



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Nöroloji Anabilim Dalı



MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFANIN MULTİPL SKLEROZ HASTALIĞINDAKİ ROLÜ

Dr. Burcu KARACA
(Uzmanlık Tezi)

Danışman
Prof. Dr. Nebahat TAŞDEMİR



DİYARBAKIR - 2010

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Dicle Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalında aldığım uzmanlık eğitimi sırasında yetişmemde büyük emeği olan kendilerinden pek çok konuda istifade ettiğim Anabilim Dalı Başkanımız ve tezimin yürütücülüğünü üstlenen sayın hocam

Prof. Dr. Nebahat Taşdemir'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca yaptıkları akademik katkılarından dolayı Anabilim Dalımız Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Yusuf Tamam ve Doç. Dr. M. Ufuk Aluçlu hocama ayrıca Sayın Yard. Doç. Dr. Abdullah Acar, Yard. Doç. Dr. Ertuğrul Uzar ve Yard. Doç. Dr. M. Uğur Çevik'e, tüm çalışma arkadaşlarıma, diğer branş rotasyon eğitiminde bana yardımcı olan hocalarıma ve ekip çalışanlarına,

Karakalem çizimleriyle sanatsal katkısından dolayı Sayın, Doç. Dr. Vatan Kavak hocama, Uzm. Dr. Recep Toprak'a, Laboratuvar çalışmalarının yürütülmesini sağlayan Sayın, Yard. Doç. Dr. Osman Evliyaoğlu'na, sonuçların istatistiksel hesaplanmalarında yardımcı olan Sayın, Prof. Dr. Yusuf Çelik'e ayrıca Merck Serono Türkiye Firmasına,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan Aileme, Eşime ve Kızıma teşekkürlerimi sunarım.

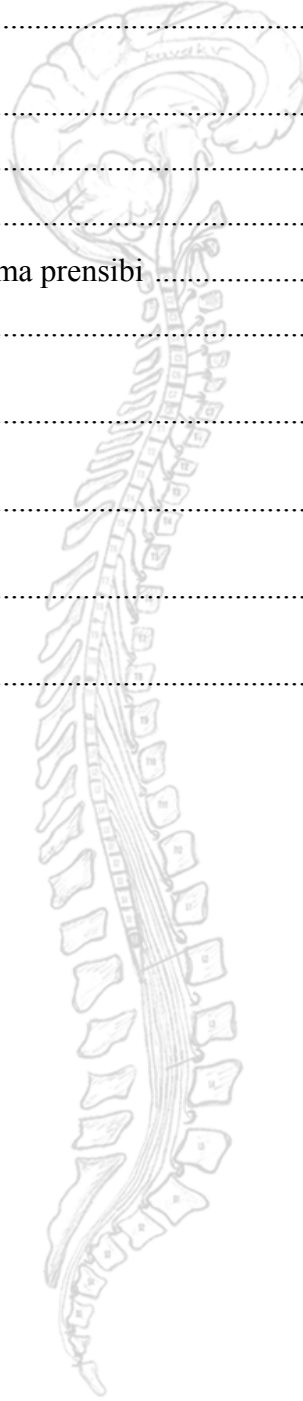
Dr. Burcu KARACA

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1,2
2. GENEL BİLGİLER	3 -76
2.1. Multipl Skleroz	3
2.2. İnsidans ve Epidemiyoloji	3
2.3. Miyelinin Yapısı	4
2.4. Miyelin Hastalıklarının Gruplandırılması	6
2.5. Edinsel Demiyelizan Hastalıklar	6
2.6. Multipl Skleroz Patolojisi ve Patofizyolojisi	7
2.6.a. Makroskopik Bulgular	9
2.6.b. Histopatoloji	10
2.7. MS İmmünolojisi	14
2.8. MS İmmünopatolojisi	20
2.9. Sitokinler	27
2.10. Matriks Metalloproteinazlar	29
2.11. Metalloproteinazların Regülasyonu	36
2.12. Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)	37
2.13. Santral Sinir Sistemi ve Metalloproteinazlar	39
2.14. MMP'lerin Sitokin Konvertaz / Sheddaz İlişkisi	44
2.15. MS'de MMP Salınımına Delil	45
2.16. MS'li modellerde MMP İnhibitörlerinin etkileri	46
2.17. MS'de Biyogösterge Olarak MMP'ler	47
2.18. Hastalığı Tetikleyen Nedenler	49
2.19. MS Klinik Semptomlar ve Fizik Bulgular	50
2.20. MS'de Tanı Kriterleri	52
2.21. Multipl Sklerozun Klinik Tipleri	58
2.22. Multipl Sklerozun Klinik Varyantları	60
2.23. Multipl Sklerozda Prognostik Faktörler	61

2.24. Ayırıcı Tanı	63
2.25. Multipl Skleroz Tedavisi	64
2.25.a. Akut Atak Tedavisi	64
2.25.b. Multipl sklerozda immün modölatör tedavi	65
2.25.c. İmmüsupresif tedavi	68
2.25.d. Semptomatik tedavi	70
2.26. Prognozu Değerlendirme	71
3. MATERİYAL VE METOD	77-79
3.1. Çalışma Grubu	77
3.2. 1 Yapılan İncelemeleri	78
3.2.2 MMP'ler ve TNF α 'nın çalışma prensibi	78
3.3. İstatistiksel değerlendirme	79
4. BULGULAR	80-86
5. TARTIŞMA	87-92
6. SONUÇLAR	93
7. KAYNAKLAR	94-107



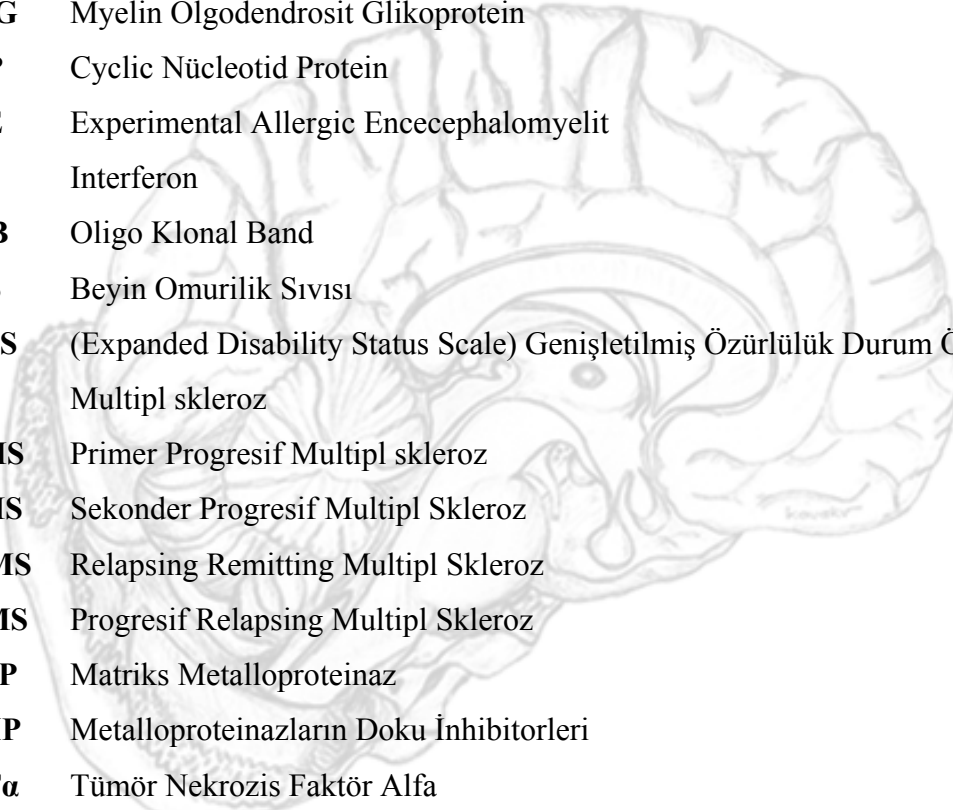
ŞEKİLLER İNDEKSİ

*Şekil1: Multipl Skleroz’da muhtemel hasar ve tamir mekanizmaları	19
*Şekil 2: sitokinler	27
*Şekil 3: Matiks metalloproteinazların genel yapısı	30
*Şekil 4: MMP enzimlerinin moleküler yapısı	32
*Şekil 5: Matriks metalloproteinazların aktivasyonu	33
*Şekil 6. MMP’lerin regülasyonu	34
*Şekil-7 MMP’lerin hücreler arası sinyalleri yönetme mekanizması	35
*Şekil-8: MMP, TIMP ve TNF alfa İlişkisi	38
*Şekil-9: MMP’lerin etki mekanizmaları	40
*Şekil–10: 72 kDa jelatinazın intraserebral enjeksiyonunun etkileri	45
*Şekil–11: MMP’lerin MS’deki patolojiye katkısı	46
*Şekil 12: Multipl skleroz akut atakları sırasında matriks metalloproteinazların (MMP’ler) kan-beyin bariyerinde (KBB) proteolitik bozulma üzerindeki etki mekanizması	48
*Şekil 13 Klinik Seyir	59
*Şekil 4.1. MS popülasyonu ve kontrol grubunun TNF değerleri	85
*Şekil 4. 2. MS popülasyonu ve kontrol grubunun TIMP-1 değerleri	85
*Şekil 4. 3. MS hastalarının klinik özellikleri, hastalığın ilk başlangıç bulgularının sıklığı	86

TABLÖLAR İNDEKSİ

*Tablo1: Multipl Sklerozun immünpatogenezi	22
*Tablo – 2: Matriks metalloproteinaz ailesi	31
*Tablo- 3 Metalloproteinazların doğal inhibitörleri	38
*Tablo 4 SSS’de Matriks Metalloproteinazlar	42
*Tablo-5: Schumacher kriterleri	53
*Tablo-6: Poser kriterlerine göre MS klasifikasyonu	54
*Tablo-7: MR kriterleri (alan içinde dağılım)	55
*Tablo-8: MR kriterleri (zaman içinde dağılım)	55
*Tablo-9: Mc Donald Tanı Kriterleri	57
*Tablo 10: Klinik Seyir	59
*Tablo 11: Prognostik faktörler	62
*Tablo 12: MS’de tedavi önerileri etki mekanizmaları, yan etkileri ile birlikte	69
*Tablo 4.1. Cinsiyet için Ki-Kare Testi	81
*Tablo 4.2’de gruplar arası yaş dağılımı Anova ile test sonuçları	82
*Tablo 4.3. Post Hoc testi ve Bonferroni düzeltmesi yapılarak yaş dağılımı ikili gruplar halinde karşılaştırıldı	82
*Tablo 4.4. EDSS Skoru ve Hastalık Süresinin MS popülasyonuna göre ANOVA test sonuçları	83
*Tablo 4.5. EDSS Skoru ve hastalık süresinin ikişerli gruplar halinde Post Hoc , Bonferroni düzeltmesi yapılarak elde edilen test sonuçları	83
*Tablo 4.6 Laboratuvar değerlerinin beş farklı gruba göre ANOVA test sonuçları	84
*Tablo 4. 7. ANOVA’ya göre farklı bulunan grupların ikişerli gruplar halinde PostHoc, Bonferroni karşılaştırma sonuçları	84
*Tablo 4.8. MS hastalarının klinik özellikleri, hastalığın ilk başlangıç bulgularının sıklığı	86

KISALTMALAR



SSS	Santral Sinir Sistemi
OG	Oligodendrosit
PSS	Periferik Sinir Sistemi
PLP	Proteo Lipid Protein
MBP	Myelin Basic Protein
MAG	Myelin Associated Glikoprotein
MOG	Myelin Olgodendrosit Glikoprotein
CNP	Cyclic Nücleotid Protein
EAE	Experimental Allergic Encecephalomyelit
IFN	Interferon
OKB	Oligo Klonal Band
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
EDSS	(Expanded Disability Status Scale) Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği
MS	Multipl skleroz
PPMS	Primer Progresif Multipl skleroz
SPMS	Sekonder Progresif Multipl Skleroz
RRMS	Relapsing Remitting Multipl Skleroz
PRMS	Progresif Relapsing Multipl Skleroz
MMP	Matriks Metalloproteinaz
TIMP	Metalloproteinazların Doku İnhibitorleri
TNFα	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
ESM	Ekstraselüler Matriks
MRI	Magnetic Resonance Imaging
SVH	Serebrovasküler Hastalık
KBB	Kan Beyin Bariyeri
Ark	Arkadaşları
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleksi
Ig	İmmunglobulin
TCR	T Hücre Reseptörü
NGAM	Normal Görünümlü Ak Madde

MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR VE TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFANIN MULTİPL SKLEROZ HASTALIĞINDAKİ ROLÜ

ÖZET

AMAÇ: Kesin MS tanılı hastalarla yaptığımız bu çalışmayla, matriks metalloproteinazlar (MMP-9, MMP-2), spesifik inhibitörleri (TIMP-1, TIMP-2) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) arasındaki ilişkiyi ortaya koyarak, multipl skleroz hastalığındaki rolünü irdelemeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOD: Çalışmaya Dicle Üniversitesi nöroloji polikliniğine başvuran en az 1 yıldır immünmodülatör tedavi alan ve en son atağını 1 aydan daha uzun süre önce geçirmiş olan 18-60 yaş arası 41 kadın, 19 erkek toplam 60 MS hastası ile yaş ve cinsiyetle uyumlu 19 kadın, 11 erkek toplam 30 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak çalışmaya alınmıştır. ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemiyle MMP-2, 9 ve TIMP-1,2; Kemiluminiscent (Immulate) yöntemiyle TNF- α plazma düzeyleri saptanmıştır. Hastaların yaş, cinsiyet, hastalık süresi, klinik MS tipi, başlangıç semptomları kaydedilmiştir. EDSS, Kurtzke Genişletilmiş Yetmezlik Durum skoru yardımıyla ölçülmüştür.

SONUÇLAR: Gruplar arasında cinsiyet farkı ki kare testi ile analiz edildi. İstatistiksel olarak anlamsız bulundu $P>0,05$. Gruplar arası yaş dağılımı Anova testi ile analiz edildi. Gruplar arasında farklılık olduğu saptandı. Ancak Post Hoc, Bonferroni düzeltmesi yapılarak gruplar ikili karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılığın olmadığı gözlemlendi ($P>0,05$).

Laboratuvar değerleri (MMP-2, 9; TIMP-1,2 ve TNF- α), beş gruba (≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol) göre Anova testi ile analiz edildi. TNF alfa ve TIMP-1 için yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0,05$). ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol grupları ikiye ayrılmış gruplar halinde karşılaştırmak için Post Hoc , Bonferroni düzeltmesi yapıldı. TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0,05$). TIMP-1 plazma düzeyi; PPMS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0,05$).

YORUM: Çalışmamızda TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, PPMS ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. TNF alfa plazma düzeyi ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS gruplarında kontrole göre daha düşük bulundu.

Çalışmamız TNF alfa plazma düzeyinin tek başına MS hastalığında stabil dönemde immünmodülatör tedavi altında düşük olarak izlendiği ve hastalığın erken dönemlerinde patogeneze daha etkin rol oynadığı ve tek başına prognoz faktörü olarak kullanılabilecek değerde olduğunu göstermektedir.

PPMS grubunun TIMP-1 plazma düzeyi kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. TIMP-1, MMP-9'un potent inhibitörü olduğuna göre, PPMS hastalarının dizabilite artışı TIMP-1'deki düşüklükten kaynaklanıyor olabilir. Bu da TIMP-1 plazma düzeyi tayinin prognostik faktör olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

MMP-2 RRMS hastaları ile SPMS hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik görülmemiş ve rapor edilmemiştir. Bizim çalışmamızda yapılan araştırmaları destekler nitelikte gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık izlenmemiştir. Ancak MS hastalarından oluşan tüm grupların MMP-2 plazma düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin bir artış izlenmiştir. Bu da MMP-2 plazma düzeylerindeki artışın MS'in stabilitesinde etken olduğunu düşündürmektedir.

Elde ettiğimiz veriler, kesin olarak daha kapsamlı araştırma gerektirmekle birlikte MS'in patogeneze ışık tutacağını ve gelecekteki tedavi yaklaşımlarına yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Multipl skleroz, Matriks metalloproteinazlar, Tümör nekrozis faktör alfa

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA IN THE MULTIPLE SCLEROSIS DISEASE

SUMMARY

PURPOSE: In this study on definite MS diagnosed patients, we have aimed to find out the relationship between matrix metalloproteinases (MMP-9, MMP-2), specific inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) and tumor necrosis factor alpha (TNF) and its role in MS disease.

MATERIAL AND METHOD: This study includes 41 females and 19 males, in total 60 MS patient, 18-60 aged who are cured with immunomodulator for at least 1 year in Dicle University neurologic clinic and have the last attacks before more than 1 month, and 19 females and 11 males, in total 30 control group adequate with age and sex. MMP-2, 9 and TIMP-1,2 were determined by ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) method and TNF-alpha plasma levels were determined by Chemiluminescent (Immulite) method. Patient's ages, sex, disease period, MS clinic subtype, start symptoms were recorded. EDSS was measured by the help of Kurtzke Expanded Disability Status Scale.

RESULTS: The sex differences between groups were analysed by Q Square. The differences were found insignificant ($P>0,05$). The age distribution between groups was analysed by Anova test. The differences between groups were found significant. However, when the groups were compared in pair using Post Hoc, Bonferroni correction, the differences were not significant between groups ($P>0,05$).

The laboratory values (MMP-2, 9; TIMP-1,2 ve TNF- α), were analysed by Anova test according to five groups (≤ 5 year RRMS, ≥ 10 year RRMS, PPMS, SPMS and control). There was only statistical significance with TNF alpha and TIMP-1. To compare ≤ 5 year RRMS, ≥ 10 year RRMS, PPMS, SPMS and control groups in pair, Post Hoc, Bonferroni correction was applied. When comparison ≤ 5 year RRMS and PPMS with control group, TNF- α plasma level was found statistically significant ($P<0,05$). When comparing PPMS group with control group, TIMP-1 plasma level was found statistically significant between these groups ($P<0,05$).

CONCLUSIONS:

The sex differences between groups were analysed by Q Square. The differences were found insignificant ($P>0,05$). The age distribution between groups was analysed by Anova test. The differences between groups were found significant. However, when the groups were compared in pair using Post Hoc, Bonferroni correction, the differences were not significant between groups ($P>0,05$).

The laboratory values (MMP-2, 9; TIMP-1,2 ve TNF- α), were analysed by Anova test according to five groups (≤ 5 year RRMS, ≥ 10 year RRMS, PPMS, SPMS and control). There was only statistical significance with TNF alpha and TIMP-1. To compare ≤ 5 year RRMS, ≥ 10 year RRMS, PPMS, SPMS and control groups in pair, Post Hoc, Bonferroni correction was applied. When comparison ≤ 5 year RRMS and PPMS with control group, TNF- α plasma level was found statistically significant ($P < 0,05$). When comparing PPMS group with control group, TIMP-1 plasma level was found statistically significant between these groups ($P < 0,05$)

COMMENT: In the present study, TNF alpha plasma level was statistically significant when ≤ 5 years RRMS and PPMS were compared to control group. TNF α plasma level in ≤ 5 years RRMS and PPMS groups was lower than control group.

The present study shows that TNF α plasma level alone was lower in MS disease at stable period under immunomodulatory and that it plays more active role in pathogenesis at early stages of disease and thus it can be used alone as prognostic factor.

TIMP-1 plasma level of PPMS group was found lower compared to control group. Since TIMP-1 is potent inhibitor of MMP-9, the increase of disability of PPMS disease may be due to low levels of TIMP-1. This indicates that the determination of TIMP-1 plasma level can be used as prognostic factor.

In the literature, the significant differences in MMP-2 levels were not obtained in RRMS and SPMS patients. The present study has also found the same results. However, MMP-2 plasma levels were clearly higher in all groups with MS disease compared to control group. This indicates that the increase in MMP-2 plasma levels is effective in the stability of MS.

The results obtained in the present study show that the study will shed light on pathogenesis of MS and will help to develop new treatment approach, though still there should be more comprehensive research on the subject.

KEY WORDS: Multiple sclerosis, matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor alpha

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS), santral sinir sistemi beyaz cevherini multipl alanlarda etkileyen inflamasyon, demiyelinizasyon ve glial skarlaşma (skleroz) ile karakterize, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıktığı varsayılan, hücresel tipte bağışıklığın rol oynadığı otoimmün kronik bir hastalıktır. Myelinin multifokal yıkımı, ileri evrelerde akson kaybının da eşlik etmesiyle karakterize olan MS, kronik lezyonların astroglial skar dokusu ile iyileşmesiyle nörolojik sekellerle sonuçlanır. Genç erişkinlerde yeti yitiminin başta gelen nedenidir. MS'in henüz nedeni ve patogenezi çok iyi aydınlatılamamış olmakla birlikte immunopatogenezinde sitokinlerin, kemokinlerin, kostimulator moleküllerin, adezyon moleküllerinin, oksijen radikallerinin, immunomodulator genlerin ve ayrıca metalloproteinazların rolü bulunmaktadır.

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstraselüler proteinlerin yıkımını sağlayabilen ve en az 23 çeşiti bulunan, çinko içeren endopeptidazların oluşturduğu bir aileyi kapsamaktadır. MMP'ler, klasik şekilde gelişim ve homeostazi sırasında dokunun yeniden modellenmesi ile ilgili, matriks indirgemeli enzimler olarak bilinir ve ateroskleroz, arterit, kanser ve nörodejenerasyonu içeren geniş çaplı ve farklı patolojik süreçlere dahil edilirler. MMP'ler, otoimmün hastalıklarda doku harabiyetinin potent mediyatörüdür. MS'deki lezyonlardan MMP'lerin eksprese edildiğine dair hatırı sayılır derecede delil vardır. MS'de, dokulardaki MMP aktivitesi, MMP'ler ile bunların doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasındaki bir dengenin sonucudur. MMP'ler, MS lezyonlarında lökosit invazyonu, kan-beyin bariyeri sızıntısı, miyelin harabiyeti ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) salıverilmesine katkıda bulunurlar. MS relapsları sonrası onarım, SSS fonksiyonlarının restorasyonu için gerekli olduğundan TNF α salınımı ve MMP aktivitesini durduran bileşimler MS'li hayvan modellerinde efektiftir. Bundan dolayı, geniş spektrumlu MMP inhibitörü klinik denemeleri dikkate değerdir.

MS'li bazı hastalar başlangıçtan itibaren progresif seyir göstermesine karşın çoğu ilk relapslardan kurtulmakta, bazıları yıllarca aynı kalmakta, bazıları ise progresif seyir göstermektedir. MMP-9, akut MS lezyonlarında ağırlıktadır ve TIMP-1 tarafından inhibe edilmektedir. MMP-2 ise kronik hastalıklardaki gibi ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesinde rol oynayabilmekte ve TIMP-2 tarafından inhibe edilmektedir, bunun da kronik progresif MS evresiyle uyumlu olabildiği hipotezi ileri sürülmüştür.

Hastalık monitörizasyonu ve tedavideki gelişmeler yeti yitimi ilerleme sürecinin yavaşlatılması konusunda umut vericidir. Hastalığın temel doğasını anlama konusunda halen kısıtlılıklar vardır ve yakın ve uzak gelecekte amaç hastalığın daha iyi kontrolü ve hasara uğramış SSS dokusunun tamiri olduğundan, MS hastalığında MMP'ler ile TNF α arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar önem arz etmektedir.

Kesin MS tanılı hastalarla yaptığımız bu çalışmayla, matriks metalloproteinazlar (MMP-9, MMP-2), spesifik inhibitörleri (TIMP-1, TIMP-2) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) arasındaki ilişkiyi ortaya koyarak, multipl skleroz hastalığındaki rolünü irdelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (MS), çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık ilişkileri ile tetiklenen otoimmünite nedeniyle ortaya çıktığı düşünülen, santral sinir sistemine ait demyelinizasyon ile karakterize bir hastalıktır (1,2). Bu hastalığa ait klinik ve patolojik tanımlama ilk kez 1868 yılında Charcot tarafından “sclerose en plaques” adı altında yapılmıştır. Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında ise hastalığın klinik bulguları, anatomisi ve yaygınlığı “multipl veya dissemine skleroz” adıyla tanımlanmıştır (3). Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen etiyolojisi tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Genel olarak kabul gören görüş, genetik ve çevresel faktörlerin karşılıklı ve karmaşık etkileşimlerinin etiyolojiden sorumlu olduğudur. Bununla birlikte özellikle son çeyrek asırda immunoloji bilim dalındaki gelişmelere paralel olarak hastalığın immün patogenezi ile ilgili bilgilerimizde önemli artışlar olduğunu ve bunun tedaviye olan yansımalarını göz ardı edemeyiz. Ayrıca bu dönemde manyetik rezonans görüntülemenin klinik kullanıma girmesi ve daha sonra yeni tekniklerin geliştirilmesi; hastalığın tanısına, seyrinin izlenmesine ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

Önemli kilometre taşlarından birisi de 1990'lı yılların ikinci yarısında kullanılmaya başlanan immün modülatör ilaçlardır. Bu ilaçlar hastalık konusundaki ümitsizliğimizi azaltmıştır. Ancak bugün itibarıyla, tedavi açısından bulunduğumuz nokta tatminkar olmaktan uzaktır. Uygulanmakta olan immün modülatör ve immün supresif ilaçların hastalığın seyri üzerine etkisi sınırlıdır. Üstelik bu ilaçlar çok pahalıdır ve kullanımları ülke ekonomisine büyük yük getirmektedir. Bütün bu olumsuzluklar; konu ile ilgilenen bilim adamlarını daha etkili olabilecek yeni tedavi seçeneklerini araştırmaya yönlendirmektedir.

2.2. İnsidans ve Epidemiyoloji

1. Cinsiyet: Hastalık kadınlarda daha sık olup kadın/erkek oranı 2.1:1 olarak saptanmıştır. PPMS'de 1/1 oranındadır (4).

2. Yaş: Hastalık genç erişkin yaşlarda görülür. Çocuklarda ender olup hastalığın en sık görüldüğü aralık 30-33 yaşlarında olmaktadır. Hastaların %90'ında başlama yaşı 15-50 yaş arasındır. (%70 hastada 20-40 yaş arası, %10 daha erken, %20 daha geç). %'den az kısmında başlama yaşı 10 yaş altı veya 60 yaş üzerindedir (4).

3. Irk: MS prevelansı ülkelere göre değişmektedir. Son yıllarda prevelansın artış gösterdiği ifade edilmektedir. Hastaların %90'dan fazlası beyaz ırktandır. Asyalı ya da Afrika kökenli Amerikalılarda seyrek görülür. Afrika yerlileri, Macar Çingeneleri, Eskimolar, Kızılderililer ve Avustralya aborjinlerde nadirdir (4). Bu dağılım yüksek prevelanslı bölgeler için 30/100.000' den daha fazla veya eşit, orta prevelanslı bölgeler için 5-30/100.000 arasında, düşük prevelanslı bölgeler için 5/100.000'den azdır. Kuzey Avrupa'nın büyük bir bölümü, kuzey Amerika, güney Kanada, güney Avusturalya ve Yeni Zelanda yüksek prevelanslı bölgelerdir (5). Ekvatordan kuzeye doğru gidildikçe MS prevelansının arttığı 1952'de Kurland'ın da dikkatini çekmiştir. Afrika'da MS sıklığının çok az olması da hastalık sıklığının yerküre üzerindeki yerleşimi ile ilintili olarak değiştiğini doğrulamaktadır (6). Özellikle 40 yaşından daha genç olan erişkinlerde en sık izlenen nörolojik hastalıktır. Bizim ülkemizde MS prevelansı ve insidansı bilinmemektedir, ama klinik gözlemlere göre son yıllarda hasta sayısında artış mevcuttur (4).

Yapılan aile çalışmalarında hastaların akrabalarında MS riskinin arttığı saptanmıştır. İkiz çalışmalarında monozigotik çiftlerde % 26'lık konkordans saptanırken, dizigotik çiftlerde bu oran %2.4'dür (7).

2.3. Miyelinin Yapısı

Histofizyolojik özellikleri: Miyelin aksonun etrafını saran koruyucu bir kılıftır. Bu kılıf santral sinir sisteminde oligodendrositlerin (OG) membranından, periferik sinir sisteminde Schwann hücre membranından oluşur (8). OG'ler; astrositler, nöronlar ve onların aksonları ile sıkı ilişki içindedir. Örneğin nöronlar OG'lerin proliferasyonu, sürvisi ve fonksiyonlarının devamı üzerine etkilidir. Oligodendrositler de nöronlar üzerine etkilidir (9). Schwan hücrelerinin aksine OG'ler multiple prosesler oluşturarak çok sayıda sinirin aksonu ile etkileşime girebilmekte ve onların myelinizasyonunu sağlayabilmektedir (9). Miyelin aksonu korumanın yanı sıra elektrik akımının iletimini hızlandırır ve kaybını önler. Myeline bir zarar gelirse sinyal iletimi bozulur.

Biyokimyasal özellikleri: Miyelin kılıfı, yaklaşık % 75'i lipid, %25'i proteinden oluşacak biçimde yağ ve protein içerir (10). Miyelinin protein bileşikleri, santral sinir sisteminde ve periferik sisteminde birbirinden farklıdır. Proteolipid protein (PLP) santral sinir sistemi proteinlerinin yaklaşık %50'sini oluşturur. PLP integral bir membran proteindir ve interperiot çizgisinde dış yaprağı tutmaktan sorumlu bir proteindir. Myelin bazik proteini

(MBP), santral sinir sisteminin (SSS) %30'unu, periferik sinir sisteminin (PSS) %10'unu oluşturur. MBP integral bir protein değildir fakat stoplazmik yüzeye bağlanır. Myelin associated glikoprotein (MAG) hem merkezi hem de periferik sinir sisteminin %1'ini oluşturur. Myelin oligodendrosit glikoprotein (MOG) ve siklik nükleotid fosfodiesteraz (CNP) SSS'nin proteinleridir ve periferik sinir sisteminde bulunmazlar (11,12,13). Myelin kılıfını oluşturan lipidlerin bileşiminde kolesterol % 75, galaktolipid % 29 ve fosfolipidler % 6 oranında bulunmaktadır. Galaktoserebrozid myelindeki majör galaktolipiddir.

Histokimyasal özellikleri: Akson boyunca segmentler halinde bulunan miyelin “Ranvier düğümü” denen mikroanatomik alanlarda izlenmez. Miyelinin bu mikroanatomik düzeni, biyoelektrik akımın Ranvier düğümleri arasındaki segmentler üzerinde taklalar atacak “saltatory” şekilde hızla yol almasını sağlarlar (14,15).

Bazı araştırmacılar, MS ile dismiyelinizan hastalıkların farklılığını vurgulamak için geleneksel bir terim olan “demiyelelizeasyon” terimi yerine miyelin yıkımı anlamına gelen “miyelinoklasis” terimini yeğlerler. Genel bir kanı olarak, demiyelelizean hastalıklarda miyelin kaybı olurken, aksonun göreceli olarak korunduğu düşünülmesine karşın akson zararının da işin içinde olduğunu gösteren bulgular saptanmıştır (14-19).

Tekrarlayan miyelin yıkımı ile giden MS hastalarında zamanla remiyelelize olamayan kronik demiyelelizean plaklar oluşur. Kronik MS lezyonlarında remiyelelizeasyonun gerçekleşmemesinin nedenlerine yönelik bir çok hipotez öne sürülmüştür (9,20,21).

- 1- OG öncül hücre hasarı ya da OG öncül hücrelerin havuzunun apoptozla tükenmesi
- 2- Devam eden hümorel immün cevaba bağı olarak erişkin öncül OG hücrelerinin miyeline edici OG'lere dönüşmemesi
- 3- Hasarlanmış nöron ve aksonlar nedeniyle OG öncül hücrelerinin farklılaşması için gerekli sinyallerin oluşamaması
- 4- Astrogliazun inhibe edici etkisi (22).

MS'de remiyelelizeasyonun olmaması, kısmen de olsa gliotik astrositlerin miyelin üretimi üzerindeki baskılayıcı etkisine bağıdır. Hem MS, hem de deneysel modellerinde astrositler hipertrofiye uğramakta ancak proliferasyon gösterememektedirler. İn vitro ve invivo çalışmalar, astrositten zengin ortamın OG öncül hücrelerin göçüne ve aksonal uzantıların büyümesine izin vermediklerini göstermiştir (20,22).

2.4. Miyelin Hastalıklarının Gruplandırılması

GRUP 1: Edinsel inflamatuvar veya infeksiyöz demiyelinizan hastalıklar; Kronik MS, MS varyantları, akut dissemine ensefalomyelit (ADEM), akut hemorjik lökoensefalopati (AHL), progresif multifokal lökoensefalopati (PML), Guillain-Barre Sendromu (GBS) gibi bu grupta incelenen hastalıklarda primer demiyelinizasyon görülür. Bazılarının viral kaynaklı olduğu kanıtlanmış olup bir kısmının ise viral kökenli olduğundan şüphelenilmektedir.

GRUP 2: Kalıtsal metabolik miyelin hastalıkları (dismiyelinizan hastalıklar);

- a) Metakromatik lökodistrofi, globoid lökodistrofi (Krabbe hastalığı), adrenolökodistrofi. Bu gruptaki hastalıklarda miyelin oluşumu tamamlandıktan sonra, hem miyelin hem de akson kaybı olur.
- b) Pelizaeus-Merzbacher hastalığı, Canavan hastalığı, Alexander hastalığı. Akson ve miyelinin birlikte etkilendikleri hastalık grubu olup bu gruptaki hastalıkların temel özellikleri patolojilerin miyelinizasyon sürecinin öncesinde veya sırasında başlamalarıdır.

GRUP 3: Edinsel toksik-metabolik miyelin hastalıkları. Santral pontin miyelinozis, Marchiafava Bignami hastalığı, vitamin B12 eksikliği. Bu hastalıklar elektrolit dengesizliği veya intrinsek faktör eksikliği ile ilgilidir.

GRUP 4: Travmatik miyelin hastalıkları. Tümör çevresindeki basıya uğrayan veya travmaya maruz kalan alanlarda görülebilir.

Bu dört grup içinde yer alan hastalıklarda miyelin kaybı gösterilebilir. Ancak, yukarıdekilerden sadece ilk gruptaki hastalıklar gerçek demiyelinizan hastalıklardır. Diğer gruplardaki hastalıklar ise miyelin kaybının yanı sıra belirgin akson kaybı da gösterirler (14,15) Grup 1 kendi içinde şu şekilde alt gruplara ayrılır:

2.5. Edinsel Demiyelizan Hastalıklar

A) Santral sinir sistemi:

1- Kronik MS

2- MS varyantları

- Akut MS (Marburg tipi)
- Nöromiyelitis optika (Devic hastalığı)
- Konsantrik sklerozis (Balo hastalığı)

3- Akut dissemine ensefalomyelit (ADEM)

- Enfeksiyon sonrası görülen ensefalomyelitler
- Aşı sonrası görülen ensefalomyelit
- İmmünizasyon sonrası görülen ensefalomyelit

4- Akut hemorajik lökoensefalopati

5- Progresif multifokal lökoensefalopati (PML)

B) Periferik sinir sistemi:

- 1- İdiopatik polinörit
- 2- Difteri nöropatisi

2.6. Multipl Skleroz Patolojisi ve Patofizyolojisi

Bugüne kadar yapılan çok yoğun araştırmalara rağmen MS'in nedeni tam olarak bilinmemektedir. Çok sayıda değişik hipotezler ortaya atılmaktadır. En kuvvetli hipotez, hastalığın otoimmün bir hastalık olduğu görüşüdür. Deneysel akut dissemine ensefalomyelit, hayvanlarda oluşturulan demiyelizan hastalık modeli olarak takdim edilmektedir. Burada otoimmün mekanizma önemli rol oynamaktadır. Akut dönemde kanda supresör hücrelerde azalma görülmektedir. Genetik olarak yatkın bir bireyde, bakteriyel ya da viral enfeksiyon gibi çevresel etmenlerin MS'in başlangıcında ya da atakların tetiklenmesinde önemli olduğu kabul edilmektedir. Multipl skleroz, SSS'nin inflamatuvar demiyelinizan hastalıklarının prototipi, en sık görülen ve en iyi bilinen formudur. Her ne kadar en büyük değişiklikler beyaz cevherde olursa da günümüzde hem beyaz hem de gri cevherin bu inflamatuvar süreçten etkilendiği bilinmektedir. Multipl sklerozda lezyonların histopatolojisi; fokal inflamasyon, demiyelinizasyon, oligodendrosit (OG) kaybı, remiyelinizasyon ve reaktif astrogliozdur. Aksonlar görece korunmuş ve sinir hücre gövdesi sağlamdır. Günümüzde biyopsi ve nekropsi örnekleri yanında Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) tekniklerinde gelişmeler MS' de erken dönemde bile akson zedelenmesine ilişkin doyurucu bilgiler vermektedir. Bu konudaki ilk patolojik belirlemelerin Charcot (1868)'ya dek uzandığı bilinmektedir. Son dönem çalışmaları başlangıç inflamatuvar demiyelinizasyon sırasında bile SSS mikro çevresindeki immün moleküllerin akson zedelenmesi ve onun klinik yansıması olan dizabileden sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır. Yüzyılı aşan ayrıntılı klinik tanımı ve nedeni konusundaki yoğun araştırmalara karşın MS bugün için kesin patogenezi bilinmeyen ve gizlerini koruyan

bir hastalıktır. Multipl sklerozda atakların hedefi miyelin kılıf ve onun ürünlenmesi ve devamlılığını sağlayan oligodendroglialardır. Birincil hedefin miyelin mi yoksa OG'mı olduğu konusu tartışmalıdır.

Epidemiyolojik çalışmalar, MS'e genetik olarak yatkın bir bireyin olasılıkla prepubertal dönemde spesifik ya da nonspesifik bir ajanla karşılaşması sonucu bir immün aktivasyonun oluştuğunu düşündürmektedir. Genetik çalışmalar bu yatkınlığın olasılıkla 6. kromozomun kısa kolunda lokalize HLA.-DR DQ bölgesine yakın genlerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Birincil infeksiyondan yıllar sonra yeni bir infeksiyon bu otoimmün olayı tetiklemekte ve SSS'ne sınırlı ve spesifik bir otoimmün hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bir başka görüş ise, SSS'inde zaman zaman alevlenmelerle yeni demiyelinizasyonlara yol açan persistan bir viral infeksiyon ya da T hücre aktivitesinin olduğudur. Bilinen tek gerçek, myelin proteinleri Myelin Basic Protein (MBP), Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG), Myelin-associated Glycoprotein (MAG), Proteolipid Protein (PLP) başta olmak üzere SSS' nin birçok yapı taşının (S 100beta, stres proteinleri) bu immün atağın hedefi olduğudur (23).

Son on yıl boyunca MS patogenezi ile uğraşanlar MBP'ne karşı insan T hücre yanıtlarının belirlenmesi konusunda yapılan çalışmaların çokluğuna tanık oldular. Gerçekten MBP büyük bir farkla otoantijen olma özelliğini korumaktadır. Bununla birlikte onun T hücrelerde oluşturduğu yanıtlar şaşırtıcıdır. T hücre yalnızca çok sayıda MBP epitopunu tanımakla kalmaz, aynı zamanda elementi sınırlayarak farklı HLA moleküllerinin ve T hücre reseptörleri (TCR)'nin farklı spektrumlarını kullanır. Çalışmalar MBP' nin 80-100 aminoasit aralık bölgesinin immunodominant olduğunu göstermektedir. Ancak bazı raporlar MBP'nin N ve C terminal bölgesinin de bazı bireylerde immunodominant olabileceğini ortaya koydu. Beyazlarda HLA-DR2 bölgesi MS'e eşlik ettiği için (hastalarda 2/3, kontrollarda 1/4) bütün çalışmalar HLA-DR2 bölgesine odaklandı. Beyaz MS'ler tipik olarak HLA-DRB1*1501 (önceleri DR2b) ve HLA-DRB5*0101 (DR2a) haplotipine sahiptir. Spesifik olarak MBP 84-103, DR2 haplotipinin her iki gen ürününe de bağlanır. MBP 80-90'ın farklı HLA-DRB1 ürünlerine farklılık göstermeksizin bağlanması immunodominans için temel nedendir. Ayrıca MBP 80-90 süper tipik olarak adlandırılan HLA-DR3 geni ürünleri ve DRW-52'ye de bağlanır. Bu kompleksin başarılı kristalizasyonu MBP 85- 99'un HLA-DRA/B1*1501'e bağlandığını ortaya koymuştur. TCR'yi işaret eden aminoasit rezidüleri ve HLA-DR2'nin peptid bağlanma oluğu belirlenmiştir. MBP 80-100 için insan T hücre spesifitesi mikrobiyal proteinler ile (Adenovirus 12 ve EB virus) çapraz reaktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir (24).

Deneyimli nöropatologlar tarafından aktif MS lezyonlarının ayrıntılı ve dikkatli incelenmesi bu hastalıkta lezyon paterni ve lezyon formasyon mekanizmaları arasında büyük farklılıklar olduğunu gösterdi. Lassmann (2002) 150 den çok aktif MS lezyonunun patolojisini analiz ederek bu konuda yanıtlanmamış pek çok soruyu yanıtladı. Hastalığın erken döneminde elde edilen beyin biyopsileri kadar fulminan akut MS, Devic Hastalığı, Balo'nun Konsantrik Sklerozu ya da klinik ve patolojik olarak aktif MS beyin otopsi örnekleri bu konuda çok önemli ipuçları verdi. Her ne kadar aktif MS lezyonları, T hücre ve makrofaj egemenlikli inflamatuvar reaksiyon gösteriyorsa da demiyelinizasyon miyelin protein ekspresyonu, yayılım ve plak büyüklüğü, OG zedelenme örneği ve aktif kompleman depolanması açısından farklılıklar gösterir. Bu temel özellikler açısından dört farklı paternde MS patolojisi olduğu saptandı (Tablo1)(25).

