler	Ensefalit	Bilinmiyor	%0
IgLON5	Uyku bozuklukları	NREM ve REM uyku bozuklukları, beyin sapında bozukluklar	Bilinmiyor	%0
DNER (Tr)	Yürüyüşte dengesizlik	Serebellar ataksi	Hodgkin hastalığı	> %90
P/Q VKPK tipi	Yürüyüşte dengesizlik	Serebellar ataksi	KHAK	> %90
mGluR1	Yürüyüşte dengesizlik	Serebellar ataksi	Hodgkin hastalığı	Birkaç vaka kaydedilmiş

Glisin reseptörü	Kasta rijidite, spazmlar	PERM, Stiff Person Sendromu	Timoma, akciğer kanseri, Hodgkin hastalığı	< %5
Amfifizin	Kasta rijidite, spazmlar	Stiff Person Sendromu, ensefalomiyelit	Meme kanseri, KHAK	> %90

NMDAR: N-metil-D-aspartat tipi glutamat reseptörü, AMPA: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit, CASPR2: Contactin-associated protein-like 2, GABA: Gamaaminobütirik asit, mGluR5: Metabotropik glutamat reseptörü 5, LGI: Leucine-rich glioma inactivated-1, DPPX: Dipeptidyl aminopeptidase-like protein 6, VKPK: Voltaj kapılı potasyum kanalı, KHAK: Küçük hücreli akciğer kanseri, FBD: Fasyobrakial distonik

Patojenik otoantikorlar ise nörotransmitter reseptörleri, iyon ve su kanalları ve kanal kompleksi proteinleri gibi hücre yüzeyinde yer alan antijenleri hedeflemektedir (Vincent ve ark. 2011). İn vivo koşullarda ilgili antijene bağlanabilen otoantikorlar çoğunlukla ciddi patojenik etkilere neden olmaktadır. Hedef antijenler, genellikle nöronlar için uyarılma ve iletimde önemli işlevlere sahip olduğundan; antikorlar tarafından etkilenmeleri doğrudan nörolojik bozukluklara neden olabilmektedir (Probst ve ark. 2014). Örnek olarak; NMDA otoantikoru, hedef reseptör yoğunluğunu azaltabilmekte, AMPA otoantikorları, sinaptik iletim ve plastisiteyi değiştirebilmekte, GABA_B reseptörlerine karşı antikor gelişmesi durumunda ise reseptörün yoğunluğu değişmemesine rağmen işlevleri engellenmekte, LGI1, CASPR2 reseptörlerine karşı antikor gelişmesi durumunda ise sinaptik protein-protein etkileşimleri değişebilmektedir (Honnorat, 2014; Dalmau ve ark. 2017). Neurexin-3 α antikorumun varlığında sinaps oluşumu etkilenirken (Gresa-Arribas ve ark. 2016); anti-DPPX antikoru olduğu gibi otoantikorlar somatodendritik sinyallerin düzenlenmesi üzerinde etkili olabilmektedir (Boronat ve ark. 2013). IgLON antikoru ise mekanizması henüz bilinmemekle birlikte tau proteini ile ilişkili bozukluklara neden olmaktadır (Gelpi ve ark. 2016).

Paraneoplastik nörolojik sendromlarda nöronal doku hasarı T hücreleri aracılığıyla gerçekleştiğinden, B hücrelerini baskılamayı hedefleyen immünsupresif tedaviler belirtileri genellikle iyileştirememektedir. Buna karşılık hücre yüzey antijenleri humoral mekanizmalar tarafından hedeflendiğinden; varsa tümörün

rezeksiyonu veya erken immünsüpresif tedaviler ile büyük ölçüde başarı sağlanabilmektedir (Probst ve ark. 2014; Lancaster ve Dalmau, 2012).

Nöronlarda yüzey antijenlerini etkileyen otoantikörlerle ilişkili bozuklukların genellikle geri dönüşümlü bir biçimde gerçekleşmesi, otoantikörle ilişki ensefalitlerin immünoterapiye nasıl yanıt verdiğini açıklamaktadır. Bununla birlikte, beyinde atrofi ve diğer kalıcı hasarların henüz gerçekleşmeden önlenmesi açısından tanı ve tedavi sürecinin hızla gerçekleştirilmesi, büyük önem taşımaktadır (Linnoila ve Pittock, 2016).

NMDAR otoantiköründe olduğu gibi bazı otoantikörlerle ilişkili nörolojik sendromlar, klinikte iyi tanımlanmıştır ve bu nedenle tanı ve tedavileri konusunda literatürde daha çok bilgi mevcuttur (Titulaer ve ark. 2013). Ancak otoantikörlerle ilişkili olarak yeni tanımlanan bazı sendromlar, az sayıda hastadan oluşan gruplarda belirlendiği için klinik tablolarının tanımı sürekli güncellenmektedir. Antikörlerin uzaklaştırılmasına yönelik tedavi yöntemleri başarı sağladığında; hastada görülen semptomlar, çoğunlukla en yeni semptomdan başlayarak düzelmekte ve hastanın iyileşmesi mümkün olabilmektedir (Höftberger, 2015).

Son yıllarda antinöronal otoantikörlerin tanımlanmaya başlanması ile birlikte, önceden nedeni bilinmeyen birçok nörolojik sendrom, günümüzde otoimmün olarak kabul edilmeye ve tedavi yöntemleri de bu bilgiler ışığında gelişmeye başlamıştır (Grativvol ve ark. 2018). Otoimmün ensefalitler, bu anlamda en çok odaklanılan hastalık grubu olmak ile birlikte; günümüzde epilepsi, demans, hareket ve uyku bozuklukları gibi birçok hastalıkta otoimmün etkenlerin varlığı değerlendirilmeye başlanmıştır. Bu nedenle çeşitli nörolojik ve psikiyatrik sendromlarla ilişkili olabilecek yüzey antikörlerinin belirlenmesi, bu hastalıkların tanı ve tedavisi için büyük öneme sahiptir. (Linnoila ve Pittock, 2016).

Nöronal proteinlere karşı antikörlerin yanı sıra, glial hücrelere ait yapıları hedefleyen bazı antikörler de tanımlanmıştır.

2.4.1. Antigial Antikörler

2.4.1.1. Anti-AQP4 Antikörleri

Akuaporinler (AQP), hücre membranında integral olarak yer alan bir transport proteini ailesidir (Agre ve ark. 2002). Akuaporinlerin temel görevi, ozmotik gradyentlere bağlı olarak hücre membranındaki su hareketini kolaylaştırarak

hücrelerdeki su dengesini sağlamaktır ancak bazı akuaporinler, gliserol gibi diğer küçük moleküllerin taşınımında da rol oynamaktadır (Verkman, 2012; Papadopoulos ve Verkman, 2013).

Akuaporin-4 (AQP4), memeli beyinde en çok eksprese edilen akuaporindir (Yang ve ark. 2016). AQP4, merkezi sinir sisteminde beyinde, spinal kordda ve optik sinir boyunca astrositlerde eksprese edilmektedir ve kan-beyin bariyerindeki mikrodamarlara komşu astrositik ayak uzantılarında yoğun bir biçimde yer almaktadır (Nielsen ve ark. 1997). Beyinde kan-beyin arasındaki sınır bölgelerdeki bu yoğun ekspresyon biçimi sebebiyle AQP4'ün beyinde su moleküllerinin içeri ve dışarı akışı üzerinde etkili olduğu hipotezi öne sürülmüştür (Nagelhus ve Ottersen, 2013). AQP1 beyin omurilik sıvısı (BOS) üretiminde yer alırken; AQP4 ise beyinde ödem oluşumu ve iyileşmesinde, nöronal aktivite sırasında ortama salınan potasyum iyonlarının klirensinde, beyinde artık maddelerin temizlenmesinde ve nöronal plastisitede rol oynamaktadır (Papadopoulos ve Verkman, 2013; Badaut ve ark. 2014; Woo ve ark. 2018).

Yapılan çeşitli çalışmalarda akuaporin kanallarının geçirgenliğinin düzenlenebildiği ve çeşitli hastalıkların bu durumu etkilediği kaydedilmiştir (Brinker ve ark. 2014). Örnek olarak AQP1 ve AQP4, beyin tümörü ve beyin hasarı durumunda yüksek oranda upregüle olmaktadır (Zelenina, 2010).

Nöromiyelitis optika (NMO), merkezi sinir sisteminin inflamatuvar demiyelinizan bir hastalığı olup; optik sinir ve spinal kord üzerinde etkili olarak körlük, felç ve ölüme neden olabilmektedir (Wingerchuk ve ark. 2007). NMO, multipl skleroz (MS) hastalığının bir türü olarak değerlendirilen bir hastalık iken; NMO hasta serumlarında bulunup MS hastalarında bulunmayan antikorların varlığı gösterilmiş ve sonrasında ise bu antikorların AQP4 proteinine karşı olduğu belirlenmiştir (Lennon ve ark. 2004; Lennon, ve ark. 2005). AQP4 antikoru pozitif olan ancak NMO tanısı için gerekli kriterlerin tamamını sağlamayan hastaların varlığı nedeniyle NMO için tanı kriterleri genişletilerek “NMO spektrum bozukluğu” terimi kullanılmaya başlanmıştır (Wingerchuk ve ark. 2007).

Çoğu NMO hastasında anti-AQP4 antikoru pozitif olup; bu antikorların astrositlerin üzerindeki AQP4 moleküllerine bağlanması sonucunda kompleman ve hücre aracılı sitotoksiste, astrosit kaybı, inflamasyon, kan-beyin bariyerinde

bozukluklar, demiyelinizasyon ve nöron kaybı gerçekleşmektedir (Verkman ve ark. 2017; Lucchinetti ve ark. 2014). Günümüzde AQP4 antikoru, NMO spektrum bozukluğu hastalıkları için biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir.

2.4.1.2. Anti-MOG Antikorları

Miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), memelilerde merkezi sinir sistemine özgü olarak oligodendrositlerde eksprese edilen ve miyelin yüzeyinde yer alan bir glikoproteindir (Schluesener ve ark. 1987; Brunner ve ark. 1989). MOG'un fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte oligodendrosit mikrotübüllerinin stabilitesini düzenlediği, kompleman yolağı ile ilişkili bir hücrel adezyon molekülü olduğu ve hücrel bir reseptör olarak rol oynadığı düşünülmektedir (Johns ve Bernard, 1999; Marta ve ark. 2005).

MOG antikorlarının deneysel olarak demiyelinizan etkilerinin gösterilmesinin ardından bu konuda birçok araştırma gerçekleştirilmiştir (Lebar ve ark. 1989). İlk olarak pediatrik hasta gruplarında; sonrasında ise optik nörit, miyelit, ensefalomiyelit, akut dissemine ensefalomiyelit (ADEM), beyin sapı ensefaliti, anti-NMDAR ensefaliti ve nadir olarak MS hastalarında yüksek düzeyde anti-MOG antikorları belirlenmiştir (Jurynczyk ve ark. 2017; Mariotto ve ark. 2017; Hacohen ve ark. 2017; Hohlfeld ve ark. 2016; Reindl ve ark. 2013). MOG antikorlarının bu hastalıklarda doğrudan patojenik bir etken olarak mı, yoksa inflamasyon ya da nöron hasarı sonrasında sekonder olarak mı ortaya çıktığı sorusuna hala yanıt aranmaktadır (Jarius ve ark. 2016). Son yıllarda MOG antikoru ile ilişkili hastalıkların ayrı bir grup oluşturduğuna ilişkin tartışmalar mevcuttur (Jarius ve ark. 2018; Zamvil ve Slavov, 2015).

2.4.1.3. Anti-MBP Antikorları

Miyelin bazik proteini (MBP), merkezi sinir sisteminde (MSS) miyelinde proteolipid proteinden (PLP) sonra en çok bulunan protein olup; miyelin yapısında yer alan toplam protein miktarının %30'unu oluşturmaktadır (Boggs, 2006). MBP, MSS'de çok katmanlı miyelin kılıf oluşumu için zorunlu olan tek yapısal protein olarak değerlendirilmektedir (Moscarello, 1997). MBP, oligodendrosit hücre yüzeylerinin birbirine bağlanmasında temel rol oynasa da; hücre içi sinyal yollarında, kalsiyum

dengeinde, miyelin oluşumu sırasında membran uzantılarını oluşumu ve stabilliğinin sağlanmasında da aktif bir biçimde görev almaktadır (Vassall, ve ark. 2015).

MBP, rodentlerde MS'in hayvan deneysel otoimmün ensefalomyelit modeli oluşturulmasında kullanılmaktadır (Gold ve ark. 2006). MBP proteinlerine karşı antikorlar, demiyelinizan hastalıklarla, özellikle de MS hastalığıyla ilgili araştırmalara konu olmuştur (Giovannoni, 2014). Çeşitli araştırmalarda MS hastalarının serum ve BOS örneklerinde MBP antikor seviyelerinde kontrollere kıyasla anlamlı artış gösterilse de; antikor oluşumunun kendisinin mi patolojiye neden olduğu yoksa gerçekleşen diğer olaylara yanıt olarak mı gerçekleştiği hala tartışma konusudur (Egg ve ark. 2001; Warren ve Catz, 1994; Lassmann, 2013).

2.4.1.4. Anti-GFAP Antikorları

Glial fibriler asidik protein (GFAP), merkezi sinir sisteminde yer alan astrosit hücrelerine, periferik sinir sistemindeki Schwann hücrelerine ve enterik glial hücrelere özgü bir filament proteinidir (Yang ve Wang, ve ark. 2015; Laranjeira ve ark. 2011) GFAP, glial hücrelerde hücre iskeletinin yapısının ve mekanik dayanıklılığının korunmasında temel işlevlere sahip bir proteindir. GFAP'ın önemli bir işlevi de, etrafındaki nöronlar ve kan beyin bariyerini oluşturan hücreler için destek görevi oluşturmaktır (Eng ve ark. 2000).

Nörotravmatik koşullarda, iskemik inmelerde ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok durumda, astrositler, reaktif astrogliazis adı verilen morfolojik ve işlevsel değişikliklere uğramaktadır (Hol ve Pekny, 2015). Reaktif astrogliazis süreci, hem hastalık progresyonu hem de iyileşme süreci üzerinde önemli etkilere sahiptir (Seiferd ve ark. 2006). TNF- α , CNTF, IL-6, LIF ve diğer bazı sitokinlerin ise astrositleri aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olmuş astrositlerde aynı zamanda GFAP ekspresyonu artış göstermektedir (Hostenbach ve ark. 2014).

Genel olarak, çeşitli şekillerde gerçekleşen beyin hasarı sonucunda, hasar gören astrositlerin ürettiği GFAP yıkım ürünleri ve GFAP'ın BOS'a geçebildiği, sonrasında glenfatik drenaj veya muhtemelen bozulmuş kan-beyin bariyeri üzerinden kan dolaşımına girdiği düşünülmektedir (Plog ve ark. 2015). Olası bir biyobelirteç olarak GFAP, beyine yüksek derecede spesifiklik gösterdiği için avantajlı bir molekül adayıdır

(Shan ve ark. 2018). Retinada yer alan Müller hücreleri, retinal glia hücrelerinin büyük bir oranını oluşturmaktadır. Müller hücrelerinde normal koşullarda GFAP proteinini çok düşük oranda eksprese edilmektedir (Lupien ve ark. 2004). Müller hücrelerinin retinadaki önemli destek işlevlerinden birisi de, koni hücrelerinin görmeye ilişkin pigmentlerinin sentezi ve yenilenmesi ile ilişkilidir. Bu süreçte Müller hücreleri, all-trans retinolü 11-cis-retinole çevirerek koni fotoreseptörlerinin kullanımı için ekstraselüler boşluğa transfer etmektedir (Das ve ark. 1992). Bununla birlikte, retinada nöral dejenerasyon, retinal ayrılma, ışığa bağlı hasar, veya mekanik lezyonların varlığı halinde Müller hücrelerindeki GFAP ekspresyonunda artış görülmektedir (Rungger-Brändle ve ark. 2000). Tiroid hormonu ve glukokortikoidler gibi çeşitli nükleer reseptör hormonları da GFAP transkripsiyonunu etkileyebilmektedir (Zamoner ve ark. 2007).

Glial fibriler asidik protein (GFAP), merkezi sinir sisteminde yer alan astrosit hücrelerinde, ependimal hücrelerde; periferik sinir sisteminde ise miyelinlemeyen Schwann hücrelerinde ve enterik sinir sisteminde ise enterik glia hücrelerinde yer alan ve hücre iskeletini oluşturan bir tip III ara filament proteinidir (Bembea ve ark. 2011; Laranjeira ve ark. 2011; Yang ve Wang, ve ark. 2015). Bugüne kadar GFAP'ın 10 izoformu tanımlanmıştır. GFAP- α , GFAP- δ (GFAP- ϵ) ve GFAP- κ izoformları en çalışılmış izoformlardır. GFAP- α (İzoform - 1); çoğunlukla beyinde ve spinal kordda yaygın olarak bulunmakla birlikte periferik sinir sisteminde de eksprese edilmektedir (Reeves ve ark. 1989; Blechinger ve ark. 2007).

Otoimmün glial fibriler asidik protein (GFAP) astrositopatisi kavramı ise ilk defa Fang ve ekibi tarafından 2016 yılında tanımlanmış (Fang ve ark. 2016); ardından çeşitli araştırmalar da bu yeni sendromla ilgili bilgi sağlamıştır (Yang ve ark. 2017; Flanagan ve ark. 2017; Iorio ve ark. 2018; Long ve ark. 2018). GFAP astropatisi genellikle beyinde lineer perivasküler radyal gadolinyum tutulumunun eşlik ettiği BOSda lenfositik pleositoz ile seyreden kortikosteroide yanıtı meningoensefalomiyelit ve onun daha hafif formları olarak belirlenmiştir. (Fang ve ark. 2016; Yang ve ark. 2017; Flanagan ve ark. 2017; Iorio ve ark. 2018). GFAP astropatisi tespit edilen olguların serum BOS örneklerinde anti-GFAP IgG tespit edilmiştir (Flanagan ve ark. 2017).

GFAP astropatisi olgularının yaklaşık üçte birinde, sıklıkla NMDA-R antikorları olmak üzere eşlik eden başka otoantikörler tespit edilmiştir. Ek olarak, bazı olgularda

başta teratoma olmak üzere eşlik eden neoplaziler belirlenmiştir (Flanagan ve ark. 2017; Iorio ve ark. 2018; Long ve ark. 2018). Otoimmün GFAP astropatisi olgularına ait serum ve BOS örneklerinde başta anti-GFAP- α IgG olmak üzere GFAP otoantikorları tespit edilmiştir. GFAP sitozolik bir hücre iskeleti proteini olduğu için GFAP antikorlarının belirlenmesi teknik açıdan daha zor olmakla beraber; hücre bazlı testler, doku bazlı testler, IFA ve Western Blot, GFAP antikorlarının belirlenmesi için günümüzde önerilen tekniklerdir (Shan ve ark. 2018).

GFAP için bilinen en az 8 izoform mevcut olduğundan, olgu örneklerinde hücre bazlı testler ile bütün GFAP izoformlarının araştırılması, teknik açıdan zorluk taşımaktadır. Bununla birlikte, 102 olgu ile yapılan bir taramada, olguların tamamında anti-GFAP- α IgG pozitif olarak bulunurken; diğer izoformlar için daha düşük oranlar kaydedilmiştir ve Iorio ve ekibinin araştırmasında da benzer sonuçlarda elde edilmiştir (Flanagan ve ark. 2017; Iorio ve ark. 2018). Bununla beraber anti-GFAP- α IgG için negatif, ancak diğer izoformlar için pozitif olan olguların belirlendiği çalışmalar da bulunmaktadır ve bu durum farklı GFAP izoformlarına karşı antikorların olgularda daha detaylı araştırılmasının gerekliliğini vurgulamaktadır (Shan ve ark. 2018).

2.4.1.5. Anti-AGNA (anti-SOX1) Antikorları

Anti-glial nükleer antikoru (AGNA), serebellar Bergmann glia hücrelerinin çekirdeklerine bağlanmaktadır (Graus ve ark. 2005). Yapılan analiz çalışmalarının sonucunda AGNA antikorları ile ilişkili antijenin, DNA'ya bağlanan transkripsiyon faktörleri olan SOX protein ailesine ait SOX1 proteini olduğu belirlenmiştir (Wegner, 1999; Sabater ve ark. 2008). Bu nedenle AGNA antikoru, SOX-1 antikoru olarak da bilinmektedir.

SOX-1 antikoru, en çok küçük hücreli akciğer kanseri ile ilişkilendirilmiştir ve nörolojik semptomu olan veya olmayan hastalarda yüksek oranda gösterilmiştir (Güre ve ark. 2000; Graus ve ark. 2005). Bununla birlikte, SOX-1 antikorunun paraneoplastik sendrom oluşumunda doğrudan patojenik etkisi kanıtlanamadığından; AGNA (SOX-1) antikoru paraneoplastik bir antikordan ziyade, kanserle ilişkili bir onkonöral antikor olarak değerlendirilmektedir (Zuliani ve ark. 2007; Stich ve ark. 2012).

2.4.1.6. Anti-CRMP (CV2) Antikorları

CRMP5, yetişkinlerde MSS’de çeşitli bölgelerde gelişimsel olarak düzenlenen bir nöral protein ailesine aittir ve CV2 antikorları tarafından hedeflenmektedir (Veyrac ve ark. 2005). Periferik sinir sisteminde ise CRMP5, duyuşal nöronlar ve onların uydu hücrelerinde, aksonlar ve Schwann hücrelerinde yer almakta ve Schwann hücrelerinin farklılaşması ve akson onarımı gibi işlevlere sahiptir (Antoine ve ark. 2001; Camdessanché ve ark. 2012).

Anti-CV2/CRMP5 antikorları, paraneoplastik antikorlar olup; mikst sensorimotor polinöropati, limbik ensefalit, subakut serebellar dejenerasyon, üveit ve retinopati gibi hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (Antoine ve ark. 1993; Antoine ve ark. 2001; Ritzenthaler ve ark. 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu Alımı

Olgu alımı, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Bölümü Baş Ağrısı Polikliniği'ne başvuran ve modifiye edilmiş Dandy kriterlerine göre (Friedman ve ark. 2013) İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH) tanısı alan 18 yaş ve üzeri hastalar arasından gerçekleştirilmiştir. Araştırmaya dahil olan olgulara araştırma hakkında bilgi verilmiş ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu imzalatılmıştır.

Hastaların nörolojik muayeneleri gerçekleştirilerek öyküleri kaydedilmiştir. Hastaların hemogram ve rutin biyokimya testleri, tiroid fonksiyon testleri, antinükleer antikor (ANA) testleri, lupus antikoagülan, faktör V Leiden, homosistein, antifosfolipid antikor testleri, antitrombin III, Protein C, Protein S testleri, manyetik rezonans görüntülemeleri (MRG) ve manyetik rezonans venografileri (MRV) yapılmıştır. Değerlendirmeler sonucunda sekonder sebeplere bağlı olarak intrakraniyal hipertansiyon geliştiği belirlenen hastalar araştırmadan dışlanmıştır.

Araştırmaya dahil edilen hastaların yaş, cinsiyet, boy, kilo, ilk semptom sırasındaki yaşları, varsa eşlik eden hastalıkları, İİH ile ilişkili semptomları, nörooftalmolojik bulguları (papilödem, görme alanı, görme kaybı değerlendirmeleri), BOS açılış basıncı, rutin BOS testleri, OKB paternleri, ilaç ve varsa cerrahi tedavileri, hastanın tedaviye yanıtı ve varsa nüks bilgisi kaydedilmiştir.

Hastada semptomların iyileşmesini takiben en az 3 ay sonra papilödem saptanması ve/veya intrakraniyal basınç artışına bağlı diğer semptomların tekrarlaması nüks kriteri olarak belirlenmiştir.

Araştırmaya dahil edilen 20 adet kontrol olgusu ise 18-55 yaş arası, herhangi bir nörolojik hastalığı olmayan ve sigara kullanmayan sağlıklı gönüllüler arasından seçilmiştir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 10.02.2017 tarihli ve 03 sayılı toplantıda onaylanmıştır.

3.2. Serum ve Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Örneklerinin Alınması

Çalışmaya dahil edilen olgulardan venöz yolla 8.5 mililitrelik vakumlu tüplere alınan kanlar, santrifüj cihazında (Heraeus, Amerika) 4000 x g'de 10 dk süre ile santrifüj edilmiş ve serumlar ayrılmıştır.

BOS örnekleri ise, lomber ponksiyon (LP) işlemi ile; lateral dekübit pozisyonunda yatan hastadan L3-4 veya L4-L5 aralığından steril lomber ponksiyon iğnesi ile girilerek elde edilmiştir. BOS basıncı, mmH₂O cinsinden ölçüldükten sonra BOS steril tüplere aktarılmıştır.

Serum ve BOS örnekleri, steril eppendorf tüplerde deney zamanına kadar - 80°C'de saklanmıştır.

3.3. Deney Hayvanları

Çalışmada 2 adet 10 aylık erkek Sprague Dawley sıçan kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan hayvanlar, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı'ndan temin edilerek bakımları yine burada gerçekleştirilmiştir. Hayvanların barınma koşulları; polikarbonat kafeste, kafes başına 2 hayvan olacak şekilde ve ortam koşulları 21°C'de 12 saat gündüz, 12 saat gece periyodu olacak şekilde düzenlenmiştir. Diyetleri ise % 18 oranında protein içeren standart pellet sıçan yemi ve normal musluk suyu ile herhangi bir kısıtlama olmadan gerçekleştirilmiştir. Hayvanların yem ve su kontrolleri, talaşlarının temizliği, ağırlıkları ve genel sağlık durumları, sakrifiye edilecekleri güne kadar günlük olarak takip edilmiştir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.03.2017 tarihli toplantıda onaylanmıştır.

3.4. İmmünohistokimyasal Boyamalar

3.4.1. Perfüzyon

Çalışmalar için gerekli beyin kesitlerinin elde edilmesi için 10 aylık erkek Sprague Dawley sıçanlara 90/10 mg/kg oranında hazırlanan ketamin/ksilazin karışımı, intraperitoneal enjeksiyon yoluyla uygulanarak anestezi işlemi gerçekleştirilmiştir. Derin anestezi altında giren hayvan, buz üzerine alınarak kardiyak perfüzyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Kalp üzerinde üzerinde sol ventrikülden iğne ile giriş yapılarak serum yoluyla 4°C'de bekletilmiş serum fizyolojik solüsyonu gönderilmeye başlanmış

ve ardından sağ atrium insize edilerek kanın uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sağ atriumdan uzaklaşan kan tamamen boşaldıktan ve boşalan sıvı serumla aynı rengi aldıktan sonra hayvan dekapite edilmiştir ve beyin bütün olarak kafatasından çıkarılmış, +4°C'deki PBS ile yıkanmıştır.

Sonrasında hemisferler ayrılarak her bir hemisfer, PBS içerisinde hazırlanan ve filtre edilmiş %4'lük paraformaldehit (PFA) solüsyonu içeren falkonlara aktarılmıştır. PFA ile bir gün süre ile +4°C'de inkübasyon uygulanarak fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Sonrasında dokular kriyoproteksiyon işlemi için PBS içerisinde hazırlanarak filtre edilmiş olan %40'lık sukroz çözeltisi içerisine aktarılmıştır ve +4°C'de iki gün süre ile tutulmuştur. İnkübasyon sonrasında beyin dokuları, dondurulmak üzere doku boyutuna uygun kasetlerin içerisine Tissue-Tek® OCT solüsyonu yardımı ile (Sakura Finetek, Kaliforniya, ABD) yerleştirilmiştir. Daha sonra kasetler izopentan içerisinde sıvı azot tankına daldırılarak dondurulmuş ve dokular kesitlerin alındığı tarihe kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.4.2. Beyin Kesitlerinin Elde Edilmesi

Beyin dokularından kesit elde etme işlemi, Leica CM1950 model kriyostat cihazı (Leica Biosystems, Almanya) ile yapılmıştır. Cihazın ortam sıcaklığı -24 °C, başlığın sıcaklığı ise -22 °C olarak ayarlanarak, hemisferlerden sagittal olarak 7 µm kalınlığında alınan kesitler, pozitif yüklü lamalar üzerine aktarılmıştır. Her bir lam üzerine ikişer adet kesit alınmıştır. Lamlar, deney aşamasına kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.4.3. İmmünohistokimya (İHK)

İmmünohistokimyasal boyamalar için literatürde daha önce kullanılmış olan protokoller uygulanmıştır (Planagumà ve ark. 2014; Gastaldi ve ark. 2017). Kullanılan protokol aşağıda özetlenmiştir.

Öncelikle kesitler oda sıcaklığında 10 dakika boyunca çözünmeye bırakılmıştır. Daha sonra kesitler PBS (Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi) içeren şalelere aktarılmıştır. Kesitlere PBS ile 5 dk yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi sonrasında kesitlerin etrafı hidrofobik kalem ile çizilmiştir (Vector Labs, Amerika).

Daha sonrasında kesitler, kesit başına 200 µl olacak şekilde %0.3'lük H₂O₂ / PBS çözeltisi ile 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kesitlere üçer defa PBS ile 5 dk yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Bloklama işlemi için kesit başına 200 µl olacak şekilde PBS içerisinde hazırlanan %5'lik keçi serumu (Gibco, ABD) uygulanmış ve oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında kesitler PBS ile yıkanmıştır.

Sonrasında kesit başına 200 µl olacak şekilde %5'lik keçi serumu içerisinde 1:100 oranında dilüe edilen hasta ve kontrol ve pozitif kontrol serumları, primer antikor olarak uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak glisin, NMDA reseptörü, LGI1 ve ANA antikor pozitif olan 4 olgu serumu kullanılmıştır. Sağlıklı 2 kontrolden alınan serum kontrol olarak kullanılmıştır. Teknik kontrol olarak ise sadece sekonder antikorun uygulandığı kesitler kullanılmıştır.

Kesitler inkübasyon chamberı içerisinde gece boyu +4°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında yine PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Sekonder antikor olarak, %5'lik keçi serumu içerisinde 1:1000 oranında dilüe edilerek hazırlanan biyotinli keçi anti-insan sekonder antikor (Vector Labs; BA-3000, Kaliforniya, ABD) uygulanarak oda sıcaklığında 2 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon sırasında Avidin-Biyotin Kompleks (ABC) karışımı (Vectorlabs; PK-6100, Kaliforniya, ABD) kit üreticisinin sağladığı protokole göre hazırlanmıştır. İkinci antikor, PBS ile yıkanmıştır. Ardından kesitler ABC karışımı ile 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

PBS ile yıkamadan sonra, 30 saniye süre ile ön yıkama solüsyonunda (5ml %10'luk Triton-X + 95 ml PBS) yıkanmıştır ve sonrasında DAB (3,3'-Diaminobenzidin) ile boyanma işlemi gerçekleştirilmiştir: 25 ml distile su içerisinde çözünen 125 mg DAB (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya); 85 ml PBS, 10 ml TRİS solüsyonu; pH:7.5 ve 5ml %10'luk Triton-X içeren şalelere süzülerek eklenir ve kesitler şaleye konulmadan hemen önce 12.5 µl %30'luk H₂O₂ solüsyonu karışıma eklenir. DAB, ışığa hassas bir kimyasal olduğu için şaleler inkübasyon boyunca alüminyum folyo ile kapatılmıştır.

Kesitlerin boyanma miktarı mikroskopta kontrol edilerek istenilen boyanma miktarı elde edildiğinde kesitler PBS içeren temiz şalelere alınarak 2 kere yıkanmıştır.

Daha sonrasında kesitlere Hematoksilen (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) uygulanmıştır ve sonrasında kesitler seri olarak musluk suyu içeren şalelerden geçirilerek sonrasında PBS içeren şalelere aktarılmıştır.

Kesitler %50'lik, %70'lik, %96'lık ve saf etanol içeren şalelerde her bir konsantrasyonda ikişer defa ve 30'ar saniye tutulmak suretiyle seri alkol dilüsyonlarından geçirilerek dehidrasyonları sağlanmıştır.

Kesitler son olarak ksilen içeren bir şalede 30 saniye tutularak temiz ksilen içeren bir şaleye aktarılmıştır. Daha sonra kesitlerin üzeri, DPX (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) kullanılarak lamel ile kapatılmıştır.

Kesitler, mikroskopta (Leica, Wetzlar, Almanya) Leica Application Software v4.12 yazılımı kullanılarak görüntülenmiştir ve boyanma paternleri değerlendirilmiştir. Hasta örneklerindeki boyanma paternleri, sağlıklı kontroller ile kıyaslanmıştır. Değerlendirme ise 0 ile 4 arasında değişen bir skala ile (0: antikor bağlantısı yok, 4: çok kuvvetli bağlanma var) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.5. İmmünopresipitasyon

3.5.1. Nöroblastoma Kültürü

İmmünopresipitasyon çalışmaları, SH-SY5Y (insan nöroblastoma) hücre hattı kültürü (ATCC, ABD) kullanılarak yapılmıştır. SH-SY5Y hücreleri, besiyeri olarak DMEM kullanılarak, 10 cm'lik petrilere hücre sayısı $5,5 \times 10^6$ olacak şekilde her olgu için 4'er adet olarak yapılmıştır. Petrilerin inkübasyonları 37 °C ve % 5 CO₂'li ortamda gerçekleştirilmiş ve kültür işlemi hücreler konfluent olduğunda tamamlanmıştır.

3.5.2. Hücre Lizatının Hazırlanması

Buzun üstüne yerleştirilen petrilere besiyerleri çekildikten sonra PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra içerisinde Proteaz İnhibitör Kokteyli (PIK) içeren lizis tamponu, her bir 10 cm'lik petriye 1 ml olacak şekilde eklenmiş ve çalkalayıcıda + 4°C'de inkübe edilmiştir.

Lizis tamponu; 150 mM NaCl, 50 mM Tris, 0.5 mM EDTA ve %1'lik Triton X-100 ile hazırlanıp filtre edilmiş ve sonrasında PIK eklenerek pH:7.4'e ayarlanmıştır.

Hücreler scraper ile kaldırılmış ve eppendorf tüplere aktarılmıştır. Sonrasında mikrosantrifüjde + 4°C’de en yüksek devirde 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar alınarak yeni soğuk tüplere ve buzun üstüne aktarılmıştır.

3.5.3. Sefaroz Boncukların Hazırlanması

Çalışmada Protein G Sepharose® boncuklar kullanılmıştır (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya). Öncelikle boncuklar, roller çalkalayıcıda süspanse edilmiştir. 1 ml hücre lizati için 100 µl boncuk kullanılmıştır. Boncuklar,, kesik pipet ucu kullanılarak alınmış ve istenilen toplam boncuk miktarı bir falkon tüpe aktarılmıştır. Toplam boncuk miktarının yaklaşık 4 katı distile su eklenmiş ve süspanse edilmiştir. Daha sonra bir dizi santrifüj işlemi gerçekleştirilerek, etanol boncuklardan uzaklaştırılmıştır. Sonrasında boncuklar 8000 x g’de 5 dakika + 4°C’de santrifüj edilmiş ve süpernatant, boncukları karıştırmadan uzaklaştırılmıştır.

Daha sonra bu işlem PBS ile ve sonrasında PİK içermeyen lizis tamponu ile 3’er defa yıkanmıştır. Ardından PİK içeren PBS ile yıkama işlemi tekrar 3 defa gerçekleştirilip son yıkama işleminden sonra PİK içeren lizis tamponu eklenmiştir.

3.5.4. Pre-Clear Protokolü

Boncuklardan her bir petriden elde edilen lizat başına 30 µl eklenerek bir saat boyunca + 4°C ‘de inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında ise 8000 x g’de + 4 °C’de 5 dk santrifüj uygulanmış ve süpernatant, 1.5 ml’lik soğuk eppendorflara aktarılmıştır.

3.5.5. İmmünopresipitasyon (İP)

Ön yıkama işlemi yapılmış olan lizata 20 µl serum eklenerek + 4 °C’de gece boyu inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Ertesi gün her bir petri için 50-60 µl boncuk eklenmiş ve çalkalayıcıda 1 saat boyunca + 4 °C’de inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası örnekler, 3000 x g’de 2 dk + 4 °C’de santrifüj edilmiştir ve pelletin varlığı kontrol edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılmıştır. PBS ile 1 defa yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında süpernatant atılarak pellet, - 80 °C’de saklanmıştır.

3.6. Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) Çalışmaları

3.6.1. Proteinlerin Kütle Spektrometresi Analizine Hazırlanması

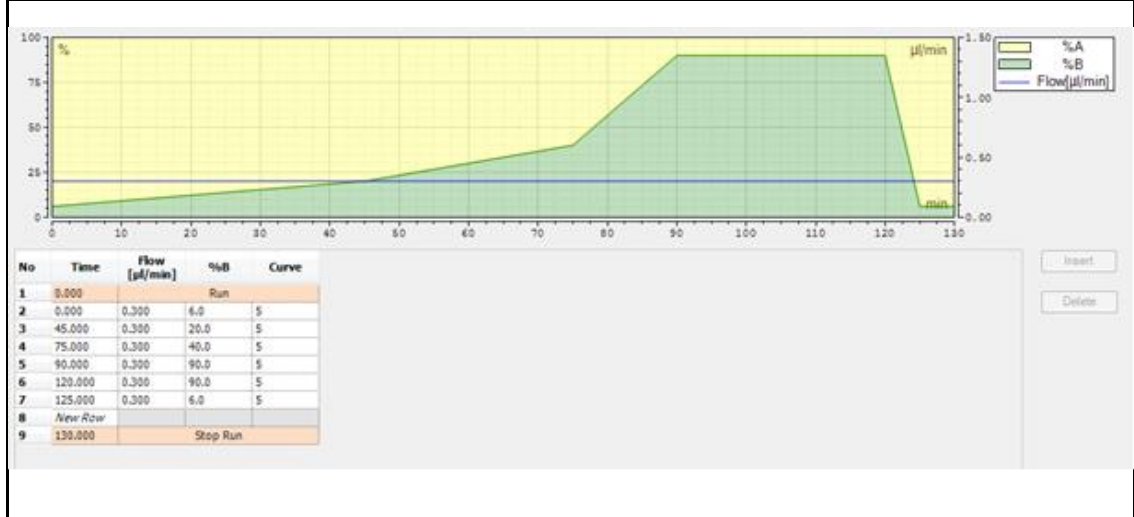
Proteinlerin kütle spektrometresine hazırlanması için FASP (Filter Aided Sample Preparation) protokolü kullanılmıştır. FASP protokolü özetle şu şekilde uygulanmıştır. İçeriği %4 (w/v) SDS, 100 mM Tris-HCl, 0.1 M DTT'den oluşan SDT lizis tamponu hücre ya da doku pellet ağırlığının 10-katı olacak şekilde örnek üzerine eklenmiştir. Sonrasında örnekler 95°C'de 10 dk aralıklarla vortekslenerek ısıtılmıştır. Isıtma işlemi sonrasında sonikasyonlu su banyosunda 5 dk boyunca sonikasyona tabi tutulan örnekler 15000 x g'de, 4 °C'de 15 dk. santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant, temiz bir tüpe aktarılmıştır. Temizlenmiş bu protein örneği, triptik kesim işlemine tabi tutulmuş ve peptit konsantrasyonu Lowry assay yöntemi kullanılarak, NanoDrop1000 cihazı ile (Thermo Scientific, ABD) ölçülmüştür.

3.6.2. Sıvı Kromatografisi (LC) Parametreleri

Peptitlerin ayırımı Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 Series RSLC marka bir nano-pompa ile (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, ABD) gerçekleştirilmiştir. Bu nano pompa, Thermo Scientific Ultimate 3000 Series TCC-3000RS kolon kompartmanları ile donatılmış olup; Dionex UltiMate 3000 Series RS oto-örnekleme ünitesine (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, ABD) bağlıdır. Sistemin tamamı Xcalibur 4.0 yazılımı ile (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, ABD) kontrol edilmiştir. Her bir analiz öncesinde örnekler, 5 mm × 300 µm i.d., 5 µm, 100 Å boyutlarındaki bir C18 materyali içeren yakalama kolonuna (Thermo Scientific, Massachusetts, ABD) dakikada 5 mikrolitre hızla ve %0.05 (hacim/hacim) trifloroasetik asit ve %1 asetonitril içeren çözelti yardımı ile yüklenmiştir. Örnek, yakalama kolonu sonrasında boyutları 15 cm × 75 µm olan ve 2 µm, 100 Å çapında C18 materyali ile paketlenmiş Acclaim PepMap RSLC (Thermo Scientific, Amerika) marka analitik bir kolona aktarılmış ve peptit elüsyonu iki farklı mobil faz (A ve B) kullanılarak yapılmıştır. Mobil faz A, HPLC kalitesinde su ile hazırlanmış %0.1 (hacim/hacim)'lik formik asit içerirken; mobil faz B HPLC kalitesinde su ile hazırlanmış %0.1 (hacim/hacim)'lik asetonitril içermektedir. Peptitler 130 dk. süreyle ve dakikada 0.3 mikrolite akış hızıyla ayrıştırılarak Q Exactive™ kütle spektrometresine (Thermo Scientific, Amerika) gönderilmiştir. Elüsyon için uygulanan gradyan adımları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3-1: nHPLC’de analitik kolona uygulanan mobil fazların gradyanları

Uygulama aralığı (Dakika)	Mobil B fazı yüzdesindeki artış	Uygulanan Gradyan Tipi
0-45	6-20	Lineer
45-75	40	Lineer
75-90	90	Lineer
90-120	90	Sabit
120-125	6	Hızlı düşüş
125-130	94	A fazı ile yıkama



Kolon sıcaklığı 40°C’de tutulmuş ve her analizde 2 mikrolitre örnek enjeksiyonu yapılmıştır. Peptitlerin pozitif yük okuma modunda iyonizasyonunu sağlayabilmek için ısıtılmış bir elektrosprey iyonizasyon kaynağı (HESI) kullanılmıştır. Kullanılan cihaz parametreleri şu şekildedir: +2.3 kV voltaj; 300°C kapiler sıcaklığı, sheet gaz ve

auxiliary gaz akışı 50 ve 30 ünite civarında tutulmuş ve S ve RF lens seviyeleri 50'ye ayarlanmıştır.

3.6.3. Data-Bağımlı Veri Toplama

Data bağımlı veri toplama işlemi Q Exactive™ kütle spektrometresi cihazı ile yapılmıştır. Tarama işlemi, başlangıçta Full MS spektrum modunda şu parametreler ile yapılmıştır: Çözünürlük 70.000, tarama aralığı 400-200 m/z, 3×10^6 hedef otomatik kazanım kontrolü (AGC), 60ms maksimum enjeksiyon zamanı ve sentroid data tipi. MS/MS analizi için MS sonucuna bağlı olarak en yüksek 10 prekürsör iyon seçilip (TOP10) ve bu iyonlar yüksek enerjili kollizyon ayırımı (HCD) sonrası okutulmuştur. HCD parametreleri ise şu şekildedir: Çözünürlük 17.500, 1×10^5 AGC, 100 ms maksimum enjeksiyon zamanı, 2 m/z izolasyon penceresi, NCE 27 ve sentroid spektrum data tipi olarak toplama. Cihazın kalibrasyonu pozitif moda her bir enjeksiyon öncesi standart pozitif kalibrasyon solüsyonu (Thermo Scientific, Massachusetts, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Eşleştirilmemiş ve tek yüklü iyonlar MS/MS analizinden çıkartılıp dinamik dışlama otomatik olarak yapılmıştır.

3.6.4. Peptid ve Protein Tanımlama

LC-MS/MS analizi sonucunda elde edilen işlenmemiş veriler, protein tanımlama amaçlı Proteome Discoverer 2.2 (Thermo Scientific, ABD) yazılımı ile analizi edilmiştir. Bu amaçla şu parametreler kullanılmıştır: Peptid kütle toleransı 10ppm, MS/MS kütle toleransı 0.2Da, kütle doğruluğu 2ppm, tolere edilen yanlış kesim 1, minimum peptid uzunluğu 6 amino asit, sabitlenmiş değişimler sistein karbamidometilasyonu, sabit olmayan değişimler metiyonin oksidasyonu ve asparajinin deaminasyonu. Her bir protein için tanımlanan minimum peptid sayısı 2 olarak kabul edilmiştir ve elde edilen protein verileri, UniProtKB/Swiss-Prot data bankasında (<http://www.uniprot.org>) bulunan organizma özel verilere göre araştırılmıştır. Proteinlerin fonksiyonel ve biyolojik gruplandırılması Proteome Discoverer 2.2 uzantısı olan Gene Ontology verilerine göre yapılmıştır.

Protein-protein etkileşimlerinin belirlenmesi için yapılan yolak analizlerinde p değeri < 0.05 istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiş ve proteinler rölatif diferansiyel fark FC'nin (fold change) minimum 2 kat olduğu ($FC \leq 2$; $FC \geq 2$) proteinler arasından seçilmiştir.