Bu çok ayrıntılı çalışmalar MS'in düşünüldüğündende karmaşık bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır.

MS'de görülen başlıca patolojik değişiklikler şöyle özetlenebilir (26):

1. Çok sayıda, birkaç milimetreden birkaç santimetreye kadar değişebilen büyüklüklerde, sınırları keskin, yuvarlak, oval veya düzensiz şekilli plaklar görülür.
2. Lezyonlar santral sinir sisteminin herhangi bir yerinde, beyaz veya gri madde de görülebilirler. Öte yandan, sıklıkla da ependim altında, pia altında ve gri madde-ak madde sınırında yerleşirler.
3. Lezyonlar değişik yaşlarda olabilir. Yeni ve eski lezyonlar bir arada görülebilirler.
4. Makroskopik ve mikroskopik bulgular, plağın yaşına ve aktif olup olmamasına göre değişir. Aynı plakta, aktif ve inaktif alanlar birlikte görülebilir. Otopside daha çok inaktif plaklar görülür.

2.6.a. Makroskopik Bulgular

Makroskopik incelemede, olguların çoğunda, sulkuslarda genişleme ile giden hafif korteks atrofisi dışında belirgin bir özellik izlenmez. Beyin ağırlığı genelde normal sınırlar içerisinde. Optik sinir ve optik kiazma, demiyelinizasyon nedeniyle gri renkli, astroglia nedeniyle normalden daha sert kıvamlı ve atrofik izlenebilir. Beyin sapında pons düzeyinde, serebellar pedinküllerde, medulla oblongatanın pia ile kaplı yüzeyinde gri renkli alanlar

görülebilmektedir. Medulla spinaliste, yüzeysel çökük görünümde demiyelinizan plaklara bağlı atrofiye rastlanabilir. Kranial sinirlerin proksimal bölgeleri, spinal sinir kökleri atrofik olabilir. Periferik sinir sistemi makroskopik olarak normaldir.

Koronal beyin kesitlerinde farklı şekil ve büyüklükte plaklar görülür. Pembe renkli, yumuşak kıvamlı plaklar aktiviteyi (akut veya aktif lezyon) gösterir. Kronik lezyonlar, beyaz ve gri cevhere saçılmış, çoğu 2-10 milimetre arasında değişen büyüklüklerde, keskin sınırlı, yuvarlak, oval, bazıları düzensiz şekilli, hafif çökük, tek tek ya da birbirleriyle birleşen, gri renkli, sert kıvamlı plaklar şeklindedir. Bazen kistik değişiklik gösterebilirler. Ak maddenin kaybına bağlı olarak ventriküller genişler ve hidrosefali görülebilir.

“Benign” MS olarak tanımlanan ve hiçbir klinik bulgusu olmayan birçok olgunun otopsisinde çok sayıda demiyelinizan plaklar saptanmış olduğu bildirilmiştir.

Plakların en sık izlendiği bölgeler yan ventrikülün çevresi (özellikle nukleus kaudatus ile korpus kallosum arası), IV ventrikül tabanı ve tavanı, optik sinir, pons, arkuadukt çevresi ve medulla spinalistir. Nerede yerleşmiş olurlarsa olsunlar hemen tüm küçük ve orta çaptaki plaklar, venlerin çevrelerinde yer almıştır. Hastalığın erken dönemlerinde lezyon sınırları dış bükey iken, hastalık ilerledikçe, demiyelinizasyon venlerin çevresinde, damarı manşon gibi sararak ilerler (“Dawson parmağı”) (26).

2.6.b. Histopatoloji

Nedbe ve inflamatuvar aktivite temel alınarak MS plakları 4 grupta incelenir:

- Kronik plak
- Kronik, aktif plak
- Akut plak
- Gölge (“shadow”) plak

MS lezyonları demiyelinizasyon, lenfositlerin ve monositlerin birikimi ve ödeme neden olan kan-beyin bariyeri bozulmasıyla karakterize edilmektedir. MS kronik T-hücre/makrofaj kaynaklı patoloji olup, ödem formasyonu MMP’leri ifade eden alınan lökositler tarafından beyin endotelyumuna zarar verilmesi sonucu oluşabilmektedir. MMP’ler aynı zamanda SSS’teki inflamatuvar hastalıklarda miyelin temel proteini immunojenik parçalara indirgeme yeteneğiyle (27), MS hastalarının serebrospinal sıvılarını yükselterek (28,29) deneysel

nöroenflamatuar hastalıklarda hastalığın ciddiyetini azaltan belirli MMP inhibitörleriyle (30,31,32) ve beyin parankimasına saflaştırılmış enzimin doğrudan enjeksiyonunu takiben kan-beyin bariyerini bozma yeteneğiyle de ifade edilir.

MMP'lerin, artirit (33,34) ve enflamatuar bağırsak hastalığı (35,36) gibi periferik enflamatuar hastalıklardaki rolü iyi bir şekilde karakterize edilmiştir ancak SSS enflamasyonundaki rolleri iyi anlaşılmamıştır. Bugüne kadar dikkat, jelatinaz B'ye odaklanmıştır (28,37,38,39). Ancak diğer MMP'lerin ifadesi ve rolüyle ilgili bilgimiz sınırlıdır. MS dokularında MMP'lerin ifadesini immünohistokimyasal olarak incelenmiştir (40,41). Son çalışma MS ve inme lezyonlarında MMP'lerin hücrel ve boyutsal dağılımının patofizyolojide bu enzimlerin rolünü destekleyip desteklemediğini belirlemek için yapılmıştır.

Normal Beyin

Jelatinaz-A 'nın perivasküler boşlukta rastlantısal perivasküler hücreler ve nöronlar tarafından ifade edildiği bulunmuştur. Stromelisin-1 normal beyinde görülmez. Matrilisinin küçük alt-set damarlardaki perisitlerle ifade edildiği gözlenmiştir. Jelatinaz-B normal beyaz ya da gri maddede görünmez ancak bazen parankim içindeki küçük damarlarda mevcut olan boyalı nötrofillerde görülebilir. Mevcut olan MMP boyama parafin yerleştirilmiş dokular yerine canlı doku kesitlerinde daha fazla görülmektedir. Bu da aynı tür hücrelerin boyalı olmasına rağmen multipl skleroz dokusunun mum azaltılmış antijenliği sürecini gösterir (42).

Akut MS Plağı

Tüm lezyonlarda perivasküler ve parankimal inflamasyon mevcuttur. Makrofajlar içinde yağ boyaları (Oil Red O, Sudan Black) pozitif boyanan miyelin atık ve artıkları görülür. Plağın merkezinde belirgin ödem mevcuttur. Sayı ve sıklığı artmış oligodentrositler ile hipertrofik astrositler izlenir. Demiyelize aksonlar görülmesine karşın, bunların sayıları diğer plak tiplerine göre daha azalmıştır. Akut plakta yoğun fibröz astrogliozis izlenmez. Lezyonun merkezinin çevresinde miyelin artıkları içeren kalın bir makrofaj bandı vardır. Remiyelinizasyon izlenmez (26).

Akut lezyonlar progresif demiyelinasyonun göstergesi olan Luxol Fast Blue ile birçok köpüksü makrofaj içerir. Aynı lezyonlar içerisindeki seri kesitlerde makrofajların jelatinaz-A, matrilisin ve jelatinaz-B'yi ifade edildiği bulunmuştur. Ancak PGM-1 boyamasıyla da

gösterildiği gibi parenkimal aktive edilmiş makrofajların sadece küçük bir oranı MMP'ler için pozitif boyanmıştır. Aslında her bir antiMMP antikoru için pozitif boyalı makrofajların sayısında belirgin farklar vardır. Jelatinaz-A boyama jelatinaz-B boyamadan daha fazla belirgin olan matrilisin boyamadan daha fazla belirgindir. Stromelisin-1 ifadesi canlı ya da mum yerleştirilmiş kesitlerde gözlemlenmemiştir. Akut lezyonlarda az sayıdaki lenfosit benzeri hücrelerin de jelatinaz-A ifade ettiği görülmüştür.

Akut lezyonları saran beyaz maddede parenkimal makrofajlar (perivasküler kaflar dışında mevcut olan makrofajlar) ve mikrogliya benzeri morfolojideki birkaç hücrede jelatinaz-A ve matrilisini ifade etmektedir. Lenfosit ve makrofaj içeren lezyonlar içinde ve plaklardan uzak olan perivasküler Kaflar jelatinaz-A ve matrilisin için de pozitifdir. Beyaz maddenin normal görünümünde jelatinaz-B boyama damarlar içindeki nötrofillerle sınırlıdır.

Hem canlı hem de parafin doku kesitlerinde MMP boyama sitoplazmiktir. Ekstraselüler boyama gözlemlenmemiştir (42).

Kronik Aktif MS Plağı

Bu lezyon hiperselüler olup perivasküler alanlarda ve parankimde belirgin inflamasyon izlenir. Demiyelinizasyon devam etmektedir. Makrofajlar içinde yağ boyaları (Oil Red O, Sudan Black) pozitif boyanan miyelin atık ve artıkları görülür. Ayrıca, astrositlerde hipertrofi ve oligodentrosit miktarında artış izlenir. Miyelin boyalarında plak sınırlarının kronik plak kadar keskin olmamasına karşın, akut MS plağına göre daha belirgindir.

Plağın merkezi kronik plak özellikleri gösterir. Buna karşılık, kenarları oligodentrosit artışı, lenfositler, hipertrofik astrositler ve bol makrofaj varlığı ile hücreden zengin görünümündedir. Ancak, eğer plak boyutu küçükse, tüm plak infiltre olacağından, akut MS plağından ayrımı sadece fibriler gliosis varlığı gösterilerek yapılabilir. Özetle, kronik aktif plağın temel patolojik özellikleri, inflamatuvar infiltrasyon, süregen miyelin yıkımı, oligodentrositlerin varlığı ve hatta sayıca artışı, remiyelinizasyon ve astrositlerde hipertrofi olarak tanımlanabilir. Kronik aktif lezyonlar sıklıkla 5-10 yıllık kronik ilerleyici MS olgularında izlenir (26).

Çok sayıdaki jelatinaz-A ifade eden ve matrilisin ifade eden makrofajlar aktif kronik plakların aktif sınırında ve canlı donmuş hücrelerdeki perivasküler kaflarda mevcuttur. Güçlü boyama aynı zamanda, parenkimal makrofaj boyama daha az yoğun olmasına rağmen, perivasküler kaflar içindeki makrofajlarla ve parafin yerleştirilmiş dokunun aktif sınırıyla

ilişki içerisinde olduğu gözlemlenmiştir. Kesitlerin T-hücre karakterleri ve anti matrilisin ile iki kez boyanması T hücrelerin kafflarda matrilisini ifade etmediğini ortaya çıkarmıştır. Aktif sınır içinde, bazı makrofajların ifade seviyesi jelatinaz-A ya da matrilisinden daha az işaretlenmiş olmasına rağmen jelatinaz-B'yi ifade ettiğı bulunmuştur. Jelatinaz-B pozitif hücrelerin lezyonların içinde ve dışında damarlar içinde mevcut olduğu bulunmuştur. Bu jelatinaz-B pozitif hücrelerin nötrofiller olduğu görölmüştür (42).

Kronik MS Plağı

Miyelin boyaları ile boyandığında miyelin kaybı gösteren keskin sınırlı alanlar şeklinde göröülürler. Plağın sınırlarının keskinliği kronikleşme ile paralellik gösterir. Kronik lezyon sınırında belirgin sitoplazmik uzantıları bulunan, sayı ve sıklıkları artmış reaktif astrositler bulunur.

Glial fibrilleri boyayan Holzer boyası ile miyelin kaybı olan alanlarda yoğun bir fibriller astrogliozis izlenir. Kronik plak, hücreden yoksun görünümündedir. Plağın kenarında birkaç damar çevresinde az sayıda lenfosit, plazma hücresi izlenebilir. Kronik lezyonlarda polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu görölebilir. Plağın merkezinde oligodentrosit sayı ve sıklığı azalırken, plak kenarındaki remiyelinizasyona komşu miyelinden zengin beyaz cevherde oligodentrosit sayı ve sıklığı artar. Akson boyaları ile plağın içinde aksonların azaldığı göröülür. Kantitatif çalışmalar, akson yoğunluğunun hem akut hem de kronik lezyonlarda azaldığını göstermektedir. Bu azalma beyindeki lezyonlarda %56-64 iken, medulla spinalis lezyonlarında %80'e kadar çıkmaktadır. Aksonu boyayan Bodian ve/veya Bielschowsky gümüş metodları ile lezyonun çevresinde daha belirgin olmak üzere aksonların sayısında azalma olduğu göröülür. Yapılan çalışmalarda, hem akut hem de kronik lezyonlarda miyelin lipid boyanmasının %68 azalmasına karşılık, akson miktarı akut plaklarda %7, kronik plaklarda ise %48 oranında azaldığı gösterilmiştir. Nöronlar genelde korunur. Ancak, medulla spinalis tutulumu belirgin olan olgularda ön boynuz hücrelerinde kayıp olabilir.

Demiyelinizasyonun son döneminde, dokuda yağ boyaları ile pozitif boyanan miyelinoafajlar (miyelin atık ve artıkları ile dolu olan makrofajlar) dikkat çekici miktarlarda bulunurlar. Bu nedenle de kronik lezyonlarda, yağ boyaları (Oil Red O, Sudan Black) ile boyanmış kesitlerde pozitif boyanan hücre ya çok azdır ya da yoktur. İnaktif kronik MS lezyonlarında, korpora amilasea ve perivasküler kollajen birikimi görölebilen diğer mikroskopik bulgulardır.

Mikroskopik özellikleri nedeniyle bir plağa inaktif diyebilmek için geçmesi gereken süre en az on sekiz aydır (26).

Kronik vakalarda, MMP ifadesi akut lezyonlarda mevcut olan boyama seviyesine kıyasla büyük oranda düşmüştür. Boyama damarların alt grubunun perivasküler enflamatuvar kafları içindeki mononükleer hücrelerin alt popülasyonuna sınırlandırılmıştır. Sadece jelatinaz-A ve matrilisin kaflarda ifade edilmiştir. İzole edilmiş ve dağılmış olan jelatinaz-B pozitif nötrofilleri kesitler boyunca damarlarda mevcuttur (42).

Gölge (shadow) plak

Bu alanlar remiyelinizasyona bağlı olarak görülen, izole ya da eski bir lezyona bitişik görünümde, normalden daha ince miyelin kılıfları içeren alanlardır. Miyelin boyası ile normal boyanan ak madde ile boyanmayan plak arasında soluk gri bir bölge şeklinde görülürler.

Gölge plaklarda aksonların etrafında normalden ince bir miyelin tabakası ve artmış oligodentrositler dikkati çeker. Her yerde görülebilmekle birlikte en çok medulla spinaliste izlenirler. Önceleri bu lezyonların “inkomplet demiyelinizasyon” alanları olduğu düşünülürdü. Ancak, bu alanlarda devam eden inflamasyon ya da demiyelinizasyon yoktur. Geçirilmiş hasarı gösteren gliosis, korpora amilasea, birkaç fibrotik kan damarı, az sayıda köpüksü makrofaj görülebilir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu yoktur.

Kronik MS plaklarının ayrıntılı incelenmesinde, plağı kuşatan ince bir remiyelinizasyon halkası görülebilir. Ancak, bu alanlar oligodentrosit sayısının yetersiz olması ve gliosis nedeniyle büyüyüp gölge plak oluşturmayabilirler (26).

2.7. MS İmmünolojisi

İmmün Sistem Hücrelerinin Kan Beyin Bariyeri İle Etkileşimleri

İmmün sistem, organizmayı infeksiyonlara ve diğer dış etkenlere karşı savunmakla görevli özelleşmiş işlevleri bulunan hücreler ve moleküllerden oluşur. Organizmayı infeksiyondan koruyup yabancı maddelerin ortadan kaldırılmasını sağlayan mekanizmaların kendisi doku hasarı ve hastalık yaptığında otoimmün hastalıklar ortaya çıkar. İmmün yanıt doğal ve adaptif olmak üzere iki türdür. Doğal immünitinin ana bileşenleri fiziksel ve kimyasal bariyerler, fagositik hücreler, doğal katil hücreler, kompleman gibi kan proteinleri ve sitokinlerdir. Adaptif immün yanıt ise antijene özgü B ve T lenfositlerinin yanı sıra lenfosit

aktivasyonu için antijen sunan hücrelerin ve antijenleri ortadan kaldıran efektör hücrelerin varlığına dayanır. Doğal immüneyi oluşturan elemanlar tekrarlayan infeksiyonlara aynı yanıtı verirken adaptif immüneye özgüdür ve antijenle tekrarlayan karşılaşmalar bu özgünlüğü artırır (immünolojik hafıza). Patojenlerin ortadan kaldırılmasında doğal ve adaptif immüneye birlikte çalışır. Yabancı antijenlerin T ve B lenfositleri tarafından tanınması immün yanıtın önemli bir bölümünü oluşturur. T hücreleri T hücre reseptörü (TCR) taşırlar ve antijen sunan hücrelerin majör histokompatibilite kompleksi (MHC) molekülleri ile sundukları antijenleri tanırlar. B hücreleri antijen için B hücre reseptörü (BCR) görevini yapan yüzey immünoglobulini ile ayırt edilirler. TCR ve BCR repertuarı çok geniştir; T ve B lenfositler sayısız yabancı antijene karşı yanıt oluşturabilirler. Bu durum antijenle tetiklendikten sonra genişleyen bir hücre klonunun organizmaya ait peptidler dahil çok sayıda epitopla reaksiyon verebileceği anlamını taşımaktadır. Normal koşullarda otoantijenlere karşı yüksek afiniteli reseptörleri olan hücreler immün repertuvardan çıkarıldıklarından ya da aktive edilmediklerinden kişinin kendi dokularına karşı yanıt oluşmaz. Otoantijenlere karşı bu seçici cevapsızlık “self-tolerans” olarak tanımlanır ve normal immün sistemin ana özelliklerinden biri olarak bilinir. Tolerans gelişiminin ana mekanizmaları apoptoz yoluyla delesyon, fonksiyonel inaktivasyon (anerji) ve düzenleyici T hücreleri ile baskılanmadır. Tolerans bozulduğu zaman immün sistem yabancı ve otoantijen ayrımını yapamaz; otoreaktif lenfositler aktive olur, klonal ekspansiyona uğrar ve otoantikör üretirler. Otoimmün hastalıklar organa özgü ve sistemik olarak sınıflandırıldığı gibi otoimmün yanıtın gelişiminde ön planda otoantikörlerin veya otoreaktif T hücrelerinin yer almasına göre de yani otoimmün yanıtın niteliğine göre de sınıflandırılırlar. Otoimmün hastalıkların ortaya çıkışında genetik faktörlerin yanı sıra aynı HLA fenotipini taşıyan insanlarda hastalığın düşük penetransı ve klinik bulgularının değişken olması nedeniyle çevresel faktörlerin de rol oynadığı düşünülmektedir. Farklı demiyelinizasyon ve OG destrüksiyon mekanizmaları ve patoloji örnekleri multipl sklerozun dört farklı tipi olduğunu ve heterojen patogenezin söz konusu olduğunu göstermektedir. Multipl sklerozda ilk antijenik karşılaşma periferde olmaktadır (23). Periferde aktive olan immün sistem hücreleri, hedef doku ve organlara göçlerini sağlayacak çeşitli moleküller taşırlar (43,44). Bu moleküllerden selektin, kan beyin bariyerindeki (KBB) ligandları ile etkileşime geçerek hücrelerin endotel üzerinde yuvarlanmalarını ve integrin adezyon molekülleri de bağlanma/ tutulmalarını sağlarlar. Aktive immün sistem hücreleri, endotel hücreleri veya hasarlı doku tarafından salgılanan kemokinler integrin aktivasyonunu arttırarak, daha güçlü bir tutunmaya katkıda bulunurlar (45). Kemokinler ayrıca uygun reseptöre sahip hücrelerin kimyasal gradiyentin kaynağına doğru göçünü de yönetmektedirler.

İmmün sistem hücrelerince matriks metalloproteinazlar gibi enzimlerin salınımı da ayrıca bazal membranın yapısını bozarak, dokuya infiltrasyonu kolaylaştırır (46) Bütün bu mekanizmalar MS'te KBB yapısının hasara uğrayarak geçirgenliğinin bozulması ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunun kolaylaşması ile sonuçlanırlar.

T Hücreleri ve MS

Multipl Sklerozun T hücre temeli konusundaki ilk düşünce Eduard Rindfleisch (1863) tarafından öne sürüldü. Çalışmacı demiyelinizan lezyonların merkezinde lökosit inflamasyonu ile çevrelenmiş bir damar yapısının bulunduğunu bildirdi. Daha sonra Babinski (1885) bu hücrelerin, bütünlüğü bozulmuş miyelin kılıf ve intrasitoplazmik miyelin parçalanma ürünleri içerdiğini gösterdi. Bu görüş 1916'da Dawson tarafından geliştirilerek doğrulandı ve plak içindeki inflamasyonlu damarı çevreleyen eldiven parmağı biçiminde demiyelinizasyonun yayılımı tanımlandı. Modern immunolojik terminolojide bu patern "Gecikmiş tipte aşırı duyarlık reaksiyonu" olarak tanımlanmaktadır. Bu infiltratların immünohistoşimik karakteri bunların T hücre ve makrofaj olduğunu ortaya koymuştur. Aktif miyelin destrüksiyon dönemlerinde infiltrate makrofaj ve mikroglialar immunolojik aktivasyonun kanıtlarını gösterirler. Lezyon içinde farklı tipte pro ve anti-inflamatuar sitokinler ve reseptörleri saptanır. T hücre aracılı inflamatuvar yanıtla eşlik eden adezyon molekülleri, kemokinler ve reseptörleri, HLA antijenleri ve kostimulatör moleküller lezyon içinde ekspresse edilir. Multipl sklerozda inflamatuvar yanıt T hücre aracılı immun reaksiyondur. Bu durum, ikincil makrofaj aktivasyonuna yol açar. Makrofaj ve mikroglialar miyelin destrüksiyonunda birbirine karışmıştır. Multipl skleroz'un TH1 hücre yönlendirici bir hastalık olduğu kavramı "Deneysel Alerjik Ensefalomyelit" (experimental allergic encephalomyelitis: EAE) modellerine dayanır. EAE, myelin spesifik proteinlerin (myelin basic protein [MBP] ve proteolipid protein [PLP]) duyarlı bir hayvan soyuna inokülasyon ile aktif olarak oluşturulan otoimmün bir hastalıktır (23). İnsan miyelin-spesifik T hücrelerinin transgenik hayvan modelinde ensefalatojenik olduklarının gösterilmesine karşılık, MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasında bu hücreler açısından belirgin bir farklılık gösterilememiştir (47,48,49). MS hastalarında Th1 sitokin düzeylerinde artış (IL-2, IFN-gama, TNF-alfa gibi), Th1 sitokin profiline sahip T hücrelerinin MS hastalarından izole edilmeleri ve MS'in belli major doku uyuşum kompleksi (major histocompatibility complex: MHC) sınıf II antijenleri ile bağlantılı olduğunun gösterilmesi bu hipotezi destekleyen bulgular olarak ileri sürülmektedir (50-51). MS lezyonlarında hem CD4+, hem de CD8+ T hücreleri bulunmaktadır. CD4+ T hücreleri

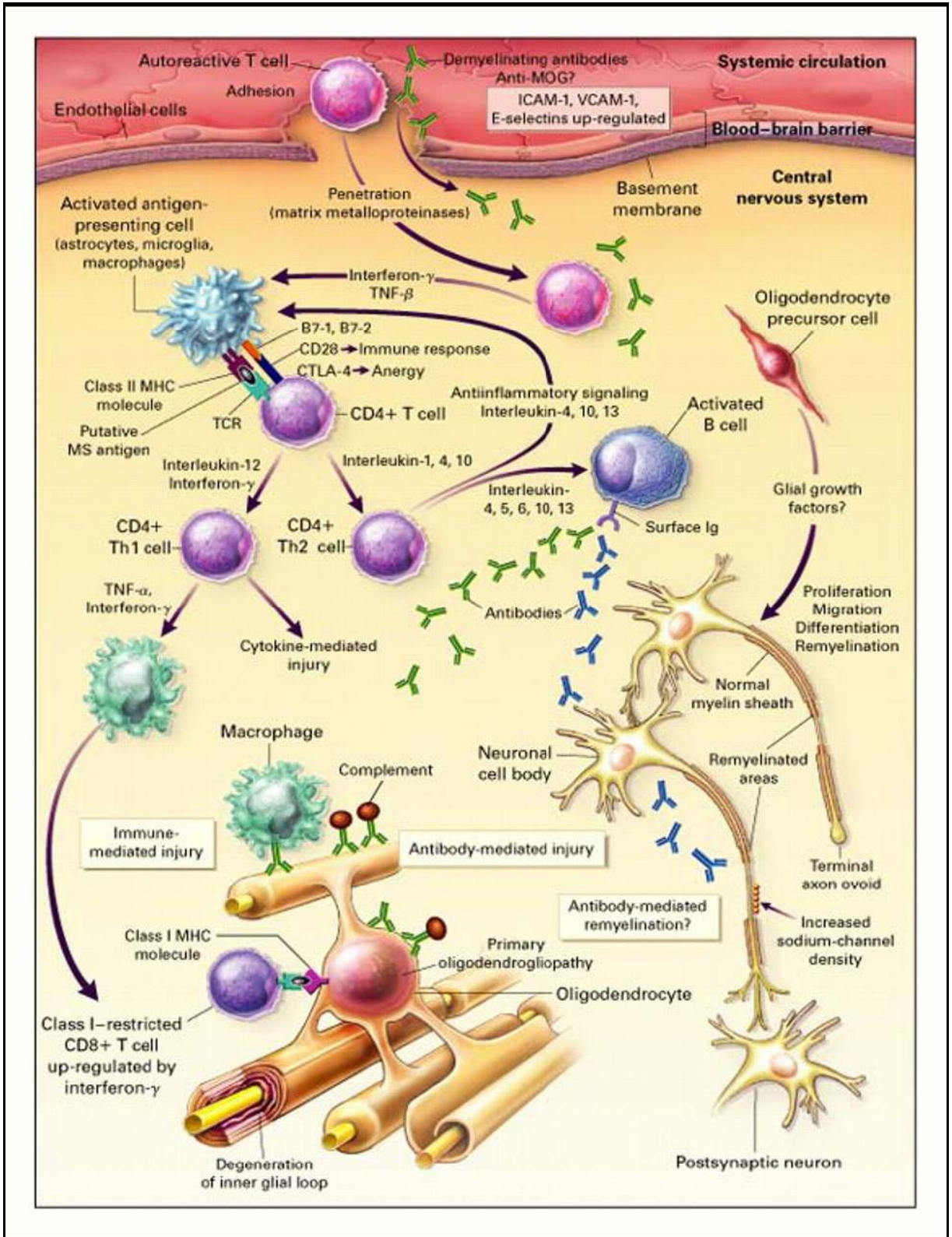
çoğunlukla perivasküler alanda, CD8+ T hücreleri de çoğunlukla lezyonların merkezinde ve sınırına yakın bölgelerde bulunmaktadır (52). Lezyonlara infiltre olan T hücrelerinin aynı öncül hücreden çoğalmış oldukları ve bu nedenle de aynı antijenik özgüllüğe sahip hücreler olduğu belirlenmiştir (klonotipik akümülyasyon fenomeni). Bu klonotipik akümülyasyon en çok CD8+ T hücre kompartmanında saptanmakta, CD4+ T hücre kompartmanında ise nadiren gözlenmektedir (53,54). Her ne kadar bu çalışmalar lezyonlarda antijene yönlendirilmiş CD8+ T hücre infiltrasyonlarını işaret etse de, bu hücrelerin spesifikite ve fonksiyonları açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir.

MS'te B Hücre Yanıtları ve Antikor Sentezi

Yıllar önce Linnington, 1988'de T hücre aracılı otoimmün ansefalomyelitin, miyelin kılıf ve OG yüzeyinde ekspresse edilen antijene karşı spesifik antikorlar oluştuğunda masif demiyelinizan hastalığa dönüştüğünü göstermiştir. Bu deneyler, yakın zamanda non-human primatlarda da doğrulandı (23). BOS'ta lokal antikor sentezi; oligoklonal bantların saptanması ve intratekal IgG üretimi ile belirlenmektedir. BOS'ta oligoklonal bant varlığının incelenmesi MS tanısında kullanılan tek laboratuvar gösterge olmasına karşın, MS'te B hücreleri uzun yıllardır göz ardı edilmekteydi. Bu durumun en önemli nedenleri; EAE modelindeki etkisizlikleri ve fonksiyonlarını yeterince iyi bir şekilde inceleyebilecek teknolojinin eksikliği şeklinde açıklanabilir (55). SSS'de sentezlenen immunglobulinler ve oligoklonal band (OKB) hastalığın fluktuasyonu ve aktivitesi ile azalmamaktadır. MS'li olguların beyin omurilik sıvılarında (BOS) antikor oluşturan plazma hücrelerinin sayısında artış görülmektedir. Olguların %90'ından fazlasında spesifik antikorlara karşı oluşmuş antikor klonlarının varlığını gösteren immunglobulinG (IgG), OKB'lar BOS elektroforezinde gösterilmiştir. BOS'da üretilen antikorlar; MBP, PLP ve miyelin oligodendrosit glikoproteine karşı oluşmaktadır. Bu antijenler içinde MOG önemli bir yer tutmaktadır. Bu antijen hem T hücre aracılı immün yanıtın hem de demiyelinizan antikor yanıtının tek örneğidir. Antikor aracılı demiyelinizasyonun indirekt kanıtları, aktif lezyon alanında Ig depolanmasının gözlenmesi ve miyelinin makrofajlar tarafından reseptör aracılı fagositozudur. MS'da antikor sentezi, temel olarak SSS'de görülmesine rağmen, özellikle atak sırasında sistemik dolaşımdaki B-lenfositlerle IgG sentezi de artmaktadır. MS olgularında BOS çalışmaları, hastalık süresince komplemanın (C3a,C4a) da rolü bulunduğunu ileri sürmektedir. Ayrıca komplemanın C9 komponentinin MS olgularında BOS'da azaldığı gösterilmiştir (56). Bu bulgular humoral immün yanıtın hastalığın patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu gösteriyor olsa da, bu hücrelerin özgüllükleri ve hastalıktaki rolleri hala açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir.

MS'te Düzenleyici T Hücre Yanıtları

Otoreaktif T hücrelerinin sağlıklı bireylerde de bulunması; self-reaktif T hücrelerinin timusta klonal delesyonu ve T hücre anejisi oluşmasının kendine (self)-toleransı tek başına açıklayamadığını göstermektedir (57,58). Otoreaktif T hücrelerinin yol açabileceği immün bozuklukları düzeltmek için periferel tolerans mekanizmalarının da bulunduğu bilinmektedir. Regülatuvar T hücrelerinin aktif baskılamaları, self-antijenlere reaktif T hücrelerinin kontrol edilmesinde ve in vivo periferel toleransın oluşmasında önemli rol oynamaktadır (59,60). Otoreaktif T hücreleri hem sağlıklı bireylerde, hem de otoimmün bozukluğu olan hastalarda saptanmaktadır. Ancak, otoimmün bozukluğu olan hastalardaki otoreaktif T hücrelerinin, normal bireylere ait T hücrelerine göre daha kolay aktive edilebildiği gösterilmiştir (61). MS hastalarına ait CD4⁺ CD25⁺ regülatuvar T hücreleri (Treg) ile normal bireylere ait Treg hücreleri Hafler ve arkadaşları tarafından incelenmiş ve bu hücreler arasında sıklık ve fenotip bakımından fark bulunmadığı bildirilmiştir. Fakat sağlıklı kontrollere ait Treg hücreleri, otoreaktif efektör T hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederken; MS hastalarına ait Treg hücreleri ise proliferasyonu inhibe etmekte etkisiz kalmaktadırlar. Bu ex vivo modelde IL-10 ve TGF-alfa sitokinlerinin bloklanması da, CD4⁺ CD25⁺ regülatuvar T hücrelerinin baskılayıcı fonksiyonunda bir azalmaya yol açmamaktadır (62). Bu bilgiler MS hastalarında primer regülatuvar defektin CD4⁺ CD25⁺ regülatuvar T hücrelerinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. İn vitro OG'ler direkt olarak aktive CD4(+) T hücreler tarafından parçalanır. Bu mekanizma TNF-alfa'dan bağımsızdır. Olası sitotoksik mekanizma Fas-Fas ligand aracılıdır. Gerçekten MS lezyonlarında OG'larda Fas ekspresyonu gösterilmiştir. Oysa Fas ligand yalnızca aktif T hücrelerde bulunur. Ancak, Fas ligand ekspresyonunun astrosit ve OG'larda, Fas reseptörünün ise bazı glial hücreler dahil bir çok hücrede bulunduğu ilişkin önemli çalışmalar vardır. Özellikle delta/gamma T hücreler OG lizisine yol açar. Bu bilgiler, MS'de Fas-Fas ligand yolunun etkilenmiş olduğunu gösterir. MS lezyonlarında sitotoksik T hücre reaksiyonu için gerekli hedef antijen yeterince bilinmemektedir. Bazı veriler kronik inflamasyonda SSS'inde lokal olarak eksprese edilen stres proteinlerinin böyle bir hedef antijen olabileceğini düşündürmekteyse de, periferel immün repertuar çok yüksek sayıda stres proteinine reaktif T hücre içerir. Bu hücreler MS lezyonlarında da saptanır ve bazen OG ile yakın ilişki kurar. Glial hücreler özellikle OG'ler demiyelinizan plakta farklı stres proteinleri eksprese ederler. Her ne kadar stres proteini ekspresyonu OG'nin endojen koruyucu programını yansıtırsa da bu tür proteinlerin sitotoksik T hücre tarafından tanınması olasıdır. Bu durum, plakta OG'nin progresif destrüksiyonu ile sonuçlanır. Demiyelinizan plaklarda OG'nin önce yaşamını sürdürdüğü daha sonra parçalandığı gösterilmiştir. Ancak bu tür mekanizmaların deneysel karşılıkları yoktur (23).



Şekil 1: Multipl Skleroz'da muhtemel hasar ve tamir mekanizmaları

(Noseworthy JH ve ark. Multiple sclerosis. N Eng J Med 2000; 343 (13): 938, Figure 2) (63)

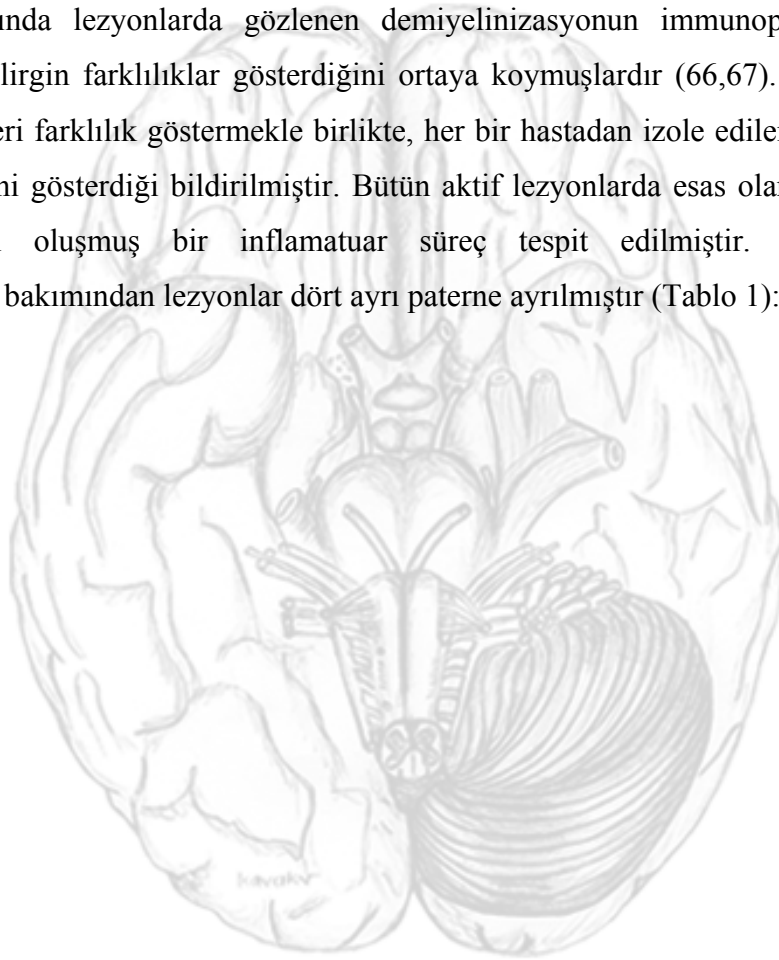
2.8. MS İmmünopatolojisi

MS patolojisi; beyin ve spinal kordda fokal primer demiyelinizan plaklar ve inflamatuvar bir süreç şeklinde tanımlanmaktadır. İnflamasyon T hücreleri, aktive makrofaj veya mikrogliya hücreleri tarafından oluşturulur. Aktif lezyonlarda bu inflamatuvar süreç KBB yıkımı, proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin lokal ekspresyonu ile birliktedir. Demiyelinizasyona değişik derecelerde akut aksonal yıkım ve aksonal kayıp eşlik eder (64). MS'in progressif döneminde patolojik tablo değişir, fokal demiyelinize ak madde lezyonları hala saptanabilmesine rağmen, daha önce var olan plakların giderek sınırlarını genişlettikleri gözlenir. Plaklar dışındaki normal görünen ak madde (NGAM) büyük oranda anormal bulgular gösterir. Diffüz inflamatuvar süreç, jeneralize mikrogliyal aktivasyon, diffüz aksonal hasar ve sekonder demiyelinizasyon tabloyu oluşturur. Ak madde tutulumunun yanı sıra korteks de ağır bir şekilde hasarlanmıştır (64). Miyelinden yoksun retinada inflamasyonun görülmesi dikkat çekicidir. Ayrıca son çalışmalar, çoğu inaktif plakda bile T ve B hücrelerle makrofajların varlığını göstermektedir. Her ne kadar inaktif lezyonla karşılaştırıldığında inflamasyon aktif lezyonda belirginse de bu kantitatif farklılık çok azdır. Bu iki plak arasındaki belirgin farklılık aktif plakda makrofaj aktivasyon antijenlerinin lokal ekspresyonudur. Ayrıca inflamasyonla aktif miyelin destrüksiyonunun birlikteliği çelişkilidir. Her ne kadar demiyelinizasyonun inflamasyon zemininde geliştiği varsayılırsa da Gay ve ark.'nın (1997) yakın zamanlı sistematik çalışması lezyon içine T hücre infiltrasyonunun miyelin destrüksiyonunu izlediğini göstermiştir.

Sonuç olarak, aktif demiyelinizasyon bazen belirgin perivasküler inflamatuvar infiltratın yokluğunda da oluşur. Bu durum demiyelinizasyon için farklı immün mekanizmaların gerekliliğini göstermektedir. Bazı olgularda T hücre infiltratlarının yokluğunda bile aktif demiyelinizasyonun ilerlemesi lezyon formasyonu için birincil T hücre aracılı yanıtın tüm olgulara uygulanamayacağını gösterir. Bazen tamamen inaktif olgularda yoğun inflamasyon ve MS lezyonlarında lökositler tarafından lokal olarak üretilen nörotrofik faktörler, rejenerasyon ve tamir sürecinde lökositlerin roloynadığını düşündürür. T hücre aracılı deneysel modellerde demiyelinizasyon ve doku destrüksiyonu minimaldir. İnsanda T hücre aracılı akut dissemine lökoensefalit ve hemorajik ansefalitte minimal demiyelinizasyon vardır. Bu durum, insanda demiyelinizasyon için ilave mekanizmalara gereksinim olduğunu düşündürmektedir.

MS’de Heterojenite

MS lezyonlarının patolojik incelemeleri hastalar arasında; inflamatuvar yanıt, demiyelinizasyon paternleri, oligodendrosit korunumu, remiyelinizasyon düzeyi ve aksonal hasar derecesi açılarından belirgin farklılıklar olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bazı yazarlar, MS’in çeşitli immün veya toksik mekanizmalar üzerinden işleyen, ortak özellikleri miyelin ve oligodendrosit hasarı olan “birbirinden farklı patolojilere verilmiş ortak bir isim” olduğu şeklinde yorumlar yapmaktadırlar (65). Lucchinetti ve ark 2000 yılında yayınladıkları çalışmalarında çok sayıda MS lezyonunun (n=82) nöropatolojik incelemesini yapmışlardır. Bu çalışmalarında lezyonlarda gözlenen demiyelinizasyonun immunopatolojik paternler bakımından belirgin farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuşlardır (66,67). Hastalar arasında lezyon paternleri farklılık göstermekle birlikte, her bir hastadan izole edilen aktif lezyonların hep aynı paterni gösterdiği bildirilmiştir. Bütün aktif lezyonlarda esas olarak T hücreleri ve makrofajlardan oluşmuş bir inflamatuvar süreç tespit edilmiştir. Demiyelinizasyon mekanizmaları bakımından lezyonlar dört ayrı paterne ayrılmıştır (Tablo 1):



Tablo 1: Multipl Sklerozun immünpatogenezi

<i>Patern 1:</i>	
-	Bir ve ya da venül çevresinde keskin sınırlı demiyelinizasyon
-	Myelin kılıf harabiyeti
-	Oligodendrositler canlı
-	T hücre ve makroflaj infiltrasyonu
-	IgG ve kompleman depolanması yok
-	Hızlı ve hemen hemen tam remiyelinizasyon (Shadow plak)
<i>Patern 2:</i>	
-	Bir ven ya da venül çevresinde keskin sınırlı demiyelinizasyon
-	T hücre ve makroflaj aktivasyonu
-	Lezyon içinde plazma hücreleri
-	IgG ve / ya da kompleman depolanması
-	Olasılıkla lizis ile oligodendosit kaybı
-	PLP mRNA ekspresse eden progenitor hücrelerin hızla lezyon bölgesinde toplanması
-	Shadow plak
<i>Patern 3:</i>	
-	Lezyon merkezinde damar yok, periplak beyaz cevherden ayrımı net değil
-	Myelin kılıf ve oligodendrositlerde distrofi belirtisi.
-	Çok az T hücre infiltrasyonu
-	Mikroglial aktivasyon
-	IgG ve kompleman depolanması yok
-	Opoptotik hücre ölümü (OG'de nukleer kondansasyon ve fragmentasyon)
-	Ağır MAG ve siklik nukleotid fosfodiesterazın kaybı, MBP ve PLP normal.
-	Ağır vasküler endotel zedelenmesi, tromboze damarlar.
-	Akson zedelenmesi
-	OG demiyelinizan sürecin birincil hedefi "Dying back oligodendroglipathy"
<i>Patern 4:</i>	
-	Lezyonlar perivenöz dağılımlı
-	Periplak beyaz cevherde primer oligodendrosit dejenerasyonu
-	Makroflaj ve T hücre infiltrasyonu
-	Lezyon içinde oligodendrositlerin total kaybı
-	Apoptotik hücre ölümü
-	Shadow plak yok
-	Bazı gen defektleri?

Patern I : Makrofaj-bağlantılı demiyelinizasyon

Patern II : Antikor/kompleman-bağlantılı demiyelinizasyon

Patern III : Distal dying-back oligodendroglipati

Patern IV : Primer oligodendrosit dejenerasyonu

Patern I ve II’de, makrofajlar ve T hücreleri küçük ven ve venülleri çevreleyen düzgün sınırlı plaklarda yoğunlaşmaktadırlar.

Patern II lezyonlarda aktif miyelin yıkım bölgelerinde immunoglobulin ve aktive kompleman birikimi de eşlik etmektedir. Bütün miyelin proteinlerinin (MBP, PLP, MAG ve MOG) ekspresyonu benzer şekilde azalmıştır. Aktif kenarlarda oligodendrositlerin sayısı azalmış olmakla birlikte, plak merkezinde sayıları artmıştır ve remiyelinizasyon yaygındır.

Patern I aktive makrofajların toksik ürünlerinin (TNF- α , NO) etkisiyle miyelin yıkımının gerçekleştiği EAE modeline benzemektedir (68,69). Patern II benzeri lezyonlar ise, MOG’a karşı sensitize edilerek oluşturulan EAE modelinde görülmektedir (70).

Patern III lezyonlar makrofaj, aktive mikroglia ve T hücrelerinden oluşan bir inflamatuvar infiltrat içermektedir, fakat bu lezyonlar silik kenarlıdır ve tipik olarak damarları çevrelemezler. Bu patern’de miyelin-assosiyé glikoprotein (MAG: myelin associated glycoprotein)’in diğér miyelin proteinlerine kıyasla seçilmiş bir kaybı söz konusudur. Yoğun oligodendrosit apoptozu, oligodendrositlerde belirgin azalma ve minimal remiyelinizasyon da tabloya eşlik etmektedir. MAG kaybı ile distalden proksimale doğru bir oligodendrogliopati gelişmekte ve aksonun gerekli metabolik ihtiyaçlarının hücre gövdesince karşılanamadığı düşünülmektedir. Bu patern oligodendrositin periaksonal bölgedeki en distal kısmında ultrastrüktürel değişiklikler ile karakterizedir (64).

Patern IV lezyonlar makrofaj, aktive mikroglia ve T hücrelerinden oluşan bir inflamatuvar infiltrat içermektedir. Bu lezyonlarda öncelikli bir MAG kaybı, immunoglobulin veya kompleman birikimi ile ilgili bir bulgu saptanmaz. Lezyona komşu normal görünümlü ak maddede apoptotik olmayan oligodendrosit ölümü bulguları gözlenir. Bu en nadir paterndir ve sadece az sayıda primer progressif vakada tanımlanmıştır. Bu bulgular oligodendrositlerdeki metabolik bir bozukluğun bu hücreleri özellikle inflamasyonun toksik hasarına karşı hassaslaştırılabileceğini akla getirmektedir (64).

MS’te Normal Görünen Ak Madde Hasarı

MS hastalarının beyinlerinde fokal demiyelinize plakların yanında normal görünen ak madde (NGAM)’de de diffüz bir hasarlanma oluşmaktadır. Normal görünen ak madde hasarı özellikle hastalığın progressif dönemindeki hastalarda belirgindir (64,65,71). Bu bulgu nöroradyolojik olarak da desteklenmektedir. Manyetik rezonans spektroskopisi (MRS) incelemeleri primer progressif MS hastalarında; NGAM’de azalmış N-asetil-aspartat (NAA)

ve yükselmiş kreatinin seviyelerini ortaya koymuştur (72, 73). Ayrıca, MS'teki beyin atrofisinin kısmen T2 lezyon yükünden bağımsız olması, NGAM patolojisinin sadece walleryan dejenerasyonu değil, ayrıca MR ile görüntülenemeyen mikroskopik ve diffüz lezyonları da yansıttığını düşündürmektedir (74). MS'te NGAM patolojisi; diffüz (çoğunlukla CD8+) T hücre infiltratları, glioz, mikrogliyal aktivasyon, diffüz aksonal hasar ve sinir lifi dejenerasyonu ile karakterizedir (65, 75, 76). Progressif MS'in karakteristik patolojik özelliği olan yaygın ak madde solukluğunun, primer demiyelinizasyona değil, aksonal yıkıma sekonder olarak geliştiği düşünülmektedir. Ancak vurgulamak gerekir ki; NGAM'de gelişen diffüz hasarın mekanizması hakkında henüz bilgilerimiz yetersizdir.

MS'te Gri Madde Patolojisi

MS her ne kadar bir ak madde hastalığı olarak tanımlanmakta ise de, bu hastalıkta derin serebral nukleuslarda ve serebral kortekste de demiyelinizasyonun olduğu son yıllarda sıkça üzerinde durulan konulardan biridir (64,77,78). Kortikal patoloji ile ilgili bilgilerimiz henüz sınırlıdır. Dağılımları açısından kortikal lezyonlar üç gruba ayrılmışlardır. Tip I lezyonlar lökokortikal bileşkede yerleşirler ve ak madde ve korteksi etkilerler. Tip II lezyonlar korteks içinde yerleşim gösterirken, tip III lezyonlar pial yüzden kortekse uzanım gösterirler. Aynı MS hastasının beyin örneğinde her üç tipte de lezyon birlikte saptanabilir. Kortikal lezyonlar ak madde plaklarından birkaç önemli özelliği nedeniyle farklılık göstermektedirler. Öncelikle daha az inflamatuvar yapıya sahiptirler, dominant hücre popülasyonu dallı mikrogliyalardan oluşur ve makrofaj fenotipinde hücreleri içermezler. Demiyelinize kortekste apoptotik nöronların sayısının arttığını da gösterilmiştir (79). MS'te gri madde hasarına yolaçan immünopatogenetik mekanizma bilinmediğinden, şuan kullanılmakta olan immünomodülatuar tedavilerin bu lezyonlar üzerine etkisi bilinmemektedir.

MS'de TNF -alfa Aracılı Demiyelinizasyon

TNF-alfa'nın invitro demiyelinizasyonu tetiklediği gösterilmiştir. TNF-alfa'nın demiyelinizan etkisi mikrogliya ve makrofajların bulunuşuna bağlıdır ve OG' nın apoptozuna aracılık eder. OG'lerin zedelenme ve destrüksiyonu siliar nörotrofik faktörle engellenebilir. Hayvan modellerinde fokal demiyelinizasyon; T hücre aracılı inflamasyon, mikrogliya aktivasyonu ve astroglial skar formasyonu ile eşlik etmektedir. Akut ve aktif kronik aktif MS'de TNF-alfa protein ve onun mRNA'sı yoğun bir biçimde eksprese edilir. Bu sitokin yalnızca inflamatuvar yanıtı arttırmaz aynı zamanda demiyelinizasyona yol açar (23).

Aksonal Patoloji ve Nörodejenerasyon

MS geleneksel olarak aksonun göreceli olarak korunduğu, primer demiyelinizasyonla seyreden bir hastalık olarak kabul edilmesine rağmen, hatırdta tutulması gereken önemli nokta bu hastalığın ilk tanımlandığı dönemlerden beri aksonların etkilendiğinin bilinmekte olduğudur. Kronik ve erken MS lezyonlarında akut aksonal hasar sık olarak saptanmaktadır, ayrıca aksonal hasar NGAM ve plak çevresindeki ak maddede de gösterilmiştir (80-81). Akut aksonal patoloji demiyelinizasyon sırasında oluşabilir veya farklı nöropatolojik çalışmalarda gösterildiği gibi hastalık gelişiminin ilk aşamalarından itibaren mevcut olabilir (82, 83). Ayrıca miyelin ve akson patolojileri birbirinden bağımsız olarak da gerçekleşebilirler (83). Aksonal hasarın mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Hastalığın akut döneminde inflamatuvar mediatörler aksonal hasarda rol oynayabilirler. Ayrıca, CD8+ T hücre sayısı ile aksonal hasar düzeyi arasında bir ilişki de tespit edilmiştir ve CD8-MHC sınıf I düzeyinde bir akson hasar mekanizmasında öne sürülmektedir (84, 85). Aksonlarla yakın temasta bulunan makrofaj ve mikrogliya hücrelerinin de proteaz, sitokin ve serbest radikal salınımı ile aksonal hasara yol açabilecekleri düşünülmektedir (86). Yine akson spesifik antikolar ve kompleman etkisiyle de aksonal hasar oluşabileceğine ilişkin bulgular da mevcuttur (87, 88). Belirgin inflamasyonun bulunmadığı, sessiz, inaktif plaklarda da düşük seviyede aksonal dejenerasyonun oluşmaya devam ettiği gösterilmiştir (89).

Remiyelinizasyon

MS'te remiyelinizasyon plakların kenarlarında hatta lezyonun içinde bile oluşabilmekte, lezyon tümüyle remiyelinize olabilmektedir. Tüm hastalar remiyelinizasyon kapasitesi gösterememesine karşın, tüm plakların yaklaşık %40'ında remiyelinizasyonun geliştiği tahmin edilmektedir (90). MS'in erken döneminde olan hastalarda aktif plaklarda yaygın remiyelinizasyonun olduğu gözlenmekte, bunun demiyelinize alana gelen oligodendrosit öncül hücreleri yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Ancak, hastalığın daha geç dönemlerinde, özellikle progressif MS olgularında remiyelinizasyon yetersiz oluşmakta ya da hiç saptanmamaktadır (65). Remiyelinizasyonun bazı olgularda yaygın, bazılarında ise yetersiz olmasının nedeni bilinmemektedir. Lezyon lokalizasyonunun önem taşıyabileceği, subkortikal ya da derin ak maddede yerleşen lezyonlar daha yüksek remiyelinizasyon kapasitesine sahipken, periventriküler yerleşimli lezyonların kapasitesinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (91). Remiyelinizasyonun oluşumunda ilk basamak, demiyelinize alana oligodendrosit öncül hücrelerinin göçü ve bu hücrelerin diferansiye olması olarak düşünülmektedir. Öncül hücrelerin myelin yapan hücelere diferansiye olmaları ve proliferere

olmaları, ardından da remiyelinizasyonu sağlamaları gerekmektedir. Ancak bu kaskadın oluşumu üzerine etkili pekçok başka faktörün bulunduğu (inflamatuvar hücreler, akson, sitokinler, büyüme faktörleri gibi), remiyelinizasyon mekanizmasının komplike ve çok faktörlü bir fonksiyon olduğu akıldan çıkarılmamalıdır (92).

MS’de Viral Enfeksiyonlar

Deney hayvanlarında viral enfeksiyonların inflamatuvar demiyelinizan lezyona yol açtığı bilinmektedir. 1970’lerde yapılan göç çalışmalarında, göç ile hastalığa yakalanma riskinin değiştiğine dair bilgiler yeni soruların doğmasına neden olmuştur. Bu çalışmalarda kuzey Avrupa’dan güney Afrika’ya (93) ve kuzey Amerika’dan güney Amerika’ya (94,95) çocukluk çağında göç edenlerde riskin azaldığı gösterilmiş ve hastaların çocukluk çağında çevreden edindiği bir faktörün varlığını düşündürmüştür.

Bu bulgular doğrultusunda özellikle çocukluk çağında geçirilmiş viral bir enfeksiyonun bu hastalığa neden olduğuna dair enfeksiyon hipotezleri ortaya atılmıştır. Adams ve arkadaşlarının MS hastalarının serum ve BOS’larında kızamık antikorlarının sağlıklı bireylere göre daha sık olduğunu bulmalarını takiben virüsler üzerine yoğunlaşmıştır (96). Bunu takiben değişik serolojik çalışmalarda herpes simplex, kabakulak, kızamıkçık, antikorlarında yüksek olduğu gösterilmiştir (97-98). Değişik çalışmalarda çok farklı virüsler (kuduz, herpes simpleks, kızamık, parainfluenza tipl) hasta dokusundan izole edilmiştir (99). Fakat bu konuda yapılan yoğun çalışmalara rağmen, ne tutarlı bir şekilde virüs izole edilmiş ne de tatmin edici viral deneysel bir model geliştirilebilmiştir. Virus antijen ve nukleotid sekansları MS lezyonlarında gösterilmiştir. Herpes virus 1,2 ve son zamanlarda Herpes virus 6 konusunda çok bildiri olmakla birlikte bu virusların patogenetik rolü kesin aydınlatılamamıştır.

Sonuçta, otoimmün hastalık başlangıcının genetik ve çevresel faktörlerin de katılımıyla otoimmün hücre repertuarının oluşması, otoreaktif hücrelerin aktivasyonu, otoreaktif elemanları dengeleme konusunda immün sistemin yetersizliğini kapsamak üzere üç basamaktan oluştuğu söylenebilir. Bu genetik zemin; antijen ilişkili mekanizmaları ve doku hasarındaki heterojeniteyi belirlemekte ve tedavi yaklaşımlarına yeni boyutlar getirmektedir. Multipl skleroz patogenezi ve patolojisi konusunda gözardı edilemeyecek tek gerçek kalıcı doku hasarının erken dönemde ortaya çıkmasıdır. Bu bilgi kalıcı akson hasarı açısından çok önemlidir. Ayrıca erken hastalık dönemlerinde çok belirgin olan remiyelinizasyon giderek azalmaktadır. Bu nedenle erken ve etkin immünmodülasyon tedavileri bugün için büyük

önem taşımaktadır. Bununla birlikte inflamasyon sırasında lökositlerden üretilen nörotrofik faktörlerin önemi bizi gelecekte MS tedavisinde yalnızca immünomodülatör tedavilerin yeterli olamayacağı gerçeği ile karşı karşıya getirmektedir (23).

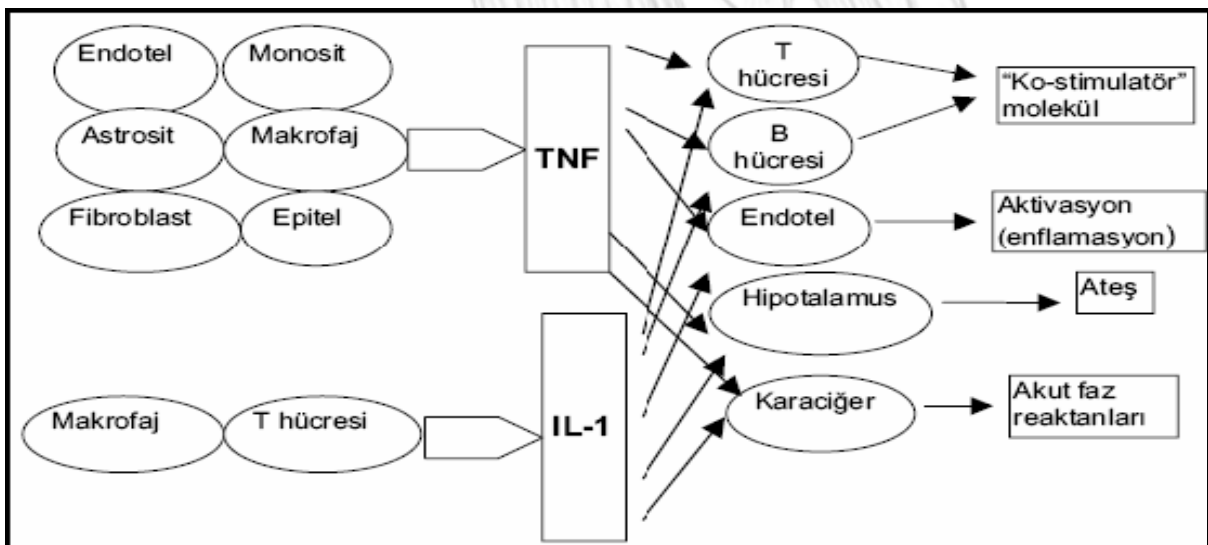
2.9. Sitokinler

Sitokinler hücrelerel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

1. Büyüme faktörleri
2. Lenfokinler (interlökin-1 alfa ve beta, interlökin 2,3,4...)
3. Koloni stimüle eden faktörler
4. Transforme edici büyüme faktörleri
5. Tümör nekroz faktörleri (TNF-alfa ve beta)
6. İnterferonlar (100,101).

IL-1 ve TNF gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol oynarlar.

Şekil: 2 (102)



Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF-alfa)

TNF-alfa birçok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıkların patogeneğinde önemli role sahiptir. TNF alfa'nın major kaynağı aktive olmuş monosit ve makrofajlardır. TNF 233 aminoasit ve 26 Kda ağırlığında proproteinden sentezlenir. Proprotein spesifik metalloproteaz (TNF-alfa konverting enzim-TACE) tarafından 17 Kda, 157 aminoasitten oluşan monomerik formuna bölünür. TNF etkisini membran bağımlı reseptör molekülleri TNF reseptör I (TNFRI, p55) ve TNFRII (p75) aracılığıyla gösterir (103). TNF reseptörleri çözülebilir yapıda olup TNF'yi bağlama yeteneğindedir. Böylece TNF'nin akut etkilerini sınırlayabilmektedir (104,105).

TNF'nin temel fonksiyonlarından bazıları:

1. Lökositler için vasküler endotelial hücre adezyonunun indüksiyonu
2. Fagositlerin stimülasyonu ve IL-1, IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ürünlenmesi, antiinflamatuvar sitokinleri (IL-4, IL-10, IL-13, TGF-beta) uyarması, ayrıca doğal sitokin inhibitörleri olan IL-1ra ve solubl TNF reseptörlerinin üretimini arttırması (Böylece aşırı sitokin yanıtı dengelenir)
3. MHC-Class I molekül indüksiyonu
4. Lökosit aktivasyonu
5. Uzun süre uygulaması sonucu kaşeksi ve kas erimesi
6. Gram negatif sepsiste septik şok nedeni olması
7. Endoteliyal hücreler ve astrositler üzerinde ICAM-1 ekspresyonu artışı
8. Schwartzman reaksiyonu sonucu tümör nekrozu, endojen pirojen etki, akut faz reaktanlarında artış (102,106,107).

TNF sentezi, birçok farklı eksojen maddeler (lipopolisakkaridler, beta-glukanlar) veya endojen mediatörler (IL-1) aracılığıyla monosit ve makrofajlarda uyarılır. Plazmada artmış konsantrasyonu çeşitli enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklarda gösterilmiştir (sepsis, bakteriyel menenjit, serebral malarya, adult respiratuvar distress sendromu, romatoid artrit) (108).

Anti TNF ajanlar 3 grup içinde sınıflandırılabilir. Birincisi; TNF'nin sentezi, fosfodiesteraz inhibitörleri, prostanoidler, adenozin, kortikosteroidler, IL-10 tarafından inhibe edilebilir. İkincisi; TNF pro-protein, TNF metalloproteaz spesifik inhibitörleri tarafından inhibe edilebilir. Üçüncüsü; salınmış TNF proteinin etkileri TNF reseptörleri veya anti-TNF antikoru tarafından antagonize edilebilir (108).

Tavşanlarda sisterna magna içine TNF-alfa enjeksiyonu; oksijen geri alınımında azalma, serebral kan akımında düşme ve intrakranyal basınçta artma ile sonuçlanır (109).

TNF-alfa sinyal mekanizması çok karışıktır. TNF-alfa'nın ortaya çıkması ve SSS'nde biyolojik cevabın ortaya çıkması için RGS7'nin (regulator of G-protein signaling-7) hazırda bulunmasını gerektirir. Son zamanlardaki çalışmalarda, SCI sonrası nöron ve makrofajlarda RGS7 miktarı gösterilmiştir (110).

TNF-alfa mikrogliozis ve astrogliozisin güçlü mediatörüdür ve hücre ölümüne neden olur. 3 ayrı in-vivo çalışmalarda gösterilmiştir ki, nötralize antikor veya çözünür reseptörler ile TNF-alfa blokajı nöroprotektiftir. Örneğin Lavine ve arkadaşları (111) reperfüzyon hasarı sonrası nötralize antikorlar ile TNF-alfa blokajının nörolojik sonucu düzelttiğini göstermişlerdir.

Bazı çalışmalarda gösterilmiştir ki, TNF-alfa nöroprotektiftir. Örneğin, TNF-alfa hipokampal kültürlerde reaktif oksijen radikal toplanmasını suprese eder, amiloid alfa-peptidin sitotoksik etkisini düşürür, glutamat nedenli hücre ölümünü önler (112,113).

2.10. Matriks Metalloproteinazlar

Ekstraselüler matriks (ESM) hücrelerarası boşluklarda özel bir ortam oluşturan dinamik, interaktif bir oluşumdur (114,115). Hücrelerin bir arada tutulmasına yardımcı olur ve bunun yanı sıra hücre büyümesi ve farklılaşmasını kontrol eden pek çok hormon için rezervuar görevi vardır. Bu yapı hücrelerin özel fonksiyonları gerçekleştirmesi için kendilerini yönlendirecek hücre içi sinyalleme yolları ile direkt ya da indirekt olarak etkileşmesini sağlar (115). Matriks ile hücreler arasında meydana gelen bu etkileşmeler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritik rol oynar (116). Vasküler ESM molekülleri damar duvarındaki intimal endotel hücreleri, medyal düz kas hücreleri ve adventisyal fibroblastlar tarafından sentezi sağlanır (117). Yapıtaşlarında 3 temel protein bulunur (115). Bunlar proteoglikanlar, kollajen fibrilleri ve multiadhezif matriks glikoproteinleridir. Oldukça visköz yapıda olan proteoglikanlar hücrelere yastık görevi yapar. Kollajen fibrilleri çözünür yapıda değildir; hücreye esneklik ve güç kazandırır (115). Multiadhezif matriks glikoproteinleri ise çözünür yapıda olup proteoglikanlar ve kollajenin hücre yüzeyine bağlanmasını sağlamaktadır. ESM molekülleri hücrenin anahtar fonksiyonlarının düzenlenmesini sağlarlar (114).

Matriks metalloproteinazlar (MMP) ESM bileşenlerini yıkıma uğratan Zn^{++} ve Ca^{++} 'a bağımlı nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinirler. (118). Türlerine göre endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitelyum hücreleri, mezanşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, osteoblastlar gibi oldukça çeşitli hücre tipi tarafından salınırlar (119,120).

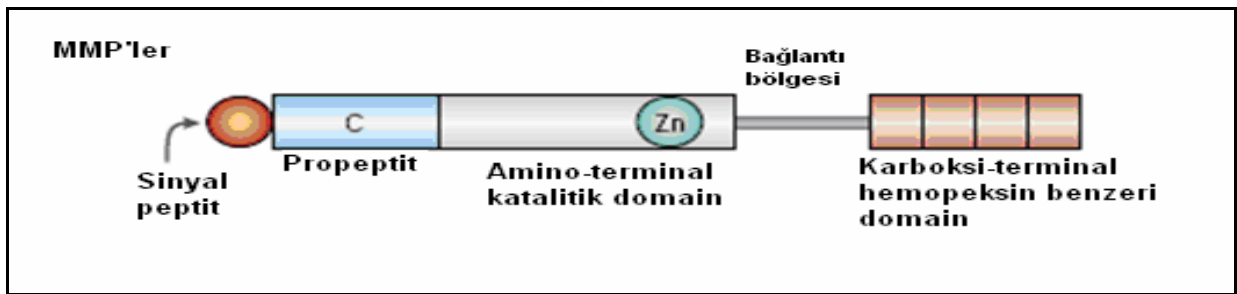
MMP'ler 23 adetten fazla endoproteinazı içeren geniş bir aileye ait, ESM proteinleridir (Tablo-2,121,122). Farklı MMP'nin kendine özgü substratı olmakla birlikte bir çoğu çok eşlidir ve birden fazla ekstraselüler matriks substratına bağlanarak yıkımlarında rol alabilir (Tablo-6). MMP'ler özel substratlarına, yapısal bölümlerinin sıralamasındaki benzerliğe, domain organizasyonlarına göre kollagenazlar, gelatinazlar, stromelisinler, matrilisinler, membran tipi MMP'ler ve diğerleri olmak üzere gruplandırılmışlardır (123,127,128). Bunlardan gelatinazlar denature olmuş kolejeni kolaylıkla sindirirler. Gelatinazlar; MMP-2 ve MMP-9'u içerir.

Gelatinaz A (MMP 2): Latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır (124). TipIV kollajeni, gelatini, ek olarak tipV, VII, X, kollajeni (11), elastin ve fibronektini, laminini (125,126) parçalar.

Gelatinaz B (MMP 9, 92kDa kollajenaz): Gelatin ve tip IV bazal membran kollajeni için substrat spesifiktir. Latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır (126). Diğer substratları tip I, III, V kollajen, elastin (126) ve fibronektindir (124).

MMP'lerin temel olarak üç ana yapısal bölümleri vardır (Şekil – 2) (46):

- Amino- terminal propeptid bölgesi;
- Amino terminal katalitik domain;
- Karboksi terminal hemopeksin benzeri domain

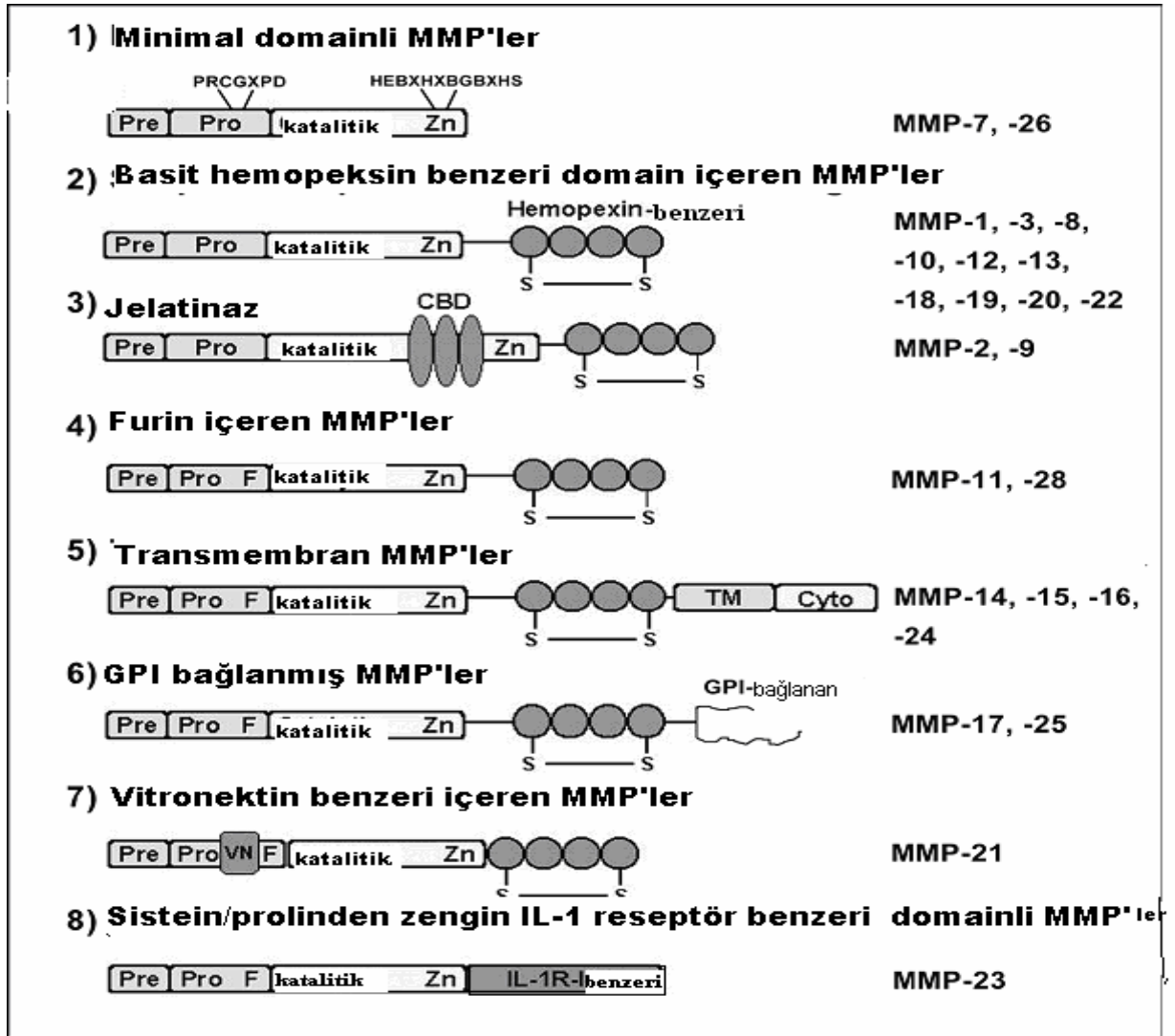


Şekil – 3: Matiks metalloproteinazların genel yapısı
(Yong ve ark. 2001'den modifiye edilmiştir.)(46)

MATRİKS METALOPROTEİNAZ AİLESİ					
Grup	Numara	Diğer Adları	Temel Substrat	EC Terminoloji	Lökosit veya Beyin Hücresinden Salgılanma
Kollajenazlar	MMP-1 MMP-8 MMP-13 MMP-18 ^a	Interstitial / fibroblast collagenase Neutrophil collagenase / collagenase-2 Collagenase-3 Collagenase-4	Interstitial (=fibrillar) collagens, (Types I, II, III, VI, X) ? ?	EC 3.4.24.7 EC 3.4.24.34 - -	✓ ✓ ? -
Jelatinazlar	MMP-2 MMP-9	72 kDa-gelatinase*gelatinase A 92 kDa-gelatinase*gelatinase B	Basement memrane (mon-fibrillar) Collagens (types IV, V) FN ^b	EC 3.4.24.24 EC 3.4.24.35	✓ ✓
Stromelisinler	MMP-3 MMP-10 MMP-11	Stromelysin-1 / transin Stromelysin-2 / transin-2 Stromelysin-3	FN, LN, various collagens Other MMPs (?) α -1-Protease inhibitör	EC 3.4.24.17 EC 3.4.24.22 -	✓ ? ?
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MMP-14 MMP-15 MMP-16 MMP-17 MMP-24 MMP-25	MT1-MMP MT2-MMP MT3-MMP MT4-MMP MT5-MMP MT6-MMP, leukolysin	Pro-MMP2 Pro-MMP2 Pro-MMP2 Pro-MMP2 Pro-MMP2 ?	- - - - - -	✓ ✓ ? ? ? ✓
Matrilisin 1	MMP-7 MMP-26	Matrilysin/pump Matrilysin-2	FN, LN, vitronectin Collagen IV, FN, FG, pro-MMP-9	EC 3.4.24.33 -	✓ ?
Diğerleri	MMP-12 MMP-19 MMP-20 MMP-23 ⁱ MMP-27 MMP-28	Metalloelastase/macrophage elastase (Initially called MMP-18 [8]) Enamelysin Femalysin - Epilysin	Elastin Collagen IV, LN, LG, TC, FN Amelogenin ? Collagen I, gelatin, casein Casein	EC 3.4.21.65 - - - - -	✓ ? - ? ? ?
Three proteases that have been named MMP-4, -5, and -6 were later found to be known enzymes (MMP-4: procollagen peptidase, MMP-3; MMP-5: 3/4 – collagenase, MMP-2; MMP-6: acid metalloproteinase, MMP-3); the numbers remain vacant. The Merops protease data base (https://www.merops.ac.uk) provides a comprehensive catalogue of MMPs including structure and literature Abbreviations: FN, fibronectin; LN, laminin; FG, fibrinogen; NG, midogen; TC, temascin C. Found in Xenopus and axolotl, not in human Identical to MMP-21 (obsolete) and MMP22 (obsolete).					

Tablo – 2: Matriks metalloproteinaz ailesi (127,128)

Amino propeptid bölgesi yaklaşık 80 aminoasitten oluşan, aminoasit sıralaması içinde içerdiği sistein ile enzimin inaktif - latant (zimojen, proMMP) formunu koruyan yapıdır. Amino-terminal katalitik domain ise, 70 aminoasitten oluşan, yapısında Zn²⁺ ve metionin içerir ve propeptid bölgesindeki sistein sıralaması ile bağlandığında enzim aktivitesinin bloke olduğu bölümdür. MMP-2 ve MMP-9 diğerlerinden farklı olarak bu bölgede, kolajen ve jelatin ile bağlantıyı sağlayan, üç kez tekrarlayan fibrinektin tip-II domaine sahiptir. Karboksi-terminal hemopeksin benzeri domain, MMP-7 ve MMP-26 dışındaki bir çok MMP'nin enzimi ekstraselüler substrat ya da TIMP'ler ile bağlantı sağladığı ve proteolitik aktivitenin gerçekleştirildiği bölgeleridir. MMP-23, karboksi terminalinde hemopeksin domaini yerine sistein ve prolinden zengin IL-1 reseptörü benzeri bir domaine sahiptir. Membran tipi MMP'lerde karboksi terminal bölgesinde onları hücre yüzeyine bağlayan trans membran domaini de bulunur (125-129).

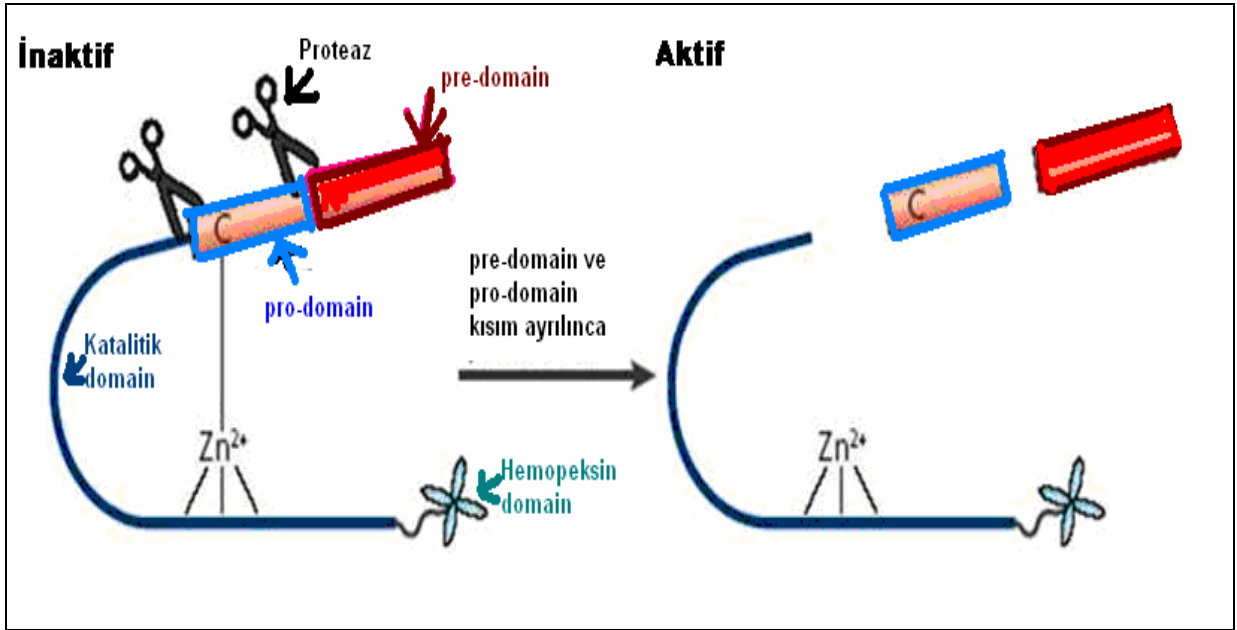


Şekil 4. MMP enzimlerinin moleküler yapısı.

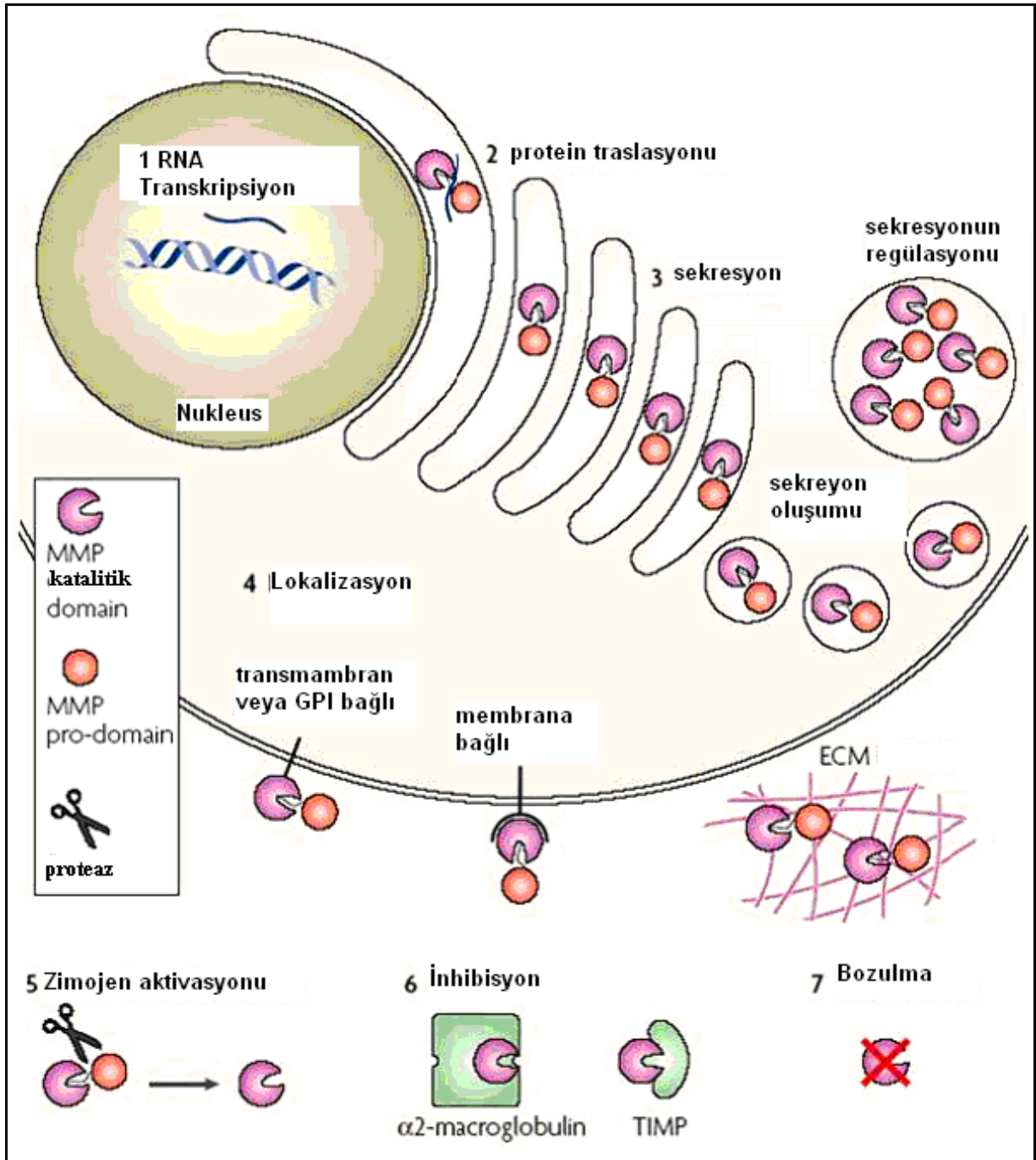
Pre, sinyal zinciri; Pro, propeptit sistein içeren bölümü; Zn, çinko bağlı tarafı; CBD, kollajen/jelatin bağlı domain; F, furin içeren bölüm; TM, transmembran domain; Cyto, sitoplazmik domain; Vn, vitronektinbenzeri eklenen; IL-1R-benzeri, interleukin-1 reseptör benzeri domain. (Sternlicht and Werb 2001'den modifiye edilmiştir.)(126)

MMP'ler, masif doku harabiyeti için potansiyele sahiptir ve onların salınım ve aktivitelerinin sıkıca düzenlenmesi sürpriz değildir (130). Bu enzimler birlikte ekstraselüler matriksin bütün bileşenlerini indirgeyebilir (118) ve TNF- α prekürsörünü olgun, çözülebilir formuna dönüştürebilir. MMP'lerin üretimi sentez, salgılama ve aktivasyonun çeşitli seviyelerinde sıkı bir şekilde düzenlenir. İltihaplı dokuların içindeki sitokinlerin varlığı enzim ifadesini başlatır (131). MMP'ler, prodomainin proteolitik giderilmesiyle aktif formlara dönüştürülen proenzimlerdir. İleri proteoliz otoliz ya da bazı aktif formların karmaşık süreç zayıflamasındaki proteinaz hareketiyle gerçekleşebilir (132). Örnek olarak

aktivasyon süreci plasminojen aktivatör, plasminojen aktivatör inhibitör ve plazminin rölatif konsantrasyonlarıyla kontrol edilebilir (133). Ek proteinaz gerekliliği matriks metalloproteinazların indirgeyici aktivitesinde yer alacak başka bir seviyenin kontrolüne olanak tanır. Metalloproteinazların aktif formu metalloproteinazların doku inhibitörleriyle (TIMP'ler) ya da α_2 makroglobulinle kompleks oluşturarak etkisizleştirilebilir (134,135). Birçok hücrede sıklıkla TIMP senteziyle paralel olarak bu MMP'lerin koordine üretimi vardır (27).