3.7. Hücre Bazlı Deneyler

Hasta ve kontrol olgularına ait serum ve BOS örnekleri ile GFAP antikoru için hücre bazlı deneyler (cell-based assays) gerçekleştirilmiştir. Bunun için önce HEK293 (İnsan Embriyonik Böbrek 293, ATCC; CRL1573, Virginia, ABD) hücrelerinin kültürü gerçekleştirilmiştir:

Hücre kültürünün birinci günü, 6 kuyulu petrilerin her bir kuyucuğu için 3'er adet lamel, PLL(Poli-L-Lizin) yardımıyla yapıştırılmıştır. PLL kurutulduktan sonra HEK293 hücreleri 3×10^5 adet hücre/kuyu olacak şekilde ekilir ve besiyeri olarak DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Sigma; D6429), FBS ve Penisilin-streptomisin-antimikotik (PSA) içeren besiyeri eklenmiştir. Petriler %5 CO₂'lik 37°C sıcaklıktaki inkübatörde gece boyu inkübasyona bırakılmıştır.

Hücre kültürünün ikinci günü, hücrelerin yapısı ve canlılığı kontrol edildikten sonra transfeksiyon için karışım hazırlanmıştır. Hücreler 10cm'lik petrilerin içerisine %10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin içeren DMEM ile 1:3 oranında dilüe edilmiştir.

GFAP için transfeksiyon işleminde Green Fluorescent Protein (GFP) ekli pCMV6-AC-GFAP- α -GFP plazmid (OriGene, Maryland, ABD) kullanılmıştır. 5 μ l GFAP-GFP, 500 μ l Jet Prime tamponu ile karıştırılmış, sonrasında 10 μ l daha Jet Prime tamponu eklenerek tekrar karıştırılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş, sonrasında bu bir gün öncesinde 1:3 oranında dilüe edilen hücrelerin üzerine eklenmiştir. Besiyeri 4 saat sonra antibiyotik içermeyen DMEM ile değiştirilerek, hücreler 96'kuyuluk petrilere 100 μ l olacak şekilde aktarılmıştır. Deneyde kontrol olarak AQP4-GFP plazmidi ile transfekte edilen HEK293 hücreleri kullanılmıştır.

48 saat sonra, besiyeri aspire edilmiş ve 100 μ l PBS ile her seferinde 2 dk olacak şekilde 2 defa yıkanmıştır. Hücrelerin fiksasyonu için, %4'lük PFA, kuyu başına 50 μ l olarak eklenmiş ve 15 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Ardından besiyerinden PFA uzaklaştırılarak yine 2 defa yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Hücrelerin permeabilizasyonu için %0.2'lik Triton X-100, kuyu başına 50 μ l eklenmiş ve oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilmiştir. Ardından yine 2 defa yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında hücreler 100 μ l %10'luk normal keçi serumu ile oda sıcaklığında 30 dk inkübe edilmiştir.

Olgu ve kontrol örnekleri, serumlar 1:200, BOS örnekleri 1:4 dilüsyonda 50'şer µl eklenmiş ve 45 dk boyunca oda sıcaklığında inkübasyon sağlanmıştır. Deneyde pozitif kontrol olarak GFAP antikoru pozitif 2 meningoensefalit hasta serumu kullanılmıştır. Yıkama işlemlerinin ardından sekonder antikor (keçi anti-insan IgG (Invitrogen, A-21090, Kaliforniya, ABD), 50 µl ve PBS içinde 1:200 dilüsyon ile eklenmiştir 45 dk oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 2 defa PBS ile yıkama işlemi yapılmış ve son olarak 60 µl PBS eklenmiştir. Daha sonra mikroskop ile görüntüleme işlemi gerçekleştirilerek boyanma paternleri skorlanmıştır.

Örneklerin pozitif olarak değerlendirilmesinde dilüsyonlarda serum için 1:200, BOS içinse 1:4 cut-off değer olarak belirlenmiştir. Değerlendirme sonucunda pozitif olarak belirlenen vakaların örnekleri, 1:10 dilüsyon ve 30 dk inkübasyon ile donmuş maymun serebellum kesitleri içeren ticari İİFT kiti ile (FA 1111-1005, EUROIMMUN, Lübeck, Almanya) immünohistokimya çalışmaları ile test edilmiştir. Sekonder antikor olarak kitin içinde yer alan FITC (Floresan izosiyanat) konjuge anti-insan IgGAGM kullanılarak astrositik boyanma paternleri değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak 2 GFAP meningoensefalitli hastadan, negatif kontrol olarak ise sağlıklı bir kontrolden elde edilen serum örneği kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özetleri

64 adet İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon olgusu, başlangıçta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu olgulardan 6 tanesinin, daha sonraki klinik takiplerinde ve değerlendirmelerinde sekonder nedenlere bağlı olarak intrakraniyal hipertansiyon geliştirdiği belirlenerek bu olgular araştırmadan dışlanmıştır. Bu 6 olgunun 2 tanesinde sistemik lupus eritematozus (SLE) bağlı intrakraniyal hipertansiyon geliştiği, 2 olgunun intrakraniyal hipertansiyonu açıklayabilecek başka nörolojik bozukluklara sahip olduğu, 1 olgunun inflamatuvar profilde birçok başka hastalığa sahip olması, 1 olgunun ise sonraki LP işlemlerinde yüksek basınç belirlenememesi nedeniyle bu olgular, çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya dahil edilen olgulara ilişkin bazı demografik ve klinik bilgiler, Tablo 4.1’de özetlenmiştir.

58 İİH olgusuna ait ortalama BKİ $32,5 \text{ kg/m}^2$ iken; olgulardan 52 tanesi kadın; 6 tanesi erkektir. Olguların % 14’ü, papilödemsiz İİH olarak kaydedilmiştir. % 62,5’inde bulanık görme, % 40’ında pulsatil tinnitus, % 18,2’sinde diplopi şikâyetleri; % 9,1’inde ise kraniyal sinir patolojisi kaydedilmiştir.

Olguların %31,1’inin OKB paterni pozitifdir. Bu olguların 4 tanesinin, takiplerinde tekrarlanan LP’lerinde değişkenlik gösteren bir OKB paterni gösterdiği gözlemlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen ilaç tedavisine dirençli 3 olgu için cerrahi tedavi yöntemleri uygulanmıştır. Olguların en son poliklinik kontrol tarihleri itibarıyla %71,4’ünün tedaviye iyi yanıt verdiği belirlenmiştir. Çalışma grubumuzun % 30,4’ünde ise relaps ortaya çıkmıştır.

Olgularda İİH’ye eşlik eden diğer sendromlara ilişkin bilgiye 55 olgu için ulaşılmıştır. Buna göre; olguların % 51,8’inde eşlik eden başka sendromlar da mevcuttur. Eşlikçi hastalıkları olduğu kaydedilen bu 29 hastadan 7 tanesinin hastalıklarının inflamatuvar profilde olduğu kaydedilmiştir. Bu hastaların eşlikçi hastalıkları; Miyasteni, tip 1 diabetes mellitus (DM), kronik vajinit ve üveit, pemfigus vulgaris, astım, tip 2 DM ve Hashimoto tiroiditi olarak kaydedilmiştir.

Tablo 4-1: Araştırmaya dahil edilen İİH olgularına ilişkin demografik ve klinik veriler.

Toplam İİH Olgusu		n = 58
Cinsiyet		
	Kadın	n = 52
	Erkek	n = 6
Semptom başlangıç yaşı		31,1 ± 8,4
BKİ (kg/m ²)		32,5 ± 7,3
Hastalık süresi (ay)		127,7 ± 307,9
Takip süresi (ay)		46 ± 43
BOS Açılış Basıncı (mmH ₂ O)		399,7 ± 158,8
Papilödem		86%
Görsel bozukluklar		
	Sadece vizyon kaybı	1,9%
	Sadece görme alanı defekti	53,8%
	Vizyon kaybı + görme alanı defekti	23,1%
	Görsel bozukluk yok	21,2%
İlk semptom		
	Baş ağrısı	83,0%
	Bulanık görme	13,2%
	Diğer	3,8%
Pozitif OKB paterni		31,1%
Nüks		30,4%

Beden kitle indeksi, BOS: Beyin-omurilik sıvısı, OKB: Oligoklonal bant. Semptom başlangıç yaşı, ilk semptom ve BOS açılış basıncı; 55, BKİ; 50, hastalık süresi, takip süresi ve papilödem; ; 57, görsel bozukluklar; 52, OKB paterni; 45, nüks bilgisi ise 56 olgu için mevcuttur.

Çalışmaya dahil edilen 58 olgudan toplamda 63 serum örneği ve 13 BOS örneği elde edilmiştir. Elde edilen serum örneklerinden 45 tanesi olguların atak döneminde; 18 tanesi ise olguların remisyon döneminde alınmıştır. 13 olgunun hem serum hem de BOS örneği mevcuttur. 4 olgunun ise atak ve remisyon dönemlerinde olmak üzere farklı tarihlerde serum örnekleri alınmıştır.

4.2. Antinöronal Membran Antikoru Taraması Sonuçları

Olgu serum ve BOS örnekleri, aynı zamanda otoimmün ensefalit paneli ile (EUROIMMUN, Lübeck, Almanya) İİFT (İndirekt İmmünfloresan Testi) yöntemiyle test edilmiştir. Bu analizlerin sonucunda; NMDA ve AMPA tipi glutamat reseptörlerine,

LGI1, CASPR2 ve GABA_B reseptörlerine karşı test edilen olgu örneklerinin hiçbirinde antikor pozitifliği tespit edilememiştir.

4.3. İmmünohistokimya (İHK)

Kortikal ve hippocampal nöron kültürleri ile yapılan önceki çalışmada nöronal yüzey boyanma paterni pozitif saptanan 11 olgunun serumuna ait ortak bir IgG bağlanma paterni saptanması amacıyla sıçan beyni kesitleri üzerinde immünohistokimya boyamaları gerçekleştirilmiştir (Altıokka-Uzun ve ark. 2017). İmmünohistokimya çalışmalarında pozitif kontrol olarak Glisin, NMDA reseptörü, LGI1 ve ANA antikorları pozitif olan 4 olgu serumu kullanılmıştır. Sağlıklı 2 kontrol serumu ise kontrol olarak kullanılmış, teknik kontrol olarak ise sadece sekonder antikor uygulanan kesitler kullanılmıştır.

Nöron kültürü çalışmasında pozitif boyanma paterni kaydedilen 11 olgu serumunun İHK ile çalışılan (Altıokka-Uzun ve ark. 2017) 9 tanesinden 8 'i ile çeşitli antinöronal antikor boyanma paternleri saptanırken; sağlıklı kontrol serumu uygulanan kesitlerde herhangi bir IgG boyanma paterni kaydedilmemiştir. Yapılan immünohistokimya çalışmalarına ilişkin değerlendirmeler, Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4-2: İmmünohistokimya çalışması yapılan İİH olgularına ait değerlendirmeler.

Olgu No.	Açıklama	Nöronal Boyanma Paterni ^a
6	Serebellumda ak maddede boyanma	+++
8	Serebellar Purkinje hücrelerinde ve laminar tabakada sitoplazmik boyanma ve etrafından punktat boyanma paternleri, çizgisel boyanma paternleri, moleküler tabakada diffüz ve sinaptik boyanma	+++
12	Sitoplazmik boyanma	++
13	Yaygın sitoplazmik boyanma, Purkinje hücreleri etrafında boyanma	+++
14	Sitoplazmik yaygın boyanma, serebellumda moleküler tabakada diffüz boyanma paterni	+
35	Boyanma yok	+
45	Serebellar Purkinje hücrelerinde sitoplazmik boyanma ve moleküler tabakada boyanma	+
52	Serebellar Purkinje hücrelerinde sitoplazmik boyanma	+
57	Serebellar Purkinje hücrelerinde sitoplazmik boyanma ve moleküler tabakada boyanma	++

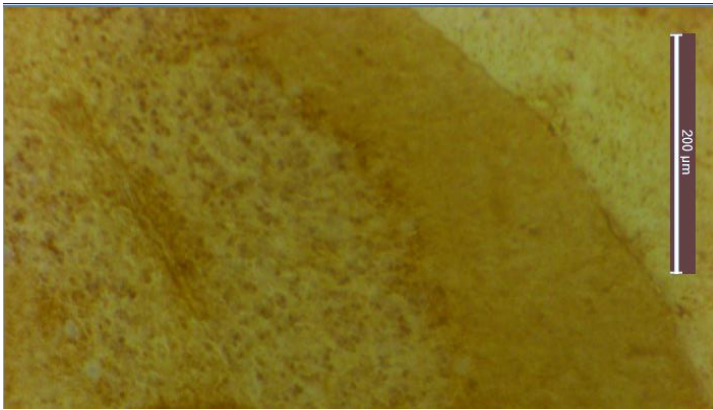
a: Altıokka-Uzun ve ark. 2017 çalışmasında nöronal ve hippocampal hücre kültürü üzerinde nöronal yüzey boyanma paterni pozitif olan olgular, boyanma şiddetine göre belirtilmiştir.

Nöron kültüründe boyanma paterni hafif pozitif olan 1 (Olgu No:35) olguda, immünohistokimya ile herhangi bir antikor reaktivitesi görülmemiştir. İmmünohistokimya çalışmaları, validasyon amaçlı olarak iki defa tekrarlanmıştır. İlginç bir bulgu olarak, önceki çalışmada nöronal yüzey boyanma paterni pozitif bulunan İİH serumları ile (Altıokka-Uzun ve ark. 2017) yapılan immünohistokimya çalışmalarında ortak bir boyanma paterni saptanmıştır (Tablo 4.2).

İmmünohistokimya çalışmalarında görülen pozitif boyanma paternine ilişkin bir örnek olarak, olgu 8'in serumu ile yapılan boyamaya ait görüntüler, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4-1: Sıçan beyni üzerinde 1:100 dilüe edilen 8 numaralı olgu serumu ile hipokampal CA bölgelerinde görülen boyanma paterni, 40 x objektif ile. (DAB; kahverengi renkte, hematoksilin; mor renkte)



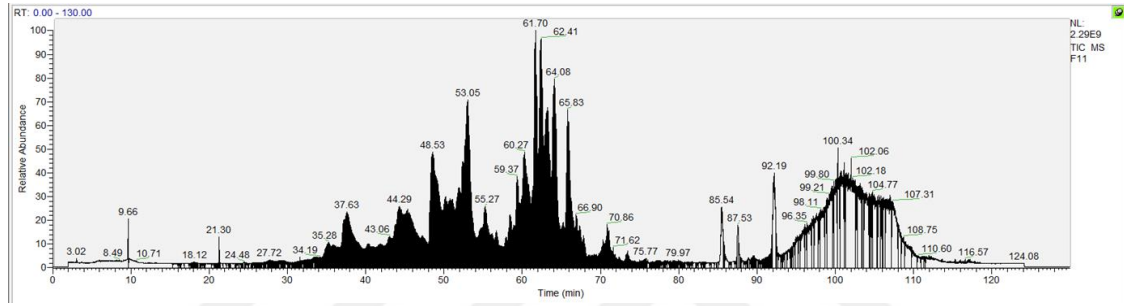
Şekil 4-2: Sıçan beyni üzerinde 1:100 dilüe edilen 8 numaralı olgu serumu ile serebellar Purkinje hücrelerinde bölgelerinde görülen boyanma paterni, 20 x objektif ile. (DAB; kahverengi renkte, hematoksilin; mor renkte)

4.4. Hedef Proteinin Belirlenmesi

4.4.1. Sıvı Kromatografisi – Kütle/Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS)

Nöronal yüzey boyama çalışmalarında en yüksek pozitif boyanma paterni gösteren (Tablo 4.2) 5 İİH olgusu ve yüzey boyanma paterni negatif 1 İİH olgusundan immünpresipitasyon yöntemi ile sefaroz boncuklar ile izole edilen antijen-antikor kompleksleri, Sıvı Kromatografisi – Kütle/Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemi ile analiz edilmiştir.

LC-MS/MS analizi yapılan bir İİH olgusuna örnek bir tüm iyon kromatogramı, şekil 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4-3: 26 numaralı İİH olgusunun LC-MS analizine ait tüm iyon kromatogramı.

LC-MS analizlerinde; çalışmamızın hedefi antikor pozitif saptanan tüm İİH olgularında ortak olan ve nöron membranında yer alan proteinlerin saptanması idi. Nöronal yüzey boyanma paterni pozitif olan 5 olguda ortak olarak bulunup; yüzey boyanma paterni negatif olan 1 İİH olgusunda ve sağlıklı kontrolde bulunmayan ortak bir aday protein, yapılan LC-MS analizleri sonucunda belirlenememiştir.

Bu nedenle, 5 olgunun içerisinde en fazla oranda ortak bulunan ve negatif ya da kontrollerde bulunmayan; buna ek olarak hücre membranında eksprese edilen proteinler, analizlerin içerisinde manuel biçimde aday protein olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, hücre membranında eksprese edilen Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının alfa alt birimleri aday protein olarak seçilmiştir.

Ayrıca; aynı olguların analizlerinin değerlendirilmesinde belirlenen ve iyi tanımlanmış bir otoimmün ensefalit antijeni olan GFAP da aday protein olarak seçilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4-3: LC-MS analizleri sonucunda hastalarda en yüksek oranda ortak olarak bulunan ancak negatif ve sağlıklı kontrollerde bulunmadığı belirlenen proteinler

B3KV59	cDNA FLJ16157 fis, clone BRAWH2006479, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-3 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B3KNQ8	cDNA FLJ30174 fis, clone BRACE2000975, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-3 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B3KRI1	cDNA FLJ34298 fis, clone FEBRA2006357, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-2 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B3KSY7	cDNA FLJ37309 fis, clone BRAMY2016611, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-3 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B3KW93	cDNA FLJ42590 fis, clone BRACE3009708, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-2chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B3KX35	cDNA FLJ44610 fis, clone BRACE2012317, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-2 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B7Z1N5	cDNA FLJ53830, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-1 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
Q58I23	Na ⁺ /K ⁺ transporting ATPase alpha 1 polypeptide (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ATP1A1 PE=2 SV=1
Q53ES0	Na ⁺ /K ⁺ -ATPase alpha 3 subunit variant (Fragment) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1

P05023	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1 OS=Homo sapiens GN=ATP1A1 PE=1 SV=1
H0Y7C1	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ATP1A2 PE=1 SV=1
B1AKY9	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2 OS=Homo sapiens GN=ATP1A2 PE=1 SV=1
P50993	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2 OS=Homo sapiens GN=ATP1A2 PE=1 SV=1
M0R116	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 OS=Homo sapiens GN=ATP1A3 PE=1 SV=1
P13637	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 OS=Homo sapiens GN=ATP1A3 PE=1 SV=3
A0A0A0 MT26	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 OS=Homo sapiens GN=ATP1A3 PE=4 SV=1
Q13733	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-4 OS=Homo sapiens GN=ATP1A4 PE=1 SV=3
Q8TBE9	N-acylneuraminate-9-phosphatase OS=Homo sapiens GN=NANP PE=1 SV=1
B7Z1Q9	cDNA FLJ59485, highly similar to Sodium/potassium- transporting ATPase alpha-3 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B7Z3F8	cDNA FLJ59543, highly similar to Sodium/potassium- transporting ATPase alpha-3 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1

B7Z3V1	cDNA FLJ60077, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-1 chain (EC 3.6.3.9) (Fragment) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B4DIQ8	cDNA FLJ56089, highly similar to Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-2 chain (EC 3.6.3.9) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
B4E0R9	cDNA FLJ56934, highly similar to Potassium-transporting ATPase alpha chain 2 (EC 3.6.3.10) OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
P54707	Potassium-transporting ATPase alpha chain 2 OS=Homo sapiens GN=ATP12A PE=1 SV=3
B4DJW0	cDNA FLJ55696, highly similar to Glial fibrillary acidic protein, astrocyte OS=Homo sapiens PE=2 SV=1
K7EJU1	Glial fibrillary acidic protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GFAP PE=3 SV=1
P14136	Glial fibrillary acidic protein OS=Homo sapiens GN=GFAP PE=1 SV=1
H7C5W5	Peripherin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PRPH PE=3 SV=1
P41219	Peripherin OS=Homo sapiens GN=PRPH PE=1 SV=2

Yapılan yolak analizleri sonucunda ise belirlenmiş olan istatistiksel parametrelere göre anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

4.5. Validasyon Çalışmaları

Çalışmanın bu bölümünde, İİH olgu serumlarındaki antikorlarla etkileşime geçebilecek aday hedef antijen olarak belirlenen proteinler olan GFAP'ın α izoformu (Glial fibriler asidik protein-alfa) ve Na^+/K^+ ATPaz (Sodyum-Potasyum ATPaz) iyon pompası alfa 1,2 ve 3 alt birimlerine karşı antikorların varlığı için çeşitli validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

4.5.1. Na^+/K^+ ATPaz (Sodyum-Potasyum ATPaz) İyon Pompası İçin Validasyon Çalışmaları

Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının ATP1A3 alt birimine (Sodyum/Potasyum ATPaz α -3 alt birimi) karşı antikorların belirlenmesi için, 58 İİH olgusuna ait 63 serum ve 13 BOS örneği kullanılarak fikse edilmiş hücreler üstünde üretici firmanın sağlamış olduğu protokole göre IFA testi (Indirect Immunfluorescence Assay) uygulanmıştır (EUROIMMUN, Lübeck, Almanya).

Analizler sonucunda, hiçbir İİH serum ve BOS örneğinde ATP1A3 alt birimine karşı antikor etkinliği belirlenmemiştir.

4.5.2. Glial Fibriler Asidik Protein - Alfa (GFAP - α) İçin Validasyon Çalışmaları

58 İİH olgusuna ait 63 serum ve 13 BOS örneği, GFAP antikorlarının araştırılması için hücre bazlı deneylerle test edilmiştir.

4.5.2.1. Hücre Bazlı Testler ile Validasyon Çalışmaları

Hücre bazlı testler ile 58 olguya ait 63 serum ve 13 BOS örneği pCMV6-AC-GFAP- α -GFP plazmidi ile transfekte edilen HEK-293 (İnsan Embriyonik Böbrek 293) hücreleri üzerinde çeşitli dilüsyonlarla çalışılmıştır.

Çalışmada negatif kontrol olarak sağlıklı bir kontrolden elde edilen serum, pozitif kontrol olarak ise GFAP meningoensefaliti tanısı almış 2 hastanın serum ve BOS örneği kullanılmıştır. Testlerde GFAP antikor pozitifliği için serumda 1:200, BOS örneklerinde ise 1:4 dilüsyon, minimum değer (cut-off) olarak belirlenmiştir.

Hücre bazlı testlerin sonucunda, 63 olgu serumu içerisinde 3 olgu serumu, GFAP antikoru için pozitif olarak belirlenmiştir. 13 BOS örneği içerisinde GFAP antikoru pozitif olan herhangi bir BOS örneği saptanmamıştır.

GFAP antikoru pozitif olan 3 serum örneği, 2 olguya aittir. Bir olgudan farklı tarihlerde alınmış 2 adet serum örneği hücre bazlı testler ile çalışılmış olup; serum

örneklerinden bir tanesi hastalığın atak döneminde, diğeri ise remisyon döneminde elde edilmiştir.

GFAP antikoru pozitif olan olgulara ilişkin klinik ve demografik bilgiler, Tablo 4.4’de özetlenmiştir.

İlginç bir biçimde, hücre bazlı deneylerde 51 numaralı olguya ait atak döneminde alınmış olan serumda, daha yüksek titrede anti-GFAP- α IgG belirlenirken (1:800 dilüsyonda); aynı hastanın remisyon döneminde alınan serum örneğinde daha düşük titrede (1:200 dilüsyonda) anti-GFAP- α IgG tespit edilmiştir. Aynı olgunun BOS örneği mevcut olmadığı için çalışılmamıştır.

11 numaralı olgunun atak döneminde alınan serum örneğinde ise 1:400 oranındaki dilüsyonla GFAP- α ile reaktivite belirlenmiştir. Olgunun BOS örneğinde ise anti-GFAP- α IgG reaktivitesi belirlenememiştir.

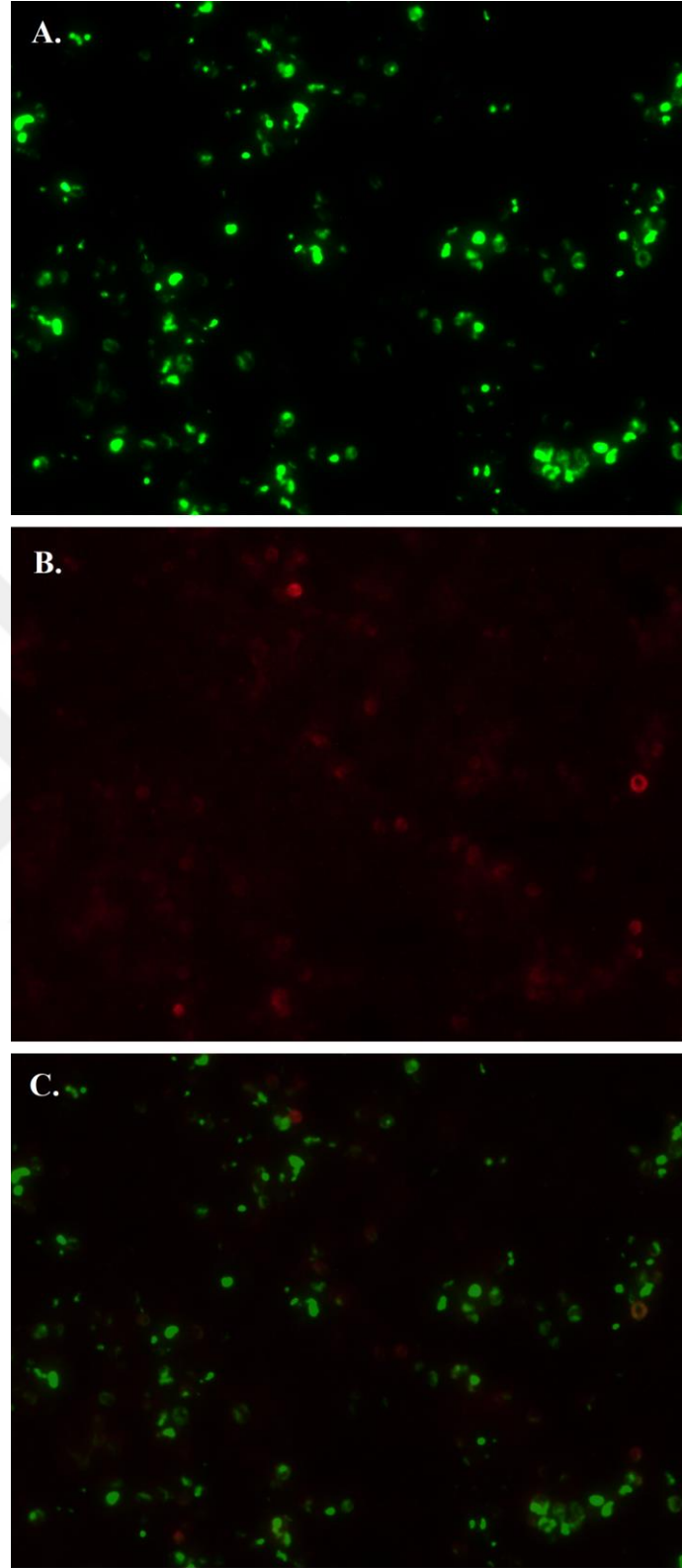
51 no.lu olgu serumuna ait hücre bazlı deneylere ilişkin mikroskopik görüntüler ve serum antikorlarının kolokalizasyonu, Şekil 4.4’de gösterilmiştir.

Pozitif kontrol örneği olarak, GFAP meningoensefaliti tanısı almış bir hastanın BOS örneği ile yapılan hücre bazlı testlere ilişkin mikroskopik görüntüler, Şekil 4.5’de gösterilmiştir.

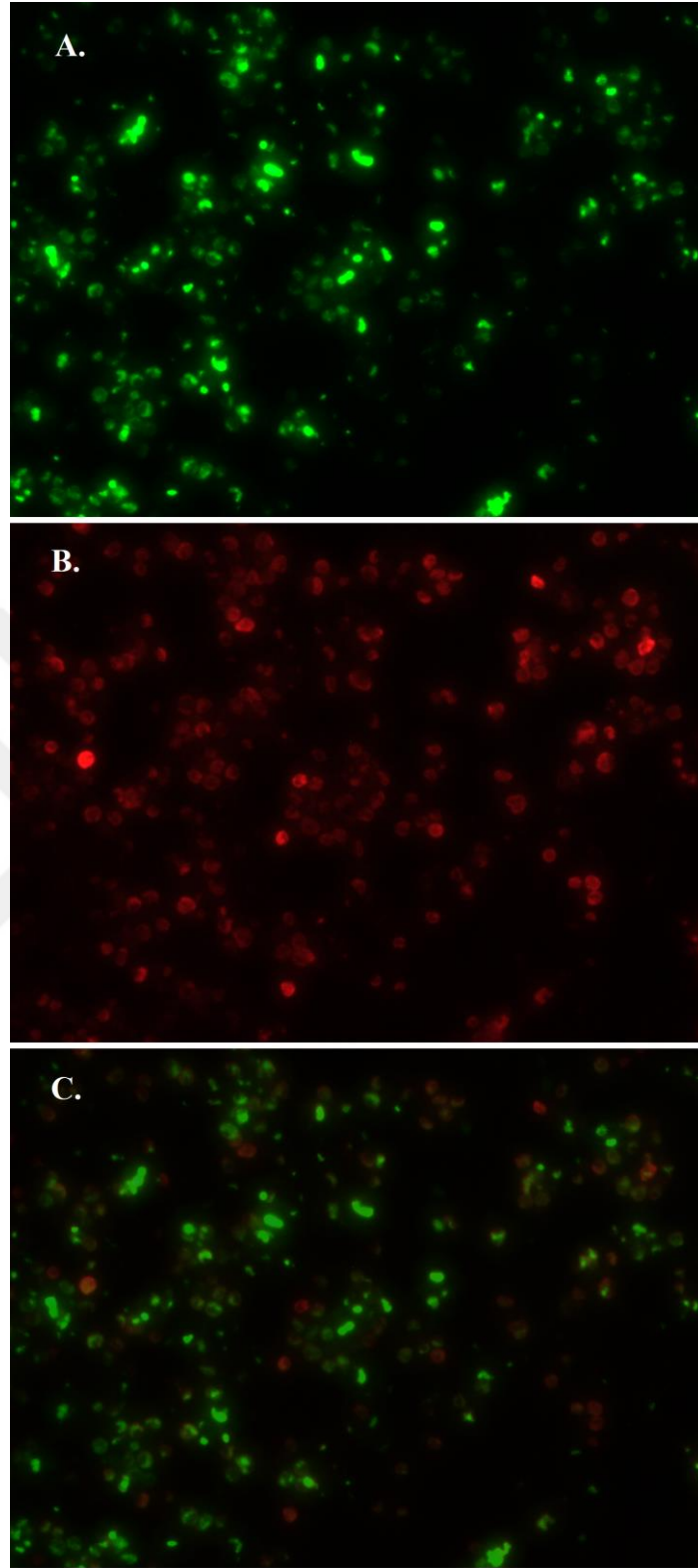
Tablo 4-4: Hücre bazlı testlerde anti-GFAP- α IgG belirlenen olgulara ait klinik ve demografik bilgiler.

Olgu	SONUÇLAR	Cinsiyet	Yaş	Başlangıç Y.	BKİ	Eşlikçi H.	Takip	İlk Semptom	Bulanık G.	Tinnitus	Diplopi	Papilödem	Vizyon Kaybı	G.A. Defekti	İlaç tedavisi	Tedavi yanıtı	Relaps
51	Atak döneminde alınan serumla 1:800 dülüsyonda GFAP + , astroitik boyanma paterni + , Remisyon döneminde alınan serumla 1:200 dülüsyonda GFAP hafif + , astroitik sinyal -	Kadın	28	22	29,4	Yok	38 ay	Baş ağrısı	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Asetazol amid	İyi	Yok
11	Atak döneminde alınan serumla 1:400 dülüsyonda GFAP + , astroitik boyanma paterni + , BOS ile - sonuç	Kadın	29	26	29,4	Yok	13 ay	Bulanık görme + baş ağrısı	Var	Var	Yok	Var	Yok	Var > Düzeldi	Asetazol amid	İyi	Yok

Başlangıç Y.: Semptom başlangıç yaşı; BKİ: Beden Kitle İndeksi, Eşlikçi H.: Eşlikçi hastalık; Bulanık G.: Bulanık görme; G.A.: Görme Alan



Şekil 4-4: 51 İİH numaralı olgusunun, atak döneminde alınmış serum örneği ile 1:800 dilüsyonda inkübe edilen HEK293 hücrelerindeki antikor reaksiyonu. A. GFP ekli GFAP- α plazmidi ile transfekte edilen (yeşil) ve hasta serumu ile inkübe edilen HEK293 hücreleri. B. Aynı hücrelerde sekonder antikor olarak Alexa Fluor 568 keçi anti-insan IgG ile (kırmızı) işaretlenen hasta serumu antikorlarının lokalizasyonu. C. İki alanın üst üste çakıştırılmış görüntüsü. (100 X büyütme). GFP: Green Fluorescent Protein



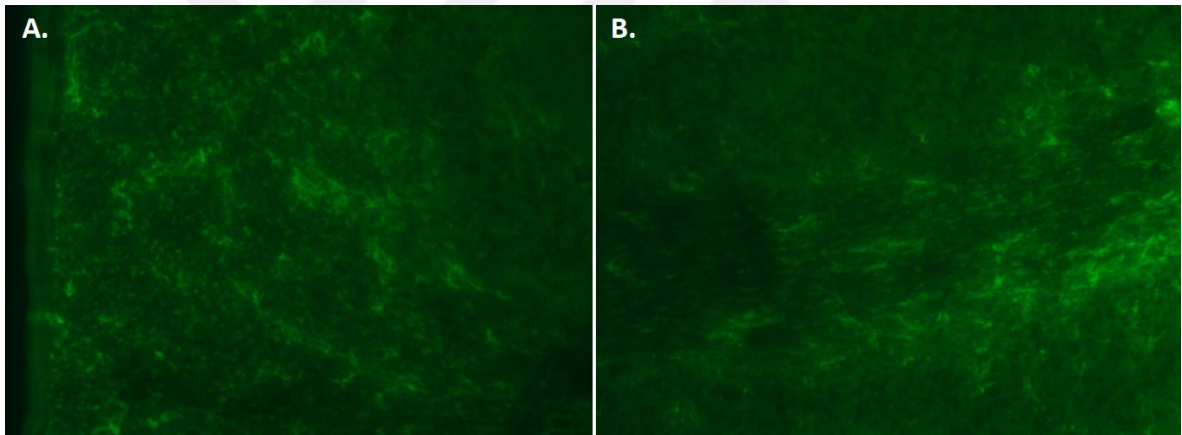
Şekil 4-5: Pozitif kontrol olarak kullanılan GFAP meningoensefalitli olgunun BOS örneği ile 1:4 dilüsyonda inkübe edilen HEK293 hücrelerindeki antikor reaksiyonu. A . GFP ekli GFAP- α plazmidi ile transfekte edilen (yeşil) ve GFAP meningoensefalitli olgunun BOS örneği ile inkübe edilen HEK293 hücreleri. B. Aynı hücrelerde sekonder antikor olarak Alexa Fluor 568 keçi anti-insan IgG ile (kırmızı) işaretlenen BOS antikorları ile kolokalizasyon;. C. İki alanın üst üste çakıştırılmış görüntüsü. (100 X büyütme). GFP: Green Fluorescent Protein

Aynı deneyde negatif kontrol olarak kullanılan sağlıklı kontrol serumu ile GFAP- α ile reaktivitesi belirlenememiştir (Fotoğraf burada gösterilmemiştir).

4.5.2.2. Ticari Beyin Kesitleri ile İmmü Floresan Çalışmaları

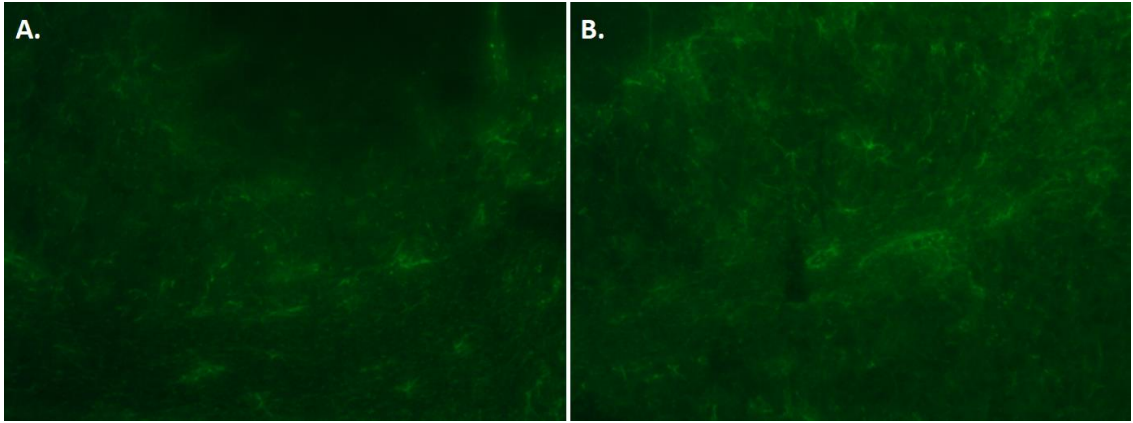
Hücre bazlı testler ile GFAP- α antikorunu pozitif olarak belirlenen iki olgunun serum örnekleri ile ticari dondurulmuş maymun serebellumu kesitleri üzerinde indirekt immü floresan testi (İİFT) ile daha ileri doğrulama çalışmaları gerçekleştirilmiştir (FA 1111-1005, EUROIMMUN, Lübeck, Almanya).

İmmü floresan çalışmalarına serebellumda ak madde üzerinde astrositik boyanma paternleri değerlendirilmiştir. Buna göre; iki farklı tarihte serum örneği alınan 51 numaralı olgunun atak döneminde serebellar ak maddede astrositik boyanma paterni pozitif iken; remisyon döneminde astrositik boyanma paterni negatiftir (Şekil 4.6).



Şekil 4-6: 51 numaralı olgunun 1:10 oranında dilüe edilen serumu ile sekonder antikor olarak FITC konjuge antikor (yeşil) kullanılarak serebellum kesitleri ile yapılan immü floresan teste ait iki farklı bölgeden (A ve B) elde edilmiş görüntüler. 100 x büyütme ile. FITC: Fluorescein isothiocyanate.

11 numaralı olgunun atak döneminde alınan serumunda da astrotik boyanma paterni pozitif olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4-7: 11 numaralı olgunun 1:10 oranında dilüe edilen serumu ile sekonder antikor olarak FITC konjuge antikor (yeşil) kullanılarak serebellum kesitleri ile yapılan immünfloresan teste ait iki farklı bölgeden (A ve B) elde edilmiş görüntüler. 100 x büyütme ile. FITC: Fluorescein isothiocyanate.

Her iki olgunun serumu ile yapılan İİFT testinde, astrositlere özgü yıldız biçimine benzeyen boyanma paterni dikkat çekicidir.

5. TARTIŞMA

Antinöronal ve antiglial membran antikorları, nörolojik araştırmaların yeni odaklarından biri olup; birçok nörolojik ve psikiyatrik sendromla ilişkilendirilmiştir (Dalmau ve ark. 2017). Bu araştırmada günümüzde birçok nörolojik ve psikiyatrik sendromla ilişkilendirilen antinöronal membran antikorları, etyopatogenezi bilinmeyen bir sendrom olan İİH hastalarında taranmıştır. Hasta serumlarıyla yapılan İP çalışmaları ve sonrasında bu proteinlerin LC-MS ile analizinin sonucunda antikor hedefi olabilecek iki yapı; Na^+/K^+ ATPaz iyon pompası alfa-1,2 ve 3 alt birimleri ve GFAP olarak belirlenmiş ve ardından her iki protein için çeşitli doğrulama çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, İİH olgularında antinöronal antikorların varlığı araştırıldığından, nöronlar üzerinde eksprese edildiği bilinen Na^+/K^+ ATPaz α -3 alt birimine karşı antikorları, validasyon çalışmaları ile araştırılmak üzere tercih edilmiştir. İİFT yöntemi ile yapılan doğrulama çalışmalarında İİH olgu serum ve BOS örneklerinde bu proteine karşı antikor gösterilememesi üzerine, Na^+/K^+ ATPaz α -3 alt birimine karşı, İİH olgu örneklerinde antikorların bulunmuyor olması bir açıklama olarak sunulabilir.

Na^+/K^+ ATPaz α -3 antikorlarının İİFT ile validasyonla tespit edilmemesinin bir diğer açıklaması, yöntem üzerine olabilir. İİFT yöntemi ile fikse edilmiş ticari beyin kesitleri ve HEK293 hücreleri kullanılmıştır. Fiksasyon sonrasında protein epitoplarının in vivo koşullardaki konformasyonel yapısına göre farklılaşmış olabilmesi nedeniyle de çalışmamızda olgu örneklerinde bu antikor için seronegatif sonuç almış olma ihtimali değerlendirilmelidir (Peschl ve ark. 2017). İleri çalışmalarda, günümüzde antikor tespiti için güvenilirliği ve özgüllüğü yüksek yöntemlerden biri olarak kabul edilen hücre bazlı testler ile validasyon çalışmalarının devam ettirilmesi, BOS üretimi ile doğrudan ilişkili olan Na^+/K^+ ATPaz α -3 alt birimlerine karşı antikorların İİH olgu örneklerinde varlığının kesinleşmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda antinöronal membran antikorları tarandığından, validasyon için nöronal α -3 alt birimi tercih edilmiştir. Bununla birlikte; koroid pleksus epitel hücreleri α -3 izoformunu taşımazken α -1 izoformunu eksprese etmektedir (Arakaki ve ark. 2013). Validasyon çalışmaları için α -1 izoformunun da çeşitli yöntemlerle çalışılması,

İİH patogenezinde Na^+/K^+ ATPaz'ın olası rolünün daha iyi anlaşılması açısından oldukça değerli veriler sağlayabilecektir.

İİH hastalarının tipik obez profili ile BOS metabolizması bozukluklarını Na^+/K^+ ATPaz iyon pompası üzerinden ilişkilendirebilecek bir çalışma, Botfield ve ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir. (Botfield ve ark. 2017). Glukagon benzeri peptit - 1 reseptörü (GLP-1R) agonistleri, glukoza bağlı insülin salınımını ve aynı zamanda hipotalamus üzerinden tokluk hissi ve kilo kaybını arttırmaktadır (Larsen ve ark. 1997; Astrup ve ark. 2009; Campbell ve Drucker, 2013; Alhadeff ve Grill, 2014). Araştırmacılar, hidrosefali modeli oluşturulan sıçanlara, GLP-1R analogu exendin-4 uygulamışlardır. Exendin-4'ün akut olarak intrakraniyal basıncı azalttığı ve bu etkiyi koroid pleksuslardaki Na^+/K^+ ATPaz aktivitesini azaltmak yoluyla gerçekleştirdiğini gösteren bu bulgular, İİH hastalarının metabolik profili ile BOS dinamiğini, Na^+/K^+ ATPaz iyon pompasının olası ilişkisine dikkat çekmektedir (Botfield ve ark. 2017).

O'Reilly ve ekibi tarafından gerçekleştirilen çalışmada İİH ile bazı tipik özellikleri paylaşan polikistik over sendromunda (PKOS) görülen androjen metabolizmasındaki farklılıkların İİH olgularında mevcut olup olmadığı ve androjen hormonların BOS üretimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır (O'Reilly ve ark. 2019). İİH hastalarının serum, BOS ve idrarlarında LC-MS/MS ve GC/MS ile sistemik androjen hormon taraması gerçekleştirilmiştir. Değerler yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş PKOS ve obez hastaların değerleriyle kıyaslanmıştır ve bunun sonucunda İİH hastalarına özgü paternde bir aşırı androjen profili belirlenmiştir. İİH hastalarının aktif testosteron miktarı diğer iki gruptan anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuş; androjen öncüsü dehidroepiandrosteron (DHEA) ve androstenedion konsantrasyonları ise daha düşük olarak bulunmuştur. Araştırmanın bizim çalışmamızla ilişkili önemli diğer bir bulgusu ise, koroid pleksus hücre hattı üzerinde testosteronun Na^+/K^+ ATPaz aktivitesini artırıcı bir etkiye neden olduğunun gösterilmesidir. İİH hastalarındaki bu androjen profilinin, koroid pleksustaki Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi üzerinden BOS dengesini etkileyebileceği vurgulanmıştır (O'Reilly ve ark. 2019).