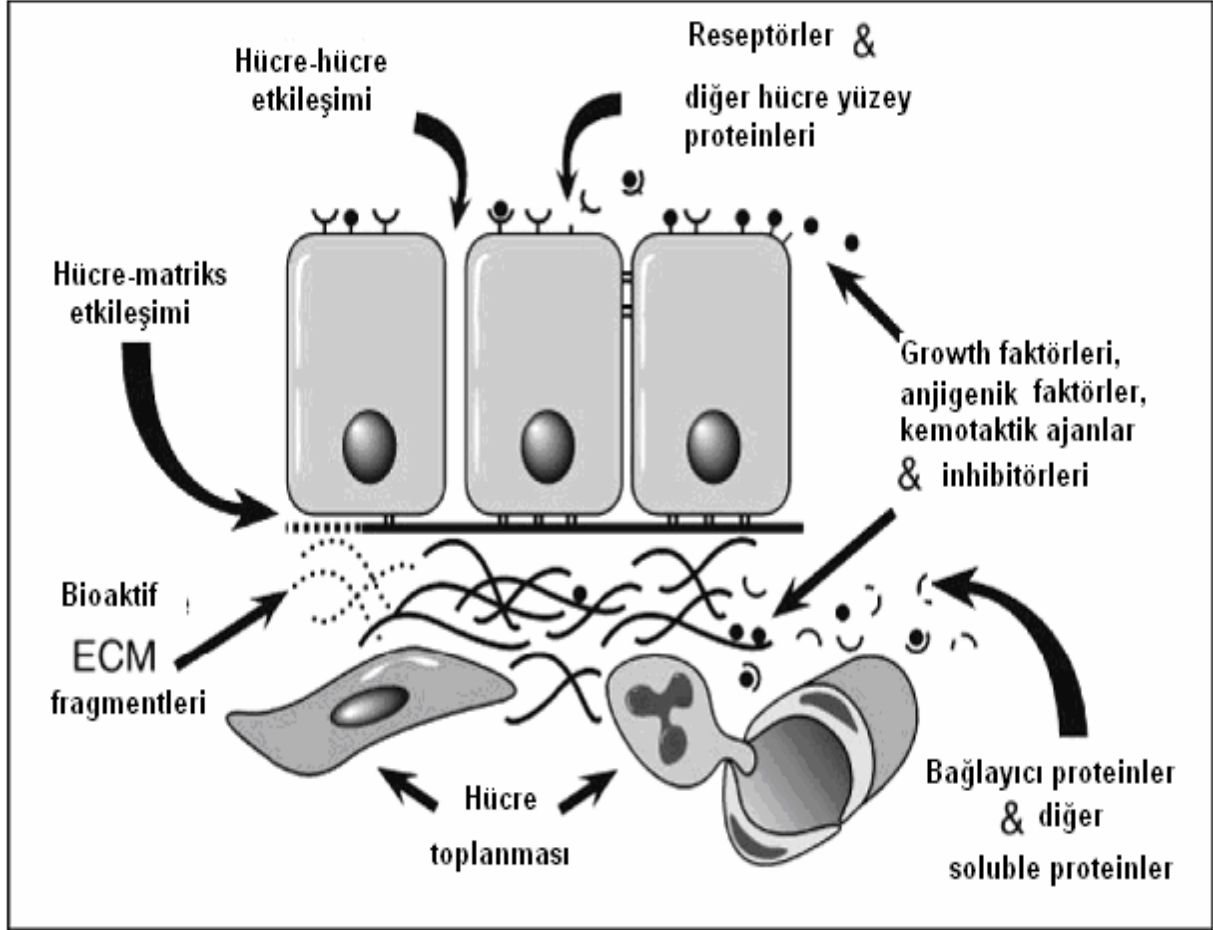
Şekil 5: Matriks metalloproteinazların aktivasyonu
(McCaw ve ark.,2007'den modifiye edilmiştir.) (136)



Şekil 6. MMP'lerin regülasyonu;

MMP'ler hücre içinde RNA transkripsiyonu (1) protein translasyonu (2), ayrıca sekresyonları ile (3), ve de onların subselüler ve ekstraselüler lokalizasyonları değiştirilerek kontrol edilebilirler (4). Zimojen aktivasyonu denetlenebilir (5). Ekstraselüler alanda, inhibitörleri olan TIMP'ler veya $\alpha 2$ -macroglobulin (6) ile ve proteaz denatürasyonu (7) ile aktiviteleri regüle edilir. (McCaw ve ark., 2007'den modifiye edilmiştir) (136).

MMP'ler growth faktörleri, bağlayıcı proteinler veya diğer substratlar gibi ESM'in hemen hemen bütün komponentlerini parçalama kabiliyetine sahiptirler. Böylelikle hücre-matriks etkileşimi ile ESM oluşumu ve sonuç olarak hücre morfolojisi, hareketi, büyümesi, diferansiyasyonu ve yaşaması gibi hücre fonksiyonları düzenlenir.



Şekil-7 MMP'lerin hücreler arası sinyalleri yönetme mekanizması.

MMP'ler ECM fragmanlarını (örn; kollojen) serbestleştirebilirler. Hücre-matriks etkileşimini bozabilirler, growth faktörlerini (örn; TGF beta) ve growth faktör bağlayıcı proteinlerini (örn; insülin benzeri growth faktör bağlayıcı protein) ECM'de serbestleştirebilirler. Ayrıca, hücre-hücre adezyon proteinleri (örn; E-cadherin) ve hücre yüzey reseptörleri (örn; fibroblast growth faktör reseptör-1 (FGFR-1)) MMP'lerin substratlarıdır. Böylelikle hücre mikro çevresini regüle edebilirler. (Sternlicht and Werb, 2001'den modifiye edilmiştir.) (126)

MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde bulunurlar ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Fonksiyonları arasında kemiğin yeniden modellenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenezi, sinir hücre gelişimi, ovülasyon, servikal dilatasyon, postpartum uterin involüsyonu, endometriyal siklus ve saç folikülü siklusu sayılabilir (120).

MMP ekspresyonu, gen transkripsiyonunu etkileyen faktörlerin etkisi altındaki çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen doku yeniden modellenmesi sırasında artar (46). Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'lerin üretimini aşabilir. Böylece MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge bozulur. Bu fizyolojik dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar. MMP'lerin rol oynadığı patolojik olaylar arasında kanser ve ateroskleroz başta olmak üzere artrit, nefrit, gastrointestinal ülser, peridontal hastalık, kornea ülseri, deri ülseri, multipl skleroz, SVH, Alzheimer hastalığı, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer hastalığı, amfizem, kan beyin bariyerinin yıkılmasını sayabiliriz (120).

Bir çok MMP sürekli olarak bulunmaz ve hücre aktivasyonu sonrası gen indüksiyonu yolu ile üretilirler. Sitokinler (TNF- α , IL-1), büyüme faktörleri, integrinler, kimyasal ajanlar, fiziksel stres ve virüsler ise MMP'leri kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive etmede etkilendirler. Bunun yanı sıra artmış MMP gen ekspresyonu; bazı supresör ajanlar (transforme edici büyüme faktörü β , retinoik asit, glukokortikoidler gibi) ile azaltılabilir (122,123).

2.11. Metalloproteinazların Regülasyonu

MMP gen ekspresyonunun pozitif regülasyonu transkripsiyonel aktivasyon düzeyinde ortaya çıkmaktadır. Bu genlerinin yapıları tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte mRNA'larının growth faktör, sitokinler, tümör promoterleri, onkojen ürünleri gibi çeşitli ajanlarla indüklenebildiği gösterilmiştir (46). MMP'lerin transkripsiyonel olarak düzenlenişi ile ilgili çalışmalar, büyüme faktörü ve onkojenlerin bu regülasyonu nasıl kontrol edebildiğini daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Bazı büyüme faktörlerinin, ekspresyonu başlattığı ileri sürülmüştür. C-fos ve c-jun metalloproteinaz gen ekspresyonunun önemli regülatörleri olduğu çeşitli kültürlerde gösterilmiştir.

MMP proenzim formuna translasyon sonrası geçer ve bu şekilde sekrete edilir. Latent formda bulunan MMP; organik civa bileşenleri, şelasyon yapıcı ajanlar ve proteazlar ile deneysel olarak invitro şartlarda aktive edilebilirler (46). MMP aktivatörleri molekülde çinko ile etkileşimi bozar ve sonuçta çinko serbestleşir, molekülünde bir konformasyonel değişikliğe neden olur. Prodomaini uzaklaştırılmış aktif MMP otoproteoliz yeteneğine sahiptir. Plazmin endojen bir MMP aktivatörüdür ve plazminojenden oluşur. Bu kaskat hücre membranında lokalize olmuştur. Plazmin hem prokollajenaz hem de prostromelysini aktif forma çevirir ve aktive stromelysin proteolitik yıkımla interstisyel kollajenazı aktive eder,

böylelikle kollajenaz aktivitesinde 5-8 katı kadar bir artış olur. MMP ve plazminojen aktivatörlerinin etkilerinin birlikte düzenlenmesi, sinerjik bir etki ile ekstrasellüler matriksin tamamen parçalanması ile sonuçlanır. Bu aktivitenin regülasyonunda; Katepsin B, G, elastaz, tripsin benzeri proteazlar, hormonlar, sitokinler, protoonkogenler, steroidler ve büyüme faktörleri gibi endojen faktörler rol oynar (46). Bu ajanları direkt etkileyen maddeler eklendiğinde, bunlar ESM'i parçalayan enzim ve inhibitörlerinin miktarlarını düzenleyerek hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimini etkilerler. Bunun yanında bu regülasyonda MMP inhibitörlerinin rolü de belirtilmelidir. ESM substratları üzerinde MMP'nin aktivitesi enzimlere ve enzim inhibitörleri arasındaki dengeye bağlıdır.

2.12. Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)

MMP aktivitesini inhibe eden endojen maddeler bildirilmiştir. Genel proteinaz inhibitörü olarak bilinen ve yüksek molekül ağırlığı nedeni ile dokulara girmesi zor olan α_2 -makroglobulin ve antikollajenaz aktiviteye sahip olan serum C-reaktif proteindir. Bunun yanı sıra bazı spesifik MMP'lerin doku inhibitörleri (TIMP) tanımlanmıştır. İn vivo koşullarda, MMP aktivasyonu ve regülasyonunda TIMP'ler önemli rol oynar. TIMP'lerin aktivitesi TGF- β , IL-1 β , IL-6, retinoik asit, onkostatin, forbol esterleri, sitokinler, temel fibroblast büyüme faktörü gibi çeşitli ajanlarla artırılabilir. Konkonovalin A ve deksametazon tedavisi sonrasında ise TIMP'lerin aktivitesi inhibe olur. Tümör nekroz faktörün (TNF) TIMP aktivitesinin regülasyonundaki rolü tartışılmalıdır. Bifonksiyonel rolü olabileceği üzerine yorumlar vardır. TNF-a'nın düşük konsantrasyonlarında TIMP-1 üretimi artarken, yüksek konsantrasyonlarında TIMP-1 üretimi baskılanmaktadır.

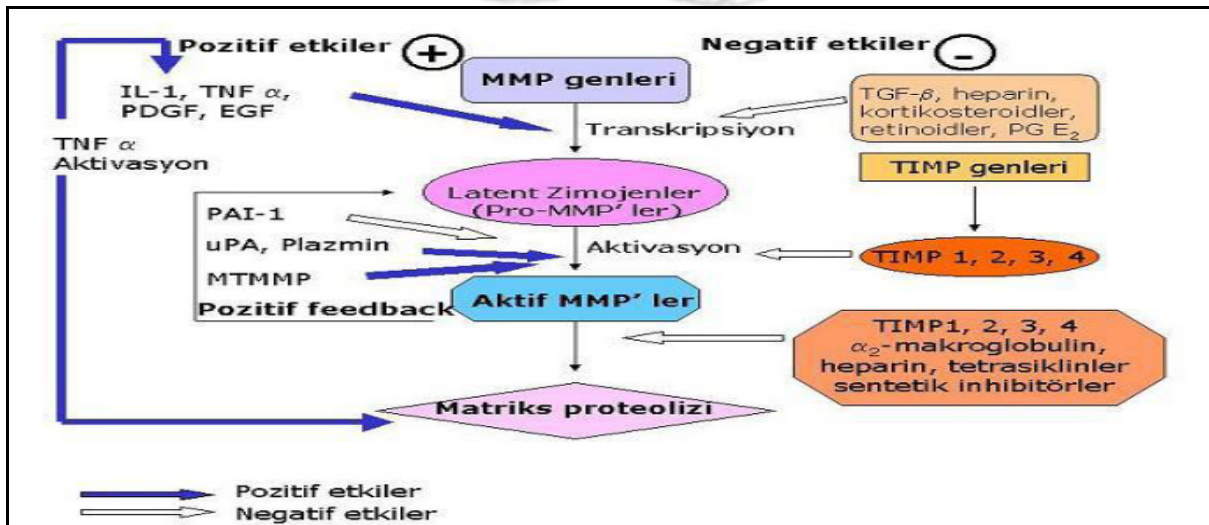
TIMP-1: Yapısında altı adet disülfid bağı bulunan ve X kromozomu üzerinde tanımlanmış bir proteindir. Glikozilasyon ile aktive olur. Aktif formu 28 kDa ağırlığında bir siyaloglikoproteindir. Makrofajlarda üretilir ve sekrete edilir. Trombositlerde de bulunur ve çeşitli dokular ile amnion sıvısı, sinovyal sıvı gibi vücut sıvılarında mevcuttur. TIMP-1 spesifik olarak metalloproteinazlara karşı aktivite gösterir, diğer metalloendopeptidazlar üzerine inhibitör etkisi yoktur. TIMP-1 MMP'lerin aktif formuna yüksek afinite ile nonkovalant bağlarla, bire bir oranında, irreversibl olarak bağlanır. Bu oranda küçük bir değişiklik olduğunda sonuç MMP aktivitesi lehinedir. Ek olarak gelatinaz B'nin proformuna bağlanabilir ve MMP-9 ile ilişkili olarak salgılanır.

TIMP-2: TIMP-1 ile yapısal benzerlik gösterir. 21 kDa ağırlığında glikolize olmamış bir proteindir. Dağılımı iyi bilinmemekle birlikte eklem kıkırdaklarından izole edilmiştir. Aktive olmuş MMP'lere bağlanma yönünden TIMP-1 ile benzerdir. Ek olarak MMP-2'nin proformu ile birebir kompleks yapar. TIMP-2 ile ilgili olarak daha az bilgi olmakla birlikte TGF-b ile inhibisyon sağlanmadığı düşünülmektedir.

TIMP-3: Ekstrasellüler matriksten transforme olmuş hücrelerin ayrılmasını kolaylaştıran ve morfolojik değişiklikleri başlatan non glikolize MMP inhibisyonu sağlayan bir proteindir. Diğer inhibitörlere benzer özellik gösterir. TIMP'ler çeşitli fizyolojik süreçlerde de rol oynarlar. Bunlar kemik yeniden yapılanması, meme bezlerinin küçülmesi, korpus luteumun prematür hasarının önlenerek hamileliğin devamının sağlanmasıdır. TIMP'ler ile MMP'ler arasında invivo bir denge söz konusudur. Çeşitli nedenlerle oluşan dengesizlik romatoid artrit gibi çeşitli kronik inflamatuvar kollagen doku hastalıklarına neden olmaktadır. Osteoartrit eklem artmış miktarda MMP ve daha az oranda artmış TIMP'leri içerirler. Kollajenle uyarılmış artrit modeli kullanıldığında rekombinant TIMP'in sistemik verilmesinin buradaki patolojiyi baskıladığı, eklem hasarını azalttığı deneysel olarak tespit edilmiştir. Ayrıca endojen inhibitörlerden olan TIMP'nin tümör invazyonu ve metastazında baskılayıcı rol oynadığına ilişkin giderek artan kanıtlar gösterilmiştir (137-138).

Tablo- 3 Metalloproteinazların doğal inhibitörleri (139)

TIMP-1	Pro MMP 9 ve çeşitli active MMP leri inhibe eder
TIMP-2	Pro MMP 2 ve active MMP 2 yi inhibe eder
TIMP-3	? apoptoz



Şekil-8: MMP, TIMP ve TNF alfa ilişkisi (Dollery CM 1995'ten modifiye edilmistir)(140)

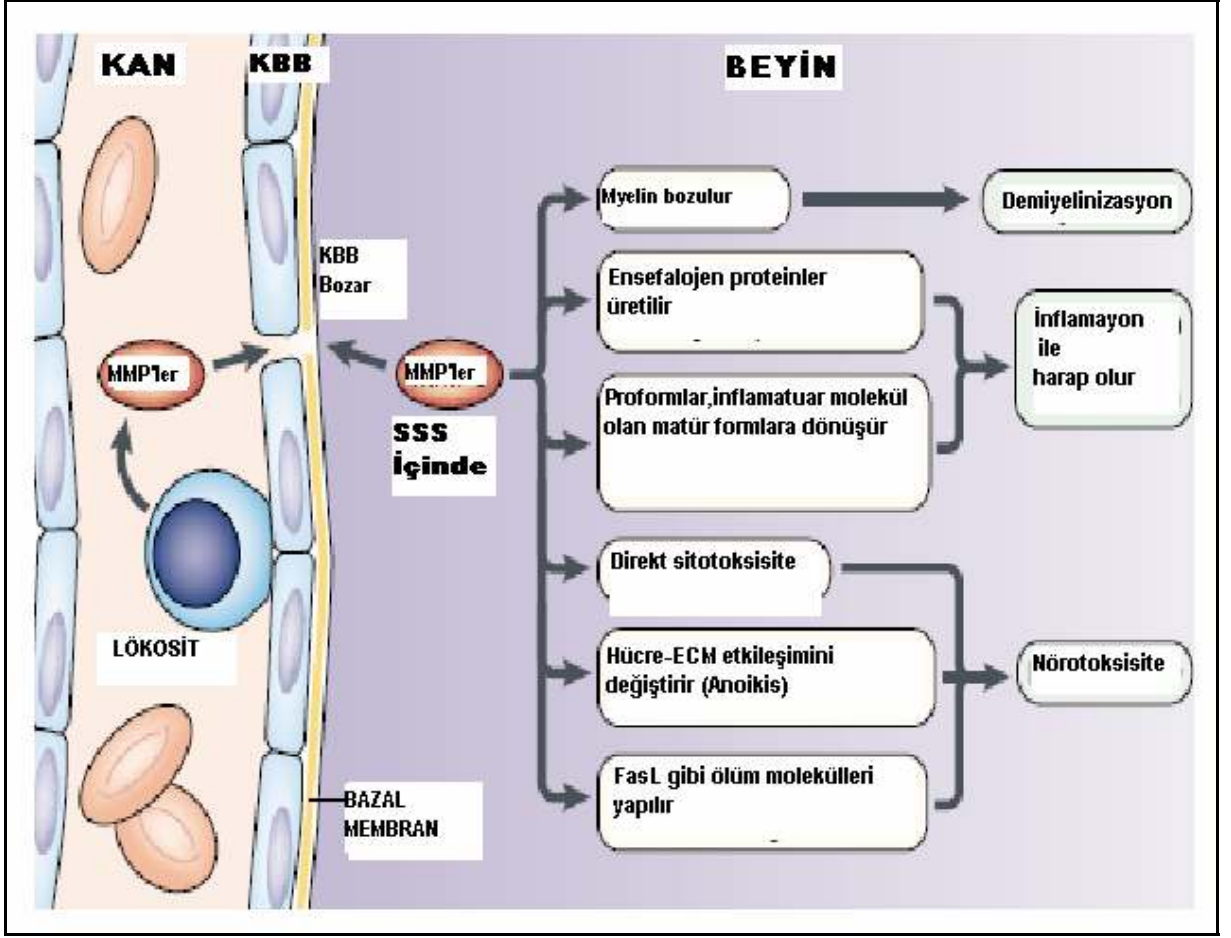
MMP'lerin bir takım psödopeptit inhibitörleri ve temel substrat tanımlandığından beri, MMP'ler farmasötik endüstrisinin uzun zamandır hedefi olmuştur (141). MMP inhibitörleri akut ve kronik inflamatuvar hastalıklar ve kanser modellerinde etkili gösterilmiştir. Bugüne kadar en ileri düzey klinik çalışmalar, korneal ülserasyon ile Glycomed Compound Galardin TM' (enjeksiyonla verilir), malign plevral effüzyon ve asit ile British Biotech Compound Batimastat (enjeksiyonla verilir) ve çeşitli solid tümörler ile British Biotech Compound Marimastat (oral verilen) hakkındadır. TNF işlemi ile tanıma MMP benzeri enzim bağımlıydı. Potent MMP ve TNF inhibitörü (TMIs) her ikisinin kombinasyonu bir takım bileşimler üretilmiştir (142).

2.13. Santral Sinir Sistemi ve Metalloproteinazlar

Yetişkin SSS'de, çoğu MMP'ler tespit edilemeyecek kadar düşük düzeylerde sentezlenir. Ancak bunların bazı istisnaları vardır. Örneğin; RNase Protection Assay yöntemiyle fare beyinde MMP-11 ve 14'ün yüksek düzeyde sentezlendiği tespit edilmiştir (143). Benzer olarak sensitif bir yöntem olan Polymeras Chain Recetion (PCR) tekniğiyle MMP-2, 3, 7, 9 ve 13'ün normal fare kordunda bulunduğu tesbit edilmiş (144). Ancak, bununla birlikte MMP'lerin birçoğu SSS'de bulunmuş. Bunların upregülasyonu birçok nörolojik hastalık ve travmayla ilişkilendirilmiştir. MMP'lerin 17 üyesi normalde yetişkin SSS'de eksprese edilir (145).

MS hastalarının lökosit mesenjer RNA'larında ve serumlarında artmış MMP-9 düzeyleri izlenmiştir. Benzer bir şekilde MMP-9/ TIMP-1 serumdaki oranı, MS hastalarında normal popülasyona göre yüksek bulunmuştur (146). MS hastalarında relaps zamanında serum MMP-9 düzeyi daha yüksek bulunmuştur (147). MRI tekniğinin devreye girmesiyle MS hastalarında yüksek MMP-9 ve düşük TIMP-1 düzeyleri hastalığın kötüye gidişinin göstergesi olarak bulunmuştur (148).

MMP'ler SSS'de birçok mekanizma ile ilişkilendirilmiştir (Şekil-8) ((46).



Şekil-9: MMP'lerin etki mekanizmaları (46)

Birinci olarak ve en iyi delil olarak, T hücrelerinin ve diğer lökositlerin MMP'leri serebral kapillerde KBB penetrasyonunda kullanmaktadır (149). MMP'lerin SSS parankimindeki aktiviteleri henüz tamamen açıklanmamıştır. MMP'ler miyelini parçalayan bir demiyelinizasyona neden olabilirler (32). Ayrıca MMP enjekte edilen sıçanlarda, bazı MMP'lerin oluşturduğu fragmanlar miyelin basic protein (MBP) sindirime aracılık etmekte ve EAE aracılık etmektedir (150, 151). İnsanlarda MMP-9, MBP'i peptit fragmanlarına ayırmaktadır (151). Bir diğer mekanizma MMP'ler inaktif prekürsörleri aktif formlarına çevirerek inflamatuvar cevaba yol açmaktadır. TNF-alfa TACE ile aktif formda proinflamatuvardır. Böylece metaloproteinazlar oligodentrosit toksisitesinde rol oynar (152). Diğer bir mekanizma MMP'ler SSS'de nörotoksositeye yol açar. Vos ve ark. MMP-1 ve MMP-2'nin in vitro koşullarda spinal kort için toksik etkiye yol açtığı yayınlandı (153).

Alternatif bir mekanizma olarak "Anoikise", MMP'ler bir çeşit apoptozis olan hücrenin bağımsız ölümüne yol açmaktadır (154).

Kan beyin bariyerinin bozulması ile sonuçlanan yolu etkileyen birçok faktör vardır. Birçok çalışmada plasminojen/plasmin sisteminin ve MMP'lerin etkisini vurgulamaktadır. ProMMP'ler aktivasyonun proteolitik prosesin gerçekleşmesinde mekanizmaları iyi anlaşılmamış fakat oldukça kritik bir basamaktır. Hücre kültürlerinde mikroglialar proMMP'leri aktive etmek üzere perisit, endotel hücreleri ve astrositler ile ilişki içine girer. ProMMP'lerin aktivasyonu için mikroglialar gereklidir. İskemik olaylarda TNF-alfa, IL-1 β gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımı MMP'lerin üretimini artırır. Plasminojen/plasmin sistemi TIMP-2'nin varlığında pro-MMP'nin aktivasyonunu sağlayarak bu üretime katkıda bulunur. MMP-2'nin plasmin tarafından aktive edilebilmesi plasminojen/plasmin sisteminin MMP'ler ile ilişkiye girdiği basamaktır. İnflamatuvar süreç şiddetlendikçe MMP-3 ve MMP-9 genleri indüklenir ve MMP'lerin latant formları oluşur.

KBB açılımının varsayımsal mekanizmasının diyagramı. İskemi, sitokin (TNF ve IL-1) ekspresyonuna neden olur. Perisitlerden (PC) MMP-3 tarafından ProMMP-9 oluşturulur ve aktive edilir. Astrositler, TIMP-2 ile birlikte MT-MMP tarafından aktive edilen MMP-2'yi de ortaya çıkarır. Aktive edilen MMP-2 ve MMP-9, kan-beyin bariyerini açarak, endotelial hücrenin (EC) bazal laminasına (BL) saldırır (155). Pro-enflamatuvar MMP'ler, kapiller bazal laminaya saldırır, KBB'yi bozar ve ölümlerine neden olur ve de nöronların etrafındaki matriksi değiştirir gibi görünmektedir. MMP'lerin, dokuya zarar verici etkilerine ilave olarak, doku iyileşmesini artırabilecek şekilde büyüme faktörlerinin aktivitesini düzenledikleri de yakın zamanda keşfedilmiştir. TIMP'ler, MMP'ler yoluyla proteolizi azaltır, ancak hücreye zarar verici etkileri de mevcuttur: TIMP-3, hücre yüzeyinden ölüm reseptörlerinin atılmasıyla müdahale ederek apoptozu yaygınlaştırır. MMP ve TIMP'lerin çok yönlü etkilerinden dolayı, MMP'lere inhibitörlerle tedavinin uzun süreleri kapsayan dönemlerde birden çok model üzerinde incelenmesi gerekecektir (155).

Keza başka bir delil, T lenfositler vasküler endotelden transmigrasyon için MMP'leri kullanıyor olabilir (156). MMP'ler, miyelin kılıfın majör protein komponenti olan miyelin basic proteinde (MBP) azalma yapar. MS'de MBP harap olmuştur (27,37). MBP'in işlenişinde, immünolojik peptitler salıverilirki bu MS gelişimindeki otoimmün cevabı üretebilir (157).

Daha öte MMP salıverilmesinin sonuçları TNF α 'yı kapsayan membrana bağlı moleküllerin ayrışmasıdır. TNF, MS'li hastaların BOS ve kanında bulundu (158-160). TNF, diğer enflamatuvar sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve MMP'lerin salıverilmesini uyaran potent bir proinflamatuvar sitokindir ve oligodentrositler için direk toksik olduğu iddia edilir. MS'in hayvan modellerinde, TNF inhibitörleri hastalığın şiddetini baskılamada efektifir (161,162).

Bu yüzden SSS'de MMP'lerin salınımı; lökosit toplanması, kan beyin bariyeri sızıntısı, miyelin harabiyetine aracılık edebilir ve immünolojik peptitler üreterek ve proinflatuar sitokin salınımı yoluyla immünoinflatuar cevabı süreklileştirebilir. Bununla birlikte MMP'ler SSS'de faydalı aktivitelerde de görevlidir (Tablo-4) (46).

Tablo-4 SSS'de Matriks Metalloproteinazlar

SSS'de Matriks Metalloproteinazlar
Faydalı Aktiviteleri • Anjiogenezis • Miyelinogenezis • Hücrelerin yaşamlarını sürdürmeleri • Aksonal büyüme • Haberleşme • Onarım • Hücrelerin başkalaşması • Nöronal prekürsörlerin istenilen bölgeye migrasyonu • İnflamasyonun sonlandırılması
Zararlı Aktiviteleri • Tümorogenezis • Kan beyin bariyerinin bozulması • İnflamasyon • Demiyelinizasyon • Nöron ölümü • Glioma, inme, alzhemır

MMP'ler, sinir sistemi içerisindeki normal ve patolojik fonksiyonlarla anılmaktadır. Örneğin, MMP'ler, hücre migrasyonu, nörit büyümesi ve miyelinasyonunu düzenlemesi olası nöronal gelişimde önemli roller üstlenirler. MMP'ler, pek çok SSS patolojisine eşlik eden nöroinflamatuvar süreçlerde çoğalma ve düzenlemede kritik öneme sahiptir. Örnek olarak, belli bazı MMP'ler myelini indirgeyebilir, amiloid prekürsör proteini ayırabilir ve viral nörotoksisiteyi artırabilir. Sonuç olarak MMP'leri MS, alzheimer hastalığı ve insan immün yetmezlik hastalığı (HIV), demans patojenezinde doğrudan rolü olduğu göstermiştir. Özellikle MMP-9 MS ve diğer nöroinflamatuvar hastalığı olanlarda daha yüksek bulunmuştur (27,42,163-166). MMP ekspresyon seviyeleri, bir yetişkin beyinde genel olarak oldukça düşüktür ya da tespit edilemez. Bununla birlikte, pek çok MMP çeşitli uyarıcılara tepki olarak artabilir. Nöronlar, astrositler, oligodendrositler, mikrogli ve endotelial hücrelerin hepsi hasar sonrasında MMP ve TIMP üretebilirler, ancak beyin bölgeleri, MMP/TIMP türleri ve hücrel ekspresyon kaynakları belirli yaralanma tiplerine göre farklılık göstermektedir. Nötrofiller, bir MMP-9 kaynağıdır (167-169).

Bütün MMP üyeleri çeşitli kanser türleriyle ilişkilidir. Malign beyin tümörlerinin invazyonuna birkaç MMP aracılık etmektedirler. Glioma hücrelerinin in vitro koşullarda MMP-1, MMP-2, MMP-3 salgıladıkları ve glioblastoma beyin ekstraktları ve metastatik akciğer lezyonlarında MMP-9 artışı olduğu tespit edilmiştir. Glioma tedavisinde MMP inhibitörlerinin geliştirilmesi umut vaat etmiştir. Ayrıca MMP'lerin; inme, viral enfeksiyonlar, Alzheimer hastalığı, inflamatuvar myopatiler, amiotrofik lateral sklerozisin fizyopatolojisinde katkıları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (138,170-178).

Çeşitli MMP ve TIMP'lerin ekspresyonu, serebral endotelial hücreler, astrositler, mikroglialar, oligodendrositler ve nöronlar dahil olmak üzere kültürde bir dizi nöral hücrede bildirilmiştir ve fokal serebral iskemi sonrasında bazısının inflamatuvar araçları taklit eden çeşitli pro-enfalamatuar uyarıcılar niteliğinde görev yaptıkları ortaya konmuştur (126,179-188).

Hücre kültür çalışmalarında; Kültürdeki astrositler yapısal şekilde pro-MMP-2 ve inflamatuvar uyarıcılara tepki olarak pro-MMP-9 üretirken, bu MMP'lerin aktivasyonu için gerekli olan başlıca bileşenler sadece ilave nöral hücre tipleri ile sağlanabilmiştir (189). Glioma hücrelerinin invaziv özelliklerini MMP-2'nin çift yönlü indüksiyonuna ve ürokinaz tip plazminojen aktivatör-plazmin kaskadına bağlı bir mekanizma yoluyla kolaylaştırmak için astrositleri kullandıkları ortaya konmuştur (190). Benzer etkileşimler, lokal MMP-9 aktivasyonun ortaya çıkarmak için reaktif astrositler ve mikroglia arasında olabilir (189).

Ayrıca nöroinflamasyon ve MMP arasındaki ilişkileri ortaya koymak için bir dizi çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda; Sitokinler ve serbest radikalleri içeren nöroinflamasyon, deneysel olarak hayvan beyinlerine lipopolisakkarid ya da TNF- α 'ın enjeksiyonu ile çalışılabildiği gösterilmiştir. Fare beynine TNF- α enjeksiyonu ile 24 saat sonra MMP-9 üretimini indüklendiği, aynı zamanda KBB'nin bozulduğu ve MMP inhibitörünün (Batimastat, BB-94) kullanılması ile KBB'in açılmasını bloke edildiği gösterilmiştir (191). Benzer olarak, lipopolisakkarid enjeksiyonundan 8 saat sonra KBB'nin açıldığı ve aynı zamanda MMP-9'un üretildiği diğer bir MMP inhibitörü (BB-1101) ile KBB'nin açılması bloke edilmiştir (192). Lipopolisakkarid enjekte edilmiş beyinlerin immünohistokimyasal çalışmalarında enjeksiyon bölgelerinde MMP-3 ve MMP-9 üretimi gösterilmiştir (193).

2.14. MMP'lerin Sitokin Konvertaz / Sheddaz İlişkisi

TNF açığa çıkarımı ya da diğer invivo membran moleküllerinin parçalanmasında MMP'lerin katılımı ne kadardır, bu henüz açık değildir. Shedding reaksiyonunun alışılmamış metalloproteinazlar ile aracılı olabileceği delilleri görülmüştür. Bununla birlikte çoğu MMP inhibitörleri ayrıca pro-TNF'nin sellüler işlenişini önler (142), farklı bileşimlerin inhibitör potansiyellerinin ayrıntılandırılmış analizi, TNF konverting enzimin klasik MMP'lerden farmakolojik olarak farklı olabileceği ileri sürülür. MMP inhibitörleri tarafından yüzey molekülleri, çeşitli sitokinler (TNF α , fasligant, TGF- α), sitokin reseptörleri (TNFR1, TNFR2, IL6- α), adezyon molekülleri (L-selektin) ve diğerlerinin (β amiloid prekürsör protein) salınımı önlenir (142,194-196). Arribas ve ark. kısa süre önce TGF α , IL6 reseptör α , L-selektin ve β amiloid prekürsör proteinini içeren bir dizi hücre yüzey moleküllerinin salınmasında defektli olan mutant CHO serisi tanımladı. Keza geniş tip CHO hücredeki salınım reaksiyonunun bir MMP inhibitör tarafından engellenmiş olduğunu gösterdiler (194). Glaxo Wellcome'den bir grup TNF converting enzimin ademalizin ya da reprotizin metalloproteinaz ailesinin bir üyesi olabileceğini ileri sürmüştür (197,198). TNF converting enzim kalıntıları ile Arribas tarafından tanımlanmış salınım mutasyonlarının ilişkisi belirlenmiştir.

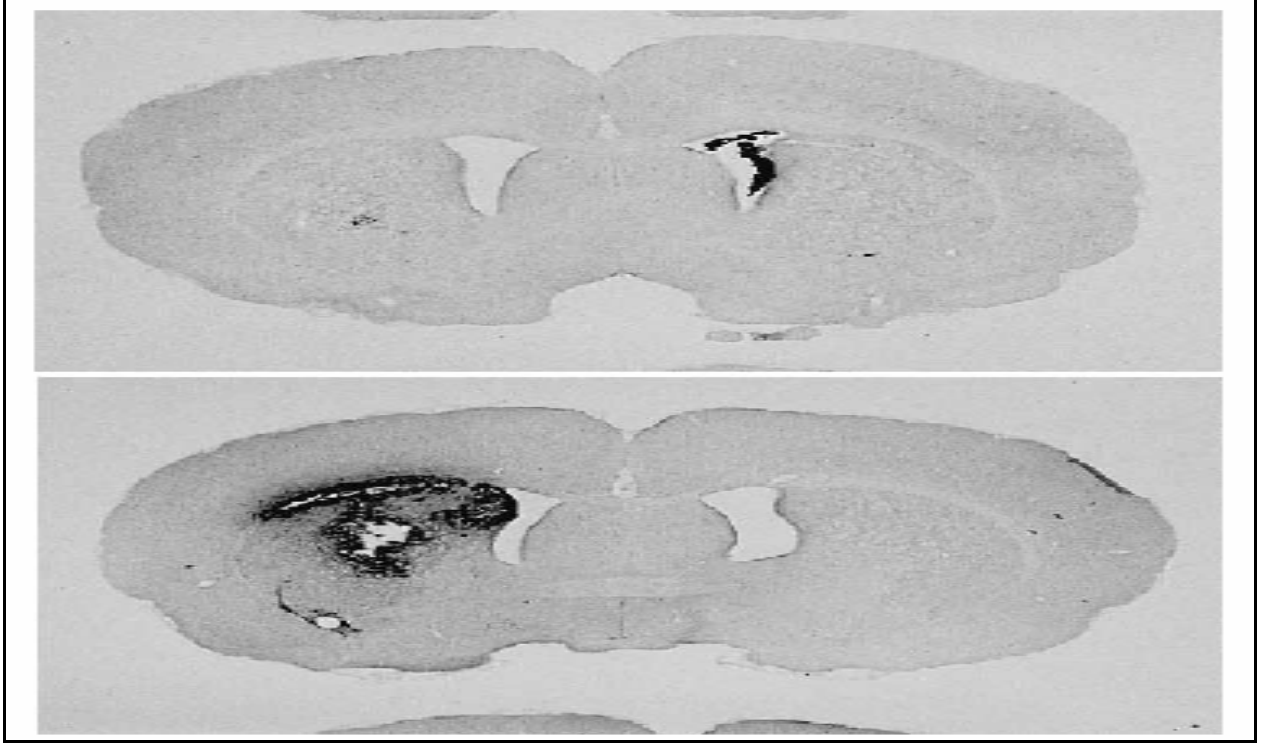
“ Sheddase ” ya da Converting enzimlerin ve eldeki spesifik inhibitörlerin kimliği belirlenene kadar, shedding reaksiyonlarına MMP'lerin göreceli katkılarını belirlemek zor olacaktır.

Demyelinizan, Nöroinflamatuvar Hastalıklar

Multiple sklerozis bir kronik SSS hastalığıdır. Hastalık erken dönemde bozulmuş kan-Beyin bariyerinden plazma proteinlerinin sızması ile gelişmiş plak ya da lezyonların bulunması ile karakteristiktir (199). Bu plaklar, inflamatuvar hücreler (T lenfosit ve monositler) ve ilaveten aktive glial hücreler içerir. Başlangıçta sızan inflamatuvar hücrelerin etkileri sonraki lezyonların gelişimini düşündürür. Gerçekten de, MS'in hayvan modellerinde, T hücre ya da makrofaj infiltrasyon ya da aktivasyonunu önleyen ajanlar hastalık şiddetini hafifletmede etkilidir. MS lezyonlarının harabiyet yapıcı doğası, doku yıkımının mediyatörleri ve proteazlarına erken bir ilgiye sürüklemektedir ki son zamanlarda matriks metalloproteinazların rolüne odaklanıldı (200-202).