Mevcut literatürde Na^+/K^+ ATPaz α -3 antikorları üzerine pek bir çalışma bulunmamakla birlikte, Scharf ve ekibi tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, çeşitli beyin sapı ve serebellar sendromlar gösteren bir kadın hastada, otoreaktif antikor belirleme çalışmaları ile hasta serum ve BOS örneğinde anti-ATP1A3 (Na^+/K^+ ATPaz

α -3 alt birimi) antikorlarının varlığı tespit edilmiştir (Scharf ve ark. 2015). Kolorektal adenokarsinom tanısı olan hastada tespit edilen anti-ATP1A3 antikorların paraneoplastik özellikte olduğu ancak antikorların doğrudan patojenik özellikte olmadığı kaydedilmiştir. Araştırmacılar, anti-ATP1A3 antikorlarının kanser tanısı için bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini önermişlerdir (Scharf ve ark. 2015). Bu çalışma, Na^+/K^+ ATPaz α -3 alt birimine karşı antikorların gösterilmesi açısından önem taşımaktadır.

Yukarıda özetlenmiş olan çalışmalar, İİH patogenezi konusunda oldukça önemli ipuçları sağlamakta olup; çalışmamızda antinöronal membran antikoru olarak belirlenen aday iki proteinden biri olan Na^+/K^+ ATPaz alfa alt birimlerinin araştırılması için daha ileri çalışmaların zorunluluğunu vurgulamaktadır

Çalışmamızda, LC-MS çalışmaları sonucunda İİH serumlarında antikorlarının hedeflediği diğer protein adaylarından GFAP'ın GFAP- α izoformu için antikorlar, İİH olgu serum ve BOS örneklerinde hücre bazlı testler ile değerlendirilmiştir. 58 İİH olgusundan elde edilen 63 serum ve 13 BOS örneğinin hücre bazlı testler ile GFAP- α antikoru taramasının sonucunda; 3 olgudan alınmış olan 4 serum örneğinde GFAP- α antikoru pozitif olarak belirlenmiştir. GFAP- α antikoru pozitif olan olgulardan birinin iki serum örneği mevcut olup; örneklerden biri hastalığın atak döneminde, diğeri ise remisyon döneminde alınmıştır. Diğer iki olgu serumu ise hastalığın atak döneminde alınmıştır.

Çalışmamızın en ilginç bulgularından biri; iki farklı dönemde serum örneği alınmış İİH olgusunda GFAP antikorunun klinik seyre göre dalgalanma göstermiş olmasıdır: Atak döneminde alınan serumda GFAP antikoru daha yüksek miktarda belirlenmiş olup (1:800 dilüsyonda pozitif); remisyon döneminde alınan serumda ise daha düşük seviyede bulunmuştur (1:200 dilüsyonda pozitif). Aynı zamanda immünfloresan deneyleri ile doğrulama çalışmalarında, atak döneminde astrositik boyanma paterni pozitif iken; hastanın remisyon döneminde rutin kontrolleri sırasında alınan serum örneğinde astrosit boyanma paterni negatif olarak belirlenmiştir. Daha yüksek titrede belirlenen antikor konsantrasyonunun, hastalığın atak döneminde görüldüğünü gösteren bu bulgu, GFAP antikorlarının hastalığın seyri ile bir ilişki içerisinde olma ihtimalini düşündürmektedir.

2016 yılında Eide ve ekibinin şant tedavisi uygulanan 18 İİH hastasının beyin biyopsi örnekleri ile yaptıkları histopatolojik incelemelerde GFAP immünoreaktivitesi değerlendirilmiş; bu 18 hastadan 16'sında astrositlerde hipertrofi; 9'unda ise kontrol grubu örneklerinden sadece 1 örnekte gözlemlenmiş olan karakteristik bir yama tarzı astroglizis (patchy gliosis) paterni belirlenmiştir. Bu gliozis tablosunda astrositik alanların daralmış olduğu; ek olarak AQP4 ekspresyonunda da azaldığı kaydedilmiştir. Araştırmacılar, bu astrositik tablonun beyinde BOS drenajını bozarak intrakraniyal basınç artışına neden olabileceğini önermiştir. Az sayıda örnekle çalışılmış olsa da bu çalışma, İİH patogenezinde glial etkenlerin değerlendirilmesinin önemini bir kez daha altını çizmektedir (Eide ve ark. 2016).

GFAP antikoru ile ilişkili olan otoimmün GFAP astropatisi hastalarında görülen semptomlar arasında, ensefalopati, ateş, baş ağrısı, miyelit, görsel bozukluklar, istem dışı hareketler, miyelit, mental bozukluklar, epilepsi, otonom sinir sistemi anormallikleri ve meningoensefalomiyelitle ilişkili çeşitli diğer semptomlar yer almaktadır (Fang ve ark. 2016; Yang ve ark. 2017; Flanagan ve ark. 2017; Iorio ve ark. 2018; Long ve ark. 2018; Dubey ve ark. 2018). GFAP IgG pozitif ensefalomiyelit olgularının bazılarında papilödem benzeri bilateral optik sinir ödeminin ve intrakraniyal basınç artışı gibi İİH ile ortak nörolojik bulguların gözlenmiş olması önemli bulgular arasındadır (Chen ve ark. 2018; Long ve ark. 2018). Henüz klinik spektrumu ve patogenezi tam olarak anlaşılamamış bir sendrom olan otoimmün GFAP astropatisinin İİH olgularında klinik düzeyde meningoensefalit bulgularına yol açmayan daha hafif bir formda var olma ihtimali dikkate değer bir hipotez olarak sunulabilir.

GFAP astropatisi için epidemiyolojik araştırmalar fazla olmamakla birlikte, ABD'de Olmsted County'de veri tabanları üzerinden yapılan çalışmada GFAP prevalansı 0.6/100000 olarak hesaplanmıştır (Dubey ve ark. 2018 b,). 58 İİH olgusundan oluşan örneklemimizde elde ettiğimiz bulgular, henüz hakkında yeni bilgiler edinmekte olduğumuz nadir bir sendrom olan GFAP astropatisi ile İİH ilişkisinin belirlenebilmesi için daha fazla sayıda olgu ve özellikle de BOS örnekleri ile ileri çalışmaların gerekliliğini vurgulamaktadır.

Otoimmün GFAP astrositopatisi olgularının bazılarının hem serum hem BOS örneklerinde, bazılarında ise sadece BOS örneklerinde GFAP-IgG tespit edilmiştir ve bu hastalar çoğunlukla inflamatuvar meningoensefalit özellikleri göstermektedir. Sadece

serumda GFAP-IgG tespit edilen olgular da kaydedilmiştir. Ancak bu olgular klinik açıdan daha geniş ve otoimmün kökenli olmayan nörolojik semptomlar gösterebilmektedir. Bu nedenle özellikle BOS örneklerindeki GFAP-IgG pozitifliği, daha spesifik bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (Flanagan ve ark. 2017; Dubey ve ark. 2018; Iorio ve ark. 2018; Kunchok ve ark. 2019). Çalışmamızda hastalığın atak ve remisyon döneminde farklı GFAP IgG konsantrasyonları belirlenen olguya ait BOS örneği mevcut olmadığı için GFAP antikorundaki bu dalgalı paternin BOS’da karşılığına ilişkin bir yorum yapılamamaktadır. Ek olarak GFAP ensefalomiyelit olgularında bulunan BOS’da hücresele anormallikler, yüksek protein konsantrasyonu ve nöroradyolojik anormallikler gibi özelliklerin (Flanagan ve ark. 2017) İİH kohortumuzda gözlenmemiş olduğunun altı çizilmelidir.

Çalışmamızda serumda GFAP antikoru pozitif olan 3 olgudan sadece 1 tanesinin aynı zamanda BOS örneği çalışılmıştır ve sonuç negatif olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda toplamda 13 BOS örneği çalışılmış olup, GFAP antikorunun İİH olgu BOS’larında varlığının netlik kazanması için gelecekte yapılacak çalışmalarda daha çok sayıda, hastalığın farklı dönemlerinde, daha fazla sayıda BOS ve serum ile çalışılması, İİH ile GFAP IgG ilişkisi üzerine daha güvenilir sonuçlar sağlayacaktır.

Araştırmamızın üzerine tartışılması gereken bir diğer önemli bulgusu, antinöronal bir aday membran antijeni bulmayı hedeflerken, glial bir protein olan GFAP’a karşı antikor tespit etmiş olmamızdır. Antijenlerin izole edilmesi için İP yönteminde SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre kültürü tercih edilmiş olmasına rağmen, LC-MS analizinde bir glial belirteç olan GFAP tespit edilmiştir. SH-SY5Y, teknik olarak anormal protein ekspresyonu gösteren tümör hücrelerinden üretilen bir hat olduğundan ve tümörlerde anormal protein ekspresyonu gerçekleştiğinden, bu hücre hattında çeşitli nöroektodermal kökenli dahil olmak üzere çeşitli tümörlerde GFAP belirlenmesi ihtimali çok da uzak bir ihtimal olarak değerlendirilmeyebilir. Nöroblastoma tümörleri üzerinde yapılan bir immünohistokimya çalışmasında, GFAP’ın varlığı gösterilmiştir (Schmidt ve ark. 1988).

Çalışmamızdaki olgulara ait BOS örneklerinin GFAP antikoru için negatif olduğunun altı çizilmelidir. GFAP antikorlarının sadece serumda belirlenmiş olması, astrositik bir biyobelirteç olarak bilinen bir protein için yorumlanması gereken bir bulgudur ve bu durumun İİH kliniği ile nasıl bir ilişkisinin olduğunun araştırılması

gerekmektedir. Ek olarak araştırmamızda hücre bazlı testler ile GFAP- α antikoru çalışılmış olup, diğer GFAP izoformlarına yönelik olarak da hücre bazlı testlerin tekrarlanması da olgulardaki anti-GFAP IgG profilinin belirlenmesi açısından yararlı bulgular sağlayabilecektir.

Çeşitli başka nörolojik sendromlara bağlı olarak serum ve BOS örneklerinde GFAP proteini belirlenmektedir ancak GFAP antikorların otoimmün GFAP astropatisi olgularındaki varlığının sebebi ise bilinmemektedir. GFAP antikorlarının nörolojik semptomların doğrudan sebebi olmaktan ziyade, çeşitli inflamatuvar süreçlere bağlı olarak ortaya çıkan bir fenomen olduğu düşünülmektedir.

Araştırmamız, mevcut bilgimize göre İİH olgularında antinöronal membran antikorlarının taranarak kütle spektrometresi ile tanımlandığı ilk araştırma olması açısından değerli veriler sağlamaktadır. İleri çalışmalarda, Na^+/K^+ ATPaz'ın diğer alt birimleri için de validasyon çalışmalarının tamamlanması, net bir sonuç sağlanması açısından yararlı olacaktır. Bu çalışma aynı zamanda İİH olgularında GFAP antikorlarının mevcudiyetini gösteren ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır. GFAP antikorları ile ilişkili otoimmün GFAP astropatisi sendromu görece yeni bir kavram olup; GFAP antikoru ile ilişkili olan tabloların, GFAP astropatisi spektrumu kavramı altında mı değerlendirilmesi gerektiği tartışılan hipotezler arasındadır. İİH olgularının, bu spektrumun neresinde yer aldığının anlaşılması ise ileri çalışmalar ile mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abbott, N. J., Pizzo, M. E., Preston, J. E., Janigro, D., & Thorne, R. G. (2018). The role of brain barriers in fluid movement in the CNS: is there a 'glymphatic' system?. *Acta neuropathologica*, 1-21.
- Agre, P., King, L. S., Yasui, M., Guggino, W. B., Ottersen, O. P., Fujiyoshi, Y., ... & Nielsen, S. (2002). Aquaporin water channels—from atomic structure to clinical medicine. *The Journal of physiology*, 542(1), 3-16.
- Albert, M. L., Darnell, J. C., Bender, A., Francisco, L. M., Bhardwaj, N., & Darnell, R. B. (1998). Tumor-specific killer cells in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Nature medicine*, 4(11), 1321.
- Albert, M. L., & Darnell, R. B. (2004). Paraneoplastic neurological degenerations: keys to tumour immunity. *Nature reviews cancer*, 4(1), 36.
- Alhadeff, A. L., & Grill, H. J. (2014). Hindbrain nucleus tractus solitarius glucagon-like peptide-1 receptor signaling reduces appetitive and motivational aspects of feeding. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*.
- Altıokka-Uzun, G., Tüzün, E., Ekizoğlu, E., Ulusoy, C., Yentür, S., Kürtüncü, M., ... & Baykan, B. (2015). Oligoclonal bands and increased cytokine levels in idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia*, 35(13), 1153-1161.
- Altıokka-Uzun, G., Erdağ, E., Baykan, B., Tzartos, J., Gezen-Ak, D., Samancı, B., ... & Şahin, E. (2017). Glial and neuronal antibodies in patients with idiopathic intracranial hypertension. *Neurological Sciences*, 38(10), 1817-1822.
- Amin, M. S., Reza, E., Wang, H., & Leenen, F. H. (2009). Sodium transport in the choroid plexus and salt-sensitive hypertension. *Hypertension*, 54(4), 860-867.
- Aminoff, M. J., Boller, F., Swaab, D. F., Pittock, S. J., & Vincent, A. (2016). Handbook of clinical neurology. Oxford: Elsevier.
- Antoine, J. C., Honnorat, J., Camdessanché, J. P., Magistris, M., Absi, L., Mosnier, J. F., ... & Michel, D. (2001). Paraneoplastic anti-CV2 antibodies react with peripheral nerve and are associated with a mixed axonal and demyelinating peripheral neuropathy. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 49(2), 214-221.
- Antoine, J. C., Honnorat, J., Vocanson, C., Koenig, F., Aguera, M., Belin, M. F., & Michel, D. (1993). Posterior uveitis, paraneoplastic encephalomyelitis and auto-

- antibodies reacting with developmental protein of brain and retina. *Journal of the neurological sciences*, 117(1), 215-223.
- Arakaki, X., McCleary, P., Techy, M., Chiang, J., Kuo, L., Fonteh, A. N., ... & Harrington, M. G. (2013). Na, K-ATPase alpha isoforms at the blood-cerebrospinal fluid-trigeminal nerve and blood-retina interfaces in the rat. *Fluids and Barriers of the CNS*, 10(1), 14.
- Astrup, A., Rössner, S., Van Gaal, L., Rissanen, A., Niskanen, L., Al Hakim, M., ... & NN8022-1807 Study Group. (2009). Effects of liraglutide in the treatment of obesity: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *The Lancet*, 374(9701), 1606-1616.
- Azarias, G., Kruusmägi, M., Connor, S., Akkuratov, E. E., Liu, X. L., Lyons, D., ... & Aperia, A. (2013). A specific and essential role for Na, K-ATPase $\alpha 3$ in neurons co-expressing $\alpha 1$ and $\alpha 3$. *Journal of Biological Chemistry*, 288(4), 2734-2743.
- Badaut, J., Fukuda, A. M., Jullienne, A., & Petry, K. G. (2014). Aquaporin and brain diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(5), 1554-1565.
- Ball, A. K., Sinclair, A. J., Curnow, S. J., Tomlinson, J. W., Burdon, M. A., Walker, E. A., ... & Rauz, S. (2009). Elevated cerebrospinal fluid (CSF) leptin in idiopathic intracranial hypertension (IIH): evidence for hypothalamic leptin resistance?. *Clinical endocrinology*, 70(6), 863-869.
- Barker, C. F., & Billingham, R. E. (1977). Immunologically privileged sites. *Adv Immunol*, 25(1), 1-54.
- Batra, R., & Sinclair, A. (2014). Idiopathic intracranial hypertension; research progress and emerging themes. *Journal of neurology*, 261(3), 451-460.
- Bembea, M. M., Savage, W., Strouse, J. J., Schwartz, J. M., Graham, E., Thompson, C. B., & Everett, A. (2011). Glial fibrillary acidic protein as a brain injury biomarker in children undergoing extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*, 12(5), 572.
- Bidot, S., Bruce, B. B., Saindane, A. M., Newman, N. J., & Biousse, V. (2015). Asymmetric papilledema in idiopathic intracranial hypertension. *Journal of neuro-ophthalmology: the official journal of the North American Neuro-Ophthalmology Society*, 35(1), 31.

- Bien, C. G., Vincent, A., Barnett, M. H., Becker, A. J., Blümcke, I., Graus, F., ... & Sutton, I. (2012). Immunopathology of autoantibody-associated encephalitides: clues for pathogenesis. *Brain*, 135(5), 1622-1638.
- Biousse, V., Bruce, B. B., & Newman, N. J. (2012). Update on the pathophysiology and management of idiopathic intracranial hypertension. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 83(5), 488-494.
- Blechingberg, J., Holm, I. E., Nielsen, K. B., Jensen, T. H., Jørgensen, A. L., & Nielsen, A. L. (2007). Identification and characterization of GFAP κ , a novel glial fibrillary acidic protein isoform. *Glia*, 55(5), 497-507.
- Boggs, J. M. (2006). Myelin basic protein: a multifunctional protein. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 63(17), 1945-1961.
- Boronat, A., Gelfand, J. M., Gresa-Arribas, N., Jeong, H. Y., Walsh, M., Roberts, K., ... & Rudy, B. (2013). Encephalitis and antibodies to dipeptidyl-peptidase-like protein-6, a subunit of Kv4. 2 potassium channels. *Annals of neurology*, 73(1), 120-128.
- Borsody, M., Semenov, I., Carroll, K., Kessler, A., Dubow, J., Olson, E., ... & Raizer, J. (2006). The Relation of Brain Ouabain-Like Compounds and Idiopathic Intracranial Hypertension. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 46(8), 1255-1260.
- Botfield, H. F., Uldall, M. S., Westgate, C. S., Mitchell, J. L., Hagen, S. M., Gonzalez, A. M., ... & Sinclair, A. J. (2017). A glucagon-like peptide-1 receptor agonist reduces intracranial pressure in a rat model of hydrocephalus. *Science translational medicine*, 9(404), eaan0972.
- Böttger, P., Tracz, Z., Heuck, A., Nissen, P., Romero-Ramos, M., & Lykke-Hartmann, K. (2011). Distribution of Na/K-ATPase alpha 3 isoform, a sodium-potassium P-type pump associated with rapid-onset of dystonia parkinsonism (RDP) in the adult mouse brain. *Journal of Comparative Neurology*, 519(2), 376-404.
- Brashear, A., Ozelius, L. J., & Sweadner, K. J. (2014). ATP1A3 mutations: what is the phenotype? *Neurology* 82: 468–469.
- Brettschneider, J., Hartmann, N., Lehmensiek, V., Mogel, H., Ludolph, A. C., & Tumani, H. (2011). Cerebrospinal fluid markers of idiopathic intracranial hypertension: is the renin-angiotensinogen system involved?. *Cephalalgia*, 31(1), 116-121.

- Brinker, T., Stopa, E., Morrison, J., & Klinge, P. (2014). A new look at cerebrospinal fluid circulation. *Fluids and Barriers of the CNS*, 11(1), 10.
- Brown, P. D., Davies, S. L., Speake, T., & Millar, I. D. (2004). Molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production. *Neuroscience*, 129(4), 955-968..
- Bruce, B. B., Kedar, S., Van Stavern, G. P., Monaghan, D., Acierno, M. D., Braswell, R. A., ... & Biousse, V. (2009). Idiopathic intracranial hypertension in men. *Neurology*, 72(4), 304-309.
- Brunner, C., Lassmann, H., Waehneltd, T. V., Matthieu, J. M., & Linington, C. (1989). Differential ultrastructural localization of myelin basic protein, myelin/oligodendroglial glycoprotein, and 2', 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase in the CNS of adult rats. *Journal of neurochemistry*, 52(1), 296-304.
- Burkett, J. G., & Ailani, J. (2018). An Up to Date Review of Pseudotumor Cerebri Syndrome. *Current neurology and neuroscience reports*, 18(6), 33.
- Camdessanché, J. P., Ferraud, K., Boutahar, N., Lassablière, F., Mutter, M., Touret, M., ... & Antoine, J. C. (2012). The Collapsin Response Mediator Protein 5 Onconeural Protein Is Expressed in Schwann Cells Under Axonal Signals and Regulates Axon—Schwann Cell Interactions. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 71(4), 298-311.
- Campbell, J. E., & Drucker, D. J. (2013). Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell metabolism*, 17(6), 819-837.
- Celebisoy, N., Gökçay, F., Şirin, H., & Akyürekli, Ö. (2007). Treatment of idiopathic intracranial hypertension: topiramate vs acetazolamide, an open-label study. *Acta neurologica Scandinavica*, 116(5), 322-327.
- Chan, J. W. (2017). Current concepts and strategies in the diagnosis and management of idiopathic intracranial hypertension in adults. *Journal of neurology*, 264(8), 1622-1633.
- Chen, J. J., Aksamit, A. J., McKeon, A., Pittock, S. J., Weinshenker, B. G., Leavitt, J. A., ... & Flanagan, E. P. (2018). Optic Disc Edema in Glial Fibrillary Acidic Protein Autoantibody–Positive Meningoencephalitis. *Journal of Neuro-Ophthalmology*, 38(3), 276-281.
- Chen, J., & Wall, M. (2014). Epidemiology and risk factors for idiopathic intracranial hypertension. *International ophthalmology clinics*, 54(1).

- Chikly, B., & Quaghebeur, J. (2013). Reassessing cerebrospinal fluid (CSF) hydrodynamics: a literature review presenting a novel hypothesis for CSF physiology. *Journal of bodywork and movement therapies*, 17(3), 344-354.
- Chow, C., Fortier, M. V., Das, L., Menon, A. P., Vasanwala, R., Lam, J. C., ... & Liew, W. K. (2015). Rapid-Onset Obesity With Hypothalamic Dysfunction, Hypoventilation, and Autonomic Dysregulation (ROHHAD) Syndrome May Have a Hypothalamus–Periaqueductal Gray Localization. *Pediatric neurology*, 52(5), 521-525.
- Cinciripini, G. S., Donahue, S., & Borchert, M. S. (1999). Idiopathic intracranial hypertension in prepubertal pediatric patients: characteristics, treatment, and outcome. *American journal of ophthalmology*, 127(2), 178-182.
- Clausen, M. V., Hilbers, F., & Poulsen, H. (2017). The structure and function of the Na, K-ATPase isoforms in health and disease. *Frontiers in physiology*, 8, 371.
- Clausen, M. V., Hilbers, F., & Poulsen, H. (2017). The structure and function of the Na, K-ATPase isoforms in health and disease. *Frontiers in physiology*, 8, 371.
- Cleves-Bayon, C. (2018). Idiopathic intracranial hypertension in children and adolescents: an update. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 58(3), 485-493.
- Correale, J., & Molinas, M. D. L. M. B. (2002). Oligoclonal bands and antibody responses in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 249(4), 375-389.
- Cosar, E., Cosar, M., Köken, G., Sahin, F. K., Caliskan, G., Haktanir, A., ... & Yilmazer, M. (2008). Polycystic ovary syndrome is related to idiopathic intracranial hypertension according to magnetic resonance imaging and magnetic resonance venography. *Fertility and sterility*, 89(5), 1245-1246.
- Craig, J. J., Mulholland, D. A., & Gibson, J. M. (2001). Idiopathic intracranial hypertension; incidence, presenting features and outcome in Northern Ireland (1991-1995). *The Ulster medical journal*, 70(1), 31.
- Cushing H. The third circulation. London: Oxford University Press; 1925.
- Dalmau, J., Geis, C., & Graus, F. (2017). Autoantibodies to synaptic receptors and neuronal cell surface proteins in autoimmune diseases of the central nervous system. *Physiological Reviews*, 97(2), 839-887.

- Dalmau, J., Tüzün, E., Wu, H. Y., Masjuan, J., Rossi, J. E., Voloschin, A., ... & Mason, W. (2007). Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Annals of neurology*, 61(1), 25-36.
- Damkier, H. H., Brown, P. D., & Praetorius, J. (2013). Cerebrospinal fluid secretion by the choroid plexus. *Physiological reviews*, 93(4), 1847-1892.
- Dandy, W.E. (1937). Intracranial Pressure without Brain Tumor: Diagnosis and Treatment. *Annals of Surgery*, 106(4):492-513.
- Daniels, A. B., Liu, G. T., Volpe, N. J., Galetta, S. L., Moster, M. L., Newman, N. J., ... & Acierno, M. D. (2007). Profiles of obesity, weight gain, and quality of life in idiopathic intracranial hypertension (pseudotumor cerebri). *American journal of ophthalmology*, 143(4), 635-641.
- Darnell, R. B., & Posner, J. B. (2003). Paraneoplastic syndromes involving the nervous system. *New England Journal of Medicine*, 349(16), 1543-1554.
- Das, S. R., Bhardwaj, N., Kjeldbye, H., & Gouras, P. (1992). Muller cells of chicken retina synthesize 11-cis-retinol. *Biochemical Journal*, 285(3), 907-913
- Davson, H., & Segal, M. B. Physiology of the CSF and blood-brain barriers. 1996. *Boca Raton: CRC, 1*
- de Carvalho Aguiar, P., Sweadner, K. J., Penniston, J. T., Zaremba, J., Liu, L., Caton, M., ... & Dobyns, W. B. (2004). Mutations in the Na⁺/K⁺-ATPase $\alpha 3$ gene ATP1A3 are associated with rapid-onset dystonia parkinsonism. *Neuron*, 43(2), 169-175.
- De Simone, R., Marano, E., Fiorillo, C., Briganti, F., Di Salle, F., Volpe, A., & Bonavita, V. (2005). Sudden re-opening of collapsed transverse sinuses and longstanding clinical remission after a single lumbar puncture in a case of idiopathic intracranial hypertension. Pathogenetic implications. *Neurological Sciences*, 25(6), 342-344.
- Degnan, A. J., & Levy, L. M. (2011). Pseudotumor cerebri: brief review of clinical syndrome and imaging findings. *American journal of neuroradiology*.
- Demos, M. K., van Karnebeek, C. D., Ross, C. J., Adam, S., Shen, Y., Zhan, S. H., ... & Jones, S. J. (2014). A novel recurrent mutation in ATP1A3 causes CAPOS syndrome. *Orphanet journal of rare diseases*, 9(1), 15.
- Dhungana, S., Sharrack, B., & Woodroffe, N. (2009). Cytokines and chemokines in idiopathic intracranial hypertension. *Headache: the journal of head and face pain*, 49(2), 282-285.

- Dhungana S, Waters P, Ismail A, et al. Absence of aquaporin- 4 antibodies in patients with idiopathic intracranial hypertension. *J Neurol* 2010; 257: 1211–1212.
- Dhungana, S., Sharrack, B., & Woodroffe, N. (2010). Idiopathic intracranial hypertension. *Acta Neurologica Scandinavica*, 121(2), 71-82.
- DiChiara, T., DiNunno, N., Clark, J., Bu, R. L., Cline, E. N., Rollins, M. G., ... & Viola, K. L. (2017). Focus: Drug Development: Alzheimer's Toxic Amyloid Beta Oligomers: Unwelcome Visitors to the Na/K ATPase alpha3 Docking Station. *The Yale journal of biology and medicine*, 90(1), 45.
- Digre, K. B., Nakamoto, B. K., Warner, J. E., Langeberg, W. J., Baggaley, S. K., & Katz, B. J. (2009). A comparison of idiopathic intracranial hypertension with and without papilledema. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 49(2), 185-193.
- Dobretsov, M., & Stimers, J. R. (2005). Neuronal function and alpha3 isoform of the Na/K-ATPase. *Front Biosci*, 10, 2373-2396.
- Donaldson, J. O. (1979). Cerebrospinal fluid hypersecretion in pseudotumor cerebri. *Transactions of the American Neurological Association*, 104, 196-198.
- Donaldson, J. O., & Horak, E. (1982). Cerebrospinal fluid oestrone in pseudotumour cerebri. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 45(8), 734-736.
- Dubey, D., Hinson, S. R., Jolliffe, E. A., Zekeridou, A., Flanagan, E. P., Pittock, S. J., ... & McKeon, A. (2018). Autoimmune GFAP astrocytopathy: Prospective evaluation of 90 patients in 1 year. *Journal of Neuroimmunology*, 321, 157-163.
- Dubey, D., Pittock, S. J., Kelly, C. R., McKeon, A., Lopez-Chiriboga, A. S., Lennon, V. A., ... & Aksamit, A. J. (2018). Autoimmune encephalitis epidemiology and a comparison to infectious encephalitis. *Annals of neurology*, 83(1), 166-177.
- Ducros, A., & Biousse, V. (2015). Headache arising from idiopathic changes in CSF pressure. *The Lancet Neurology*, 14(6), 655-668.
- Durcan, F. J., Corbett, J. J., & Wall, M. (1988). The incidence of pseudotumor cerebri: population studies in Iowa and Louisiana. *Archives of Neurology*, 45(8), 875-877.
- Edsbagge, M., Starck, G., Zetterberg, H., Ziegelitz, D., & Wikkelso, C. (2011). Spinal cerebrospinal fluid volume in healthy elderly individuals. *Clinical Anatomy*, 24(6), 733-740.

- Edwards, I. J., Bruce, G., Lawrenson, C., Howe, L., Clapcote, S. J., Deuchars, S. A., & Deuchars, J. (2013). Na⁺/K⁺ ATPase α 1 and α 3 isoforms are differentially expressed in α - and γ -motoneurons. *Journal of Neuroscience*, 33(24), 9913-9919.
- Edwards, L. J., Sharrack, B., Ismail, A., Tench, C. R., Gran, B., Dhungana, S., ... & Constantinescu, C. S. (2013). Increased levels of interleukins 2 and 17 in the cerebrospinal fluid of patients with idiopathic intracranial hypertension. *American journal of clinical and experimental immunology*, 2(3), 234.
- Egg, R., Reindl, M., Deisenhammer, F., Linington, C., & Berger, T. (2001). Anti-MOG and anti-MBP antibody subclasses in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 7(5), 285-289.
- Eide, P. K., Eidsvaag, V. A., Nagelhus, E. A., & Hansson, H. A. (2016). Cortical astrogliosis and increased perivascular aquaporin-4 in idiopathic intracranial hypertension. *Brain research*, 1644, 161-175.
- Eisenberg, H. M., McComb, J. G., & Lorenzo, A. V. (1974). Cerebrospinal fluid overproduction and hydrocephalus associated with choroid plexus papilloma. *Journal of neurosurgery*, 40(3), 381-385.
- Ekizoglu, E., Içoz, S., Tuzun, E., Birisik, O., Kocasoy-Orhan, E., Akman-Demir, G., & Baykan, B. (2012). Aquaporin-4 antibodies are not present in patients with idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia*, 32(3), 198-202.
- Ellis, D. Z., Rabe, J., & Sweadner, K. J. (2003). Global loss of Na, K-ATPase and its nitric oxide-mediated regulation in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroscience*, 23(1), 43-51.
- Eng, L. F., Ghirnikar, R. S., & Lee, Y. L. (2000). Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochemical research*, 25(9-10), 1439-1451.
- Fang, B., McKeon, A., Hinson, S. R., Kryzer, T. J., Pittock, S. J., Aksamit, A. J., & Lennon, V. A. (2016). *Autoimmune glial fibrillary acidic protein astrocytopathy: a novel meningoencephalomyelitis*. *JAMA neurology*, 73(11), 1297-1307.
- Férraille, E., & Doucet, A. (2001). Sodium-potassium-adenosinetriphosphatase-dependent sodium transport in the kidney: hormonal control. *Physiological reviews*, 81(1), 345-418.
- Fishman, R. A. (2002). Polar bear liver, vitamin A, aquaporins, and pseudotumor cerebri. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 52(5), 531-533.

- Flanagan, E. P., Hinson, S. R., Lennon, V. A., Fang, B., Aksamit, A. J., Morris, P. P., ... & Weinshenker, B. G. (2017). Glial fibrillary acidic protein immunoglobulin G as biomarker of autoimmune astrocytopathy: analysis of 102 patients. *Annals of neurology*, 81(2), 298-309.
- Flexner, L. B., & Winters, H. (1932). The rate of formation of cerebrospinal fluid in etherized cats. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 101(4), 697-710.
- Forshammar, J., Block, L., Lundborg, C., Biber, B., & Hansson, E. (2011). Naloxone and ouabain in ultralow concentrations restore Na⁺/K⁺-ATPase and cytoskeleton in lipopolysaccharide-treated astrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 286(36), 31586-31597.
- Francis, C. E., & Quiros, P. A. (2014). Headache management in idiopathic intracranial hypertension. *International ophthalmology clinics*, 54(1), 103-114.
- Fridley, J., Foroozan, R., Sherman, V., Brandt, M. L., & Yoshor, D. (2011). Bariatric surgery for the treatment of idiopathic intracranial hypertension: a review. *Journal of neurosurgery*, 114(1), 34-39.
- Friedman, D. I., Gordon, L. K., Egan, R. A., Jacobson, D. M., Pomeranz, H., Harrison, A. R., & Goldhammer, Y. (2004). Doxycycline and intracranial hypertension. *Neurology*, 62(12), 2297-2299.
- Friedman, D. I., Liu, G. T., & Digre, K. B. (2013). Revised diagnostic criteria for the pseudotumor cerebri syndrome in adults and children. *Neurology*, 81(13), 1159-1165.
- Friesner, D., Rosenman, R., Lobb, B. M., & Tanne, E. (2011). Idiopathic intracranial hypertension in the USA: the role of obesity in establishing prevalence and healthcare costs. *Obesity reviews*, 12(5), e372-e380.
- Galea, E., Dupouey, P., & Feinstein, D. L. (1995). Glial fibrillary acidic protein mRNA isoforms: expression in vitro and in vivo. *Journal of neuroscience research*, 41(4), 452-461.
- Gastaldi, M., Waters, P., & Vincent, A. (2017). Detection of NMDARs antibodies in encephalitis. In *NMDA Receptors* (pp. 117-126). Humana Press, New York, NY.
- Geering, K. (2008). Functional roles of Na, K-ATPase subunits. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 17(5), 526-532.

- Gelpi, E., Höftberger, R., Graus, F., Ling, H., Holton, J. L., Dawson, T., ... & Poewe, W. (2016). Neuropathological criteria of anti-IgLON5-related tauopathy. *Acta neuropathologica*, 132(4), 531-543.
- Genet, S., & Kado, R. T. (1997). Hyperpolarizing current of the Na/K ATPase contributes to the membrane polarization of the Purkinje cell in rat cerebellum. *Pflügers Archiv*, 434(5), 559-567.
- Giménez y Ribotta, M., Langa, F., Menet, V., & Privat, A. (2000). Comparative anatomy of the cerebellar cortex in mice lacking vimentin, GFAP, and both vimentin and GFAP. *Glia*, 31(1), 69-83.
- Giovannoni, G. (2014). Cerebrospinal fluid analysis. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 122, pp. 681-702). Elsevier.
- Giuseffi, V., Wall, M., Siegel, P. Z., & Rojas, P. B. (1991). Symptoms and disease associations in idiopathic intracranial hypertension (pseudotumor cerebri) A case-control study. *Neurology*, 41(2 Part 1), 239-239.
- Glueck, C. J., Goldenberg, N., Golnik, K., Sieve, L., & Wang, P. (2005). Idiopathic intracranial hypertension: associations with thrombophilia and hypofibrinolysis in men. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*, 11(4), 441-448.
- Glynn, I. M. (1993). Annual review prize lecture. 'All hands to the sodium pump'. *The Journal of Physiology*, 462(1), 1-30.
- Gold, R., Linington, C., & Lassmann, H. (2006). Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain*, 129(8), 1953-1971.
- Goldstein, I., Levy, T., Galili, D., Ovadia, H., Yirmiya, R., Rosen, H., & Lichtstein, D. (2006). Involvement of Na⁺, K⁺-ATPase and endogenous digitalis-like compounds in depressive disorders. *Biological psychiatry*, 60(5), 491-499.
- Gottlieb, S. S., Rogowski, A. C., Weinberg, M., Krichten, C. M., Hamilton, B. P., & Hamlyn, J. M. (1992). Elevated concentrations of endogenous ouabain in patients with congestive heart failure. *Circulation*, 86(2), 420-425.
- Grativvol, R. S., Cavalcante, W. C. P., Castro, L. H. M., Nitrini, R., & Simabukuro, M. M. (2018). Updates in the Diagnosis and Treatment of Paraneoplastic Neurologic Syndromes. *Current oncology reports*, 20(11), 92.

- Graus, F., Vincent, A., Pozo-Rosich, P., Sabater, L., Saiz, A., Lang, B., & Dalmau, J. (2005). Anti-glial nuclear antibody: marker of lung cancer-related paraneoplastic neurological syndromes. *Journal of neuroimmunology*, 165(1-2), 166-171.
- Gresa-Arribas, N., Planagumà, J., Petit-Pedrol, M., Kawachi, I., Katada, S., Glaser, C. A., ... & Dalmau, J. (2016). Human neurexin-3 α antibodies associate with encephalitis and alter synapse development. *Neurology*, 10-1212.
- Güre, A. O., Stockert, E., Scanlan, M. J., Keresztes, R. S., Jäger, D., Altorki, N. K., ... & Chen, Y. T. (2000). Serological identification of embryonic neural proteins as highly immunogenic tumor antigens in small cell lung cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(8), 4198-4203.
- Hacohen, Y., Mankad, K., Chong, W. K., Barkhof, F., Vincent, A., Lim, M., ... & Hemingway, C. (2017). Diagnostic algorithm for relapsing acquired demyelinating syndromes in children. *Neurology*, 89(3), 269-278.
- Hammock, M. K., & Milhorat, T. H. (1973). Recent studies on the formation of cerebrospinal fluid. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 15, 27-34.
- Hannerz, J., & Ericson, K. (2009). The relationship between idiopathic intracranial hypertension and obesity. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 49(2), 178-184.
- Hansson, E. (2015). Actin filament reorganization in astrocyte networks is a key functional step in neuroinflammation resulting in persistent pain: novel findings on network restoration. *Neurochemical research*, 40(2), 372-379.
- Harrington, M. G., Fonteh, A. N., Arakaki, X., Cowan, R. P., Ecke, L. E., Foster, H., ... & Biringer, R. G. (2010). Capillary endothelial Na⁺, K⁺, ATPase transporter homeostasis and a new theory for migraine pathophysiology. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 50(3), 459-478.
- Hawkins, B. T., & Davis, T. P. (2005). The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacological reviews*, 57(2), 173-185.
- Heinzen, E. L., Swoboda, K. J., Hitomi, Y., Gurrieri, F., Nicole, S., de Vries, B., ... & Panagiotakaki, E. (2012). De novo mutations in ATP1A3 cause alternating hemiplegia of childhood. *Nature genetics*, 44(9), 1030.
- Hoffmann, J. (2017). Impaired cerebrospinal fluid pressure. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 146, pp. 171-185). Elsevier.

- Hohlfeld, R., Dornmair, K., Meinl, E., & Wekerle, H. (2016). The search for the target antigens of multiple sclerosis, part 2: CD8⁺ T cells, B cells, and antibodies in the focus of reverse-translational research. *The Lancet Neurology*, 15(3), 317-331.
- Reindl, M., Di Pauli, F., Rostásy, K., & Berger, T. (2013). The spectrum of MOG autoantibody-associated demyelinating diseases. *Nature Reviews Neurology*, 9(8), 455.
- Hol, E. M., & Pekny, M. (2015). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Current opinion in cell biology*, 32, 121-130.
- Holloway Jr, L. S., & Cassin, S. (1972). Effect of acetazolamide and ouabain on CSF production rate in the newborn dog. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 223(3), 503-506.
- Holm, T. H., & Lykke-Hartmann, K. (2016). Insights into the pathology of the $\alpha 3$ Na⁺/K⁺-ATPase ion pump in neurological disorders; lessons from animal models. *Frontiers in physiology*, 7, 209.
- Honnorat, J. (2014). Therapeutic approaches in antibody-associated central nervous system pathologies. *Revue neurologique*, 170(10), 587-594.
- Hostenbach, S., Cambron, M., D'haeseleer, M., Kooijman, R., & De Keyser, J. (2014). Astrocyte loss and astrogliosis in neuroinflammatory disorders. *Neuroscience letters*, 565, 39-41.
- Höftberger, R. (2015). Neuroimmunology: an expanding frontier in autoimmunity. *Frontiers in immunology*, 6, 206.
- Hutchinson, M., Waters, P., McHugh, J., Gorman, G., O'riordan, S., Connolly, S., ... & Vincent, A. (2008). Progressive encephalomyelitis, rigidity, and myoclonus: a novel glycine receptor antibody. *Neurology*, 71(16), 1291-1292.
- Iliff, J. J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B. A., Peng, W., Gundersen, G. A., ... & Nagelhus, E. A. (2012). A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Science translational medicine*, 4(147), 147ra111-147ra111.
- Iorio, R., Damato, V., Evoli, A., Gessi, M., Gaudino, S., Di Lazzaro, V., ... & Hol, E. M. (2018). Clinical and immunological characteristics of the spectrum of GFAP autoimmunity: a case series of 22 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 89(2), 138-146.

- Irani, S. R., Alexander, S., Waters, P., Kleopa, K. A., Pettingill, P., Zuliani, L., ... & Vincent, A. (2010). Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain*, 133(9), 2734-2748.
- Jarius, S., Paul, F., Aktas, O., Asgari, N., Dale, R. C., de Seze, J., ... & Kleiter, I. (2018). MOG encephalomyelitis: international recommendations on diagnosis and antibody testing. *Journal of neuroinflammation*, 15(1), 134.
- Jarius, S., Ruprecht, K., Kleiter, I., Borisow, N., Asgari, N., Pitarokoili, K., ... & Trebst, C. (2016). MOG-IgG in NMO and related disorders: a multicenter study of 50 patients. Part 1: frequency, syndrome specificity, influence of disease activity, long-term course, association with AQP4-IgG, and origin. *Journal of neuroinflammation*, 13(1), 279.
- Jensen, R. H., Radojicic, A., & Yri, H. (2016). The diagnosis and management of idiopathic intracranial hypertension and the associated headache. *Therapeutic advances in neurological disorders*, 9(4), 317-326.
- Jiménez, A. J., Domínguez-Pinos, M. D., Guerra, M. M., Fernández-Llebrez, P., & Pérez-Fígares, J. M. (2014). Structure and function of the ependymal barrier and diseases associated with ependyma disruption. *Tissue barriers*, 2(1), e28426.
- Johns, T. G., & Bernard, C. C. (1999). The structure and function of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Journal of neurochemistry*, 72(1), 1-9.
- Johnston, I. (1973). Reduced CSF absorption syndrome: reappraisal of benign intracranial hypertension and related conditions. *The Lancet*, 302(7826), 418-421.
- Johnston, I. (2001). The historical development of the pseudotumor concept. *Neurosurgical focus*, 11(2), 1-9.
- Joubert, B., & Honnorat, J. (2015). Autoimmune channelopathies in paraneoplastic neurological syndromes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(10), 2665-2676.
- Jurynczyk, M., Messina, S., Woodhall, M. R., Raza, N., Everett, R., Roca-Fernandez, A., ... & Chandratre, S. (2017). Clinical presentation and prognosis in MOG-antibody disease: a UK study. *Brain*, 140(12), 3128-3138.
- Kanagalingam, S., & Subramanian, P. S. (2018). Update on Idiopathic Intracranial Hypertension. *Current treatment options in neurology*, 20(7), 24.

- Kaplan, J. H. (2002). Biochemistry of Na, K-ATPase. *Annual review of biochemistry*, 71(1), 511-535.
- Kasprowicz, M., Lalou, D. A., Czosnyka, M., Garnett, M., & Czosnyka, Z. (2016). Intracranial pressure, its components and cerebrospinal fluid pressure–volume compensation. *Acta Neurologica Scandinavica*, 134(3), 168-180.
- Keltner, J. L., Johnson, C. A., Cello, K. E., & Wall, M. (2014). Baseline visual field findings in the idiopathic intracranial hypertension treatment trial (IIHTT). *Investigative ophthalmology & visual science*, 55(5), 3200-3207.
- Kerty, E., Heuser, K., Indahl, U. G., Berg, P. R., Nakken, S., Lien, S., ... & Nagelhus, E. A. (2013). Is the brain water channel aquaporin-4 a pathogenetic factor in idiopathic intracranial hypertension? Results from a combined clinical and genetic study in a Norwegian cohort. *Acta ophthalmologica*, 91(1), 88-91.
- Kesler, A., Kliper, E., Assayag, E. B., Zwang, E., Deutsch, V., Martinowitz, U., ... & Berliner, S. (2010). Thrombophilic factors in idiopathic intracranial hypertension: a report of 51 patients and a meta-analysis. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 21(4), 328-333.
- Kesler, A., Kliper, E., Shenkerman, G., & Stern, N. (2010). Idiopathic intracranial hypertension is associated with lower body adiposity. *Ophthalmology*, 117(1), 169-174.
- Kesler, A., Stolovic, N., Bluednikov, Y., & Shohat, T. (2014). The incidence of idiopathic intracranial hypertension in Israel from 2005 to 2007: results of a nationwide survey. *European journal of neurology*, 21(8), 1055-1059.
- Kirshenbaum, G. S., Idris, N. F., Dachtler, J., Roder, J. C., & Clapcote, S. J. (2016). Deficits in social behavioral tests in a mouse model of alternating hemiplegia of childhood. *Journal of neurogenetics*, 30(1), 42-49.
- Klarica, M., Orešković, D., Božić, B., Vukić, M., Butković, V., & Bulat, M. (2009). New experimental model of acute aqueductal blockage in cats: effects on cerebrospinal fluid pressure and the size of brain ventricles. *Neuroscience*, 158(4), 1397-1405.
- Klein, A., Stern, N., Osher, E., Kliper, E., & Kesler, A. (2013). Hyperandrogenism is associated with earlier age of onset of idiopathic intracranial hypertension in women. *Current eye research*, 38(9), 972-976.