2.15. MS’de MMP Salınımına Delil

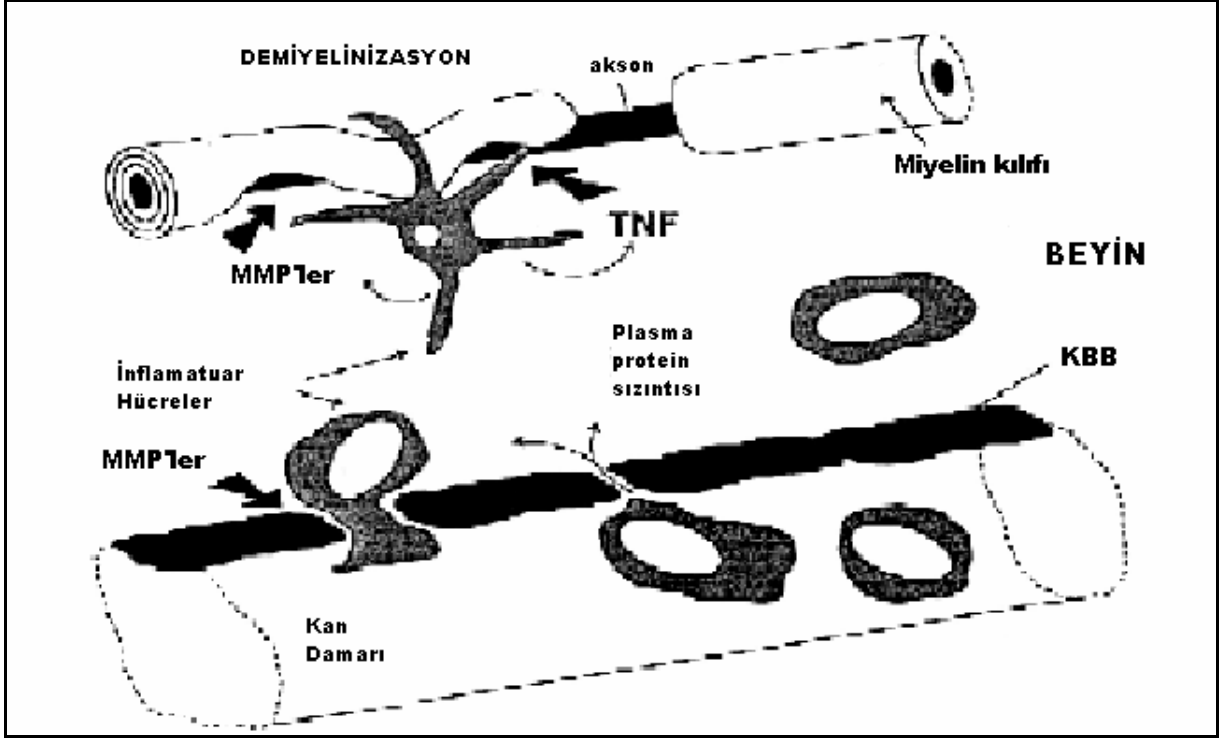
SSS’de MMP salınımı, MS’de gözlenen patolojiye katkıda bulunduğunun en iyi delilidir. Sıçan beynine, MMP enjeksiyonu ya da indüksiyonu yapıldığında kan-beyin bariyeri sızıntısına ve doku harabiyetine neden olur (Şekil-9) (203,204).



Şekil–10: 72 kDa jelatinazın intraserebral enjeksiyonunun etkileri.

Yetişkin Lewis farelerinin striatumuna streotaktik olarak 1 mikrogram 72 kDa jelatinaz enjekte edilir. 24 sa sonra horse radish peroksidaz (HRP) enjekte edilir. Perfüzyondan 20 dk sonra Hanker-Yates metoduyla 50 mikrometre koronal kesitler alınır ve bu dokularda HRP’nin varlığı gözlenir. Koruyucu enjekte edilen kontrollerde HRP KBB’den sızmamaktadır. HRP’nin dokuya sızması 72kDa jelatinaz verilen hayvalarda KBB’nin yıkıldığının göstergesidir.

Bir MS plağının sellüler komponentleri T hücreleri, makrofajlar, mikroglialar ve astrositlerdir ki bu hücreler invitro olarak çok çeşitli MMP salınımına meyillidirler (205-210). 92 ve 72 kDa jelatinaz, Strommelizin -1 ve kollejenaz MS’li hastaların BOS ya da plaklarında saptanmıştır (28,31,41). Keza MS’in relaps gidişli hastaların serumlarında yükselmiş 92 kDa jelatinaz seviyesi göstermiştir (211). TNF converting enzim aktivasyonunun dışı vurumunda indirekt delil, gerçek olmak kaydıyla klinik relaps esnasındaki MS’li hastada BOS ve kanda TNF yükselmesidir.



Şekil-11: MMP'lerin MS'deki patolojiye katkısı (212).

2.16. MS'li modellerde MMP İnhibitörlerinin etkileri

İki geniş spektrumlu MMP inhibitörü, GM6001 ve R031-9790; sıçandaki deneysel akut otoimmün ensefalomyelitisde (EAE), azalma görüldü (31,213). Aynı zamanda invivo TNF üretim inhibitörü olan geniş spektrumlu MMP inhibitörü BB-1101'in EAE'li sıçanlarda hastalığın şiddeti ve kilo kaybını azaltmada etkili olduğunu gösterilmiştir (144). BB-1101, gecikmiş tip hiper sensitivite (DHT) model MS'de test edilmişti (214). Bu modelde, beyinde SSS'ye ait olmayan bir antijene karşı immün aracılıklı inflamatuvar cevap belirlenmiştir. Bu cevap fokal bir oluşumdur, demiyelinizan lezyon MS'de ki plakla benzerdir. BB-1101, bu modelde hem inflamasyonu hem de demiyelinizasyonu inhibe eder (215). MS'deki patolojiye katkısı bulunan MMP'lerin açık olmayan birçok mekanizması vardır. MMP, TNF (ya da diğer shed moleküller) olsun olmasın veya her ikisi de MMP inhibitörleri için birincil hedefler. Son zamanlardaki ayrıntılı incelemelerde, hayvan modellerindeki MMP'lerin salınımı ve MS'li dokular ve vücut sıvılarında patolojik anahtar olabilecek enzimler belirlendi.

2.17. MS’de Biyogösterge Olarak MMP’ler

Manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve immünoterapiler, MS’de tanı ve tedavide major etkilidir. Görüntüleme inflamasyonun neden olduğu, kan-beyin bariyerindeki dinamik, süregelen bir harabiyeti açığa çıkartır. MMP’ler, kan-beyin bariyeri ve myelindeki inflamatuvar hasara önemli bir katkıda bulunur ve interferon β ile tedavi MMP konsantrasyonlarını azaltır ve bariyerdeki bütünlüğü eski konumuna getirir (216). MMP ile proteolizis, endojen metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) ile dengelenir. Son zamanlarda Rana Karabudak ve meslektaşları (217) relapsing-remitting MS’li hastalarda β interferon ile tedavide serum TIMP-1 de artış gösterdi. MMP-9 ile uyarılmış proteolizisin TIMP-1 ile inhibisyonu, kan-beyin bariyerindeki bütünlüğün yeniden düzenlenmesine katkıda bulunabilir. Fakat daha çok çalışma ile TIMP-1’in rolünün doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

İn-vitro çalışmalarda gösterilen İnterferon β etkisi beyaz kürelerdeki jelatinazı (MMP-9) azaltmasıdır ki bu beyaz kan hücrelerinin beyine infiltrasyonu engellenerek (218) sağlanır. MMP’ler fibronektin, laminin ve kollajen tip 4 gibi bazal laminadaki ekstrasellüler matriks proteinlerine saldırır, kan-beyin bariyerindeki permeabilityi artırır ki bu MS akut atağındaki önemli bir belirleyicidir (164).

Jelatinaz-B relapsing-remitting MS’li hastaların BOS’unda atar (28). Yüksek doz metilprednizolon tedavisi ile, kan-beyin bariyerindeki permeabilitesi artmış olan bu hastalardaki BOS MMP-9 düzeyleri dramatik düşer, bu MMP-9’un bariyer harabiyeti ile bağlantılı olduğunu gösteriyor (219).

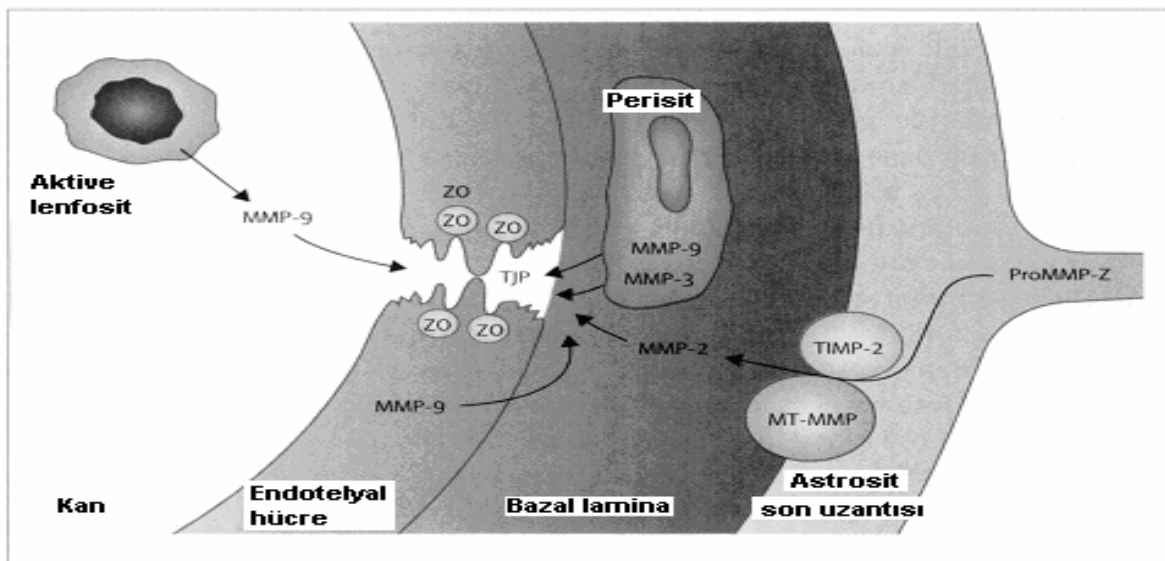
Relapsing-remitting MS’li hastaların serumlarında MMP-9 seviyeleri yükselmiştir ve MMP-9’daki yükseliş godalinyumlu MRI’da elde edilen lezyonlarla koreledir (147,220). Sekonder progresif MS’li hastalarda MMP-9 serum seviyeleri yükselmiştir ki bu görüntülemelerde lezyonu artmışlarda en yüksektir (221). Bir çalışmada primer progresif MS, MMP-9’un artmış serum düzeyleri ile ilişkili bulundu ve bu çalışmada gūnaşırı verilen β interferon tedavisi ile serum düzeyleri düşürüldü (222). Bununla beraber bir diğerk çalışmada primer progresif MS’de MMP-9’un serum seviyelerinde artış bulunmadı ve haftalık β interferon enjeksiyonu ile hiç değışim bulunamadı (223).

Dolaşımdaki beyaz kan hücreleri MMP’lerin önemli bir kaynağı ise de tüm beyin hücreleri MMP’leri üretir, multipl kaynaklarla ilgili olduğu varsayılır. Liuzzi ve ark. (224) relapsing-remitting MS’li hastaların MMP-9 intratekal üretiminin BOS MMP-9 ve serum albüminine endeksli olduğunu gösterdi (224). Çünkü BOS’daki lökositler MMP-9’un kaynağı değildir, bu kan-beyin bariyerini geçen T hücrelerce mümkündür ya da endojen beyin

hücreleri kaynaktır. MMP-9'un artmış serum seviyeleri beyin üretimini yansıtabilir mi? MSS ve sistemik dolaşımında genelleştirilmiş inflamatuvar cevap var mıdır? Hala bu sorular çözümlenmeden kaldı.

TIMP'lerin ve MMP'lerin kaynağı ne olursa olsun, endotelial hücreler, perisitler, astrosit ve uzantıları ve bazal laminadan oluşan ve nörovasküler ünit olarak tanımlanan yer inflamatuvar hücum alanıdır (Şekil-12)(225). Astrositler temel olarak MMP-2 ekspresyon kaynağıdır, böyle olmakla birlikte MMP-9 uyarılabilir. Bazal laminaya gömülmüş olan perisitler makrofajdır ve stromelin-1 (MMP-3) ve MMP-9, serbest radikal, sitokinler gibi diğer inflamatuvar medyatörleri sekrete ederler. Sonuç olarak MMP-3 ile aktive edildiği zaman, endotelial hücreler tight junction proteinlere saldırır MMP-9 yapar. T lenfosit gibi MMP-9 sekrete eden beyaz kan hücreleri beyne geçer ve ilave faktör salınımı ve inflamasyon artımı yapar.

Relapsing-remitting MS'de BOS çalışmalarında sürekli MMP-9 yükselişi gösterilmesine rağmen, serumdaki MMP'lerin edindiği rolde fikir birliğine varılamadı. Karabudak ve meslektaşları, rolde delil sağlamak için MMP-9 ile birlikte TIMP-1 de ölçtü, MMP-9'un TIMP-1'e oranının kullanışlı bir biyomarkır olabileceğini önerdi. Fakat çalışmalarda bildirilenler arasındaki farklar küçük örnek hacmi, MMP ölçümü analizinde farklı formlar, hasta sınıflandırmasında homojenlikten yoksunluk ve tedavide çeşitli formlarda β interferon kullanımından dolayı olmuş olabilir. Bu sorunların çözümü; bir başlangıç BOS örneği ve müteakip seri serum örnekleri araştırmasında MMP ve TIMP ölçümü ile uniform hasta popülasyonunda geniş bir çalışmayı gerektirir.



Şekil 12: Multipl skleroz akut atakları sırasında matriks metalloproteinazların (MMP'ler) kan-beyin bariyerinde (KBB) proteolitik bozulma üzerindeki etki mekanizması.

Aktive olan T lenfositleri, adhezyon molekülleriyle birlikte jelatinaz B'yi (MMP-9) eksprese ederler. Endotelial hücrelere bağlanan lenfositler, zona okludense (ZO) bağlanan tight junction (sıkı hücre birleşkesi) proteinlerini (TJP), okludini ve klaudin-5'i bozan MMP-9'u salgırlar. MMP'lerin endojen kaynakları da aktive olur ve endotelial hücreler, astrositler ve perisitlerden MMP-9 ve perisitlerden stromiyelsin-1 (MMP-3) de dahil çeşitli farklı MMP'leri eksprese ederler. Astrositlerin son uzantıları (astroitik ayaklar), bazal lamina, perisitler ve endotelial hücreler, nörovasküler birimi oluşturlar. Astrositler, MMP-2'nin doku inhibitörünün (TIMP-2) varlığında membran-bağı MMP (MT-MMP) tarafından aktive edilen latent jelatinaz A'yı (MMP-2) yapısal olarak eksprese ederler. MMP'lerin hem dolaşımında hem de endojen kaynakları bulunduğundan dolayı, proteolitik aktivitenin çıkış ve başlangıç noktası belirsizdir. Bununla birlikte, inflamatuvar proses başladıktan sonra, sitokinlerin salınmasıyla ve başka inflamatuvar hücrelerin göçüyle endojen kaynaklarda bir artış ve büyüme görülür (225).

2.18. Hastalığı Tetikleyen Nedenler

Kafa travması ve disk ameliyatı tetikleyici olduğu iddia edilmektedir. Fakat bu konuda geniş çaplı araştırmalar yoktur. Fiziksel faktörlerin hastalığın başlaması veya ataklar üzerine presipitan etkisi konusunda görüş birliği yoktur. İki ayrı çalışma kranial ve diğer travmaların hastalık üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu, Poser'in görüşü ile çelişmektedir. Poser bu ilişkiyi travma sonucu kan-beyin bariyerinin etkilenmesi ile açıklamıştır. Diğer bir tetikleyici faktör gebelik, viral enfeksiyonlardır. Klinik gözlemler relapsların solunum yolu enfeksiyonlarının daha sık olduğu mevsimlerde geliştiğini göstermektedir. MS ataklarında interferon gamma'nın potent presipitan olduğu gösterilmiştir. Viral enfeksiyonlar sırasında atakların gelişmesi bu sitokin salınması ile bağlantılı olabilir. Aşıların tetikleyici rolleri konusunda kesin bir delil yoktur. Vitamin B12'nin rolü spekülatif olup MS hastalarında bu vitamin eksikliği sık olmakla birlikte vitamin replasman tedavisinin hastalığın seyri üzerine herhangi bir etkisi gösterilmemiştir. Vaka-kontrol çalışmaları MS hastaları ile kontrol grupları arasında organik çözücüler ve diğer kimyasal maddelere maruz kalma bakımından herhangi bir fark olmadığını göstermektedir (24). Prospektif ve popülasyona dayalı çalışmalar, yalnızca Hashimoto tiroiditinin MS ile birlikteliğinin anlamlı olduğunu göstermiştir (226).

2.19. MS Klinik Semptomlar ve Fizik Bulgular

1. Kraniyal sinir ve beyin sapı bulguları

- a. **Bulber bulgular:** Disfaji, dizatri genellikle birlikte izlenir. Pseudobulber palsi (bilateral kortikospinal yol tutulumu, supranükleer dizatri ve disfaji, hiperaktif öğürme refleksi, kontrol dışı gülme ve ağlama atakları) de izlenebilir. MS'de konuşma genellikle serebellar dizatri özelliğindedir.
- b. **Sağırılık:** Sık izlenmez, genellikle tek taraflıdır ve geri dönüşümlüdür. Tek başına ya da eşlik eden vertigo, diplopi ve ataksi gibi semptomlarla birlikte beyin sapına bağlı ataklarla birlikte izlenebilir.
- c. **Fasiyal kuvetsizlik:** Lezyon lokalizasyonuna bağlı olarak üst ya da alt motor nöron tipinde olabilir. Alt motor nöron tipi kuvetsizlik insidansı %5'ten azdır. Alt motor nöron tipi düzelirken myokimi, aberan inervasyon izlenebilir.
- d. **Nistagmus:** Farklı tipte nistagmus izlenebilir. En sık bakışla tetiklenen simetrik nistagmus izlenir ve beyin sapı lezyonlarından kaynaklanmaktadır. İnternükleer oftalmopleji de izlenmektedir.
- e. **Oküomotor bulgular:** İnternükleer oftalmopleji, VI. kranyal sinir paralizi, birbuçuk sendromu, izole III ya da IV kraniyal sinir paralizileri izlenebilir.
- f. **Trigeminal sensorial nöropati:** MS hastalarının %10'unda izlenebilmektedir. Ağız içi uyuşma ile kendini gösterir.
- g. **Vertigo:** Hastaların yaklaşık yarısında bulunmaktadır, ataklar halinde izlenir.
- h. **Optik nörit:** Görme yollarının tutuluşunda en sık rastlanan klinik bulgudur. MS'te başlangıç semptomları arasında sık görülebilen bir belirti olup; bir gözde ani görme kaybı ve ağrı ile birlikte genellikle tek taraflı başlar. Bu durum etkilenen gözde total görme kaybına kadar gidebilir. Tüm optik nöritler MS'e dönüşmeyip ani başlangıçlı optik nörit tanımlayan genç ve erişkinlerin ancak %50'sinde MS gelişmektedir. Optik nörit ile ek semptomların gelişimi arasında uzun zaman aralığının olması iyi prognoza işaret edebilir. Optik sinir lezyonu, sıklıkla retrobulber olarak izlenir, fundoskopik muayene akut dönemde normaldir. Daha sonra optik disk, aksonal kayıp ve gliosis nedeniyle soluklaşır. Bu solukluk optik diskin temporalinde daha belirgindir. Uhthoff fenomeni, sıcak ve egzersizle görme keskinliğinde azalmayı ifade eder. Optik sinirin önceden var olan hasarını veya subklinik demyelinizasyonu yansıtan bu fenomen, optik sinir tutulumunun daha önceki klinik öyküsü olmaksızın meydana gelebilir.

2. Motor semptomlar: MS hastalarında en sık rastlanılan semptom ekstremitelerde kuvvet kaybı-paralizi ya da pleji durumudur. Tipik olarak üst motor nöron tipi kuvvetsizlik izlenir. Nörolojik incelemede spastisite, artmış derin tendon refleksleri ve ekstansör plantar yanıtlar saptanır.

3. Serebellar bulgular: Serebellar tutuluş bulguları olarak daha çok üst ekstremitelerde gözlenen dismetri, disdiadokinezi, intansiyonel tremor, hipotoni yanı sıra yürüyüş sırasında gövde ataksisi, nistagmus gözlenebilir. Konuşma patlayıcı karakterdedir. Serebellar bulgular, genellikle piramidal traktus bulgularıyla birliktedir.

4. Mesane, Barsak ve Seksüel Fonksiyon Bozuklukları: Sfinkter bozuklukları daha çok “urgency” şeklinde artmış detrusör aktivitesi ile birliktedir. Hastalık ilerledikçe üriner inkontinans sıklaşır. Spinal kordun sakral segmentlerinin tutulumu ile idrar kaçırma ve mesanenin tam olmayan boşalması şeklindeki mesane hipoaktivitesi semptomları ortaya çıkar. Konstipasyon da sık olarak görülür. Hastaların yaklaşık %50’sinde tam seksüel inaktivite, %20’sinde hipoaktivite gözlenir.

5. Kognitif bozukluklar: Demans MS’de sık görülen bir bulgu değildir. Hastalığın ağır seyrettiği bireylerde %5’ten az izlenir. Ancak nörofizyolojik testlerle hastaların %34-65’inde kognitif bozukluk saptanmıştır.

6. Epilepsi: Hastaların %5’inden azında izlenmektedir.

7. Duyusal yolların tutuluşu: Duyusal etkilenmeye ait yakınmalar, MS başlangıcında hemen her hastada vardır ve bazen hastalık süresi boyunca ve atak sırasında da sık görülür. Spinotalamik traktus, arka kordon, dorsal kök giriş zonu tutuluşlarında olabilir. Arka kordonla ilgili duyular daha sık tutulmaktadır. En sık görülen duyusal bulgu azalmış vibrasyon duyumudur. Diğer sensorial belirtiler algılama bozuklukları, iğnelenme ve zaman zaman yanmalar şeklinde tanımlanan rahatsızlık hissini (disestezi) içerir ve bunlar objektif bozukluklar olmaksızın günler, haftalar veya aylarca süreklilik gösterebilir. MS tanısından şüphe edilen hastalarda eski duyusal belirtilerin oluşumu mutlaka sorgulanmalıdır.

8. Paroksizmal semptomlar: Hastalık süresince tekrarlayıcı olarak ortaya çıkan kısa motor ve sensoryal fenomenlerdir. Bu semptomlar birkaç dakikadan uzun sürmez. 30-60 saniyeden daha kısa sürede sonlanır. Gün içinde sıkça tekrarlayabilir; Ağrılı tonik spazmlar, episodik dizatri, epizodik ataksi, akinezi, epizodik pruritis, Lhermitte bulgusu, geçici ekstremitte kuvvetsizliği, trigeminal nevralji, hemifasiyal spazm, kore-atetoz, myokimi görülebilir.

Tonik spazmlar: Tonik spazmlar herhangi bir motilite veya hiperventilasyon ile başlayan kısa süreli unilateral sterotipik kasılmalardır. 30-90 saniye sürerler ve vücudun bir tarafının tamamını ya da bir kısmını tutar. Eller, el parmakları, ayaklar ve ayak parmakları psödodistonik bir postür alabilirler.

Lhermitte Bulgusu: Başın eğilmesi sonucu omurga boyunca ekstremitelere yayılan elektriklenme gibi bir his ortaya çıkabilir. Bu fenomene Lhermitte bulgusu denir varlığında spinal korda ait tutulum araştırılmalıdır; ancak patognomik değildir.

9. Psikiyatrik sendromlar: En sık depresyon olmak üzere öfori, patolojik ağlama-gülme atakları, kognitif kayıp görülebilir.

10. Yorgunluk: Depresyon ya da kuvvetsizlikle ilişkisi olmaksızın enerjide azalma hissi olarak tanımlanabilir. Özellikle sıcak artışı ile yorgunluğun artış göstermesi MS yorgunluğu için spesifik olarak saptanmıştır.

11. Ağrı: MS’de ağrı nadiren de olsa hastalığın rahatsız edici başka bir bulgusudur. Hastaların %80’inde ağrılı kas spazmlarına, aralıklı veya sürekli ekstremitte ağrılarına ya da omurga ağrılarına rastlanır. Primer ağrı genellikle alt ekstremitede olan dizestetik ağrıdır. Ancak trunkal ve üst ekstremitte dizestezi de olabilir. Trigeminal nevraljisi olan genç bir hastada her zaman MS’den şüphelenilmelidir. Farklı tipte baş ağrıları MS ile komorbitide gösterdiği düşünülmektedir. Gerilim tipi baş ağrısı en sık izlenen baş ağrısı tipidir. Ayrıca optik nörite eşlik eden baş ağrısı, tipik migren ile uyumlu ağrılar, hemikraniyal baş ağrısı izlenebilir. Ani başlayan baş ağrılarında medulla spinalis lezyonları, tümörü düşündürecek demiyelinizan lezyona sekonder baş ağrıları da akla gelmelidir.

12. Uyku bozuklukları: Genel popülasyona göre MS hastalarında uyku bozuklukları üç kat fazla izlenmektedir. Ağrı, depresyon, ağrılı gece spazmları, noktüri önemli nedenler arasında yer almaktadır. Uyku bozuklukları sağ insular ve sağ-sol frontal lob lezyonları ile birliktelik göstermektedir.

2.20. MS’de Tanı Kriterleri

MS’de kesin tanı büyük önem taşır. Çünkü doğru tanı hem hastalığın seyrine etkili olabilen immun modülatör ve immunsupressif tedavilerin uygulanmasına ve hem de hastanın hastalığın tabiatı ve yapılabilecekler konusunda bilgilendirilmesine olanak sağlar. MS esas itibarıyla klinik bir tanıdır. Tanı; semptom ve bulgularla hastalığın klinik seyri dikkate alınarak konmaktadır. MR, nörofizyolojik testler ve BOS incelemesi tanıya ulaşmada önemli katkılar sağlar. Ancak kesin tanı koydurtacak bir laboratuvar bulgusu yoktur (227,228).

İlk kayda değer kriterler tanımlaması Schumacher ve arkadaşları tarafından 1965 yılında yapıldı (228). Uyan kriterlerin sayısına göre MS "Klinik kesin, olası (Probable) ve olabilir (possible)" olmak üzere sınıflandırıldı. Kriterler lezyonların zaman ve alan içerisindeki dağılımları dikkate alınarak tarif edilmiştir (Tablo-5).

Tablo-5: Schumacher kriterleri

1. Hastalık başlama yaşı 10-50 arası olması
2. Nörolojik muayenede objektif bulguların tespit edilmiş olması
3. Santral sinir sisteminde beyaz cevher tutulumu gösteren bulgular
4. Zaman içerisinde dağılım a-En az 24 sa süren ve arası en az 1 ay olan iki veya daha fazla atak b-En az 6 aydan beri devam etmekte olan ve progresyon gösteren klinik seyir
5. Alan içerisinde dağılım (yani lezyonların multifokal oluşu) İki veya daha fazla lezyon ile açıklanabilen semptom ve muayene bulguları
6. Tanı yönünden MS'den daha iyi açıklamanın olmaması

Schumacher kriterleri yalnızca anamnez ve muayene bulgularına dayanmakta idi. Oysa 1970 ve 1980'li yıllarda bilgisayar teknolojisindeki ilerlemelere paralel olarak geliştirilen nörofizyolojik testler görsel, beyinsapı işitsel ve somatosensöriyel traktlarda yerleşen ve klinik olarak herhangi bir semptom ve bulguya yol açmayan (yani sessiz seyirli olan) plakların varlığını göstererek tanıya büyük katkılar sağladı. Diğer taraftan 1970'li yılların başında BT ile başlayan ve daha sonra MRG ile devam eden yeni gelişen görüntüleme yöntemleri MS tanısında önemli kilometre taşlarından olup MRG halen altın standart durumundadır. Tanıya büyük katkı sağlayan diğer bir yöntemde BOS incelemesi olup intratekal immunglobulin G yapımındaki artışın göstergesi olan IgG indeksi artışı (veya İmmunglobulin G sentez hızındaki artış) ve oligoklonal bantların varlığının gösterilmesidir.

1983 yılında Poser başkanlığında toplanan komite yukarıda sözü edilen tanı yöntemlerini de içine alacak şekilde MS'de tanı kriterlerini yeniden tanımladı. Bu yeni tanımlamada, kesin ve muhtemel olmak üzere iki ana sınıf ile her bir sınıfta ise klinik ve laboratuvar destekli olmak üzere iki alt sınıf yer almaktadır. Yaş üst sınırı 50'den 59'a yükseltilmiştir. Relapslar anamnez özelliklerine, klinik bulgular ise nörolojik muayene ile tespit ve dokümente edilen bulgulara dayandırılmaktadır (229)(Tablo-7).

Poser kriterlerinin tanımlandığı tarihten sonra hem MR'nin yaygın olarak kullanılması ve hem de yeni MR tekniklerinin geliştirilmesi MS tanısında bu tekniği ön plana çıkartmıştır. MR spektroskopisi ve magnetizasyon transfer gibi yeni MR teknikleri hem MS tanısına ve klinik seyrin izlenmesine hem de hastalığı daha iyi tanımamıza çok büyük katkılarda bulunmuştur (227,230). Diğer taraftan hastalığın progresyonunu azaltabilen ilaçların erken dönemde uygulanmasının önemi anlaşılmıştır. Bütün bu gelişmeler tanı kriterlerinin yeniden gözden geçirilmesinin gerekli olduğunu göstermiştir. Uluslararası MS tanı paneli ABD ulusal MS Derneği ve Uluslararası MS dernekleri Federasyonu 2000 yılının Temmuz ayında Londra'da McDonald başkanlığında toplandı. Amaç 1983 yılında Poser ve arkadaşları tarafından yayınlanan tanı kriterlerini gözden geçirmek ve gerekli değişiklikleri yapmaktır. Bu toplantıda tanımlamalar açıklığa kavuşturulmuştur. 24 saat veya daha uzun süren yakınmalar atak olarak tarif edilmiştir. Tek paroksizmal episodlar relaps olarak kabul edilmemektedir. Ayrıca birden fazla ataktan söz edebilmek için atak başlangıçları arasındaki sürenin en az 30 gün olması gerekmektedir. Yeni tanı kriterleri ile kesin MS, olası MS ve MS değil olmak üzere 3 ayrı sınıflama yapılmıştır. Eğer hastanın bulguları tanı kriterlerinin hepsini kapsıyorsa kesin kriterlerin bazılarını kapsıyorsa olası MS, kriterlerin hiçbirisi ile uyumlu değilse MS değil olarak sınıflandırılmaktadır (231).

Tablo-6: Poser kriterlerine göre MS klasifikasyonu

KESİN MS
<i>Klinik olarak kesin</i>
A1. İki atak, iki ayrı lezyona ait muayene bulgusu
A2. İki atak, bir lezyona ait muayene bulgusu ve bir başka lezyona ait paraklinik bulgu
<i>Laboratuvar destekli kesin</i>
B1. İki atak, bir lezyona ait muayene bulgusu veya bir başka lezyona ait paraklinik bulgu ve BOS bulgusu
B2. Bir atak, iki lezyona ait muayene bulgusu ve BOS bulgusu
B3. Bir atak, bir lezyona ait muayene bulgusu ve bir başka lezyona ait paraklinik bulgu ve BOS bulgusu
OLASI MS
<i>Klinik olarak olası</i>
C1. İki atak, bir lezyona ait muayene bulgusu
C2. Bir atak, iki ayrı lezyona ait muayene bulgusu
C3. Bir atak, bir lezyona ait muayene bulgusu ve bir başka lezyona ait paraklinik bulgu
<i>Laboratuvar destekli olası</i>
D1. İki atak ve BOS Bulgusu

Paraklinik bulgu : MR veya nörofizyolojik incelemelerle tespit edilen anormal bulgu

BOS bulgusu : IgG indeks artışı veya oligoklonal bant varlığı

Panel aşağıdaki kararları aldı:

- 1) Kesin tanıda, lezyonların dağılımını (zaman-alan) gösteren objektif kanıtlar esastır.
- 2) Anamnezde hastalık semptomlarının varlığı tanı koymada yeterli değildir.
- 3) MR, BOS analizi, VEP kayıtları, eğer klinik belirtiler tanıda yetersiz kalıyorsa tanıya katkı sağlar. Bu tetkikler içersinde sensitivite ve spesifisitesi en yüksek olan MR'dır. Bunu BOS incelemesi izler. Eğer klinik tablo atipik ise ve MR kriterleri yeterli değilse BOS bulguları önemlidir. Bunu görsel işitsel uyarılmış potansiyel (VEP) kayıtları izler. VEP dışında kalan diğer uyarılmış potansiyel kayıtlarının tanıya katkısı çok azdır (231).

Paraklinik Testler:

MR ile tespit edilen lezyonların zaman ve alan içersindeki dağılımları kesin tanıda çok büyük önem taşımaktadır (Tablo-8 ve 9). Panel Barkhof ve ark ile (232) Tintore ve arkadaşlarının (233) yaptığı çalışmaları esas almıştır. Spinal kordda T2 ağırlıklı kesitlerde büyüklüğü 3mm'den fazla ve iki vertebra segmentinden az olan lezyon anlamlıdır. Bir spinal kord lezyonu bir beyin lezyonu ile eşdeğerdir. MR ile tespit edilen spinal kord lezyonu bazı klinik durumlarla (Klinik izole sendrom, başlangıçtan itibaren progressif olan klinik seyir gibi) ve beyin MR bulgularının yetersiz kaldığı durumlarda büyük önem taşımaktadır.

Tablo-7: MR kriterleri (alan içinde dağılım)

Aşağıdaki kriterlerden 3 tanesinin bulunması
1) 1 adet gadolinum tutan lezyon veya 9 adet T2 ağırlıklı kesitte hiperintens lezyon
2) En az 1 adet infratentorial lezyon
3) En az 1 adet jukta kortikal lezyon
4) En az 3 adet periventriküler lezyon

1 adet spinal lezyon f adet beyin lezyonu yerine geçer.

Tablo-8: MR kriterleri (zaman içinde dağılım)

1. İlk MR'ın klinik tablonun başlamasından 3 ay ya da daha uzun bir süre sonra çekilmiş olması gerekmektedir. Eğer Gd tutan lezyon tespit edilmişse, yeterli bir bulgudur. Eğer Gd tutan lezyon yoksa tetkik 3 ay sonra tekrarlanır. Kontrast tutan lezyon varsa zamansal dağılım için yeterli bir kriterdir.
2. Eğer ilk MR tablosunun başlangıcından 3 ay geçmeden çekilmişse olaydan 3 ay veya daha fazla süre sonra ikinci bir MR çekilir. İkinci MR'da Gd tutan lezyon varsa anlamlıdır. Eğer ikinci MR negatif ise ikinci tetkikten 3 ay sonra MR tekrar edilir. Gd tutan lezyon varsa veya T2 sekansında yeni bir lezyon varsa zamansal dağılım açısından yeterlidir.

BOS Analizi:

Klinik prezantasyon atipik olduğunda ve/veya MR yeterli destek sağlamadığında BOS bulguları önem taşımaktadır. Bu tetkik, lezyonların otoimmün ve inflamatuvar özelliklerinin göstergesidir. Lezyonların zamansal ve alansal dağılımı konusunda bilgi vermez. Konsantre BOS örneğinde (tercihan izoelektrik fokuslama yöntemi ile) yapılan elektroforezde oligoklonal bantların varlığının gösterilmesi ve/veya immünglobulin G (IgG) indeksinde artış tanıya katkı sağlayan bulgulardır. Ayrıca hafif lenfositik pleositoz, ($<50/mm^3$) bulunabilir (234).

VEP kayıtlaması :

P100 dalga latansında uzama demyelinizasyonu göstermektedir. Latans uzaması tanıya katkı sağlar. Motor uyarılmış potansiyel (MEP), vizüel uyarılmış potansiyeller (VEP), sensoriel uyarılmış potansiyeller (SEP) ve BAEP kullanılmakta olup BAEP en az hassas olan testtir. Diğer uyarılmış potansiyel kayıtlamalarının tanısallık değeri çok fazla olmadığı kabul edilmiştir (230). Son yıllarda bilişsel bozuklukların tespiti ve takibi için çok yönlü nöropsikolojik testlerin de uygulama gereği kabul edilmiştir

Tanısal algoritma

Tanı, klinik prezantasyon ve tetkik bulgularına dayandırılmakta olup Tablo- 10'da özet halinde gösterilmektedir (231). Tanı 3 önemli özelliğe dayandırılmaktadır.

1. Zaman içerisindeki dağılım (Rekürren ataklar veya progressif klinik seyir)
2. Alan içerisindeki dağılım (Multifokal olma)
3. Klinik ve paraklinik bulgular için MS'den daha iyi bir açıklamanın olmaması

Tablo-10'daki bilgileri özetleyecek olursak:

- 1) Eğer hastada en az iki atak öyküsü varsa ve iki ayrı lezyon bulguları mevcut ise başka bir tetkike gerek kalmadan kesin MS tanısı konabilir.
- 2) Eğer iki veya daha fazla atak öyküsü ile tek lezyon ile açıklanabilecek muayene bulgusu/bulguları var ise MR ile alan içerisinde dağılım kriterleri gereklidir.
- 3) Tek bir atak öyküsü ve iki ayrı lezyon ile açıklanabilen muayene bulgusu/bulguları var ise MR ile zaman içerisinde dağılım kriterleri veya başka bir atak beklemek gereklidir.

- 4) Tek bir atak öyküsü ve tek bir lezyon bulgusu var ise (yani klinik olarak izole sendrom) MR ile hem alan ve hem de zaman içerisindeki kriterler gereklidir. Ya da başka bir atak ortaya çıkıncaya kadar beklemek gerekir. MR'nin yetersiz olduğu durumda önce BOS analizi yapılır. Anormal bulgu önemlidir. Ancak normal bulgu ile karşılaşıldığında diğer seçenek VEP kayıdır.
- 5) Klinik seyir progressif ise MR'de hem alan içerisindeki dağılım kriterlerinin (anormal BOS veya VEP bulgusu ile birlikte) ve hem de zaman içerisinde dağılım kriterlerinin (veya 1 yıl devam eden progresyon) bulunması gerekmektedir (231).

Bulgular kesin tanı için yeterli olmadığında olası MS tanısı konur ve hasta daha sonra tekrar incelenir. Eğer bulgular kriterleri karşılamıyorsa hastalık 'MS değil' dir. Bu durumda diğer hastalıklar için gerekli incelemeler yapılır. MS'de yanlış teşhis oranı %5-10'dur. Bazı hastalıklar MS'i taklit edebilir.

Tablo-9: Mc Donald Tanı Kriterleri

BULGU	GEREKLİ BULGULAR
İki veya daha fazla atak öyküsü, iki veya daha fazla lezyonun objektif klinik bulgusu	Ek bulguya ihtiyaç yok*
İki veya daha fazla atak öyküsü, bir lezyonun objektif klinik bulgusu	MR'da alan içinde dağılım kriterleri veya MR'da 2 veya daha fazla lezyon+anormal BOS veya farklı lokalasyonu gösteren bir atak beklemek
Bir atak öyküsü, iki veya daha fazla lezyonun objektif klinik bulgusu	MR' zaman içinde dağılım kriterleri veya ikinci atağı beklemek
Bir atak öyküsü, bir lezyonun objektif klinik bulgusu (monosemptomatik klinik tablo yani klinik izole sendrom)	MR'da alan içinde dağılım kriterleri veya MR'da 2 veya daha fazla lezyon+anormal BOS ve MR'da zaman içinde dağılım kriterleri veya ikinci atağı beklemek
MS telkin eden progresif seyir	Anormal BOS ve MR'da alan içinde dağılım kriterleri: 1) Beyinde 9 veya daha fazla T2 lezyonu veya 2) Spinal iki veya daha fazla lezyon veya 3) 4-8 beyin lezyonu+1spinal lezyon veya Anormal VEP ile birlikte MR'da alan içinde dağılım kriterleri: 4-8 beyin lezyonu veya 4'den az beyin lezyonu+1spinal lezyon ve MR'da zaman içinde dağılım kriterleri veya bir yıldan beri sürekli progresyon

*Her ne kadar ek bulguya ihtiyaç yoksa da eğer MR ve BOS incelemesi yapılmış ve negatif sonuç vermişse diğer tanımlar akla gelmelidir. Alan ve zaman içindeki dağılım Tablo 10'da gösterilmiştir.

Anormal BOS:BOS'ta IgG indeksinde artış veya OKB varlığı

Anormal VEP: P100 latansında uzama

Panel MS ile ilgili yeni kriterleri tanımladıktan sonra konu ile ilgili eleştiriler gelmeye başladı. Belli başlı eleştiriler:

- 1) Yeni kriterlere göre eğer hastada iki atak hikayesi varsa ve iki ayrı lezyon bulgusu varsa MRG'ye gerek görülmemektedir. Oysa ayırıcı tanı açısından MR çok değerlidir ve gereklidir.
- 2) Tablo 10'da gösterilen 5 klinik prezantasyondan 4 tanesinde lezyon/lezyonlara ait "objektif klinik bulgu" dan söz ediliyor. Oysa objektif teriminin tarifi yapılmamış.
- 3) 5 klinik presentasyondan 2 tanesinde MR' de alan içersindeki dağılımı için iki ayrı kriter önerilmektedir.

Birincisi Barkhof 'un çalışmalarına dayandırılmaktadır. Ancak 'iki veya daha fazla MR lezyonu ile birlikte BOS anormalliği 'tanımındaki yalnızca 2 lezyon varlığı hangi çalışmaya dayandırılmaktadır? belli değildir.

- 4) Primer progressif MS (PPMS) için tanımlanan kriterlerden bir tanesi oligoklonal bant (OKB)'tır. Oysa PPMS hastalarının bazılarında OKB gözlenmemektedir (235).

Mc Donald kriterlerinin Poser kriterlerinden farkı, erken tanıya olanak sağlamasıdır. Erken tanı koymanın avantajı olduğu gibi dezavantajı da vardır. Örneğin sigorta şirketleri MS hastalarını sigortalamak istememekte veya yüksek primler talep etmektedirler (235).

Avantajlarına gelince;

- 1) Hastalığın MS, olası MS ve MS değil olmak üzere 3 sınıfta toplanması ve her birinin net olarak tanımlanması
- 2) MRG bulgularının abartılı yorumlamalarına meydan vermemesi
- 3) Nöroradyologları MRG yorumlamalarında standardizasyona zorlaması (235).

2.21. Multipl Sklerozun Klinik Tipleri

1996 yılında yayınlanan uluslar arası bir çalışmanın sonuçlarına göre hastalık genel olarak 4 farklı gruba ayrılır (236).