- Ko, M. W., Chang, S. C., Ridha, M. A., Ney, J. J., Ali, T. F., Friedman, D. I., ... & Liu, G. T. (2011). Weight gain and recurrence in idiopathic intracranial hypertension A case-control study. *Neurology*, 76(18), 1564-1567.
- Kosmorsky, G. S. (2014). Idiopathic intracranial hypertension: pseudotumor cerebri. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 54(2), 389-393.
- Kunchok, A., Zekeridou, A., & McKeon, A. (2019). Autoimmune glial fibrillary acidic protein astrocytopathy. *Current opinion in neurology*.
- Kunte, H., Schmidt, F., Kronenberg, G., Hoffmann, J., Schmidt, C., Harms, L., & Goektas, Ö. (2013). Olfactory dysfunction in patients with idiopathic intracranial hypertension. *Neurology*, 81(4), 379-382.
- Kurauchi, Y., Noma, K., Hisatsune, A., Seki, T., & Katsuki, H. (2018). Na⁺, K⁺-ATPase inhibition induces neuronal cell death in rat hippocampal slice cultures: Association with GLAST and glial cell abnormalities. *Journal of pharmacological sciences*, 138(3), 167-175.
- La Cava, A., & Matarese, G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nature Reviews Immunology*, 4(5), 371.
- Lai, M., Hughes, E. G., Peng, X., Zhou, L., Gleichman, A. J., Shu, H., ... & Bataller, L. (2009). AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Annals of neurology*, 65(4), 424-434.
- Lampl, Y., Eshel, Y., Kessler, A., Fux, A., Gilad, R., Boaz, M., ... & Sadeh, M. (2002). Serum leptin level in women with idiopathic intracranial hypertension. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 72(5), 642-643.
- Lancaster, E., Lai, M., Peng, X., Hughes, E., Constantinescu, R., Raizer, J., ... & Ohta, K. (2010). Antibodies to the GABAB receptor in limbic encephalitis with seizures: case series and characterisation of the antigen. *The Lancet Neurology*, 9(1), 67-76.
- Lancaster, E., Huijbers, M. G., Bar, V., Boronat, A., Wong, A., Martinez-Hernandez, E., ... & Graus, F. (2011). Investigations of caspr2, an autoantigen of encephalitis and neuromyotonia. *Annals of neurology*, 69(2), 303-311.
- Lancaster, E., Martinez-Hernandez, E., Titulaer, M. J., Boulos, M., Weaver, S., Antoine, J. C., ... & Wong, S. (2011). Antibodies to metabotropic glutamate receptor 5 in the Ophelia syndrome. *Neurology*, WNL-0b013e3182364a44.
- Lancaster, E., & Dalmau, J. (2012). Neuronal autoantigens—pathogenesis, associated disorders and antibody testing. *Nature Reviews Neurology*, 8(7), 380.

- Lancaster, E. (2015). Continuum: The Paraneoplastic Disorders. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 21(20), 452.
- Langlet, F., Mullier, A., Bouret, S. G., Prevot, V., & Dehouck, B. (2013). Tanycyte-like cells form a blood–cerebrospinal fluid barrier in the circumventricular organs of the mouse brain. *Journal of Comparative Neurology*, 521(15), 3389-3405.
- Laranjeira, C., Sandgren, K., Kessaris, N., Richardson, W., Potocnik, A., Berghe, P. V., & Pachnis, V. (2011). Glial cells in the mouse enteric nervous system can undergo neurogenesis in response to injury. *The Journal of clinical investigation*, 121(9).
- Larsen, P. J., Tang-Christensen, M., Holst, J. J., & Ørskov, C. (1997). Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience*, 77(1), 257-270.
- Lassmann, H. (2013). Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, 333(1-2), 1-4.
- Lebar, R., Baudrimont, M., & Vincent, C. (1989). Chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in the guinea pig. Presence of anti-M2 antibodies in central nervous system tissue and the possible role of M2 autoantigen in the induction of the disease. *Journal of autoimmunity*, 2(2), 115-132.
- Leenen, F. H., Harmsen, E., Yu, H & Yuan, B. (1993). Dietary sodium stimulates ouabainlike activity in adrenalectomized spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 265(1), H421-H424.
- Leinonen, V., Vanninen, R., & Rauramaa, T. (2017). Cerebrospinal fluid circulation and hydrocephalus. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 145, pp. 39-50). Elsevier.
- Lennon, V. A., Kryzer, T. J., Pittock, S. J., Verkman, A. S., & Hinson, S. R. (2005). IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *Journal of Experimental Medicine*, 202(4), 473-477.
- Lennon, V. A., Wingerchuk, D. M., Kryzer, T. J., Pittock, S. J., Lucchinetti, C. F., Fujihara, K., ... & Weinshenker, B. G. (2004). A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *The Lancet*, 364(9451), 2106-2112.
- Leypoldt, F., Armangue, T., & Dalmau, J. (2015). Autoimmune encephalopathies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1338(1), 94-114.
- Li, Z., & Langhans, S. A. (2015). Transcriptional regulators of Na, K-ATPase subunits. *Frontiers in cell and developmental biology*, 3, 66.

- Libien, J., & Blaner, W. S. (2007). Retinol and retinol-binding protein in cerebrospinal fluid: can vitamin A take the “idiopathic” out of idiopathic intracranial hypertension?.
- Liedtke, W., Edelmann, W., Bieri, P. L., Chiu, F. C., Cowan, N. J., Kucherlapati, R., & Raine, C. S. (1996). GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination. *Neuron*, 17(4), 607-615.
- Lingrel, J. B., Williams, M. T., Vorhees, C. V., & Moseley, A. E. (2007). Na, K-ATPase and the role of α isoforms in behavior. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 39(5-6), 385-389.
- Linnoila, J., & Pittock, S. J. (2016). Autoantibody-associated central nervous system neurologic disorders. In *Seminars in neurology* 36(4), 382-396.
- Lippoldt, A., Liebner, S., Andbjør, B., Kalbacher, H., Wolburg, H., Haller, H., & Fuxe, K. (2000). Organization of choroid plexus epithelial and endothelial cell tight junctions and regulation of claudin-1,-2 and-5 expression by protein kinase C. *Neuroreport*, 11(7), 1427-1431.
- Long, Y., Liang, J., Xu, H., Huang, Q., Yang, J., Gao, C., ... & Chen, X. (2018). Autoimmune glial fibrillary acidic protein astrocytopathy in Chinese patients: a retrospective study. *European journal of neurology*, 25(3), 477-483.
- Lucchinetti, C. F., Guo, Y., Popescu, B. F. G., Fujihara, K., Itoyama, Y., & Misu, T. (2014). The pathology of an autoimmune astrocytopathy: lessons learned from neuromyelitis optica. *Brain pathology*, 24(1), 83-97.
- Lupien, C., Brenner, M., Guérin, S. L., & Salesse, C. (2004). Expression of glial fibrillary acidic protein in primary cultures of human Müller cells. *Experimental eye research*, 79(3), 423-429.
- Lyon, C. J., Law, R. E., & Hsueh, W. A. (2003). Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology*, 144(6), 2195-2200.
- MacGregor, G. A., Fenton, S., Alaghband-Zadeh, J., Markandu, N., Roulston, J. E., & de Wardener, H. E. (1981). Evidence for a raised concentration of a circulating sodium transport inhibitor in essential hypertension. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 283(6303), 1355-1357.
- Malm, J., Kristensen, B., Markgren, P., & Ekstedt, J. (1992). CSF hydrodynamics in idiopathic intracranial hypertension A long-term study. *Neurology*, 42(4), 851-851.

- Marcelis, J., & Silberstein, S. D. (1991). Idiopathic intracranial hypertension without papilledema. *Archives of neurology*, 48(4), 392-399.
- Mariotto, S., Ferrari, S., Monaco, S., Benedetti, M. D., Schanda, K., Alberti, D., ... & Bombardi, R. (2017). Clinical spectrum and IgG subclass analysis of anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated syndromes: a multicenter study. *Journal of neurology*, 264(12), 2420-2430.
- Markey, K. A., Mollan, S. P., Jensen, R. H., & Sinclair, A. J. (2016). Understanding idiopathic intracranial hypertension: mechanisms, management, and future directions. *The Lancet Neurology*, 15(1), 78-91.
- Marta, C. B., Montano, M. M., Taylor, C. M., Taylor, A. L., Bansal, R., & Pfeiffer, S. E. (2005). Signaling cascades activated upon antibody cross-linking of myelin oligodendrocyte glycoprotein. Potential implications for multiple sclerosis. *Journal of Biological Chemistry*.
- Mathew, N. T., Ravishankar, K., & Sanin, L. C. (1996). Coexistence of migraine and idiopathic intracranial hypertension without papilledema. *Neurology*, 46(5), 1226-1226.
- Maxner, C. E., Freedman, M. I., & Corbett, J. J. (1987). Asymmetric papilledema and visual loss in pseudotumour cerebri. *Canadian journal of neurological sciences*, 14(4), 593-596.
- McCarthy, K. D., & Reed, D. J. (1974). The effect of acetazolamide and furosemide on cerebrospinal fluid production and choroid plexus carbonic anhydrase activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 189(1), 194-201.
- McComb, J. G. (1983). Recent research into the nature of cerebrospinal fluid formation and absorption. *Journal of neurosurgery*, 59(3), 369-383.
- McGrail, K. M., Phillips, JM, & Sweadner, K.J. (1991) Immunofluorescent localization of three Na, K-ATPase isozymes in the rat central nervous system: Both neurons and glia can express more than one Na, K-ATPase. *J. Neurosci. I*, 1, 381-391.
- Milhorat, T. H. (1975). The third circulation revisited. *Journal of neurosurgery*, 42(6), 628-645.
- Mollan, S. P., Markey, K. A., Benzimra, J. D., Jacks, A., Matthews, T. D., Burdon, M. A., & Sinclair, A. J. (2014). A practical approach to, diagnosis, assessment and management of idiopathic intracranial hypertension. *Practical neurology*, 14(6), 380-390.

- Moscarello, M. A. (1997). Myelin basic protein, the “executive” molecule of the myelin membrane. In *Cell Biology and Pathology of Myelin* (pp. 13-25). Springer, Boston, MA.
- Mynett-Johnson, L., Murphy, V., McCormack, J., Shields, D. C., Claffey, E., Manley, P., & McKeon, P. (1998). Evidence for an allelic association between bipolar disorder and a Na⁺, K⁺ adenosine triphosphatase alpha subunit gene (ATP1A3). *Biological psychiatry*, 44(1), 47-51.
- Nagelhus, E. A., & Ottersen, O. P. (2013). Physiological roles of aquaporin-4 in brain. *Physiological reviews*, 93(4), 1543-1562.
- Nakada, T., & Kwee, I. L. (2018). Fluid Dynamics Inside the Brain Barrier: Current Concept of Interstitial Flow, Glymphatic Flow, and Cerebrospinal Fluid Circulation in the Brain. *The Neuroscientist*, 1073858418775027.
- Newton, M., & Cooper, B. T. (1994). Benign intracranial hypertension during prednisolone treatment for inflammatory bowel disease. *Gut*, 35(3), 423-425.
- Nielsen, S., Nagelhus, E. A., Amiry-Moghaddam, M., Bourque, C., Agre, P., & Ottersen, O. P. (1997). Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *Journal of Neuroscience*, 17(1), 171-180.
- Oguro-Okano, M., Griesmann, G. E., Wieben, E. D., Slaymaker, S. J., Snutch, T. P., & Lennon, V. A. (1992). Molecular diversity of neuronal-type calcium channels identified in small cell lung carcinoma. *Mayo Clinic Proceedings*, 67(12), 1150-1159.
- Oldendorf, W. H. (1972). Cerebrospinal fluid formation and circulation. *Progress in nuclear medicine*, 1, 336.
- Ooi, L. Y., Walker, B. R., Bodkin, P. A., & Whittle, I. R. (2008). Idiopathic intracranial hypertension: can studies of obesity provide the key to understanding pathogenesis?. *British journal of neurosurgery*, 22(2), 187-194.
- O'Reilly, M. W., Westgate, C. S., Hornby, C., Botfield, H., Taylor, A. E., Markey, K., ... & Jenkinson, C. (2019). A unique androgen excess signature in idiopathic intracranial hypertension is linked to cerebrospinal fluid dynamics. *JCI insight*.
- Oreskovic, D., Klarica, M., & Vukic, M. (2001). Does the secretion and circulation of the cerebrospinal fluid really exist?. *Medical hypotheses*, 56(5), 622-624.

- Panayiotidis, M. I., Bortner, C. D., & Cidlowski, J. A. (2006). On the mechanism of ionic regulation of apoptosis: would the Na⁺/K⁺-ATPase please stand up?. *Acta physiologica*, 187(1-2), 205-215.
- Papadopoulos, M. C., & Verkman, A. S. (2013). Aquaporin water channels in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(4), 265.
- Pardridge, W. M. (2011). Drug transport in brain via the cerebrospinal fluid. *Fluids and Barriers of the CNS*, 8(1), 7.
- Pellkofer, H., Schubart, A. S., Höftberger, R., Schutze, N., Pagany, M., Schüller, M., ... & Linington, C. (2004). Modelling paraneoplastic CNS disease: T-cells specific for the onconeural antigen PNMA1 mediate autoimmune encephalomyelitis in the rat. *Brain*, 127(8), 1822-1830.
- Peng, K. P., Fuh, J. L., & Wang, S. J. (2012). High-pressure headaches: idiopathic intracranial hypertension and its mimics. *Nature Reviews Neurology*, 8(12), 700.
- Peschl, P., Ramberger, M., Höftberger, R., Jöhrer, K., Baumann, M., Rostásy, K., & Reindl, M. (2017). Methodological Challenges in Protein Microarray and Immunohistochemistry for the Discovery of Novel Autoantibodies in Paediatric Acute Disseminated Encephalomyelitis. *International journal of molecular sciences*, 18(3), 679.
- Petit-Pedrol, M., Armangue, T., Peng, X., Bataller, L., Cellucci, T., Davis, R., ... & Ritacco, D. G. (2014). Encephalitis with refractory seizures, status epilepticus, and antibodies to the GABAA receptor: a case series, characterisation of the antigen, and analysis of the effects of antibodies. *The Lancet Neurology*, 13(3), 276-286.
- Pizzo M.E., Thorne R.G. (2017) The extracellular and perivascular spaces of the brain. In: Badaut, J., & Plesnila, N. (Eds.). (2017). *Brain Edema: From Molecular Mechanisms to Clinical Practice*. Academic Press, London, pp 103–128
- Planagumà, J., Leypoldt, F., Mannara, F., Gutierrez-Cuesta, J., Martín-García, E., Aguilar, E., ... & Lakadamyali, M. (2014). Human N-methyl D-aspartate receptor antibodies alter memory and behaviour in mice. *Brain*, 138(1), 94-109.
- Plog, B. A., Dashnaw, M. L., Hitomi, E., Peng, W., Liao, Y., Lou, N., ... & Nedergaard, M. (2015). Biomarkers of traumatic injury are transported from brain to blood via the glymphatic system. *Journal of Neuroscience*, 35(2), 518-526

- Pollak, L., Zohar, E., Glovinsky, Y., & Huna-Baron, R. (2013). Reevaluation of presentation and course of idiopathic intracranial hypertension—a large cohort comprehensive study. *Acta Neurologica Scandinavica*, 127(6), 406-412.
- Praetorius J, Nielsen S. Distribution of sodium transporters and aquaporin-1 in the human choroid plexus. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;291:C59–67.
- Probst, C., Saschenbrecker, S., Stoecker, W., & Komorowski, L. (2014). Anti-neuronal autoantibodies: current diagnostic challenges. *Multiple sclerosis and related disorders*, 3(3), 303-320.
- Probst, C., Saschenbrecker, S., Stoecker, W., & Komorowski, L. (2014). Anti-neuronal autoantibodies: current diagnostic challenges. *Multiple sclerosis and related disorders*, 3(3), 303-320.
- Radhakrishnan, K., Thacker, A. K., Bohlaga, N. H., Maloo, J. C., & Gerryo, S. E. (1993). Epidemiology of idiopathic intracranial hypertension: a prospective and case-control study. *Journal of the neurological sciences*, 116(1), 18-28.
- Raoof, N., Sharrack, B., Pepper, I. M., & Hickman, S. J. (2011). The incidence and prevalence of idiopathic intracranial hypertension in Sheffield, UK. *European journal of neurology*, 18(10), 1266-1268.
- Rauz, S., Cheung, C. M. G., Wood, P. J., Coca-Prados, M., Walker, E. A., Murray, P. I., & Stewart, P. M. (2003). Inhibition of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 lowers intraocular pressure in patients with ocular hypertension. *Qjm*, 96(7), 481-490.
- Reeves, S. A., Helman, L. J., Allison, A., & Israel, M. A. (1989). Molecular cloning and primary structure of human glial fibrillary acidic protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(13), 5178-5182.
- Reinhard, L., Tidow, H., Clausen, M. J., & Nissen, P. (2013). Na⁺, K⁺-ATPase as a docking station: protein–protein complexes of the Na⁺, K⁺-ATPase. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(2), 205-222.
- Riggeal, B. D., Bruce, B. B., Saindane, A. M., Ridha, M. A., Kelly, L. P., Newman, N. J., & Biousse, V. (2013). Clinical course of idiopathic intracranial hypertension with transverse sinus stenosis. *Neurology*, 80(3), 289-295.
- Ritzenthaler, T., Verret, J. M., & Honnorat, J. (2010). Paraneoplastic chorea and behavioral disorders in a patient with anti-CV2/CRMP5 antibodies and two different tumors. *Revue neurologique*, 166(1), 90-95.

- Rodahl, K., & Moore, T. (1943). The vitamin A content and toxicity of bear and seal liver. *Biochemical Journal*, 37(2), 166.
- Rosenfeld, M. R., & Dalmau, J. O. (2012). Paraneoplastic disorders of the CNS and autoimmune synaptic encephalitis. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 18(2, Neuro-oncology), 366-383.
- Rosenberg, G. A. (2017). Cerebrospinal fluid: Formation, absorption, markers, and relationship to blood–brain barrier. In *Primer on Cerebrovascular Diseases (Second Edition)* (pp. 25-31).
- Rueggsegger, C., Maharjan, N., Goswami, A., de L'Etang, A. F., Weis, J., Troost, D., ... & Saxena, S. (2016). Aberrant association of misfolded SOD1 with Na⁺/K⁺ ATPase- α 3 impairs its activity and contributes to motor neuron vulnerability in ALS. *Acta neuropathologica*, 131(3), 427-451.
- Rungger–Brändle, E., Dosso, A. A., & Leuenberger, P. M. (2000). Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 41(7), 1971-1980.
- Sabater, L., Gaig, C., Gelpi, E., Bataller, L., Lewerenz, J., Torres-Vega, E., ... & Vilaseca, I. (2014). A novel non-rapid-eye movement and rapid-eye-movement parasomnia with sleep breathing disorder associated with antibodies to IgLON5: a case series, characterisation of the antigen, and post-mortem study. *The Lancet Neurology*, 13(6), 575-586.
- Sabater, L., Titulaer, M., Saiz, A., Verschuuren, J. J. G. M., Güre, A. O., & Graus, F. (2008). SOX1 antibodies are markers of paraneoplastic Lambert–Eaton myasthenic syndrome. *Neurology*, 70(12), 924-928.
- Samancı, B., Samancı, Y., Tüzün, E., Altıokka-Uzun, G., Ekizoğlu, E., İçöz, S., ... & Baykan, B. (2017). Evidence for potential involvement of pro-inflammatory adipokines in the pathogenesis of idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia*, 37(6), 525-531.
- Scharf, M., Miske, R., Heidenreich, F., Giess, R., Landwehr, P., Blöcker, I. M., ... & Schlumberger, W. (2015). Neuronal Na⁺/K⁺ ATPase is an autoantibody target in paraneoplastic neurologic syndrome. *Neurology*, 84(16), 1673-1679.
- Schluesener, H. J., Sobel, R. A., Linington, C., & Weiner, H. L. (1987). A monoclonal antibody against a myelin oligodendrocyte glycoprotein induces relapses and

- demyelination in central nervous system autoimmune disease. *The Journal of Immunology*, 139(12), 4016-4021.
- Schmidt, D., Keil, W., & Harms, D. (1988). Neuron-specific enolase, protein S-100, neurofilaments, glial fibrillary acidic protein and vimentin as markers for cytodifferentiation in neuroblastoma. In *Progress in Surgical Pathology* (pp. 33-39). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Seifert, G., Schilling, K., & Steinhäuser, C. (2006). Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(3), 194.
- Shah, V. A., Kardon, R. H., Lee, A. G., Corbett, J. J., & Wall, M. (2008). Long-term follow-up of idiopathic intracranial hypertension The Iowa experience. *Neurology*, 70(8), 634-640.
- Shan, F., Long, Y., & Qiu, W. (2018). Autoimmune Glial Fibrillary Acidic Protein Astrocytopathy: A Review of the Literature. *Frontiers in immunology*, 9.
- Shrivastava, A. N., Redeker, V., Fritz, N., Pieri, L., Almeida, L. G., Spolidoro, M., ... & Aperia, A. (2015). α -synuclein assemblies sequester neuronal α 3-Na⁺/K⁺-ATPase and impair Na⁺ gradient. *The EMBO journal*, 34(19), 2408-2423.
- Shrivastava, A. N., Triller, A., & Melki, R. (2018). Cell Biology and Dynamics of Neuronal Na⁺/K⁺-ATPase in Health and Diseases. *Neuropharmacology*.
- Simonini, M., Casanova, P., Citterio, L., Messaggio, E., Lanzani, C., & Manunta, P. (2018). Endogenous Ouabain and Related Genes in the Translation from Hypertension to Renal Diseases. *International journal of molecular sciences*, 19(7), 1948.
- Sinclair, A. J., Onyimba, C. U., Khosla, P., Vijapurapu, N., Tomlinson, J. W., Burdon, M. A., ... & Rauz, S. (2007). Corticosteroids, 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isozymes and the Rabbit Choroid Plexus. *Journal of neuroendocrinology*, 19(8), 614-620.
- Sinclair, A. J., Ball, A. K., Burdon, M. A., Clarke, C. E., Stewart, P. M., Curnow, S. J., & Rauz, S. (2008). Exploring the pathogenesis of IIH: an inflammatory perspective. *Journal of neuroimmunology*, 201, 212-220.
- Sinclair, A. J., Burdon, M. A., Nightingale, P. G., Ball, A. K., Good, P., Matthews, T. D., ... & Walker, E. A. (2010). Low energy diet and intracranial pressure in women with idiopathic intracranial hypertension: prospective cohort study. *Bmj*, 341, c2701.

- Sinclair, A. J., Walker, E. A., Burdon, M. A., van Beek, A. P., Kema, I. P., Hughes, B. A., ... & Tomlinson, J. W. (2010). Cerebrospinal fluid corticosteroid levels and cortisol metabolism in patients with idiopathic intracranial hypertension: a link between 11 β -HSD1 and intracranial pressure regulation?. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(12), 5348-5356.
- Siso S, Jeffrey M, Gonzalez L. 2010. Sensory circumventricular organs in health and disease. *Acta Neuropathol* 120:689–705.
- Skou, J. C., & Esmann, M. (1992). The Na, K-ATPase. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 24(3), 249-261.
- Speake, T., Whitwell, C., Kajita, H., Majid, A., & Brown, P. D. (2001). Mechanisms of CSF secretion by the choroid plexus. *Microscopy research and technique*, 52(1), 49-59.
- Stich, O., Klages, E., Bischler, P., Jarius, S., Rasiah, C., Voltz, R., & Rauer, S. (2012). SOX1 antibodies in sera from patients with paraneoplastic neurological syndromes. *Acta Neurologica Scandinavica*, 125(5), 326-331.
- Stiebel-Kalish, H., Eyal, S., & Steiner, I. (2013). The role of aquaporin-1 in idiopathic and drug-induced intracranial hypertension. *Medical hypotheses*, 81(6), 1059-1062.
- Strokin, M., Sergeeva, M., & Reiser, G. (2010). Proinflammatory treatment of astrocytes with lipopolysaccharide results in augmented Ca²⁺ signaling through increased expression of VIA phospholipaseA2 (iPLA2). *American Journal of Physiology-Cell Physiology*.
- Subramanian, P. S., Goldenberg-Cohen, N., Shukla, S., Cheskin, L. J., & Miller, N. R. (2004). Plasma ghrelin levels are normal in obese patients with idiopathic intracranial hypertension (pseudotumor cerebri). *American journal of ophthalmology*, 138(1), 109-113.
- Sugerman, H. J., DeMaria, E. J., Felton, W. 3., Nakatsuka, M., & Sismanis, A. (1997). Increased intra-abdominal pressure and cardiac filling pressures in obesity-associated pseudotumor cerebri. *Neurology*, 49(2), 507-511.
- Sweadner, K. J., & Rael, E. (2000). The FXYD gene family of small ion transport regulators or channels: cDNA sequence, protein signature sequence, and expression. *Genomics*, 68(1), 41-56.
- Syková, E., & Nicholson, C. (2008). Diffusion in brain extracellular space. *Physiological reviews*, 88(4), 1277-1340.

- Tabassi, A., Salmasi, A. H., & Jalali, M. (2005). Serum and CSF vitamin A concentrations in idiopathic intracranial hypertension. *Neurology*, 64(11), 1893-1896.
- Thorne, R. G., & Nicholson, C. (2006). In vivo diffusion analysis with quantum dots and dextrans predicts the width of brain extracellular space. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(14), 5567-5572.
- Thorne, R. G. (2014). Primer on central nervous system structure/function and the vasculature, ventricular system, and fluids of the brain. *Drug Delivery to the Brain*. Springer: New York, 685-706.
- Thurtell, M. J., & Wall, M. (2013). Idiopathic intracranial hypertension (pseudotumor cerebri): recognition, treatment, and ongoing management. *Current treatment options in neurology*, 15(1), 1-12.
- Titulaer, M. J., McCracken, L., Gabilondo, I., Armangué, T., Glaser, C., Iizuka, T., ... & Aguilar, E. (2013). Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(2), 157-165.
- Tomlinson, J. W., Moore, J., Cooper, M. S., Bujalska, I., Shahmanesh, M., Burt, C., ... & Stewart, P. M. (2001). Regulation of expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in adipose tissue: tissue-specific induction by cytokines. *Endocrinology*, 142(5), 1982-1989.
- Tomlinson, J. W., Sinha, B., Bujalska, I., Hewison, M., & Stewart, P. M. (2002). Expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in adipose tissue is not increased in human obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(12), 5630-5635.
- Tumani, H., Huss, A., & Bachhuber, F. (2017). The cerebrospinal fluid and barriers— anatomic and physiologic considerations. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 146, pp. 21-32). Elsevier.
- Uldall, M., Bhatt, D. K., Kruuse, C., Juhler, M., Jansen-Olesen, I., & Jensen, R. H. (2017). Choroid plexus aquaporin 1 and intracranial pressure are increased in obese rats: towards an idiopathic intracranial hypertension model?. *International Journal of Obesity*, 41(7), 1141.

- Uldall M., Botfield, H., Jansen-Olesen, I., Sinclair, A., & Jensen, R. (2017). Acetazolamide lowers intracranial pressure and modulates the cerebrospinal fluid secretion pathway in healthy rats. *Neuroscience letters*, 645, 33-39.
- Van Coevorden-Hameete, M. H., De Graaff, E., Titulaer, M. J., Hoogenraad, C. C., & Smitt, P. S. (2014). Molecular and cellular mechanisms underlying anti-neuronal antibody mediated disorders of the central nervous system. *Autoimmunity reviews*, 13(3), 299-312.
- Vassall, K. A., Bamm, V. V., & Harauz, G. (2015). MyelStones: the executive roles of myelin basic protein in myelin assembly and destabilization in multiple sclerosis. *Biochemical Journal*, 472(1), 17-32.
- Verkman, A. S. (2012). Aquaporins in clinical medicine. *Annual review of medicine*, 63, 303-316.
- Verkman, A. S., Smith, A. J., Phuan, P. W., Tradtrantip, L., & Anderson, M. O. (2017). The aquaporin-4 water channel as a potential drug target in neurological disorders. *Expert opinion on therapeutic targets*, 21(12), 1161-1170.
- Vernino, S. (2007). Autoimmune and paraneoplastic channelopathies. *Neurotherapeutics*, 4(2), 305-314.
- Veyrac, A., Giannetti, N., Charrier, E., Reymond-Marron, I., Aguera, M., Rogemond, V., ... & Jourdan, F. (2005). Expression of collapsin response mediator proteins 1, 2 and 5 is differentially regulated in newly generated and mature neurons of the adult olfactory system. *European Journal of Neuroscience*, 21(10), 2635-2648.
- Vincent, A., Bien, C. G., Irani, S. R., & Waters, P. (2011). Autoantibodies associated with diseases of the CNS: new developments and future challenges. *The Lancet Neurology*, 10(8), 759-772.
- Viola, M. S., & de Lores Arnaiz, G. R. (2007). Brain Na⁺, K⁺-ATPase isoforms: different hypothalamus and mesencephalon response to acute desipramine treatment. *Life sciences*, 81(3), 228-233.
- Wakerley, B. R., Tan, M. H., & Ting, E. Y. (2015). Idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia*, 35(3), 248-261.
- Wall, M., & White, W. 2. (1998). Asymmetric papilledema in idiopathic intracranial hypertension: prospective interocular comparison of sensory visual function. *Investigative ophthalmology & visual science*, 39(1), 134-142.

- Wall, M. (2010). Idiopathic intracranial hypertension. *Neurologic clinics*, 28(3), 593-617.
- Wall, M., Kupersmith, M. J., Kiebertz, K. D., Corbett, J. J., Feldon, S. E., Friedman, D. I., ... & McDermott, M. P. (2014). The idiopathic intracranial hypertension treatment trial: clinical profile at baseline. *JAMA neurology*, 71(6), 693-701.
- Wang, S. J., Silberstein, S. D., Patterson, S., & Young, W. B. (1998). Idiopathic intracranial hypertension without papilledema A case-control study in a headache center. *Neurology*, 51(1), 245-249.
- Wang, X. Q., Xiao, A. Y., Sheline, C., Hyrc, K., Yang, A., Goldberg, M. P., ... & Yu, S. P. (2003). Apoptotic insults impair Na⁺, K⁺-ATPase activity as a mechanism of neuronal death mediated by concurrent ATP deficiency and oxidant stress. *Journal of cell science*, 116(10), 2099-2110.
- Warner JE, Larson AJ, Bhosale P, et al. Retinol-binding protein and retinol analysis in cerebrospinal fluid and serum of patients with and without idiopathic intracranial hypertension. *J Neuroophthalmol* 2007;27:258e62.
- Warren, K. G., & Catz, I. (1994). Relative frequency of autoantibodies to myelin basic protein and proteolipid protein in optic neuritis and multiple sclerosis cerebrospinal fluid. *Journal of the neurological sciences*, 121(1), 66-73.
- Wegner, M. (1999). From head to toes: the multiple facets of Sox proteins. *Nucleic acids research*, 27(6), 1409-1420.
- Weig, S. G. (2002). Asymptomatic idiopathic intracranial hypertension in young children. *Journal of child neurology*, 17(3), 239-241.
- Wetzel, R. K., & Sweadner, K. J. (2001). Immunocytochemical localization of NaK-ATPase isoforms in the rat and mouse ocular ciliary epithelium. *Investigative ophthalmology & visual science*, 42(3), 763-769.
- WHO (2013) WHO. Global database on bodymass index. <http://apps.who.int/bmi/index.jsp>
- Wingerchuk, D. M., Lennon, V. A., Lucchinetti, C. F., Pittock, S. J., & Weinshenker, B. G. (2007). The spectrum of neuromyelitis optica. *The Lancet Neurology*, 6(9), 805-815.
- Wolak, D. J., & Thorne, R. G. (2013). Diffusion of macromolecules in the brain: implications for drug delivery. *Molecular pharmaceuticals*, 10(5), 1492-1504.

- Wong, R., Madill, S. A., Pandey, P., & Riordan-Eva, P. (2007). Idiopathic intracranial hypertension: the association between weight loss and the requirement for systemic treatment. *BMC ophthalmology*, 7(1), 15.
- Woo, J., Kim, J. E., Im, J. J., Lee, J., Jeong, H. S., Park, S., ... & Lee, S. (2018). Astrocytic water channel aquaporin-4 modulates brain plasticity in both mice and humans: a potential gliogenetic mechanism underlying language-associated learning. *Molecular psychiatry*, 23(4), 1021.
- Yabe, I., Moriwaka, F., Notoya, A., Ohtaki, M., & Tashiro, K. (2000). Incidence of idiopathic intracranial hypertension in Hokkaido, the northern-most island in Japan. *Journal of neurology*, 247(6), 474-475.
- Yang, C., Huang, X., Huang, X., Mai, H., Li, J., Jiang, T., ... & Lü, T. (2016). Aquaporin-4 and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 52(2), 391-402.
- Yang, Q., Graham, T. E., Mody, N., Preitner, F., Peroni, O. D., Zabolotny, J. M., ... & Kahn, B. B. (2005). Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*, 436(7049), 356.
- Yang, X., Liang, J., Huang, Q., Xu, H., Gao, C., Long, Y., & Xiao, X. (2017). Treatment of autoimmune glial fibrillary acidic protein astrocytopathy: follow-up in 7 cases. *Neuroimmunomodulation*, 24(2), 113-119.
- Yang, Z., & Wang, K. K. (2015). Glial fibrillary acidic protein: from intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends in neurosciences*, 38(6), 364-374.
- Yri, H. M., & Jensen, R. H. (2015). Idiopathic intracranial hypertension: Clinical nosography and field-testing of the ICHD diagnostic criteria. A case-control study. *Cephalalgia*, 35(7), 553-562.
- Yri, H. M., Wegener, M., Sander, B., & Jensen, R. (2012). Idiopathic intracranial hypertension is not benign: a long-term outcome study. *Journal of neurology*, 259(5), 886-894.
- Yri, H. M., Fagerlund, B., Forchhammer, H. B., & Jensen, R. H. (2014). Cognitive function in idiopathic intracranial hypertension: a prospective case-control study. *BMJ open*, 4(4), e004376.
- Zada, G., Tirosh, A., Kaiser, U. B., Laws, E. R., & Woodmansee, W. W. (2010). Cushing's disease and idiopathic intracranial hypertension: case report and review of

- underlying pathophysiological mechanisms. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(11), 4850-4854.
- Zamoner, A., Funchal, C., Jacques-Silva, M. C., Gottfried, C., Silva, F. R. M. B., & Pessoa-Pureur, R. (2007). Thyroid hormones reorganize the cytoskeleton of glial cells through Gfap phosphorylation and Rhoa-dependent mechanisms. *Cellular and molecular neurobiology*, 27(7), 845-865.
- Zamvil, S. S., & Slavin, A. J. (2015). Does MOG Ig-positive AQP4-seronegative optospinal inflammatory disease justify a diagnosis of NMO spectrum disorder?. *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, 2(1), e62.
- Zelenina, M. (2010). Regulation of brain aquaporins. *Neurochemistry international*, 57(4), 468-488.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505),
- Zlokovic, B. V., Mackic, J. B., Wang, L., McComb, J. G., & McDonough, A. (1993). Differential expression of Na, K-ATPase alpha and beta subunit isoforms at the blood-brain barrier and the choroid plexus. *Journal of Biological Chemistry*, 268(11), 8019-8025.
- Zuliani, L., Saiz, A., Tavalato, B., Giometto, B., Vincent, A., & Graus, F. (2007). Paraneoplastic limbic encephalitis associated with potassium channel antibodies: value of anti-glial nuclear antibodies in identifying the tumour. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 78(2), 204-205.

HAM VERİLER



FORMLAR

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

"Bu gereklilikleri yerine getirirken, araştırmanın amacı ve yöntemine göre gönüllü olur formunun gerektirdiğinde hastaların yanı sıra çocuklar, kısırlılar ve bilinci kapalı bireyler gibi onam yeteneği olmayan ya da kısıtlı olanlar, hasta yakınları, ve sadıklı kişiler için ayrı ayrı ve dilli tbbi kelimelerden anndırılarak, katılımcıların anlayabileceği şekilde hazırlanmasına özen gösterilmektedir"

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi

- "İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH) Hastalığında Antinöronal Membran Antikorlarının Araştırılması" isimli bir çalışma için sizin gönüllü olmanızı istiyoruz.
- İçinde bulunacağınız çalışma, aynı özellikte olan gruplar arasında rastgele kontrol grupları izlenerek karşılaştırılır. Bu araştırma hastalığınızın tedavisi için değil ancak erken aşamalarda hastalığınıza tam koymak amacı ile yapılacaktır.
- Çalışmamızın amacı, İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH), artmış kafaiçi basıncı ile ilişkili belirtilerin, herhangi bir neden olmaksızın ortaya çıktığı bir hastalıktır. İİH'nın nedenleri günümüzde hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bu araştırma, hastalığın nedenlerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilecektir.
- Çalışmada size herhangi ilaç uygulanmayacaktır. Çalışma kapsamında sizden bir tüp kan ve belinizden beyin omurilik sıvısı alınacaktır.
- Kan almak için; kolunuz turnikeyle sıkılarak damarınız bulunacak ve steril bir kan tüpüne bir tüp kan alınacaktır.
- Kan alma sırasında damar çeperiniz çizilebilir, hafif morarmalar oluşabilir. Kan alımı sırasında görevinde uzman bir hemşireden destek alınacağından nadiren rastlanacak bu riskler aşılabılır. Kan alma işleminden sonra kuru bir pamukla sıkıca kanama odağına bastırılacak ve cilt altında oluşacak morarmaların önüne geçilecektir.
- Belinizden beyin omurilik sıvısı alma işlemi ise şöyle gerçekleştirilecektir; doktorunuz sedyeye yan yatmanızı ve dizlerinizi karnınıza çekmenizi isteyecektir. Eşlik eden hemşirenin de yardımıyla uygun pozisyona gelince sırtınız önce bir dezenfektan madde ile silinecek ardından uygun bir iğne ile omurganızı oluşturan omurlarınız arasındaki boşluktan yaklaşık 5 mililitre kadar beyin omurilik sıvısı alınacaktır.
- Bu çalışma 1 yıl sürecektir. Başlangıçtaki ilk 3 ayda katılımcılardan örnekler toplanacak ve kalan sürede toplanan biyolojik materyalle bazı özel testler yapılacaktır. Kanınızda bazı protein bileşenleri araştırılacaktır.
- Çalışma için katılımcılar İÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda muayene edilecektir ve örnek alma işlemleri burada gerçekleştirilecektir. Bu işlemi takiben gerçekleştirilecek araştırmalar ise Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilecektir. Araştırmacıların bu çalışma için hedefledikleri katılımcı sayısı 20'dir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgi Verilmesi

- Gönüllü olmayı kabul etmeniz bile, çalışmanın istediğiniz herhangi bir döneminde araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz.
- Bu araştırmadan istediğiniz herhangi bir zamanda araştırmacıya haber vererek çekilebilirsiniz ya da gerekli bazı durumlarda araştırmacı sizi çalışmadan çıkarabilir.
- Araştırmaya dahil olmayı kabul etmemeniz durumunda veya kendi isteğinizle çalışmadan ayrılmanız durumunda, hastalığınız ile ilgili tedavinizde bir aksama olmayacaktır.
- Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecek, ayrıca size de bir ödeme yapılmayacağını bilmeniz gerekmektedir.
- Tarafınızdan alınacak numuneler (kan) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacaktır.
- Bu çalışma, hekim hasta mahremiyeti gözetilerek yapılacak, kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Adınız ve soyadınız hiç bir şekilde çalışmayla ilgili bir belgede geçmeyecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşulları söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Hasta Yakınının Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

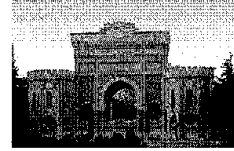
Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

Rıza alına işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı-soyadı, İmzası, Görevi

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayın Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
 İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

Basvuru : 16.03.2017

Toplantı Tarihi : 30.03.2017

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, **Doktora Öğrencisi Biyolog, MSc Berrak YETİMLER**'e ait "İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (IIH) Hastalığında Antinöronal Membran Antikorlarının Araştırılması" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	2
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		01.04.2017/ 01.04.2018

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
 İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIK
 Üye

Prof. Dr. Uğur ÇAKATAY
 Üye

Prof. Dr. İlhan İLKILIÇ
 Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
 Üye

Doç. Dr. Aygül EKİCİ
 Üye

Doç. Dr. Uğur AKSU
 Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
 Üye

Yrd. Doç. Dr. Aydın ÇEVİK
 Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
 Üye

Dr. Burak OLGUN
 Mak. Yük. Müh
 Üye

Avukat Selma DEMİR
 Üye



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 188

Tarih : 17.02.2017

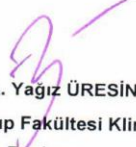
Konu : Prof. Dr. Erdem TÜZÜN hk.

Sayın Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
Sinirbilim Anabilim Dalı

İlgi :Sinirbilim Anabilim Dalının13/01/2017 gün ve 17102 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Berrak YETİMLER' in yürüteceği 2017/110 dosya numaralı "İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (IIH) Hastalığında Antinöronal Membran Antikorlarının Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 10/02/2017 gün ve 03 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu



PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon (İİH) Hastalığında Antinöronal Membran Antikorlarının Araştırılması

ORJİNALLIK RAPORU

% 1	% 1	% 0	% 0
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
2	www.mcponline.org İnternet Kaynağı	<% 1
3	estudogeral.sib.uc.pt İnternet Kaynağı	<% 1
4	www.hasekidergisi.com İnternet Kaynağı	<% 1
5	journals.plos.org İnternet Kaynağı	<% 1
6	tel.archives-ouvertes.fr İnternet Kaynağı	<% 1
7	peerj.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	deneyseltip.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Berrak	Soyadı	Yetimler
Doğ.Yeri	Kayseri	Doğ.Tar.	27.05.1987
Email	byetimler@gmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi, ASDETAE, İleri Nörolojik Bilimler Doktora Programı	2019
Yük.Lis.	Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler	2011
Lisans	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Kayseri Nuh Mehmet Küçükçalı Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsof Office	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1: Tüzün E, Gezen-Ak D, Tzartos J, Dursun E, Giriş M, Zisimopoulou P, Karagiorgou K, Yetimler B, Küçükali Cİ, İdrisoğlu HA. LRP4 antibody positive amyotrophic lateral sclerosis patients display neuropil-reactive IgG and enhanced serum

complement levels. *Immunol Lett.* 2018 Nov;203:54-56. doi: 10.1016/j.imlet.2018.09.011. Epub 2018 Sep 15. PubMed PMID: 30227179.

2: Giriş M, Durmuş H, Yetimler B, Taşlı H, Parman Y, Tüzün E. Elevated IL-4 and IFN- γ Levels in Muscle Tissue of Patients with Dermatomyositis. *In Vivo.* 2017 Jul-Aug;31(4):657-660. PubMed PMID: 28652434; PubMed Central PMCID: PMC5566917.

3: Oeckl P, Jardel C, Salachas F, Lamari F, Andersen PM, Bowser R, de Carvalho M, Costa J, van Damme P, Gray E, Grosskreutz J, Hernández-Barral M, Herukka SK, Huss A, Jeromin A, Kirby J, Kuzma-Kozakiewicz M, Amador Mdel M, Mora JS, Morelli C, Muckova P, Petri S, Poesen K, Rhode H, Rikardsson AK, Robberecht W, Rodríguez Mahillo AI, Shaw P, Silani V, Steinacker P, Turner MR, Tüzün E, Yetimler B, Ludolph AC, Otto M. Multicenter validation of CSF neurofilaments as diagnostic biomarkers for ALS. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2016 Jul-Aug;17(5-6):404-13. doi: 10.3109/21678421.2016.1167913. Epub 2016 Apr 11. PubMed PMID: 27415180.

4: Özkök E, Durmuş H, Yetimler B, Taşlı H, Trakas N, Ulusoy C, Lagoumintzis G, Tzartos S, Tüzün E. Reduced muscle mitochondrial enzyme activity in MuSK-immunized mice. *Clin Neuropathol.* 2015 Nov-Dec;34(6):359-63. doi: 10.5414/NP300875. PubMed PMID: 26365462.

5: Yetimler B, Ulusoy G, Çelik T, Jakubowska-Doğru E. Differential effect of age on the brain fatty acid levels and their correlation with animal cognitive status in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012 Nov;103(1):53-9. PubMed PMID: 22878041.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):