1- Relapsing-Relmitting MS (RRMS) (Ataklar ve düzelmelerle gidişli MS): MS'in klasik formudur. MS hastalarının yaklaşık %70'i bu gidişi izlemektedir. Bu klasik form genellikle ergenliğin sonlarında ya da yirmili yaşlarda, tam ya da tam olmayan düzelme ile sonuçlanan ağır bir atakla başlar. İleriki ataklar tahmin edilemeyen aralar ile izlenir. Stabil olan dönemler daha uzundur. Her bir ataktan sonra hastaya ait özürülük giderek artar. İlerleyen dönemde bu tipin sekonder progresif forma dönebilme eğilimi vardır (237).

2- Sekonder Progresif Multipl Skleroz (SPMS): Hastalık RRMS tipinde başlar. 2, 3 veya daha fazla atak sonrası sürekli bir kötüleşme izlenir. Ataklardan tam düzelme olmaksızın her bir atakta eklenen özürlerle birlikte disabilite de artar. Bu durum kötü prognozun belirtisidir (238). RRMS hastalarının astaların %50'sinde 10 yıl, %90'ında 25 yıl içerisinde sekonder progressif MS gelişir.

3- Primer Progresif Multipl Skleroz (PPMS): Hastaların yaklaşık %15'inde iyileşme ve alevlenme dönemlerinin olmadığı başlangıçtan itibaren progresif bir seyir vardır.

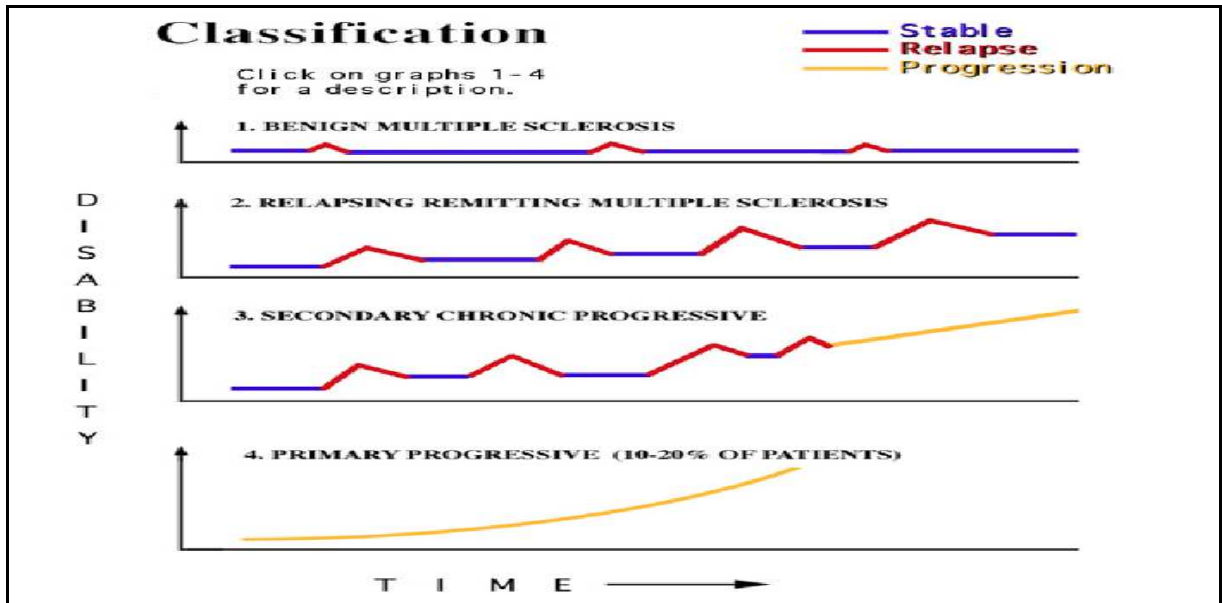
4- Relapsing Progresif Multipl skleroz (RPMS): Başlangıçta rölapların olmasına rağmen daha sonra progresif bir seyirle devam eder.

PPMS ve RPMS olguları daha yaşlı olma eğilimindedir. Kadın cinsiyet üstünlüğü daha az belirgindir. Prognoz daha kötüdür. RRMS ve SPMS'den anlamlı olarak MRG'de, daha az T2 sinyal anormalliği görülür. Beyinde yeni lezyonlar, diğer MS gruplarından daha az sıklıkta oluşur. PPMS'in, sekonder progresif hastalıktan daha az inflamatuvar olduğu patolojik olarak da gösterilmiştir. Ayrıca, HLA-DQB1 ile ilişkili olduğu da bilinmektedir (238).

Tablo 10: Klinik Seyir

Relapsing-remitting form (RRMS)
Progresif form
a) Primer progresif (PPMS)
b) Sekonder progresif (SPMS)
Relapsing-progresif-form (RPMS)

Şekil 13: Klinik seyir



2.22. Multipl Sklerozun Klinik Varyantları

MS SSS'ni tutan birçok hastalıkla karışabilir. Ayrıca diğer demiyelinizan hastalıklar ve MS varyantları ile de karışabilir.

MS klinik varyantları

1- Monofazik sendromlar

Postenfeksiyöz ensefalomyelitis (ADEM), klinik izole sendromlar (optik nörit, transvers myelit, izole beyinsapı/ serebellar sendrom) ve multifokal sendromlar) Klinik izole sendromlar Mc Donald tanı kriterleri içerisinde değerlendirilmektedir.

2- Nöromyelitis optika (Devic)

3- Marburg varyantı

4- Balo'nun konsantrik sklerozu

5- Myelinoklastik diffüz sklerozis (Schilder's Hastalığı)

6- Dissemine subpial demiyelinizasyon

- **Postenfeksiyöz ensefalomyelitis (ADEM):** Monofazik merkezi sinir sistemi demiyelinizasyonunun nedenidir. Genellikle aynı yaşta çok odaklı ak madde lezyonu oluşturmaya karşın her zama güvenilir bir şekilde MS'un ilk atağından ayırt edilemeyebilir. Genellikle çocuklarda ve adolesans yaş grubunda görülür. Öyküde enfeksiyon belirtileri veya aşılama vardır (%70). Belirgin özelliği, beyinsapı bulgularının sık görülmesidir. Ateş, şuur kaybı, meningismus vardır. MRG'de infratentorial lezyonlar sıktır, periventriküler lezyonlar MS'e göre daha azdır. Mortalite %20'dir.

- **Nöromyelitis Optika (Devic):** Genelde iki taraflı optik sinir ve omuriliğin tutulumu ile giden bir hastalıktır. Belirtiler eş zamanlı olabileceği gibi yıllar süren intervallerle birbirini izleyebilir. Monofazik (%35) ve relapsing (%55) seyreder. Monofazik tip her iki cinsde görülür. Hastalar daha gençtir. Çoğu hasta iyileşir. Bazen hastalık progresif seyreder. Relapsing tip kadınlarda daha sıktır. Sık ve şiddetli ataklar oluşur. Solunum yetmezliği görülebilir. Beyin MRG'leri normaldir. Omurilik MR'da 2-3 segmentten büyük lezyonlar görülür.

- **Akut Marburg Varyantı:** Remisyon olmaksızın akut fulminant seyirli 1 yıl içinde ölümle sonuçlanan bir tiptir. Genelde monofazik olup hızlı progresyon gösterir. Ölüm beyinsapı tutulumuna bağlıdır. Hastalar genelde gençtir.

- **Balo'nun Konsantrik Sklerozu:** Nadir akut MS varyantlarından biri olup tipik patolojik bulguları (konsantrik bantlar) görülür.

- **Myelinoklastik Diffüz Skleroz:** Çocuk yaş grubunda nadir görülen bir hastalık olup bilateral simetrik geniş hemisferik lezyonlarla karakterizedir.

- **Benign multipl skleroz:** Hastaların %20 inde iyi huylu gidiş söz konusudur. Bu tabloda ilk belirtiler başladıktan 10 yıl sonra hastalarda tam iş gücü mevcut olup bağımsız hareket edebilmektedirler. Bu hastalar MS nedeni ile kısıtlanmazlar. Yalnızca hafif belirtiler ile tüm hayatlarını geçirebilirler. Ortalama ilk beş yılı iyi huylu geçiren hastaların gidişlerinde sonraki yıllar için iyi gidiş beklentisi yüksek orandadır. Benign formun varlığı hastalarda belirtilerin başlama tarihinin kaydedilmesinin önemini yansıtmaktadır.

- **Tek taraflı kitle lezyonları (Tümeffaktif MS):** MS plaklarının çoğunun çapı 2cm daha azdır. Bazen ödem nedeniyle beyin tm ve beyin absesi, gibi kitle etkisi yapar.

- **Spinal tutulumla giden şekli:** Bu formda başlangıçtan beri spinal kord tutulumuna ait belirtiler mevcut olup daha çok ilerleyici gidiş söz konusudur. Medulla spinalis lezyonlarının varlığı prognostik açıdan olumsuz kriter sayılmaktadır.

2.23. Multipl Sklerozda Prognostik Faktörler

Bir çok klinik ve demografik faktörlerin prognoz üzerine etkili olduğu gösterildi.

Tablo 4'de ise hastalığın prognostik faktörleri görülmektedir.

Aşağıdaki faktörler varsa prognoz kötüdür:

1. Başlangıç yaşı geç ise (>40 yaş)
2. Hastada motor, serebellar bozukluklar, sfinkter kusuru varsa ya da multifokal semptomlar mevcutsa
3. İki atak arasındaki süre kısa ise
4. EDSS ile tespit edilen sakatlık durumunda hızlı bir ilerleme varsa
5. Hastalık başlangıçtan itibaren hızlı progresyon gösteriyor ise veya sekonder progressif forma dönüşüm hızlı olmuş ise.

Tablo11: Prognostik faktörler

FAKTÖRLERİ	İYİ PROGNOZ KRİTERLERİ	KÖTÜ PROGNOZ KRİTERLERİ
Cinsiyet	Kadın	Erkek
Başlangıç yaşı	Genç (<25y)	Geç (>40y)
Başlangıç belirtisi	Sensorial	Motor
Klinik gidiş	Relapslarla	Kr.progresif
EDSS 3 olmasına kadar geçen süre	Uzun	kısa
İlk iki yılda relaps oranı	Düşük	yüksek

Ayrıca MRG bulguları da prognostik önem taşımaktadır. Klinik olarak izole sendromlu hastalarda beyin MRG'de tespit edilen lezyonların sayısı ve hacminin klinik olarak kesin MS'e dönüşümü tahmin edebilmede iyi bir kriter olduğu bildirilmektedir. Yine aynı MR parametrelerinin özürllükte ilerleme konusunda da tahminde bulunabilme olanağı sağladığı rapor edilmektedir (239).

Relaps Sıklığı

Relaps sıklığı büyük farklılık göstermektedir. Bu farklılık hem yaş ve hem de hastalık süresi ile ilgili olup genç hastalarda ve hastalığın erken döneminde daha sıktır. (4)

Özürllükte ilerleme

Bu özellikte hastadan hastaya büyük farklılık göstermekle birlikte uzun süreli takip çalışmaları göstermiştir ki, hastanın yürüme bozukluğu aşamasına gelmesi için ortalama 10 yıl, tek yönlü destek aşamasına gelmesi için ortalama 15- 20 yıl, ve tam malüliyet için ortalama 30 yıl geçmesi gerekmektedir (4).

Mortalite

Mortalite oranları çalışmalar arasında büyük farklılık göstermektedir. Örneğin Danimarka MS kayıtlarından elde edilen veriler hastalığın ortalama yaşam süresini 14 yıl kadar azattığını gösterirken Kanada'da bu süre 6-7 yıldır. MS hastalarının yaklaşık %50 kadarı hastalığın komplikasyonlarına bağlı nedenlerden ölmektedir. Diğer ölüm nedenleri genel popülasyonda rastlanan nedenler olup MS hastalarında intihar olaylarının birkaç kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir.

2.24. Ayırıcı Tanı

A- Genetik hastalıklar

- Adult polyglusan body hastalığı
- Herediter serebro-retinal vaskülopati
- Herediter spastik paraparezi
- Lizozomal enzim hastalığı (Fabry hastalığı, globoid hücreli lökodistrofi, metakromatik lökodistrofi)
- Mitokondriyal sitopatiler
- Nutrisyonel eksiklik
- Organik asidemi (biyotinaz eksikliği)
- Peroksizomal hastalık (adrenolökodistrofi)
- Wilson hastalığı

Genetik hastalıklarda aile öyküsü pozitifdir. Hastalık çok erken yaşlarda başlar. İyileşme olmadan bilateral optik sinir tutulumu ve normal BOS bulgusu vardır.

B- Enfeksiyon hastalıkları

- Virüs (herpes, kızamık, retrovirüs, JC virüs)
- Bakteri (brusella, klamidya pnömoni, spiroket [lyme, sifiliz])

C- İnflamatuvar hastalıklar

- Behçet hastalığı
- Kollajen vasküler hastalıklar (SLE, sistemik skleroz, mikst tip konnektif doku hastalıkları)
- Myasteni
- Nörosarkoidoz

D- Metabolik hastalıklar

- Kobalamin eksikliği
- Folat eksikliği
- Vitamin eksikliği

E- Tümörler

F- Psikiyatrik hastalıklar

- Anksiete, depresyon, konversif hastalıklar

G- Toksik hastalıklar

- Nitroz oksit toksisitesi, santral pontin myelinozis, radyasyon

H- Vasküler olaylar

- Antifosfolipit sendromu
- CADASIL
- Vaskülit

I- Yapısal bozukluklar

- Vasküler malformasyon, servikal spondiloz, Arnold Chiari malformasyonu

İ- Diğerleri

- Kronik yorgunluk sendromu
- Komplike migren
- Nöroretinitis
- Santral seroz koroidopati

2.25. Multipl Skleroz Tedavisi

MS tedavisi temel olarak patolojik sürece yönelik tedavi ve semptomatik tedavi olmak üzere iki ana başlık altında toplanabilir. Patolojik sürece yönelik tedavide amaç atakları önlemek, atak aralarını uzatmak, hastalığın ilerlemesini durdurmak veya yavaşlatmaktır. Atak tedavisindeki amaç atak şiddetini azaltmak, iyileşme süresini kısaltmak ve iyileşme derecesini arttırmaktır.

2.25.a. Akut Atak Tedavisi

Akut atak 24 saatten uzun, beyaz cevheri etkileyen bir fokal fonksiyon bozukluğudur. Tipik olarak birkaç gün boyunca progresyon göstermeye devam eder, bir haftadan önce maksimuma ulaşır daha sonra ortalama 30 günde yavaşça azalır. Her atak tedavi

gerektirmeyebilir. Buna hastanın klinik durumuna göre karar verilir. Temel ilke hastanın günlük aktivitelerini kısıtlamayan atakları mutlaka kortikosteroidlerle baskılamanın zorunlu olmadığıdır. Atak esnasında immünopatolojik olarak sitokinlerin tetiklediği inflamasyon, ödem ve demyelinizasyon belirgin hale gelmekte, serum ve BOS'da adezyon molekülleri, sitokin, kemokin, metaloproteazlar (MMP), oksijen radikalleri, endotelinler, lenfositler, otoantikorlarda immünodisregülasyon gözlenmekte, bu değişimler klinik bulguların, motor, görsel, duyuşal, beyinsapı, serebellar, otonomik, hareket, kognitif sistem bozuklukları olarak yansımaktadır (240). Atak esnasında yükselen ve nöroinflamasyonda pirimer rol oynayan sitokin ve kemokinlerde (241) intravenöz metil prednizolon (IVMP) tedavisinden sonra düşüş görülmektedir (99).

Steroid tedavisinde IVMP 5 gün boyunca 1000mg/gün dozunda 150 ml dekstrozu veya serum fizyolojik içinde yaklaşık 1-2 saat içinde verilir. Yüksek doz IVMP ile psikiyatrik bozukluk, enfeksiyonlara yatkınlık, gastrointestinal bozukluklar ve yorgunluk gibi yan etkiler görülebilmese rağmen hastaların çoğunda minimal yan etki görülmüştür. Tekrarlayan kortikosteroid tedavisi alanlarda bazal ve yıllık kemik dansite incelemeleri yapılmalıdır. Anafilaktik reaksiyonlar nadirdir fakat olabilir (250).

2.25.b. Multipl sklerozda immün modölatör tedavi

Geniş spektrumlu immünmodölatör ajanlar

İnterferon beta ve glatamer asetat, ayrıca son zamanlarda geliştirilen Laquinimod ve BG00012, bunlarla birlikte statinler RRMS için ilk seçenek olan ajanlardır (242).

İnterferon tedavisi: İnterferonların (IFN), antiviral etkilerinin yanı sıra immünmodölatör ve antiproliferatif etkileri de olduğu bilinmektedir. İnterferonun MS hastalarında etki mekanizmaları çok yönlü olmaktadır. T lenfositlerin lenfoid dokuya sekestrasyonu, endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin inhibe edilerek T lenfositlerin kan-beyin bariyerini geçişinin engellenmesi, T lenfositlerden gama interferon da dahil sitokin ve matriks metalloproteinaz salınımının azalması, makrofajlardan TNF- α üretiminin azaltılması ve IL-6 üretiminin artması gibi etkileri belirlenmiştir (242,243).

IFN β - 1b (Betaferon), IFN β -1a (Avonex ve Rebif) ve glatiramer asetatın atak sıklığını ve beyin MRG'de saptanan yeni lezyonları azalttığı ortaya konmuştur.

IFN β -1b, MS tedavisinde FDA tarafından onaylanan ilk ajandır. Günaşırı 8 milyon ünite (MİÜ) olarak cilt altı enjeksiyon şeklinde uygulanır. IFN β -1a (30 μ g) haftalık tek intramusküler enjeksiyon şeklinde uygulanır. Bazı veriler etkinliğin doza bağlı olduğunu öne sürer. Yapılan bir çalışmada günaşırı uygulanan IFN β -1b'nin, haftada bir kez uygulanan IFN β -1a'dan daha etkili olduğunu öne sürmüştür (244). Diğer başka bir çalışmada ise 6 ay süreyle haftada 3 kez cilt altı enjeksiyon şeklinde uygulanan IFN β -1a'nın, atak sıklığı ve MRG bulguları üzerine etkisinin haftada bir kez intramusküler olarak uygulanan IFN β -1a'dan daha iyi olduğunu bildirmiştir (245).

IFN β tedavisi sırasında hafif ve orta derecede yan etkilerle karşılaşılır. En sık karşılaşılan yan etkiler grip benzeri belirtilerdir ve her bir enjeksiyondan 6-12 saat sonra görülür. İlk 3 aydan sonra azalması beklenir. IFN β tedavisi var olan depresyonu arttırabilir veya depresyonu başlatabilir. IFN β tedavisi sırasında lökopeni, otoimmün hepatit, hipo-hiper troidizm görülebilir. Karaciğer enzimlerinde yükselme olabileceğinden her üç ayda bir kan tetkiki önerilir. IFN β tedavisi abortusa neden olabileceğinden, gebelik sırasında kullanımı onaylanmamıştır.

Glatiramer asetatın aktif T hücrelerinin yüzey alıcılarıyla, varsayılan MS antijenine bağlanmasını bloke ederek etkili olduğuna ilişkin ipuçları vardır. T hücre popululasyonunun Th2 antiinflamatuvar sifine neden olmaktadır (246). Bununla birlikte lezyon bölgesinde nörotrofik faktörler salınmasını sağlayarak, nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (246). Glatiramer asetat hergün 20 μ g ciltaltı enjeksiyon şeklinde uygulanır. IFN β 'lara benzer şekilde atak sıklığını etkiler, MRG bulgularını tedavinin 6. ayında etkilediği bildirilmiştir.

Glatiramer asetat genellikle iyi tolere edilir, ancak enjeksiyon yeri ağrısı, lenfadenopati, geçici göğüs ağrısı ve anksiyete bildirilmiştir. Laquinimod ve BG00012'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, Glatiramer asetat gibi Th2 sifine neden olduğuna yönelik bulgular mevcuttur.

Sekonder Progresif MS: Başlangıçtaki yineleyici seyirden bir süre sonra (ortalama 10 yıl) yineleyici MS'li olguların ortalama %20'si ataklardan bağımsız ilerleyici bir seyir gösterir. SPMS'de tedavi yaklaşımları tartışmalıdır. İlk yapılan, Avrupa SPMS faz 3 çalışmasında IFN β -1b'nin özür lülüğün ilerlemesini orta derecede yavaşlattığı bildirilmiştir.

Beta- interferon başlama kriterleri:

- RRMS hastalarında son iki yıl içinde 2 ya da daha fazla sayıda, 24 saatten daha uzun süren, ateş olmaksızın izlenen yeni semptomların oluşması.
- 18-50 yaş arası hastalar
- Özürlülük skoru (EDSS) 5.5< olması

Beta-interferon kesme kriterleri:

- Hastalık seyrinde 6 aydır aralıksız ilerleme
- Tedavi altında iken ağır depresyon ya da intihar düşüncesinin varlığı
- Ciddi ilaç yan etkilerinin görülmesi
- İnterferon tedavisine rağmen bir yıllık periyod boyunca en az 3 defa kortikosteroid tedavisine ihtiyaç duyması
- Hastanın ilaç kullanımına uyum gösterememesi

Monospesifik ajanlar (Monoklonal antikörler)

Son yıllarda immün hücreler üzerindeki hedef epitoplara yönelik birçok monoklonal antikörler geliştirilmiştir ve bazıları MS tedavisinde fayda sağlamıştır. Bunlardan natalizumab (Tysabri), T hücre adezyon molekülü $\alpha 4$ integrine karşı geliştirilmiş bir antikördür. Alemtuzumab, anti-CD 52 antikörüdür. Daclizumab'ın hedefi ise IL2R antijen CD25'dir. B hücre selektif rituximab ise CD20 antikörüdür. Alemtuzumab ve Rituximab lökosit popülasyonunda azalmaya neden olmasından dolayı immünmodülatör ajanlardan çok immünsupresan ajanlar olarak düşünülmüştür.

Klinik araştırmalarda bu monoklonal antikörler, hastalık aktivitesinde güçlü etkileri bulunmuştur. AFFIRM araştırmasında, natalizumab kullanan hastaların bir yıllık relaps miktarı plesoboya göre %68 azalma izlenmiştir (247). Bu sonuçlar, monoklonal antikör grubundaki ajanların, MS tedavisinde ilk seçenek ilaçlar olarak kullanımına yönelik çalışmalar yapılmasına sürüklemiştir. Gerçekten CAMMS223 çalışmasında alemtuzumab interferon beta 1a sc ile karşılaştırılmıştır (248). Alemtuzumab açıkça interferon beta 1a'ya göre atak sıklığında ve dizabitede etkili bulunmuştur. Ancak monoklonal antikör tedavilerinde özellikle fırsatçı enfeksiyon ve malignensi açısından risk bulunmuştur. Natalizumab ile ilgili fatal olan progresif multifokal lökoensefalopati (PML) ve alemtuzumab ile birlikte immüntrombositopenik purpuralı olgular bildirilmiştir. Olası yan etkiler kullanımlarını sınırlandırmıştır. 2006 yılından bu yana natalizumab, risk minimalizasyon programına alınan hastalara reçetelenebilmektedir (242).

2.25.c. İmmüsupresif tedavi

Uzun dönem immüsupresif tedavi MS'li hastalarda relapsların sıklığını azaltabilir. Azotiopürin bu kategoride en güvenli ilaçtır. Üç yıl içinde relapsı %70 azaltır (249). Uzun süre kullanımda malignite riskini arttırabileceğinden özellikle genç hastalarda dikkatli kullanılması önerilmektedir.

Progresif MS'de siklofosfomid ile yapılan çalışmaların bazılarında yarar gösterilmiş bazılarında ise gösterilememiştir. Çalışmaları birbiriyle karşılaştırmak tehlikeli olabilir çünkü steroid ya da plazmaferez gibi değişik indüksiyon yöntemleri gibi değişik indüksiyon metadları kullanılmıştır. Kanada Kooperatif MS Çalışması (Canadian Cooperative MS Study) 1991'de yapılmıştır ve ilacın etkin olmadığını gösteren en güvenilir çalışmadır. Buna rağmen anektodal başarı raporları bu ilacın umutsuz vakalarda kullanımını sağlamıştır.

Metotreksat diğer otoimmün hastalıklarda da kullanılmaktadır (örn; romatoid artrit). Progresif MS'li hastalarda, tıpkı romatoid artritteki gibi 7,5 mg/haftalık dozda metotreksat çalışması yapılmıştır. Bu çift kör, plesebo kontrollü çalışmada metotreksatın, üst ekstremitte fonksiyonlarında orta derecede etkili olduğu, ambulasyon üzerine ise etkisi olmadığı saptanmıştır. Toksisite minimaldir. Metotreksat MS'de yaygın olarak kullanılmamaktadır (250). Kladribin, mitoksantron, pixantron, teriflunomid ve tresulfan periferik T-hüc azaltır. Bundan dolayı MS hastalık aktivitesinde etkili ilaçlardır. Son yapılan faz III CLARITY çalışmasında cladribin RRMS hastalarında plasebaya göre %57.6 oranında relaps sıklığında azalma izlenmiştir. Kladribine tedavisi alanlarda 0.14 relaps/yıl izlenmiştir. Ayrıca tedavi süresince %79.9 hastada 2 yıl boyunca relaps izlenmiş. Disabilite progresyon indeksinde %33 oranında azalma saptanmış (251). Bununla birlikte uzun süreli immüsupresif tedavi alanlarda WBC azalma, immün sistemde bozulmalar ve fırsatçı enfeksiyonlara ve malignensiye yol açabilecektir. Örneğin CLARITY çalışmasında cladribin tedavisi alan hastaların %23'de herpes zoster enfeksiyonu, dört kişide de malignensi gelişmiştir (251). Mitoksantron (Novantrone), T ve B lenfosit aktivitesi üzerine güçlü bir immüsupresan ajandır (252). RPMS ve SPMS'da atak sıklığını ve hastalık progresyon hızını azalttığı gösterilmiştir. Ne yazık ki yoğun mitoksantron alan hastalarda kardiyotoksisite görüldüğü için bu ilaçla MS tedavisi 3 yıllla sınırlandırılmıştır. Diğer yan etkiler, bulantı, alopesi ve nötropenidir. Çok nadir de olsa sekonder lösemiler bildirilmiştir. Sonuç olarak genelde ilk basamak tedavi olarak kabul edilen bir ilaç değildir.

Son zamanlarda, MS hastalığı için önerilen kullanışlı ve umut vaat eden tedavi önerileri;

Tablo- 4: MS’de tedavi önerileri etki mekanizmaları, yan etkileri ile birlikte (242).

AJAN	ETKİ MEKANİZMASI	YAN ETKİLERİ
İmmüsupresan ajanlar		
Kladribin	Pürin analogu (Adenozin deaminaz inhibitörü) Lenfositotoksik ajan	Myelosupresyon, enfeksiyon
Mitoksantron	Tip II topoizomeras inhibitör Sağlıklı ve kanser hücrelerinde DNA sentezini bozar.	Kardiyomiyopati, lösemi, mide bulantısı
Pixantron (BBR2778)	Mitoksantron analogu Non-Hodkin lenfomayı kapsayan değişik tipte neoplazilerde antineoplastik.	Mitoksantron’dan daha az kardiyotoksik etkisi var
Teriflunomid	Dihidonorotat dihidrogenaz inhibitörü (Primidin sentetaz), B ve T hüç proliferasyonunu inhibe eder.	Hepatotoksisite, pansitopeni
Tresulfan	Bifonksiyonel alkalizan ajan (İn vitro) hücre proliferasyonunu inhibe eder, mononükleer hücrelerde apoptozise neden olur.	Enfeksiyon, anemi, rash, halsizlik
Selektif immüsupresan ajanlar		
Atacicept	B-hüç inhibitörü	Enfeksiyon (?), İmmün yanıt (?)
Fingolimod (FTY720)	Myriocin türeci S1PR agonist/antagonist, lenfosit yeniden dolaşıma katılmasını düzenler	Periferik kan lökositlerinde ↓, nabız ↓, FEV1 ↓, maküler ödem, hepatotoksisite, melenoma
Monospesifik ajanlar (monoklonal antikorlar)		
Natalizumab (Tysabri)	Anti-VLA-4 (α4-integrin) antikoru, WBC kan duvarından geçişini engeller	Progresif multifokal lökoensefalopati, enfeksiyon, malignensi, hipersensitive reaksiyonları
Alemtuzumab (CAMPATH-1h)	Anti-CD52 antikoru, T ve B hüç azaltır	Otoimmün tiroid hastalığı, ITP, enfeksiyon
Daclizumab (Zenapax)	Anti-CD25 antikoru, L-2R antagonisti	Kutanöz rahatsızlıklar, enfeksiyon
Rituximab (Rituxan)	Anti-CD20 antikoru, B-hüç azaltır	İnfüzyon reaksiyonları, sitokin relase sendromu, progresif multifokal lökoensefalopati
Geniş spektrumlu immünmodülatör ajanlar		
Glatiramer asetat	Ag bağımlı immünmodülasyon	Enjeksiyon yerine bağı yan etkiler, ağrı, ateş, titreme
Interferon-beta	Antiinflamatuvar KBB bütünlüğünü sağlama	Grip benzeri semptomlar, anjeksiyon yerine bağı yan etkiler, nötralizan antikorlar, karaciğer enzimleri
Laquinimod (ABR-21562)	Roquinimex türevi immünmodülatör	Hepatotoksisite, proinflamasyon
Fumarate ester (BG00012)	Thüç apoptozis, TH2 yönünde kayma	Karın ağrısı, flushing/sıcaklık basması, hepatotoksisite

İntravenöz immünglobulin (IVIg) uygulaması ve kemik iliği ya da kök hücre transplantasyonu

Avrupa SP MS (European SPMS) çalışmasında IVIg'in faydalı etkisi olmadığı ve MRG bulgularına çok az etkisi olduğu saptanmıştır (Hommes ve ark.,2004).

Kemik iliği ya da kök hücre transplantasyonu ile ilgili çok sayıda anektodal rapor vardır fakat kontrollü çalışma verisi yoktur. Kontrollü çalışma olmayışı, tek vaka çalışmaları, çok sayıda vaka çalışmaları ve uluslararası kayıtların hepsi güvenilir veri için yeterli değildir. İşlemin morbiditesi yüksektir bazen de bazı MS hastalarında mortaliteyi artırabilir (250).

2.25.d. Semptomatik tedavi

Spastisitede; yapısal olarak GABA analogu olan baklofen 5mg/gün başlanıp 60-80 mg/güne kadar çıkılabilir. $\alpha 2$ adrenerjik reseptör agonisti olan tizanidin, 2-4 mg/gün şeklinde başlanabilir.

Yorgunluk: Amantidin (2x100 mg), modafinil (2x100mg), fluoksetin, venlafaksin kullanılabilir.

Cinsel disfonksiyon: Sildenafil erkeklerde erektil disfonksiyonda yararlı bulunmuştur.

Mesane disfonksiyonu: MS'de depolama fonksiyonuna ait sorunlar inkontinans, sık tuvalete çıkma, noktüri gibi semptomlarla karakterize olup sıklıkla detrusör hiperaktivite ve azalmış mesane hacminden kaynaklanır.

Boşaltım bozuklukları idrar retansiyonu, zor boşaltım, taşma inkontinansı gibi semptomlarla karakterize olup geniş atonik mesaneden kaynaklanır. Depolama ve boşaltma problemlerinin birlikte olmasına da detrusör-sfinkter dissinergisi denir.

Tanının konulmasında rutin idrar tetkiki, işeme sonrası mesanedeki residünün saptanması (100ml üzerindeki miktar yüksek olarak tanımlanır ve boşaltım problemlerini gerektirir), ürodinamik çalışmalar kullanılır.

Tam olmayan mesane boşalımının tedavisinde; steril ve efektif yapılacak kendi kendine sonda yoluyla boşaltma (24 saat içinde duruma bağlı olarak 3-6 kez), ayrıca fenoksibenzamin, prazosin, terazosin gibi α adrenerjik blokerler, dantrolen gibi kas relaksanları önerilebilir. Detrusör hiperrefleksi söz konusu ise oksibütin, imipramin, flovaksat gibi antikolinergikler kullanılmaktadır.

Tremor: MS'in en kısıtlayıcı ve en zor tedavi edilen belirtilerinden biridir. Apendiküler tremorlar ya hareket sırasında ya da harekete cevap sırasında görülür ve günlük aktiviteyi kısıtlar. Ağırılık takılmış bilek bilezikleri ve özel ayarlanmış aletler nonfarmakolojik tedavi seçenekleridir. Farmakolojik olarak tremoru önleme çabaları genellikle başarısız olur. 800-1200 mg/ gün izoniyazid ve pridoksin 100 mg/ gün sınırlı derecede başarılı olabilir. Antikonvülsanlar denenebilir, başarı oranı düşüktür. Propranolol günde 2-3 kez 20-40 mg veya ondansetron günde 1-2 kez 4-8 mg denenebilir (250).

Depresyon: Normal popülasyonda depresyon prevalansı %1.3 ile %3.7 arasında değişirken, MS'li hastalarda bu oran %14-57 arasında değişmektedir. Kronik hastalığı olanlarda yaşam boyu depresyon prevalansı %12.9'dur. Nörolojik kronik, yaşam kalitesini kısıtlayıcı bir hastalıkla başetmeye çalışmak depresif belirtileri artırır. Çok sayıda ilaç alan hastalar depresyona yatkındır ve interferon beta tedavisinin yan etkilerinden biri de depresyondur.

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri MS'de depresif belirtileri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Amitriptilin günde 25-100 mg, antikolinergik yan etkilerinden dolayı ikinci basamak seçenek olarak düşünülebilir. Öte yandan antikolinergik yan etkileri mesane spastisitesi olan hastalarda faydalı olabilir ve çok sayıda ilaç vermek yerine tercih edilebilir (250).

2.26. Prognozu Değerlendirme

MS'da özürlülük durumu genişletilmiş özürlülük durumu ölçeği (Expanded Disability Status Scale [EDSS] ve "Multiple Sclerosis Functional Composite [MSFC]" ile değerlendirilir.

EDSS her bir basamağındaki artış ile işlevlerde kötüleşmeyi gösteren 10 basamaklı bir ölçektir. Puan, her 6 sistemdeki puanlarla ifade edilen, yürüyebilirlik ve çalışma yeteneğinin ölçülmesine dayanır.

Sıfırın anlamı belirti ve bulgu yok demektir.

1-3; hafif özürlülük ile ona hiç bulgu eşlik etmemesi ya da yürümede minimal bozulma ile birlikte.

3.5-5.5; orta derecede bir özürlülüğü gösterir ve yürümede bir bozukluk tabloya eşlik eder.

6.0; 100 metre yürümek için bastona ihtiyaç gösterir.

8.0; tekerlekli sandalyeye mutlak bağımlılığı gösterir.

10; MS'e bağlı ölümü ifade eder.

Multipl Sklerozda Özörlölük Durum Ölçeği (253)

0.0 Normal nörolojik muayene(Bütün fonksiyonel sistemlerde[FS]grade 0

1.0 Özörlölük yok, bir FS'de minimal belirtiler (grade 1)

1.5 Özörlölük olmaksızın birden fazla FS'de minimal bulgular (birden fazla FS'de grade 1)

2.0 Bir FS'de minimal özörlölük (Bir FS grade 2, diğerleri 0 veya 1)

2.5 İki FS'de minimal özörlölük (iki FS grade 2, diğerleri 0 veya 1)

3.0 Bir FS'de orta derecede özörlölük (Bir FS grade 3 diğerleri 0 veya 1 ya da üç veya dört FS'de hafif özörlölük (Üç/ dört FS grade 2, diğerleri 0 veya 1)

3.5 Tam ambulator hasta, bir FS'de orta derecede özörlölük (Bir FS grade 3) ve bir veya iki FS grade 2 veya iki FS grade 3 veya beş FS grade 2 (diğerleri 0 veya 1)

4.0 Tam ambulator hasta, bir FS'de grade 4 (diğerleri 0 veya 1)'den oluşan göreceli şiddetli özörlölük. Hasta günün önemli bir bölümünde yardıma ihtiyaç duymaz. Geri kalan bölümünde hafif bir desteğe gereksinim duyar. 500 metreden daha uzun mesafeyi yardım almadan ve dinlenmeden yürüyebilir.

4.5 Günün önemli bir bölümünde yardımsız olarak tam ambulator, geri kalan kısmında minimal düzeyde yardıma gereksinim duyar. Nisbeten şiddetli özörlölük söz konusudur. Genellikle bir FS'de grade 4 (diğerleri 0 veya1) veya önceki basamakların limitlerini aşan daha küçük derecelerin kombinasyonları. Yardım almadan ve dinlenmeden 300 metre yürüyebilir.

5.0 Yardımsız en az 200 metre yürüyebilir. Özörlölük tam günlük aktivitesini bozacak kadar şiddetli (özel önlem olmaksızın tam gün çalışabilme gibi) Genel olarak FS eşdeğerleri tek başına bir FS'de grade 5, diğerleri 0 veya 1 ya da genellikle 4. basamağın özelliklerini aşan daha küçük grade'lerin kombinasyonları

5.5 Yardımsız veya dinlenmeden 100 metre yürüyebilir. Özörlölük tam günlük aktiviteleri engel olabilecek kadar şiddetli (Genel olarak FS eşdeğerleri bir FS'de tek başına grade 5, (diğerleri 0 veya 1) ya da daha önceki basamağın limitlerini aşan daha küçük derecelerin kombinasyonları

6.0 Yaklaşık 100 metre dinlenerek veya dinlenmeden yürüyebilmek için aralıklı veya tek taraflı sürekli yardım (Koltuk değneği, baston vb) gerektirir. (Genel FS eşdeğerleri birden çok FS'de grade 3 veya daha fazla grade kombinasyonları)

6.5 Dinlenmeden yaklaşık 20 metre yürümek için sabit iki taraflı destek (koltuk değneği, baston vb) gerekir. (Genel FS eşdeğerleri ikiden çok FS’de 3 veya daha fazla grade’de bozukluk kombinasyonları)

7.0 Yardımla bile 5 metrenin üzerinde yürüyemez, esasen tekerlekli sandalyeye muhtaç; standart tekerlekli sandalyeyi sürebilir, veya tek başına yer değiştirebilir; günde 12 saatini tekerlekli sandalyede geçirir. (genel FS eşdeğerleri birden fazla FS’de grade 4+ kombinasyonlarıdır. (çok nadiren, tek başına piramidal grade 5)

7.5 Birkaç adımdan fazlasını atamaz, tekerlekli sandalyeye bağımlı; yer değiştirmek için yardıma ihtiyaç olabilir; sandalyeyi sürebilir, fakat standart tekerlekli sandalyede tüm gününü geçiremez, motorlu tekerlekli sandalyeye ihtiyaç duyabilir (genel FS eşdeğerleri birden fazla FS’de grade 4)

8.0 Esas olarak yatak veya sandalyeye bağımlı ya da tekerlekli sandalye ile hareket edebilir, fakat günün çoğunu yatak dışında geçirebilir, birçok işini kendisi görebilir, genellikle kollarını etkin kullanabilir. (Genel FS eşdeğerleri birden çok sistemde 4+ grade’lerin kombinasyonları)

8.5 Günün büyük kısmında yatağa bağımlıdır, kollarını bir miktar etkin kullanabilir, bazı kendine bakma fonksiyonlarını devam ettirebilir, (genel FS eşdeğerleri birçok sistemde genellikle grade 4+ kombinasyonları)

9.0 Ümitsizce yatağa bağımlı; iletişim kurabilir ve yemek yiyebilir. (Genel FS eşdeğerlerinin çoğu 4+ kombinasyonları)

9.5 Tamamen çaresiz, yatalak; etkin iletişim kurulamaz ya da yiyemez, yutamaz. (Genel FS eşdeğerlerinin hemen hepsi grade 4+ kombinasyonları)

10. MS’e bağlı ölüm.

FONKSİYONEL SİSTEMLER

Piramidal fonksiyonlar

0. Normal

1. Yetersizlik (Malüliyet olmaksızın anormal belirtiler)

2. Minimal özürlülük

3. Hafif ya da orta derecede paraparezi ya da hemiparezi ya da şiddetli monoparezi

4. Belirgin paraparezi ya da hemiparezi; orta derecede quadriparezi ya da monoplegji

5. Paraplegji, hemipleji veya belirgin quadriparezi

6. Bilinmeyen

Serebellar Fonksiyonlar

0. Normal
1. Özürlülük olmaksızın anormal belirtiler
2. Hafif ataksi
3. Orta derecede gövde veya ekstremitte ataksisi
4. Tüm ekstremitelerde şiddetli ataksi
5. Ataksi nedeniyle koordineli hareketleri yerine getirmede beceriksizlik
6. Bilinmeyen

Beyinsapı Fonksiyonları

0. Normal
1. Yalnızca belirti var
2. Orta derecede nistagmus ya da diğer hafif yetersizlikler
3. Şiddetli nistagmus, belirgin ekstraokuler kuvvetsizlik ya da orta derecede diğer kranyal sinirlerin yetersizliği
4. Belirgin dizartri ya da diğer belirgin yetersizlikler
5. Yutma ya da konuşmada beceriksizlik
6. Bilinmeyen

Duyusal fonksiyonlar

0. Normal
1. Bir ya da iki ekstremitede vibrasyon ya da grafestezi duyusunda azalma
2. Bir ya da iki ekstremitede dokunma veya ağrı ya da pozisyon duyusunda hafif azalma ve/veya orta derecede vibrasyon duyusunda azalma veya üç ya da dört ekstremitede tek başına vibrasyon duyusunda azalma
3. Bir ya da iki ekstremitede dokunma veya ağrı ya da pozisyon duyusunda orta derecede azalma ve/veya bir ya da iki ekstremitede vibrasyon duyusu kaybı veya dokunma ve ağrı duyusunda hafif azalma ve/veya 4 ekstremiteden 3 tanesinde orta derecede propriyoseptif duyu azalması

4. Bir ya da iki ekstremitede, tek başına veya kombine, dokunma veya ağrı duyusunda belirgin azalma ve derin duyu kaybı; veya iki ekstremiteden fazlasında dokunma veya ağrı duyusunda orta derecede azalma ve/veya derin duyuda ileri derecede azalma
5. Bir veya iki ekstremitede duyu kaybı; veya baş altındaki vücudun hemen tamamında dokunma veya ağrı duyusunda orta derecede azalma ve/veya derin duyu kaybı
6. Baş altında duyu kaybı
7. Bilinmeyen

Barsak ve Mesane fonksiyonları

0. Normal
1. Hafif üriner tutukluk, aciliyet veya retansiyon
2. Barsak veya mesanede orta derecede tutukluk, aciliyet, retansiyon ya da nadir üriner inkontinans
3. Sık üriner inkontinans
4. Hemen daima kateterizasyon ihtiyacı içinde olma
5. Mesane fonksiyon kaybı
6. Barsak ve mesane fonksiyonlarının kaybı
7. Bilinmeyen

Görsel (Optik)Fonksiyonlar

0. Normal
1. Skotom ile düzeltilmiş görme keskinliği 20/30 veya daha iyi
2. Daha kötü gözde skotom ile maksimal düzeltilmiş görme keskinliği 20/30 ile 20/59 arası
3. Daha kötü gözde geniş skotom, görme alanlarında orta derecede azalma, fakat maksimal düzeltilmiş görme keskinliği 20/60 ile 20/99 arası
4. Daha kötü gözde görme alanlarında belirgin derecede azalma ve maksimal düzeltilmiş görme keskinliği 20/10 ile 20/200 arasında, üçüncü dereceye ek olarak daha iyi gözün maksimal görme keskinliği 20/60 veya daha az

5. Daha kötü gözde düzeltilmiş maksimal görme keskinliği 20/200'den daha az, dördüncü dereceye ek olarak daha iyi gözün maksimal görme keskinliği 20/60 veya daha az
6. Beşinci dereceye ek olarak daha iyi gözün maksimal görme keskinliği 20/60 veya daha az
7. Bilinmeyen

Serebral Fonksiyonlar

0. Normal
1. Sadece duygulanımda değişiklik
2. Zihinsel aktivitede hafif azalma
3. Zihinsel aktivitede orta derecede azalma
4. Zihinsel aktivitede belirgin derecede azalma (orta derecede kronik beyin sendromu)
5. Demans ya da şiddetli veya yetersiz kronik beyin sendromu
6. Bilinmeyen

Diğer fonksiyonlar

a) Spastisite

0. Yok
1. Hafif
2. Orta derecede
3. Şiddetli
4. Bilinmeyen

b) Diğer

1. Yok
2. MS'e bağlanabilen diğer nörolojik bulgulardan herhangi biri
3. Bilinmeyen

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Grubu Bu çalışmaya ocak 2010-haziran2010 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Nöroloji Polikliniğine başvuran en az 1 yıldır immünmodülatör tedavi alan ve en son atağını 1 ay veya daha uzun süre önce geçirmiş olan 60 MS hastası (41 kadın, 19 erkek) dahil edilmiştir. Hastaların ortalama yaşı 29.7 ± 5.3 idi. Kontrol grubu nörolojik muayenesi normal, 30 sağlıklı gönüllüden (19 kadın ve 11 erkek) oluşmuştur ve bunların ortalama yaşları 32.8 ± 9.9 idi. Çalışma için, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi etik komitesinden gerekli onay alındı (11-26.05.10). Araştırma destekleyicisi **Merck Serono Türkiye Firmasıdır.**

Çalışma protokolü hakkında bilgilendirildikten sonra, bilgilendirilmiş onay formunu imzalayan hastalardan rutin uygulamalar dışında sadece bir kez periferik venöz kan örneği alınmıştır. Bir adet EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinde TNF alfa, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyi bakılmıştır.

Çalışmaya katılan hastaların anamnezleri alınarak, sistemik ve nörolojik muayeneleri yapılmıştır. Klinik, laboratuvar ve görüntüleme tetkikleriyle Mc Donald kriterlerine göre kesin MS tanısı konan hastaların EDSS skorları hesaplanmıştır. 60 MS hastası ve 30 kontrol grubu çalışmaya dahil edilmiştir. MS hastaları aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır: 30 hastada hastalık süresi kısa olan bir RR seyri (Kısa süreli relapsing remitting, KSRR, ≤ 5 yıl RRMS), 10 hastada hastalık süresi uzun olan RR seyri (Uzun süreli relapsing remitting, USRR, ≥ 10 yıl RRMS), 10 hastada sekonder progresif (SP) seyir ve 10 hastada primer progresif (PP) seyir saptanmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri

- 1- MS ile uyumlu, inflamatuvar demyelinizan hastalık tanısı almak
- 2- Neoplazi, enfeksiyon, vasküler ya da non demyelinizan proinflamatuvar bir etyolojiye ait klinik, radyolojik, serolojik ya da patolojik bir bulgunun saptanmaması
- 3- Dicle Üniversitesi Nöroloji poliklinliniğinde takip edilen, Mc Donald tanı kriterlerine göre kesin MS tanısı almış, gönüllü olmayı kabul etmiş, bilinen bir otoimmün veya sistemik hastalığı olmayan, en az 1 yıldır immünmodülatör tedavi almakta olan ve en son atağını 1 aydan daha uzun sürede geçirmiş olan, 18-60 yaş arası kadın veya erkek hastalar
- 4- Multipl sklerozis hastalığını düşündürecek herhangi bir şikayeti olmayan sağlıklı gönüllüler

Çalışmadan dışlama kriterleri

1. Dicle Üniversitesi Nöroloji polikliniğinde takip edilen, Mc Donald tanı kriterlerine göre kesin MS tanısı almamış hastalar
2. 18 yaşından küçük ya da 60 yaşından büyük bireyler
3. MS dışında başka sistemik veya otoimmün hastalığı olanlar, hipo/hipertiroidisi olduğu bilinen, çölyak hastalığı tanısı olanlar, serebrovasküler hastalık tanısı olanlar, arteriyel ve venöz trombozu, habituel abortus, gastrointestinal sistem şikayetleri gibi belirgin şekilde başka hastalıkları düşündürecek anamnezi olan hastalar
4. Bilgilendirilmiş onay formunu okuyup çalışma protokolünü kabul etmeyen hastalar .
5. MS hastası olup immunsupresif ajan alan hastalar

3.2. 1 Yapılan İncelemeler

Çalışmaya alınan tüm hastaların ayrıntılı nörolojik ve sistemik muayeneleri, EDSS skorlarının hesaplanması, rutin laboratuvar tetkikleri (kan sayımı, elektrolitler, kan şekeri, lipid değerleri ve diğer parametreler)

3.2.2 MMP'ler ve TNF α 'nın çalışma prensibi

Hastalardan EDTA'lı tüplere venöz kan örnekleri alınmıştır. Bu kan örnekleri 3500 devirde 5 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Ependorf tüplerine ayrıştırılan plazma örnekleri tetkik edilinceye kadar derin dondurucuda -70 santigrad derecede muhafaza edildi. Plazma MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyleri, ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemiyle ticari olarak elde edilebilir kitler (Calbiochem, Darmstadt, Germany, Cat. NO. Sırasıyla QIA63, QIA56, QIA54 ve QIA40) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre ölçülmüştür. TNF- α düzeyleri yine Kiemiluminesent (Immulate) yöntemiyle ticari olarak elde edilebilir bir kit (DPC/Siemens, TNF- α Immunoassay kit, Los Angeles, CA, USA) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre ölçülmüştür. Ölçümler hastanemizin biyokimya laboratuvarınca gerçekleştirildi.

3.3. İstatistiksel değerlendirme

Bu çalışmadaki istatistiksel analizlerin hepsi SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Çalışmaya alınan hastaların başlangıç şikayetlerine ait bulgular, yüzdesel ve sıklık(f) olarak ifade edildi.

Çalışmaya alınan gruplar **Anova** testi kullanılarak analiz edildi. Anova testi sonucunda anlamlı çıkan grupların farklılıklarını bulmak için **Post Hoc** ile **Bonferroni** düzeltmesi yapıldı. Cinsiyete göre gruplar arasında farklılığın olup olmadığı **Ki Kare** testi kullanılarak analiz edildi.

4. BULGULAR

MS popülasyonu 41'i (%68.3) kadın, 19'u (%31.7) erkek olmak üzere 60 kişiden oluşturuldu ve ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS şeklinde gruplara ayrıldı. Kontrol grubu 19'u(%63.33) kadın, 11'i(%26.67) erkek olmak üzere 30 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu.

Tablo 4.1'de cinsiyete göre gruplar arasında farkı bulmak için Ki-Kare testi ile uygulandı. Ki-Kare değeri 3,00; p değeri 0,558 bulundu. Gruplar arasında cinsiyet farkı istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($P>0,05$).

Tablo 4.2'de gruplar arası yaş dağılımı Anova testi ile analiz edildi. Gruplar arasında farklılık olduğu saptandı. Anlamlı farklılık gözlenen gruplara Post Hoc, Bonferroni düzeltmesi yapılarak **Tablo 4.3'**de gösterildiği gibi anova testi ile anlamlı bulunan grupların ikili karşılaştırmaları yapıldığında, istatistiksel olarak sadece ≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS arasında anlamlı fark gözlemlenmiş olup $P<0,05$, diğer karşılaştırmalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P>0,05$).

Tablo 4.4' de ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS grupları, EDSS skoru ve hastalık süresi açısından Anova testi ile analiz edildi. EDSS skoru ve hastalık süresi için yapılan karşılaştırma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$)

Tablo 4.5'de ≤ 5 yıl RRMS , ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS grupları ikiye ayrılmış gruplar halinde karşılaştırmak için Post Hoc , Bonferroni düzeltmesi yapıldı. EDSS skoru için ≤ 5 yıl RRMS ile SPMS, ≤ 5 yıl RRMS ile PPMS, ≥ 10 yıl RRMS ile SPMS, ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($P<0,05$).

≤ 5 yıl RRMS grubunun **EDSS skoru** SPMS ve PPMS'e göre daha düşük bulunmuştur. ≥ 10 yıl RRMS grubunun EDSS skoru SPMS ve PPMS'e göre daha düşük bulunmuştur.

Hastalık süresi için ≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS, ≤ 5 yıl RRMS ile SPMS, ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS, SPMS ile PPMS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($P<0,05$).

SPMS ile ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS karşılaştırıldığında **SPMS'in hastalık süresi** daha **uzundur**. ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS karşılaştırıldığında **≥ 10 yıl RRMS'in hastalık süresi** daha **uzundur**.

Tablo 4.6'da laboratuvar değerleri (MMP-2, 9; TIMP-1,2 ve TNF- α), beş gruba (≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol) göre Anova testi ile analiz edildi. TNF alfa ve TIMP-1 için yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P < 0,05$).

Tablo 4.7'de ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol grupları ikişerli gruplar halinde karşılaştırmak için Post Hoc , Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P < 0,05$).

TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS gruplarında kontrole göre daha **düşük** bulundu.

TIMP-1 plazma düzeyi; PPMS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($P < 0,05$).

Tablo 4.8' de MS hastalarının klinik özellikleri, hastalığın ilk başlangıç bulgularının sıklığı yüzde olarak verildi.

Tablo 4.1. Cinsiyet için Ki-Kare Testi

Gruplar	Cinsiyet		Toplam
	Erkek	Kadın	
≤ 5 yıl RRMS	23	7	30
≥ 10 yıl RRMS	7	3	10
SPMS	5	5	10
PPMS	6	4	10
Kontrol	19	11	30
Toplam	60	30	90

Ki Kare değeri 3,00; P değeri 0,558'dir.Cinsiyete göre gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktur. $P > 0.05$.

Tablo 4.2’de gruplar arası yaş dağılımı Anova ile test sonuçları

Yaş	≤ 5 yıl RRMS ortalama ± SD	≥ 10 yıl RRMS ortalama ± SD	SPMS ortalama± SD	PPMS ortalama± SD	Kontrol ortalama± SD	ANOVA F	P
	26,83±7,652	35,60±6,899	34,40±9,143	27,60±6,703	32,80±9,950	3,639	0,009

Gruplar arası yaş dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$).

Tablo 4.3. Post Hoc testi ve Bonferroni düzeltmesi yapılarak yaş dağılımı ikili gruplar halinde karşılaştırıldı,

Grup Karşılaştırmaları	P değeri	P
≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS	0.049	$P<0.05$
≤ 5 yıl RRMS ile SPMS	0.170	$P>0.05$
≤ 5 yıl RRMS ile PPMS	1.000	$P>0.05$
≤ 5 yıl RRMS ile Kontrol	0.080	$P>0.05$
≥ 10 yıl RRMS SPMS	1.000	$P>0.05$
≥ 10 yıl RRMS PPMS	0.385	$P>0.05$
≥ 10 yıl RRMS Kontrol	1.000	$P>0.05$
SPMS ile PPMS	0.775	$P>0.05$
SPMS ile Kontrol	1.000	$P>0.05$
PPMS ile Kontrol	0.979	$P>0.05$

İkili gruplar halinde yaş dağılımları karşılaştırıldı, istatistiksel olarak sadece ≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS arasında anlamlı fark gözlemlenmiş olup $P<0,05$, diğer karşılaştırmalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P>0,05$).

Tablo 4.4. EDSS Skoru ve Hastalık Süresinin MS popülasyonuna göre ANOVA test sonuçları

	≤ 5 yıl RRMS ortalama $\pm$ SD	≥ 10 yıl RRMS ortalama $\pm$ SD	SPMS ortalama $\pm$ SD	PPMS ortalama $\pm$ SD	ANOVA F	P
EDSS Skoru	1,60 $\pm$ 1,062	2,60 $\pm$ 1,022	5,60 $\pm$ 1,125	5,05 $\pm$ 1,301	46,180	0,000*
Hastalık Süresi	1,87 $\pm$ 1,167	12,10 $\pm$ 3,725	9,00 $\pm$ 6,766	3,60 $\pm$ 2,797	28,229	0,000*

* EDSS skoru ve hastalık süresi için istatistiksel test sonucu $P < 0,05$.

Tablo 4.5. EDSS Skoru ve hastalık süresinin ikişerli gruplar halinde Post Hoc , Bonferroni düzeltmesi yapılarak elde edilen test sonuçları

	EDSS Skoru p	Hastalık Süresi P
≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS	0,099	0,000
≤ 5 yıl RRMS ile SPMS	0,000	0,000
≤ 5 yıl RRMS ile PPMS	0,000	1,000
≥ 10 yıl RRMS ile SPMS	0,000	0,277
≥ 10 yıl RRMS ile PPMS	0,000	0,000
SPMS ile PPMS	1,000	0,005*

EDSS skoru için; ≤ 5 yıl RRMS ile SPMS , ≤ 5 yıl RRMS ile PPMS grubunu, ≥ 10 yıl RRMS ile SPMS, ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($P < 0,05$).

≤ 5 ve ≥ 10 yıl RRMS grubunun **EDSS skoru** SPMS ve PPMS'e göre daha **düşük** bulunmuştur.

Hastalık süresi için ≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS, ≤ 5 yıl RRMS ile SPMS, ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS, SPMS ile PPMS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($P < 0,05$). SPMS ile ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS karşılaştırıldığında **SPMS'in hastalık süresi** daha **uzundur**. ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS karşılaştırıldığında **≥ 10 yıl RRMS'in hastalık süresi** daha **uzundur**.

Tablo 4.6 Laboratuvar değerlerinin beş farklı gruba göre ANOVA test sonuçları

	≤ 5 yıl RRMS ortalama± SD	≥ 10 yıl RRMS ortalama± SD	SPMS ortalama± SD	PPMS ortalama± SD	Kontrol ortalama± SD	ANOVA, F	P
TNF Pg/mL	15,09 ± 4,884	16,56 ± 8,806	16,21±4,770	13,44±3,144	21,76±6,483	6,645	0,000
MMP-2 ng/mL	663,6 ± 164,4	674,4 ± 61,74	652,3±152,2	647,7±144,9	544,9±199,9	2,445	0,053
TIMP-2 ng/mL	115,2 ± 21,50	94,66 ± 33,77	109±24,43	104,1±27,22	109,5±24,90	1,372	0,250
MMP-9 ng/mL	61,83 ± 34,38	65,11 ± 22,90	62,9±27,62	65,54±27,18	71,27±43,08	0,292	0,883
TIMP-1 ng/mL	166,1 ± 45,97	171,6 ± 39,04	154,7±38,45	135,8±19,43	184,9±40,50	3,194	0,017
MMP-2/TIMP-2	6,377 ± 3,741	8,610 ± 4,867	6,416±2,557	6,655±2,600	5,251±2,259	2,107	0,087
MMP-9/TIMP-1	0,393±0,241	0,404±0,180	0,415±0,189	0,5±0,2290	0,429±0,316	0,343	0,848

Tablo 4.6’da laboratuvar değerleri beş gruba göre Anova testi ile analiz edildi.

*TNF alfa ve TIMP-1 için istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (P<0,05).

***MMP-9, MMP-2, TIMP-2, MMP-9/TIMP-1 ve MMP-2/TIMP-2 değerleri için;** ≤5 yıl RRMS, ≥10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir (P>0,05).

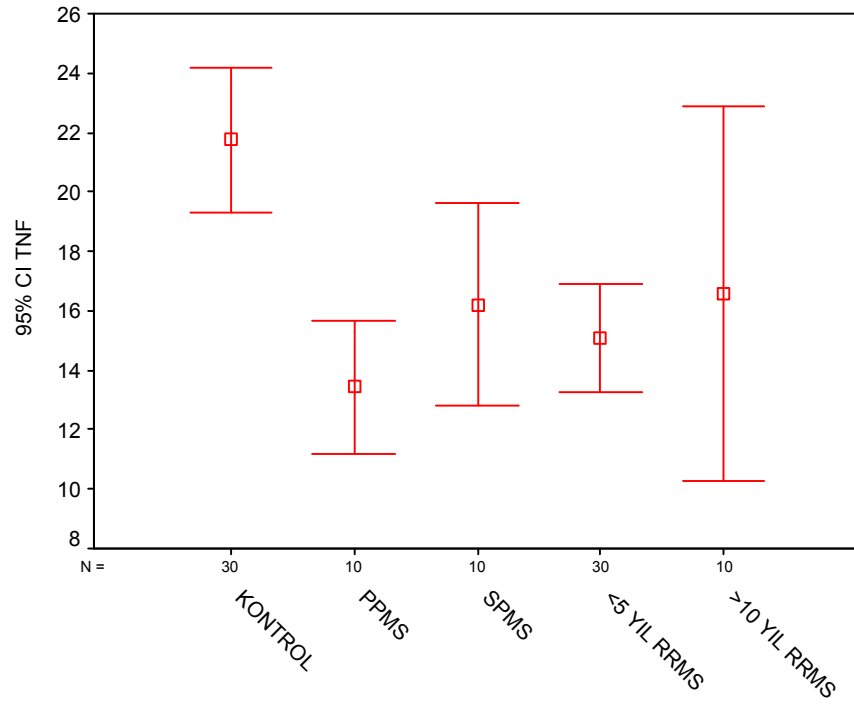
Tablo 4. 7. ANOVA’ya göre farklı bulunan grupların ikişerli gruplar halinde PostHoc, Bonferroni karşılaştırma sonuçları

	TNF P	TIMP-1 P
≤ 5 yıl RRMS ile Kontrol	0,000	0,755
PPMS ile Kontrol	0,002	0,013

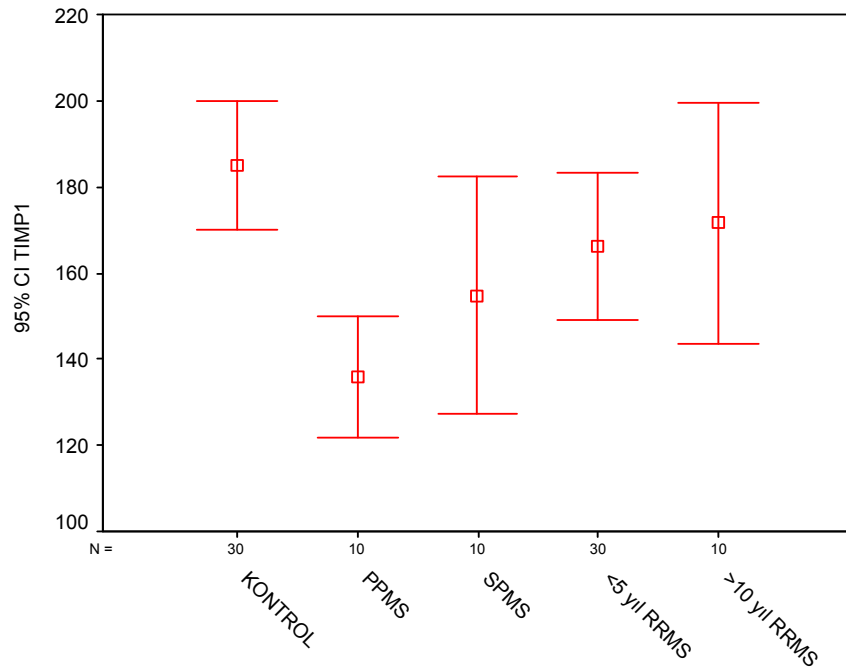
Tablo 4.7’de ≤5 yıl RRMS, ≥10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol grupları ikişerli gruplar halinde karşılaştırıldı..

TNF alfa plazma düzeyi; ≤5 yıl RRMS ve PPMS, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P<0.05). **TNF alfa plazma düzeyi** ≤5 yıl RRMS ve PPMS gruplarında kontrole göre daha **düşük** bulundu.

TIMP-1 plazma düzeyi; PPMS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (P<0,05). **PPMS** grubunun **TIMP-1 plazma düzeyi** **kontrol** grubuna göre **düşük** çıkmıştır.



Şekil 4.1. MS popülasyonu ve kontrol grubunun TNF değerleri;



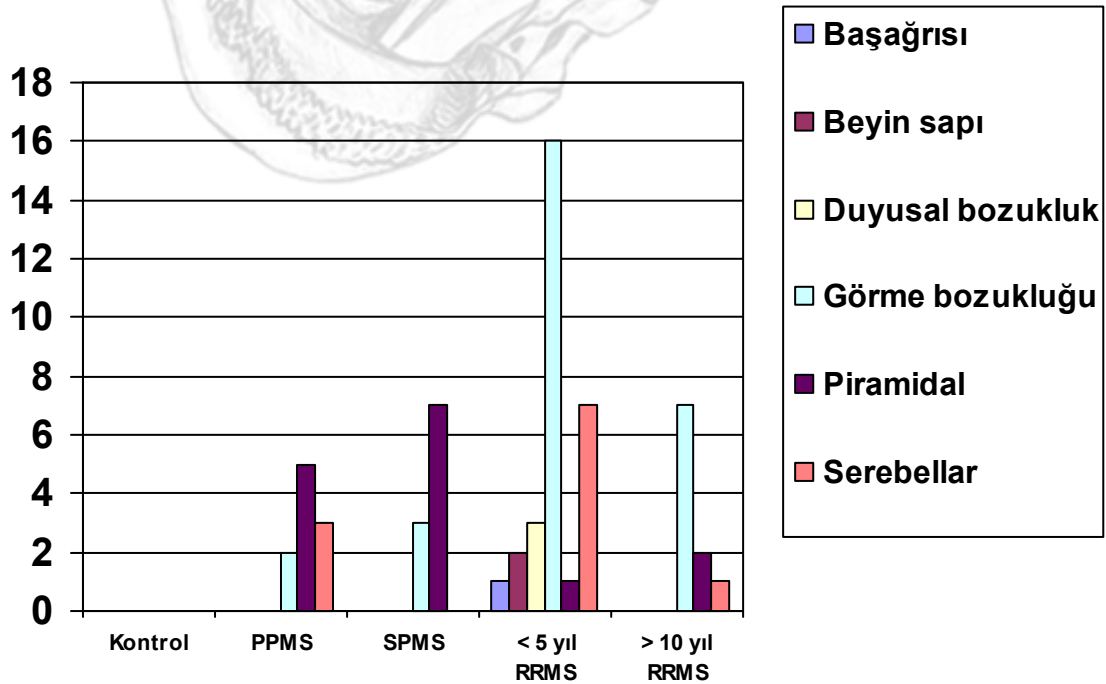
Şekil 4. 2. MS popülasyonu ve kontrol grubunun TIMP-1 değerleri

Tablo 4.8. MS hastalarının klinik özellikleri, hastalığın ilk başlangıç bulgularının sıklığı

Başlangıç Şikayeti (Semptom)	PPMS	YÜZDE	SPMS	YÜZDE	≤ 5 yıl RRMS	YÜZDE	≥ 10 yıl RRMS	YÜZDE
	n=10		n=10		n=30		n=10	
Baş ağrısı					1	3,3		
Beyin sapı					2	6,6		
Duyusal bozukluk					3	10		
Görme bozukluğu	2	20	3	30	16	53,3	7	70
Piramidal	5	50	7	70	1	3,3	2	20
Serebellar	3	3			7	23,3	1	10

PPMS ile SPMS gruplarında piramidal bulgular daha yaygın iken; ≤ 5yıl RRMS ve ≥10 yıl RRMS gruplarında görme bozukluğu daha yaygındır.

Şekil 4. 3. MS hastalarının klinik özellikleri, hastalığın ilk başlangıç bulgularının sıklığı



5. TARTIŞMA

Çalışmamıza dahil edilen MS popülasyonu 41'i (%68.3) kadın, 19'u (%31.7) erkek olmak üzere 60 kişiden oluşturuldu. Kontrol grubu ise 19'u(%63.33) kadın, 11'i(%26.67) erkek olmak üzere 30 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu. Hasta grubu ile kontrol grubu kadın ve erkek cinsiyet açısından karşılaştırıldığında homojen dağılım izlendi.

MS popülasyonundaki RR MS hastaları; kısa (≤ 5 yıl) ve uzun (≥ 10 yıl) hastalık süresine göre bölünerek, popülasyonların, ≥ 10 yıl ile geç/kronik, ≤ 5 yıl ile erken-yakın ile başlangıç/aktif ancak progresif MS formlarına (SPMS ve PPMS) kıyasla çoğunlukla selim hastalık biyolojik markırının araştırılması için ayrılması amaçlanmıştır. Buna göre MS popülasyonu; ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS ve SPMS şeklinde dört gruba ayrıldı. ≤ 5 yıl RRMS ve ≥ 10 yıl RRMS grubunun EDSS skoru SPMS ve PPMS'e göre daha düşük bulundu ($P<0,05$). SPMS'in hastalık süresi, ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS göre daha uzundu ($P<0,05$). ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS karşılaştırıldığında ≥ 10 yıl RRMS'in hastalık süresi daha uzun bulundu ($P<0,05$). Sonuçlar çalışmamızdaki grupları ayırıştırma mantığımızı destekler niteliktedir.

Hastaların başlangıç semptomu olarak, PPMS ile SPMS gruplarında piramidal bulgular; ≤ 5 yıl RRMS ve ≥ 10 yıl RRMS gruplarında ise görme bozukluğu daha yaygın olarak bulundu.

Cinsiyete göre gruplar arasında farkı bulmak için Ki-Kare testi ile uygulandı. Ki-Kare değeri 3,00; p değeri 0,558 bulundu. Gruplar arasında cinsiyet farkı istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0,05$).

Lucchinetti ve ark., 2000 yılında MS hastalarından alınan biyopsi ve otopsi dokuları incelemişler ve çalışmalarında farklı ve heterojen patojenik yolakların, bireysel hastalarda farklı zamanlarda çalışabildiğini gösteren bulgular elde etmişlerdir (66). MS'deki patolojik ve klinik manifestasyonların yaşa bağlı olduğunu gösteren yakın tarihli deneysel (254), Trojano ve ark., klinik (255) araştırmaları ve Filippi ve ark., MRI verileriyle (256) uyumlu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda gruplar arası yaş dağılımı incelendiğinde istatistiksel olarak sadece ≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS arasında anlamlı fark gözlemlenmiş olup $P<0,05$, diğer karşılaştırmalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. $P>0,05$.

C. Avolio ve ark. uzun süreli RR MS’de, kısa süreli RR MS ile, progresif MS ile kontrol grubunu karşılaştırdıklarında MMP-2/TIMP-2 oranında açık, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış saptamışlardır (257). Bizim sonuçlarımızda C. Avolio ve ark. destekler niteliktedir.

2002 yılında Itoh ve ark. (258) tarafından, murin romatoid artrit modelinde, MMP-2 fonksiyonunun engellendiği farelerde, “vahşi tip” farelere kıyasla ağır klinik ve histolojik hastalık ortaya çıktığını göstermiş olması ve bu yazarlar aynı zamanda MMP-9’un enflamatuvar eklem hastalığı gelişiminde kilit bir rol oynadığını kanıtlamış olması nedeniyle, MMP-2’nin, muhtemelen progresif MS’de (ve aynı biçimde uzun süreli hastalıkta) ve sağlıklı bireylerde, enflamasyon üzerinde sırasıyla baskılayıcı ve kontrol edici rolleri olduğu varsayımı ileri sürülebilmektedir. Bu nedenle MS hastalığında, MMP-2’nin doku onarımındaki (259) ya da nöron ölümündeki (260) ve akson hasarındaki (261) rolü dışlanamamaktadır. Literatürde MMP-2 değeri için, RRMS hastaları ile SPMS hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik görülmemiştir (262,263). Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edildi. Ancak MS hastalarından oluşan tüm grupların MMP-2 plazma düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı ve bu her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasada klinik olarak; beyin kendini korumak için inflamasyona verdiği reaktif yanıtta kaynaklanıyor olabilir. MR spektroskopisi ya da patolojik kanıtların, bu önemli noktanın aydınlatılmasına yardımcı olması mümkündür.

Son zamanlarda gösterildiği ve rapor edildiği gibi, kortikal beyaz maddeye aktive edilmiş MMP mikroenjeksiyonu, aksonal hasarla sonuçlanmaktadır (261). Ek olarak, MS plaklarında TIMP-1 ekspresyonu değil, fakat MMP-9 ekspresyonu upregüle edilmiştir (264). MMP-9 ile TIMP-1 ekspresyonları arasındaki bir dengesizlik, PPMS’de persistan (inatçı) proteolitik fazla-aktiviteye sebep olabilir ve bu da, devam eden doku tahribatı ve hasarında ve hastalığın ilerlemesinde bir faktör olabilir. Periferik kanda MMP-9 upregülasyonunun mutlaka ve daima SSS’de bir MMP-9 upregülasyonuna tekabül etmediğini ve bu anlama gelmediğini biliyoruz. Ancak şu ana kadar bildirilen pek çok veri, RRMS’de relapstan önce periferik kan hücrelerinde ve serumda proinflamatuvar sitokinlerde ve MMP-9’da bir artış olduğunu göstermiştir ve bu da, periferik kanda meydana gelen değişimlerin MS’de doku hasarı ve tahribatına yol açan patolojik prosesi en azından kısmen yansıtabileceğini göstermektedir (147,265-267).

RRMS’den hem demografik ve immünolojik özellikleri açısından hem de MRI kriterleri açısından farklı olan PPMS hakkında sadece sınırlı miktarda veri mevcuttur. Maryna Yuschenko ve ark laboratuvar-destekli kesin PPMS tanısı konulmuş 19 hasta ile yaptıkları

araştırmada PPMS hastalarında MMP-9 serum seviyelerini daha yüksek bulmuşlardır ve IFN- β 1b ile tedavi sırasında, 19 PPMS hastasından 18'inin serumunda MMP-9 konsantrasyonunun azaldığını bulmuşlardır (268). Bizim çalışmamızda gruplar arasında MMP-9 düzeyi açısından istatistiksel olarak farklılık izlenmemiştir ($P=0,883$).

Maryna Yuschenko ve ark yürüttükleri araştırmada RRMS ile PPMS grupları arasında TIMP-1 serum seviyeleri açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (268). Bizim çalışmamızda Maryna Yuschenko ve ark'nın araştırmasına benzer şekilde RRMS ile PPMS grupları arasında TIMP-1 serum seviyeleri açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ancak PPMS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($P<0,05$). PPMS grubunun TIMP-1 plazma düzeyi kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. TIMP-1, MMP-9'un potent inhibitörü olduğuna göre, PPMS hastalarının dizabilite artışı TIMP-1'deki düşüklükten kaynaklanıyor olabilir. Bu da TIMP-1 plazma düzeyi tayinin prognostik faktör olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda TIMP-1 ile lökosit düzeylerinde negatif korelasyon saptanmıştır (180). Buna göre TIMP-1 düzeyindeki düşüşün doku düzeyinde lökositlerin artmasına ve inflamasyonun devamlılığına neden oluyor olabilir. Bu da ataktan bağımsız bir şekilde MS hastalarında MRI teknikleriyle de kanıtlanan yeni lezyonların oluşumunu açıklar niteliktedir.

Maryna Yuschenko ve ark PPMS hastalarında MMP-9/ TIMP-1 oranının sağlıklı kontrol deneklerine kıyasla yükseldiğini göstermişlerdir (268). Waubant ve arkadaşları da son zamanlarda yayınladıkları uzun-sürelili gözlem araştırmalarında SPMS hastalarında IFN- β 'nin serumda MMP-9/ TIMP-1 oranını düşürdüğünü ve yeni gelişen lezyonları azalttığı göstermişlerdir (221). Bizim çalışmamızda gruplar arasında MMP-9/ TIMP-1 oranı için istatistiksel olarak fark izlenmemiştir ($P>0,05$).

IFN- β 1b'nin MMP-9 seviyesini bastırması, bu ilacın PPMS hastalarında immünomodülatör aktivite gösterdiğine işaret etmektedir. IFN- β , RRMS hastalarında yerleşmiş ve bilinen bir tedavi ajanıdır (269) ve yapılan son araştırmalar, tedavi sırasında MMP-9 mRNA veya serum seviyelerini baskılandığını (262, 263) ve aynı zamanda, TIMP-1'de bir artış olduğunu (270,271) göstermiştir. Bizim çalışmamızda immünomodülatör tedavi almakta olan hastaları kapsamakta ve hastalarda literatüre uygun şekilde açık olarak MMP-9 plazma düzeyi hasta gruplarında kontrole göre düşük izlenmiştir ancak istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. TIMP-1 plazma düzeylerinde kontrollere göre artış değil, düşüş izlenmiştir. Keza literatürde SPMS hastalarında, IFN- β ile tedavi sırasında periferik kan mononükleer hücrelerinde MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonu hakkında bilgi ve verilerde çelişkilidir (262,270).

Astrosit ve mikroglial hücrelerinden, proinflatuar ajanların stimulasyonu sonrası MMP-9 ve MMP-2 üretimi gerçekleşir (272-274). Hasar sonrasında serebral kapillerlerin de MMP-9 ürettikleri gösterilmiştir (275,276). Nötrofilerde ayrıca stimulanlara cevap olarak MMP-9 salgılar (277,278).

Lucivero ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise 29 iskemik inmeli olguda MMP-2, 9 düzeylerine inmenin 1. ve 7. günlerinde bakılmış. MMP-2 laküner inmede artarken diğerlerinde, daha geniş iskemisi bulunanlarda, MMP-9 artmıştı (279). Stabil dönemdeki MS hastaları ve kontrol grubunu içeren bu çalışmamızda gruplar arası MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri istatistiksel olarak anlamsız çıkmıştır ancak tüm MS gruplarının MMP-2 plazma düzeyi kontrole göre belirgin yüksek, MMP-9 plazma düzeyi ise düşük bulunmuştur. Kronik süreçte MS lezyonlarının laküner enfaktları andırır tarzda küçük hacimli olması Lucivero ve ark.'nın yaptığı çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir ve daha önce MS hastalarıyla atak döneminde yapılan çalışmalarda MMP-9 düzeyleri yüksek bulunmuşturki bu MS'de atak gelişmesi için büyük iskemik olaylardaki mekanizmaların bir şekilde devreye girdiğini düşündürmektedir. Ancak bunu ortaya koymak için laboratuvar destekli daha çok çalışmaya gereksinim olduğu aşıkardır.

Lucivero ve ark.'nın yaptığı çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde stabil seyreden veya iyileşme gösteren hastalarda MMP-2 artmış iken kötüleşme gösteren grupta MMP-9 düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (279). Dolayısıyla erken dönem ve iyi prognozdan MMP-2, geç dönem kötü prognozdan MMP-9 sorumlu gibi görünmektedir.

Son yıllarda peptid ve non-peptid yapıda sentetik MMP inhibitörleride üretimiştir (279-282). Bu inhibitörler en çok kanser tedavisinde olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, artrit, psöriazis, peridontal hastalık ve makula dejenerasyonu gibi hastalıklarda denenmiştir. Bu ilaçların düz kas hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu azalttığı dolayısıyla ateroskleroz gelişimini inhibe ettikleri deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (281-285). Santral sinir sistemi hastalıklarının hayvan modellerinde MMP inhibitörleri ile kullanılarakda birçok çalışma yapılmıştır. Sonuçlar umut vericidir (165,187, 188, 286). Deneysel olarak MMP-2'nin indüklediği kan beyin bariyerinin açılması TIMP-2 tarafından engellenmiştir (203).

Tedavide amaç süregelen nöronal hasarı en başından durdurmaktır. Endojen iyileşme çabalarında, özellikle de anjiyojenez, serebral kan akışının yeniden sağlanması ve nörojenik tepkinin düzenlenmesi süreçleri sırasında MMP'ler ve TIMP'ler büyük olasılıkla önemli roller üstlenmişlerdir.

Galboiz ve ark., spesifik bir MMP'nin her bir MS alt-tipinde yaygın tutulumunun ya da daha çok, MMP inhibitörlerine daha fazla duyarlılığı düşündürecek biçimde, bir MMP'nin yalnızca belirli bazı MS alttiplerinde tutulumunun, bunların spesifik inhibisyonları söz konusu olduğu takdirde terapötik etkileri olması mümkün olacağını savunmuşlardır (262). Günümüzde mevcut olan MS tedavileri arasında, in vitro (287,288) ya da in vivo (263) olarak IFN β ile MMP-9'un azaldığı, ancak bu azalmanın glatiramer asetat ile geçerli olmadığı (289,290) bildirilmiştir. Biz de araştırmamızda immünmodülatör tedavi altındaki stabil dönemdeki MS hastalarında kontrol grubuna göre MMP-9 plazma düzeylerinde istatistiksel olarak fark bulmadık ($P>0,05$).

MMP inhibisyonunun hayvan modellerinde yararlı etkileri akut EAE'nin bloke edilmesi ve geriye döndürülmesinin yanı sıra, kronik yineleme gösteren hayvanlarda yineleme sayısı ve ortalama kümülatif hastalık skorlarının azalmasıyla gösterilmiştir (291-293). IFN β ile EAE'den elde edilen deneyimler, insanlardaki hastalıkta, MMP inhibisyonunun kullanıldığı bir tedavi yaklaşımı için ümit verici olarak görülmektedir; ancak şimdiye değin, MMP inhibitörleri ile uygulanan MS tedavisinin, klinik yeti yitimi üzerinde herhangi bir etkisi olduğu gösterilmemiştir ve toksisite düzeyi çok yüksektir (294).

Hücre akıbeti spesifikasyonu, anjiyogenez, miyelinogenez, hücrelerin sağkalımı, aksonal büyüme, sinyal iletimi, nöron prekürsörünün nihai bölgelere göçü ve enflamasyonun sonlandırılmasında rol oynayabilmeleri nedeniyle (295), olgun sinir sisteminde, MMP'lerin hasardan sonra muhtemelen yararlı fonksiyonları vardır. Soru, yararlı etkilerinin zararlı olanlardan ayrılıp ayrılmayacağı ve MMP inhibitörlerinin enzimlerin hasar verici etkilerini bloke etmek için hedeflenip hedeflenemeyeceğidir (296). Bu nedenle hastalığın ilerlemesini önlemek, ancak fizyolojik MMP aktivitesinin bozulmadan kalmasını sağlamak için selektivitesi yüksek olan inhibitörler gerekli olacaktır (297). Potent MMP ve TNF inhibitörü (TMI) her ikisinin kombinasyonu bir takım bileşimler de üretilmiştir (142).

Akut ve aktif kronik aktif MS'de TNF-alfa protein ve onun mRNA'sı yoğun bir biçimde eksprese edilir. Bu sitokin yalnızca inflamatuvar yanıtı arttırmaz aynı zamanda demiyelinizasyona yol açtığı bilinmektedir (23). TNF-alfa blokajı nöroprotektiftir. Örneğin Lavine ve arkadaşları reperfüzyon hasarı sonrası nötralize antikorlar ile TNF-alfa blokajının nörolojik sonucu düzelttiğini göstermişlerdir (111). Bunun yanı sıra bazı çalışmalarda gösterilmiştir ki, TNF-alfa nöroprotektiftir. TNF-alfa hipokampal kültürlerde reaktif oksijen radikal toplanmasını suprese eder, amiloid alfa-peptidin sitotoksik etkisini düşürür, glutamat nedenli hücre ölümünü önler (112,113). TNF'nin endotelial hücrelerde adezyon molekülleri

ve yüzey antijenlerini uyararak kan lökosit infiltrasyonunu arttırdığına inanılır (298). Ek olarak, oligodendrositlerde TNF-alfanın sitotoksik etkileri in-vitro ve in-vivo olarak gösterilmiştir. Karşıt olarak TNF- alfanın aksonlarda rejeneratif etkisi ve astrositlerde sinir büyüme faktörü sentezinin artması ile nörotrofik etkisi gösterilmiştir (299).

Giselle Pentón-Rol ve ark. 2009 yılında yayınlanan 11 nöromyelitis optika hastasını içeren araştırmalarında TNF alfa düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük olarak bulmuşlardır (300). Bizim çalışmamızda TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P < 0,05$). TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS gruplarında kontrole göre daha düşük bulundu. Çalışmamız TNF alfa plazma düzeyinin hastalığın erken dönemlerinde patogeneze daha etkin rol oynadığı ve tek başına prognoz faktörü olarak kullanılabilecek değerde olabileceğini göstermektedir. Giselle Pentón-Rol ve ark. nöromyelitis optika hastalarıyla gerçekleştirdikleri yukarıda bahsettiğim aynı araştırmalarında serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini de değerlendirilmiş ancak hasta grubu ile kontrol grubu arasında farklılık saptamamışlardır (300). Bizim sonuçlarımızda aynı yöndedir. Bir araştırmada MS hastalarının lökosit mesenjer RNA'larında ve serumlarında artmış MMP-9 düzeyleri izlenmiş ve benzer bir şekilde MMP-9/ TIMP-1 serumdaki oranı, MS hastalarında normal popülasyona göre yüksek bulunmuştur (146). MS akut ataklarında ve iskemik inmenin akut döneminde MMP-9'un etkisi artık iyi bilinmektedir. Ancak MMP-2, 9, TIMP-1, TIMP-2 ve TNF alfa 'nın stabil dönemindeki MS hastalarındaki fizyopatolojik rolü hala açık değildir. Çalışmamız istatistiksel olarak anlamlı fark bulmasakta, kan beyin bariyerinin bozulmasında sorumlu tutulan MMP-2' ninde stabil MS hastalarında yüksek kalması, MMP-9'un kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmesi ve stabil MS hastalarında düşük olarak izlenmesi literatürdeki çalışmalarını destekler niteliktedir ve MS hastalığının patolojik prosesinde etkili olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamız sonucunda TNF alfa ve TIMP-1 plazma düzeylerindeki düşüşüklüğün MS'in stabilitesinde etken olduğu ortaya çıkmaktadır.

TNF alfa, MMP ve TIMP düzeyi açısından yaş, cinsiyet faktörü için fark bulunmadığından, MS hastasının izlemi sırasında stabil durumdayken plazma düzeyi tayini yararlı bir belirteç olarak kullanılabilir. İmmünmodüle edici etkinin olumlu bir klinik neticeye işaret edip etmediği henüz belirsizdir. Ancak bu çalışmada elde edilen sonuçların MS tedavisinde güncel yaklaşımlara ışık tutacağı ve yeni tedavi yöntemleri gelişimine ve uygun şekilde kullanımına katkıda bulunacağını umuyoruz.

6. SONUÇLAR

1. MS popülasyonu 41'i (%68.3) kadın, 19'u (%31.7) erkek olmak üzere 60 kişiden oluşturuldu ve ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS şeklinde gruplara ayrıldı. Kontrol grubu 19'u(%63.33) kadın, 11'i(%26.67) erkek olmak üzere 30 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu.
2. Cinsiyete göre gruplar arasında farkı bulmak için Ki-Kare testi ile uygulandı. Ki-Kare değeri 3,00; p değeri 0,558 bulundu. Gruplar arasında cinsiyet farkı istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0,05$).
3. Gruplar arası yaş dağılımı incelendiğinde istatistiksel olarak sadece ≤ 5 yıl RRMS ile ≥ 10 yıl RRMS arasında anlamlı fark gözlemlenmiş olup $P<0,05$, diğer karşılaştırmalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. $P>0,05$.
4. ≤ 5 yıl RRMS ve ≥ 10 yıl RRMS grubunun EDSS skoru SPMS ve PPMS'e göre daha düşük bulundu ($P<0,05$).
5. SPMS'in hastalık süresi, ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS göre daha uzundu ($P<0,05$). ≥ 10 yıl RRMS ile PPMS karşılaştırıldığında ≥ 10 yıl RRMS'in hastalık süresi daha uzun bulundu ($P<0,05$).
6. Hastaların başlangıç semptomu olarak, PPMS ile SPMS gruplarında piramidal bulgular; ≤ 5 yıl RRMS ve ≥ 10 yıl RRMS gruplarında ise görme bozukluğu daha yaygın olarak bulundu.
7. TNF alfa plazma düzeyi; ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0,05$). TNF alfa plazma düzeyi ≤ 5 yıl RRMS ve PPMS gruplarında kontrole göre daha düşük bulundu.
8. TIMP-1 plazma düzeyi; PPMS grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($P<0,05$).
9. MMP-9, MMP-2, TIMP-2, MMP-9/TIMP-1 ve MMP-2/TIMP-2 değerleri için; ≤ 5 yıl RRMS, ≥ 10 yıl RRMS, PPMS, SPMS ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ($P>0,05$).

7. KAYNAKLAR

1. Victor M, Ropper H. A. Adams and Victor's Principles of Neurology. 7. Edition, Mc Graw-Hill, New York, 2001; 954-979
2. Gilroy J. Temel Nöroloji. Çeviri ed. Rana Karabudak, 3.baskı, Güneş yayınevi. Ankara 2002;199-219.
3. Francis GS, Duquette P, Antel JP. Inflammatory demyelinating disease of central nervous system .In BradleyWG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD(ed). Neurology in clinical practise. The neurological disorders .Second ed.Boston,Butterworth Heinemann,1996:1307-1343
4. Tunalı G. Multipl skleroz'da tanı kriterleri. Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi. 2004;2:205-209.
5. Sadiq SA, Mille J.,Demyelinating disease. Multiple sclerosis.In Rowlaand RP: Merrt's Textbook of Neurology.9th Ed. New York,Williams and Wilkins,1995: 804-825
6. Kurland LT. The frequency and geographical distribution of multiple sclerosis as indicated by mortality statics and morbidity surveys in the United States and Canada . American Journal of Hygiene 1952;55:457
7. Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Parts I and II. Acta Neurol Scand 1975; 51:110-157
8. Esiri MM, Oppenheimer DR. A Practical Manual Diagnostic Neuropathology. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1989, 225-234
9. Edgar JMGaeber J.The myelination axon is depdent on the myelinatingcell for support and maintenance:molecules involved J. Neurosci Res 2004;76:593-598
10. Raine CS: Demyelinating Diseases. In: Davis R, Robertson DM, Textbook of Neuropathology. 2 th edition., Baltimore, Williams&Wilkins, 1991, 535-171
11. Adams RD,Victor M,Ropper AH.Principles of neurology,6th edition.Mc Graw Hill, New York,1997
12. Compston A,Ebers G,Lassman H,Mc Donald I, Matthews B, Wekerle H, Mc Alpine's Multiple sclerosis,,3 th.Churchill Livingstone,London,1998
13. Mc Donald W. The history of multiple sclerosis. Handbook.Ed by Cook SD. Marcel Dekker.3th Ed.New York 2001;1
14. Ellison D, Love S, Chimelli L, Harding BN, Lowe j, Vinters HV. Chapter 19: Multiple Sclerosis. In: Neuropathology. A reference text of CNS Pathology. 2 th Ed.. Mosby, Ebinburg, 2004.
15. Raine CS, McFarland HF, Tourtellote WW. Multiple Sclerosis: Clinical and Pathogenetic Basis. Chapman-Hall Medical, London. 1 th Ed.,1997,151-171
16. Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. Brain. 1997;120:393-399
17. Griffiths I, Klugmann M, Anderson T, Yool D, Thomson C, Schwab MH, et al. Axonal swellings and degeneration in mice lacking the major proteolipid of myelin. Science. 1998;280:1610-1613.
18. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mork S, Bo L. Axonal transaction in lesion of multiple sclerosis. N Engl J Med. 1998;338:278-285
19. Yin X, Crawford TO, Griffin JW, Tu Ph, Lee VM, Li C, et al. Myelin-associate glycoprotein is a myelin signal that modulates the caliber of myelinated axons. J Neurosci. 1998;18:1953-1962
20. Imitola J,Makhlouf, Khoury SJ. Role of neural stem and oligodendrocyte progenitor cells in denyelinatingdiseases: insights into disease mechanisms and therapeutic potential; Disorders of myelin in the central and peripheral system. (Dangong F,eds) Woburn MA,Butterworh Heinemann 2002;57-81
21. Imotola J, Snyder EY, Khoury SJ. Geneticprograms and responses of neural stem/progenitor cells during demyelination: Potential insights into repair mechanism in multiple sclerosis.Physiol genomics 2003;14: 171-197
22. Blakemor WF, Gilson JM, Crang AJ.,The presence of astrocytes in areas of demyelination influences remyelination following transplantation of oligodendrocyte progenitors. Exp Neurol:2003: 184:955-963

23. İdman E. Multipl Skleroz'un İmmunopatogenezi. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*. 2004;2:171-176
24. Tunalı G. Epidemiyoloji. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*. 2004;2:161-165.
25. Lassmann H, Mechanisms of demyelination and tissue destruction in multiple sclerosis, *Clin Neurol Neurosurg* 2002; 104:168-71.
26. Sav A. Multipl skleroz'un patolojik bulguları. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*. 2004;2:177-181
27. Chandler S, Coates R, Gearing A et al. Matrix metalloproteinases degrade myelin basic-protein. *Neurosci Letts* 1995; 201: 223-6
28. Gijbels K, Masure S, Carton H, Opdenakker G. Gelatinase in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological disorders. *J Neuro-immunol* 1992;41:29-34
29. Paemen L, Olsson T, Soderstrom M, Vandamme J, Opdenakker G. Evaluation of gelatinases and IL-6 In the cerebrospinal-fluid of patients with optic neuritis, multiple-sclerosis and other inflammatory neurological diseases. *Eur J Neurol* 1994; 1: 55-63
30. Clements JM, Cossins JA, Wells GMA et al. Matrix metalloproteinase expression during experimental autoimmune tumour necrosis factor-alpha inhibitor. *J Neuroimmunol* 1997; 74: 85-94
31. Gijbels K, Galardy RE, Steinman L. Reversal of experimental autoimmune encephalomyelitis with a hydroxamate inhibitor of matrix metalloproteinases. *J Clin Investigation* 1994; 94: 2177-82
32. Matyszak M, Perry V. Delayed-type hypersensitivity lesions in the central nervous system are prevented by inhibitors of matrix metalloproteinases. *J Neuroimmunol* 1996; 69: 141-9
33. Conway JG, Wakefield JA, Brown RH et al. Inhibition of cartilage and bone destruction in adjuvant arthritis in the rat by a matrix metalloproteinase inhibitor. *J Experiment Med* 1995;182:449-57
34. Hembry RM, Bagga MR, Murphy G, Henderson B, Rynolds JJ. Rabbit models of arthritis: immunolocalisation of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinase in synovium and cartilage. *Am J Pathol* 1993; 143: 628-42
35. Anthony DC, Savage FJ, Hembry RM, Boulous PB. Protease activity in experimental colitis. *Agents Actions* 1994; 41: C201-3
36. Bailey C. 1992. Collagen Metabolism in Crohn's Disease. PhD thesis, University of Manchester Differential matrix metalloproteinase expression in cases of multiple sclerosis and stroke ,*Neuropathology and Applied Neurobiology* 23, 406-415
37. Gijbels K, Proost P, Masure S et al. Gelatinase-B is present in the cerebrospinal-fluid during experimental autoimmune encephalomyelitis and cleaves myelin basic-protein. *J Neurosci Res* 1993; 36: 432-40
38. Proost P, Van Damme J, Opdenakker G. Leukocyte gelatinase-B cleavage releases encephalitogens from human myelin basic protein. *Biochem Biophys Res Comm* 1993; 192: 1175-81
39. Rosenberg GA, Dencoff JE, Correa NJr, Reiners M, Ford CC. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain-barrier injury. *Neurol* 1996;46:1626-32
40. Cuzner ML, Gveric D, Strand C et al. The expression of tissue-type plasminogen-activator, matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors in the central-nervous- system in multiple-sclerosis-comparison of stages in lesion evolution. *J Neuropath Experiment Neurol* 1996; 55: 1194-204
41. Maeda A, Sobel RA. Matrix metalloproteinases in the normal human central nervous system, microglial nodules, and multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Experiment Neurol* 1996; 55: 300-9
42. D.C. Anthony, B. Ferguson, M.K. Matyzak, K.M. Miller, M.M. Esiri and V.H. Perry (1997) Differential matrix metalloproteinase expression in cases of multiple sclerosis and stroke. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 23, 406-415
43. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76:301-14.
44. Ransohoff RM. Mechanisms of inflammation in MS tissue: adhesion molecules and chemokine. *J Neuroimmunol* 1999; 98:57-68.
45. Campbell JJ, Hedrick J, Zlotnik A ve ark. Chemokines and the arrest of lymphocytes rolling under flow conditions. *Science* 1998; 229:381-4.

46. Yong VW, Power C, Forsyth P ve ark. Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2:502-11.
47. Pette M, Fujita K, Kitze B ve ark. Myelin basic protein-specific T lymphocyte lines from MS patients and healthy individuals. *Neurology* 1990; 40: 1770-6.
48. Madsen LS, Andersson EC, Jansson L ve ark. A humanized model for multiple sclerosis using HLA-DR2 and a human T-cell receptor. *Nat Ge-net* 1999; 23: 343-7.
49. Hemmer B, Vergelli M, Calabresi P ve ark. Cytokine phenotype of hu-man autoreactive T cell clones specific for the immunodominant mye-lin basic protein peptide (83-99). *J Neurosci Res* 1996; 45: 852-62.
50. Canella B, Raine CSç The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995; 36:424-35.
51. Kalman B, Lubliin FD. The genetics of multiple sclerosis: a review. *Bio-med Pharmacother* 1999; 53:358-70.
52. Gay FW, Drye TJ, Dick GW ve ark. The application of multifactorial cluster analysis in the staging of plaques in early multiple sclerosis: identification and characterization of the primary demyelinating lesion. *Brain* 1997; 120:461-83.
53. Babbe H, Roers A, Waisman A ve ark. Clonal expansions of CD8+ T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 2000; 192:393-404.
54. Jacobsen M, Cepok S, Quak E ve ark. Oligoclonal expansion of memory CD8+ T cells in the cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. *Brain* 2002; 125: 538-550.
55. Cross AH, Trotter JL, Lyons J. B cells and antibodies in CNS demyeli-nating disease. *J Neuroimmunol* 2001, 112: 1-14.
56. Francis GS, Duquette P, Antel JP. Inflammatory demyelinating disease of central nervous system .In BradleyWG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD. *Neurology in clinical practise .The neurological disorders .Second ed.*Boston,Butterworth –Heinemann,1996:1307-1343
57. Ota K, Matsui M, Milford EL ve ark. T-cell recognition of an immunodo-minant myelin basic protein epitope in multiple sclerosis. *Nature* 1990; 346:183-7.
58. Pullen AM, Marrack P, Kappler JW. Evidence that Mls-2 antigens which delete V beta 3+ T cells are controlled by multiple genes. *J Immunol* 1989;142:3033-7.
59. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self tolerance. *Cell* 2000; 101:455-8.
60. Shevach EM, McHugh RS, Piccirilli CA ve ark. Control of T-cell activa-tion by CD4+ CD25+ suppressor T cells. *Immunol Rev* 2001; 182:58-67.
61. Reijonen H, Novak EJ, Kochik S ve ark. Detection of GAD65-specific T-cells by major histocompatibility complex class II tetramers in type 1 di-abetic patients and at-risk subjects. *Diabetes* 2002; 51:1375-82.
62. Hafler DA, Slavik JM, Anderson DE ve ark. Multiple Sclerosis. *Immunol Rev* 2005; 204:208-31.
63. Noseworthy L, Lucchinetti CF, Rodriguez M ve ark. Multiple Sclerosis. *N Eng J Med* 2000; 343:938-52.
64. Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. The immunopathology of multip-le sclerosis:An overview. *Brain Pathol* 2007; 1750-3629
65. Lucchinetti CF, Parisi J, Bruck W. The pathology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2005;23:77-105.
66. Lucchinetti CF, Bruck W, Parisi J ve ark. Heterogenity of Multiple Scle-rosis Lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47:707-17.
67. Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclero-sis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001; 7:115-21.
68. Probert L, Akassoglou K, Pasparakis M ve ark. Spontaneous inflamma-tory demyelinating disease in transgenic mice showing centrous ner-vous system specific expression of tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:11294-8.

69. Griot C, Vandeveld M, Richard A ve ark. Selective degeneration of oli-godendrocytes mediated by reactive oxygen species. *Free Radical Re-search Communications* 1990; 11:181-93.
70. Linington C, Bradl M, Lassmann H ve ark Augmentation of demyelinati-on in rat acute allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoc-lonal antibodies directed against a myelin/oligodendrocyte glycoprote-in. *Am J Pathol* 1988; 130:443-54.
71. Pittock S, Lucchinetti C. The pathology of MS.New insights and poten-tial clinical applications. *The Neurologist* 2007;13: 45-56.
72. Suhy J, Rooney WD, Goodkin DE. IH MRSI comparison of white matter and lesions in primary progressive and relapsing-remitting MS. *Multiple sclerosis* 2000; 6:148-55.
73. Filippi M, Campi A, Martinelli V, et al. A brain MRI study of different types of chronic progressive multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1995; 91: 231-3.
74. Pelltier J, Suchet L, Witjas T. A longitudinal study of callosal atrophy and interhemisphric dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2001; 58:105-11.
75. Kornek B, Storch MK, Weissert R, et al. Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive and remyelinated lesions. *Am J Pathol* 2000; 157:267-76.
76. Evangelou N, Esiri NM, Smith S, et al. Quantitative pathological eviden-ce for axonal loss in normal appearing white matter in multiple sclero-sis. *Ann Neurol* 2000; 47:391-5.
77. Cifelli A, Arridge M, Jezzard P et al. Thalamic neurodegeneration in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2002; 52:650-3.
78. Peterson JW, Trapp BD. Neuropathobiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2005; 23: 107-29.
79. Peterson JW, Bo L, Mork S et al. Transected neurites, apoptotic neu-rons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001; 50:389-400.
80. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 1998; 338:278-85.
81. Evangelou N, Esiri MM, Smith S et al. Quantitative pathological evi-dence for axonal loss in normal appearing white matter in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2000; 47:391-5.
82. Kuhlmann T, Lingfeld G, Bitsch A et al. Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain*. 2002; 125:2202-12.
83. Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S et al. Acute axonal injury in multiple sclerosis: correlation with demyelination and inflammation. *Brain*. 2000; 123:1174-83.
84. Rivera Quinones C, McGavern D, Schmelzer JD et al.. Absence of ne-u-rological deficits following extensive demyelination in a class 1-defi-cient murine model of multiple sclerosis. *Nat Med*. 1998; 42:187-93.
85. Neumann H, Medana IM, Bauer J ve ark. Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends Neurosci*. 2002; 25:313-9.
86. Smith KH, Kapoor R, Hall SM ve ark. Electrically active axons degene-rate when exposed to nitric oxide. *Ann Neurol*. 2001; 49:470-6.
87. Neuman H. Molecular mechanisms of axonal damage in inflammatory central nervous system diseases. *Curr Opin Neurol*. 2003; 16:267-73.
88. Sadatipour BT, Greer JM, Pender MP. Increased circulating antigang-lioside antibodies in primary and secondary progressive multiple scle-rosis. *Ann Neurol*. 1998; 44:980-3.
89. Kornek B, Storch MK, Weissert R ve ark. Multiple sclerosis and chro-nic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions. *Am J Pathol*. 2000; 157:267-76.
90. Barkhof F, Brück W, De Groot CJ, et al. Remyelinated lesions in multiple sclerosis: magnetic resonance image appearance. *Arch Neurol* 2003; 60: 1073-81.
91. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnig A, et al. Remyelination is extensi-ve in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* 2006; 129: 3165-3172.

92. Zhao C, Fancy SPJ, Kotter MR, et al. Mechanisms of CNS remyelination—the key to therapeutic advances. *J of the Neurological Sciences* 2005; 233: 87-91.
93. Kurtzke JF, Dean G, Botha DJP. A method for estimating the age at migration of white migrants to South Africa, with an example of its importance. *South African Medical Journal* 1970; 44: 663-669
94. Alter M, Okihiro M, Rowley W. Multiple sclerosis among Orientals and Caucasians in Hawaii. *Neurology* 1971;21: 122-130
95. Kurtzke JF, Bebe GW, Norman JE. Migration and multiple sclerosis in the United States. *Neurology* 1971;21:1030-1036
96. Adams JM, Imagawa DT. Measles antibodies in multiple sclerosis. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and medicine*. 1962;111:532-536
97. Norby E, Link H, Olsson J. Comparison of antibodies against different viruses in cerebrospinal fluids and serum samples from patients with multiple sclerosis. *Infection and Immunity* 1974;10:688-694
98. Brankin B, Wisdom GG, Hawkins SA. Antibodies to simian virus 5 in patient multiple sclerosis and other neurological disorders *Journal of the Neurological sciences* 1989; 89: 181-187
99. Johnston RT, Viral aspect of multiple sclerosis. *Handbook of clinical neurology* Elsevier Amsterdam 3, 319-336
100. Kuby J. *Immunology*. W.H. Freeman and company, 1992 ; 245.
101. Clemens M.J. *Cytokines*, Oxford. Bios Scientific Publishers Ltd 1991;57-75.
102. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2003; 46: 299-307.
103. Bazzoni E, and Beutler B. *Neze Engl. I. Med.* 1996;334, 1717-1725.
104. Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, and Wallach D, I. *Biol Chem* 1989;264;11974-11980.
105. Seckinger P, Kaaz S, and Dayer JM. *I. Exp Med* 1988; 167, 1511-1516.
106. *Nöroimmünolojide Temel Kavramlar*, TND, 1997; 1-7.
107. *Klinik Psikiyatri Bülteni*, Tuğlu C, Kara H, Depresyon, sitokinler ve Bağışıklık Sistemi, 2003; 13, 3,142-150
108. Andreas Eigler, Bhanu Sinha, Gunther Hartmann and Stefan Endres, Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Review immunology today*, october 1997, 18, 10, 487-492.
109. Tureen J. Effect of recombinant human tumor necrosis factor-alpha on cerebral oxygen uptake, cerebrospinal fluid lactate, and cerebral blood flow in the rabbit: role of nitric oxide. *J Clin Invest* 1995; 95: 1086-1091.
110. Hausmann ON, Hu W-H, Keren-Raifman T, et al. Spinal cord injury induces expression of RGS7 in microglia/ macrophages in rats. *Eur J Neurosci* 2002,15,4,602-612
111. Lavine SD, Hofman FM, Ziokovic BV. Circulating antibody against tumor necrosis factor alpha protects rat brain from reperfusion injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18: 52-58.
112. Cheng B, Christakos S, Mattson MP. Tumor necrosis factors protect against metabolic-excitotoxic insults and promote maintenance of calcium homeostasis. *Neuron* 1994; 12: 139-153.
113. Barger SW, Horster D, Furukawa K, et al. Tumor necrosis factor alpha and beta protect neurons against amyloid beta-peptide toxicity: evidence for involvement of a MB-binding factor and attenuation of peroxide and Ca accumulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9328-9332.
114. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ et al. Classification of Subtype of Acute Ischemic Stroke. *Stroke* 1993; 24 ,1: 35-41
115. Barnett Henry JM, Mohr JP, Bennett MS, Yatsu MF. Medical complications of stroke. *Stroke Pathophysiology, Diagnosis and Management Third Edition*. 1998;1121 –1122.
116. Orgogozo JM, Dartigues JF. Methodology of clinical trials in acute cerebral ischemia. *Cerebrovascular Disease* 1991;1: 100-111.
117. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA stroke study group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995; 335: 1581-1587

118. Murphy G, Reynolds J. Extracellular matrix degradation. In *Connective Tissue and its Heritable Disorders*, Eds P Royce and B Steinmann. New York: Wiley-Liss, 1993: 287–316
119. Silver FL, Norris JW, Lewis AJ et al. Early Mortality Following Stroke: A Prospective Review. *Stroke* 1984;15:492-496.
120. Davis SM, Rosen DM, Donan GA. Acute stroke management around the world. In Bogousslavsky J (edit). *Acute Stroke Treatment*, Martin Dunitz, London 1997:1-14
121. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: Structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998;12:1075-95.
122. Jacob MP. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed Pharmacother* 2003;57: 195-202.
123. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular Cell Biology*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 1999:968-93.
124. Hoekstra R, Eskens FA, Verweij J. Matrix metalloproteinase inhibitors: Current developments and future perspectives. *Oncologist* 2001;6:415-27.
125. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:21491-4.
126. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:463-516
127. David Leppert, Raija L.P. Lindberg, Ludwig Kappos, Stephen L. Leib, Matrix metalloproteinases: multifunctional effectors of inflammation in multiple sclerosis and bacterial meningitis, *Brain Research Reviews* 2001; 36, 249–257
128. J.F. Woessner Jr, The matrix metalloproteinase family, in: W.C. Parks, R.P. Mecham (Eds.), *Matrix Metalloproteinases*, Academic Press, San Diego, 1998; 1–14.
129. Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, Benazzoug Y, Feldman L, Michel, JB. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. *Pathol Biol* 2001;49:326-32.
130. Docherty, A.J.P. et al. The matrix metalloproteinases and their natural inhibitors: Prospects for treating degenerative tissue diseases. 1992;10, 200–207.
131. Fabunmi R P, Baker AH, Murray EJ, Booth RFG, Newby AC. Divergent regulation by growth-factors and cytokines of 95-kDa and 72-kDa gelatinases and tissue inhibitors of metallo-proteinase-1, metalloproteinase-2 and metalloproteinase-3 in rabbit aortic smooth-muscle cells. *Biochem J* 1996; 315: 335–42
132. Murphy G, Cockett MI, Stephens PE, Smith BJ, Docherty AJ. Stromelysin is an activator of procollagenase. A study with natural and recombinant enzymes. *Biochem J* 1987; 248: 265–8
133. Opdenakker G, Van Damme J. Cytokines and proteases in invasive processes—molecular similarities between inflammation and cancer. *Cytokine* 1992; 4: 251–8
134. Cawston TE, Galloway WA, Mercer E, Murphy G, Reynolds JJ. Purification of rabbit bone inhibitor of collagenase. *Biochem J* 1981; 195:159-65
135. Ward RV, Hembry RM, Reynolds JJ, Murphy G. The purification of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 from its 72kDa progelatinase complex. Demonstration of the biochemical similarities of tissue inhibitor of metallo-proteinases-2 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *Biochem J* 1991; 278: 179–87
136. McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:221-233.
137. Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, et al. Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 1999;274: 11924-9.
138. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994;94: 2493-503.

139. Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers (Peptid science)* 1996; 40,399-416
140. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995;77:863-8.
141. Beckett, R.P. et al..Recent advances in matrix metalloproteinase inhibitor research. 1996,1, 17–26.
142. Gearing, A.J.H. et al. Processing of tumour necrosis factor alpha precursor by metalloproteinases. *Nature* 1994.370, 555–557.
143. Vecil, G. G. et al. Interleukin-1 is a key regulator of matrix metalloproteinase-9 expression in human neurons in culture and following mouse brain trauma in vivo. *J. Neurosci. Res.*2000, 61, 212–224
144. Clements, J. M. et al. Matrix metalloproteinase expression during experimental autoimmune encephalomyelitis and effects of a combined matrix metalloproteinase and tumor necrosis factor- α inhibitor. *J. Neuroimmunol.*1997, 74, 85–94
145. Karkkainen, I., Rybnikova, E., Pelto-Huikko, M. , Huovila, A. P. Metalloprotease-disintegrin (ADAM) genes are widely and differentially expressed in the adult CNS. *Mol. Cell. Neurosci.*2000, 15, 547–560.
146. Lichtinghagen, R. et al. Expression of matrix metalloproteinase-9 and its inhibitors in mononuclear blood cells of patients with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*1999, 99, 19–26
147. Lee, M. A. et al. Serum gelatinase B, TIMP-1 and TIMP-2 levels in multiple sclerosis. A longitudinal clinical and MRI study. *Brain*1999, 122, 191–197.
148. Waubant, E. et al. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 1999, 53, 1397–1401
149. Shipley, J. M., Wesselschmidt, R. L., Kobayashi, D. K., Ley, T. J. & Shapiro, S. D. Metalloelastase is required formacrophage-mediated proteolysis and matrix invasion in mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1996; 93, 3942–3946
150. Chandler, S. et al. Matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor and multiple sclerosis: an overview. *J. Neuroimmunol.* 1997,72, 155–161
151. Opdenakker, G., Van Damme, J. Cytokine-regulated proteases in autoimmune diseases. *Immunol. Today* 1994,15, 103–107
152. Black, R. A. et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumor-necrosis factor- α from cells. *Nature* 1997,385, 729–733
153. Vos, C. M. et al. Cytotoxicity by matrix metalloprotease-1 in organotypic spinal cord and dissociated neuronal cultures. *Exp. Neurol.* 2000,163, 324–330
154. Giancotti, F. G. & Ruoslahti, E. Integrin signaling. *Science* 1999, 285, 1028–1032
155. MacManus JP, Linnik MD. Gene expression induced by cerebral ischemia: an apoptotic perspective. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1997, 17(8):815-32.
156. Leppert, D. et al. T cell gelatinases mediate basement membrane transmigration in vitro. *J. Immunol.* 1995, 154, 4379–4389.
157. Opdenakker, G. and Van Damme, J.Cytokine-regulated proteases in autoimmune diseases. *Immunol. Today* 1994,15, 103–107.
158. Selmaj, K. et al..Identification of lymphotoxin and tumour necrosis factor in multiple sclerosis lesions. *J. Clin. Invest.* 1991, 87, 949–954.
159. Benvenuto, R. et al. Tumour necrosis factor alpha synthesis by cerebrospinal fluid-derived T cell clones from patients with multiple sclerosis. *Clin. Exp. Immunol.* 1991, 84, 97–102.
160. Sharief, M.K. and Thompson, E.J. In vivo relationship of tumour necrosis factor alpha to blood–brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 1992, 38, 27–34.
161. Sommer, N. et al. The antidepressant rolipram suppresses cytokine production and prevents autoimmune encephalomyelitis. *Nat. Med.* 1995, 1, 244–248.

162. Baker, D. et al. Control of established experimental allergic encephalomyelitis by inhibition of tumor necrosis factor_TNF.activity within the central nervous system using monoclonal antibodies and TNF receptor-immunoglobulin fusion proteins. *Eur. J. Immunol.* 1994, 24, 2040–4048.
163. Ruoslahti E. *Glycobiology. Brain extracellular matrix.* 1996 ;6 (5):489-92.
164. Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases and neuroinflammation in multiple sclerosis. *Neuroscientist* 2002;8:586-99
165. Romanic AM, White RF, Arleth AJ, Ohlstein EH, Barone FC. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke* 1998, 29:1020-1030.
166. Rosenberg, G. A., Navratil, M., Barone, F. & Feuerstein, G. Z. Proteolytic cascade localization of 72 kDa type IV collagenase (MMP-2) in human malignant gliomas in vivo. *Clin Exp Metastasis.* 1996;14(1):35-enzymes increase in focal cerebral ischemia in rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1996, 16, 360-366
167. Conant, K. et al. Cerebrospinal fluid levels of MMP-2, 7, and 9 are elevated in association with human immunodeficiency virus dementia. *Ann. Neurol.* 1999, 46, 391-398
168. Selkoe, D. J. The celi biology of (3-amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends Celi Biol.* 1998; 8, 447-453
169. Kieseier, B. C. et al. Expression of specific matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies. *Brain* 2001; 124, 341-351
170. Carrell TW, Burnand KG, Wells GM, Clements JM, Smith A. Stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are overexpressed in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 2002;105:477-82.
171. Sukhova GK, Schonbeck U, Rabkin E, et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and 3 in vulnerable human atheromatous plaques. *Circulation* 1999;99:2503-9.
172. Halpert I, Sires UI, Roby JD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:9748-53.
173. Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:8154-8.
174. Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: Regulation via CD40-CD40 ligand signaling in vitro and in vivo. *J Exp Med* 1999;189:843-53.
175. Carmeliet P, Moons L, Lijnen R, et al. Urokinasegenerated plasmin activates matrix metalloproteinases during aneurysm formation. *Nat Genet* 1997;17:439-44
176. Rekhter MD, Hicks GW, Brammer DW, et al. Hypercholesterolemia causes mechanical weakening of rabbit atheroma: Local collagen loss as a prerequisite of plaque rupture. *Circ Res* 2000;86:101-8.
177. Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, Crovvtter M, Jones L, Bell PR, Thompson MM. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption. *Stroke.* 2000 ;31(1):40-7.
178. Brovv DL, Hibbs MS, Kearney M, Loushin C, Isner JM. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions: association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation.* 1995;91:2125-2131.
179. Asahi M, Asahi K, Jung JC, del Zoppo GJ, Fini ME, Lo EH. Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of gene knockout and enzyme inhibition vvith BB-94. *J Cereb Blood Flovv Metab* 2000; 20:1681-1689.
180. Asahi M, Wang X, Mori T, Sumii T, Jung JC, Moskovvitz MA, Fini ME, Lo EH. Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of bloodbrain barrier and white matter components after cerebral ischemia. *J Neurosci* 2001; 21:7724-7732.
181. Gasche Y, Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Copin JC, Kawase M, Massengale J, Chan PH. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. *J CerebBlood Flow Metab* 1999;19:1020-1028.

182. Hamann GF, Okada Y, Fitridge R, del Zoppo GJ. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1995; 26:2120-2126.
183. Montaner J, Alvarez-Sabin J, Molina C, Angles A, Abilleira S, Arenillas J, Gonzalez MA, Monasterio J.. Matrix metalloproteinase expression after human cardioembolic stroke: temporal profile and relation to neurological impairment. *Stroke* 2001; 32:1759-1766.
184. Montaner J, Alvarez-Sabin J, Molina CA, Angles A, Abilleira S, Arenillas J, Monasterio J. Matrix metalloproteinase expression is related to hemorrhagic transformation after cardioembolic stroke. *Stroke* 2001; 32:2762-2767.
185. Kuroiwa T, Ting P, Martinez H, Klatzo I. The biphasic opening of the blood-brain barrier to proteins following temporary middle cerebral artery occlusion. *Acta Neuropathol* 1985;68:122-129.
186. Clark AW, Krekoski CA, Bou SS, Chapman KR, Edwards DR. Increased gelatinase A (MMP-2) and gelatinase B (MMP-9) activities in human brain after focal ischemia. *Neurosci Lett*. 1997;238:53-56.
187. Heo JH, Lucero J, Abumiya T, Koziol JA, Copeland BR, del Zoppo GJ. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999;19:624-633
188. Rosenberg GA, Estrada EY, Dencoff JE. Matrix metalloproteinases and TIMPs are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain. *Stroke* 1998;29:2189-2195.
189. Dzwonek J, Rylski M, Kaczmarek L. Matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors in neuronal physiology of the adult brain. *FEBS Lett*. 2004; 1;567(1): 129-35.
190. Hamann GF, Liebetrau M, Martens H, et al. Microvascular basal lamina injury after experimental focal cerebral ischemia and reperfusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002;22:526-533.
191. Fukuda S, Fini CA, Mabuchi T, Koziol JA, Eggleston LL Jr, del Zoppo GJ. Focal cerebral ischemia induces active proteases that degrade microvascular matrix. *Stroke*. 1995;29
192. Perry VH, Andersson PB. The inflammatory response in the CNS. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1992, 18:454-459.
193. Del Bigio, M. R. & Jacque, C. M. Localization of proteinase expression in the developing rabbit brain. *Brain Res. Dev. Brain Res* 1995, 86, 345-347
194. Arribas, J. et al. Diverse cell surface protein ectodomains are shed by a system sensitive to metalloprotease inhibitors. *J. Biol. Chem*. 1996;271_19., 11376–11382.
195. Preece, G. et al. Metalloproteinase-mediated regulation of L-selectin levels on leucocytes. *J. Biol. Chem*. 1996; 271, 11634–11640.
196. Tanaka, M. et al. Fas ligand in serum. *Nat. Med*. 1996; 2, 317–322.
197. Rawlings, N.D. and Barrett, A.J. Evolutionary families of metalloproteases. *Methods Enzymol*. 1995; 248, 183–228.
198. Wolfsberg, T.G. et al .ADAM, a novel family of membrane proteins containing a disintegrin and metalloprotease domain: Multipotential functions in cell–cell and cell–matrix interactions. *J. Cell Biol*. 1995;131_2., 275–278.
199. Calder, V. et al. MS: A localized immune disease of the central nervous system. *Immunol. Today* 1989, 10, 99–103.
200. Hallpike, J.F. and Adams, C.W.M. Proteolysis and myelin breakdown—a review of recent histochemical and biochemical studies. *Histochem. J*. 1969;1, 559–578.
201. Cuzner, M.L. et al .Proteolytic enzyme activity of blood leukocytes and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Ann. Neurol*. 1978, 4, 337–344
202. Inuzuka, T. et al .Neutral protease in cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis and other neurological diseases. *Acta Neurol. Scand*. 1987;76, 18–23.
203. Rosenberg, G.A. et al. TIMP-2 reduces proteolytic opening of the blood–brain barrier by type IV collagenase. *Brain Res*. 1992;576, 203–207.
204. Rosenberg, G.A. et al. Tumour necrosis factor alpha induced gelatinase B causes delayed opening of the BBB: An expanded therapeutic window. *Brain Res*. 1992;703, 151–155.

205. Apodaca, G. et al. Expression of metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors by fetal astrocytes and glioma cells. *Cancer Res.* 1990;50, 2322–2329.
206. Welgus, H. et al. Differential susceptibility of type X collagen to cleavage by two mammalian collagenases and 72 kD type IV collagenase. *J. Biol. Chem.* 1990; 265, 13521–13527.
207. Welgus, H.G. et al. Neutral metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes. Enzyme profile, regulation and expression during cellular development. *J. Clin. Invest.* 1990; 86, 1496–502
208. Yamada, T. et al. Selective localization of gelatinase A, an enzyme degrading beta-amyloid protein, in white matter microglia and Schwann cells. *Acta Neuropathol.* 1995; 89, 199–203.
209. Yamada, T. et al. White matter microglia produce membrane-type matrix metalloproteinase, an activator of gelatinase A, in human brain tissue. *Acta Neuropathol.* 1995; 90, 421–424.
210. Wells, G.M.A. et al. Quantitation of matrix metalloproteinases in cultured rat astrocytes using the polymerase chain reaction with a multi-competitor cDNA standard. *Glia*, 1996;18,332–340
211. Miller, K. et al. Increase in 92 kDa gelatinase in serum is associated with clinical relapse in patients with multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychol.* 1996
212. S. Chandler, et al. Matrix metalloproteinases, tumor necrosis factor and multiple sclerosis: an overview. *Journal of Neuroimmunology* 1997, 72.155–161
213. Hewson, A.K. et al. Suppression of experimental allergic encephalomyelitis in the Lewis Rat by the matrix metalloproteinase inhibitor Ro31-9790. *Inflamm. Res.* 1995; 44_8, 345–349.
214. Matyszak, M.K. and Perry, V.H. Demyelination in the central nervous system following a delayed-type hypersensitivity response to bacillus Calmette-Guérin. *Neuroscience* 1995; 64, 967–977.
215. Matyszak, M.K. and Perry, V.H.P. Inflammation induced breakdown of the BBB and demyelination are prevented by inhibitors of matrix metalloproteinases. *J. Neuroimmunol.*, 1997.72,2,155–161
216. Yong VW, Chabot S, Stuve O, VWilliams G. Interferon beta in the treatment of multiple sclerosis: mechanisms of action. *Neurology* 1998; 51:682–89
217. Karabudak R, Kurne A, Guc D, Sengolen M, Canpinar H, Kansu E. Effect of interferon beta-1a on serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1) in relapsing remitting multiple sclerosis patients one year follow-up results. *J. Neurol* 2004; 251: 279–83.
218. Leppert D, VVaubant E, Galaray R, Bunnett NW, Hauser SL T cells gelatinases mediate basement membrane transmigration in vitro. *J. Immunol* 1995; 154: 4379–89.
219. Rosenberg GA, Deneoff JE, Corra NJr, Reiners M, Ford CC. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis. relation to blood-brain barrier injury. *Neurology* 1996; 46:16 62.
220. VVaubant E, Goodkin DE, Gee L, et al. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 1999; 53:1397–401.
221. VVaubant E, Goodkin D, Bostrom A, et al. IFN-beta lowers MMP-9/TIMP-1 ratio, which predicts new enhancing lesions in patients with SPMS. *Neurology* 2003; 60: 52–57.
222. Yushehenko M, Mader M, Elitok E, et al. Interferon-beta-1b decreased matrix metalloproteinase 9 serum levels in primary progressive multiple sclerosis. *J. Neurol* 2003, 250:1224–28.
223. Dubois B, Eeary SM, Nelissen I, Opdenakker G, Giovannoni G, Thompson AJ. Serum gelatinase B/MMP-9 in primary progressive multiple sclerosis patients treated with interferon-beta-1a. *J. Neurol* 2003, 250: 1037–43.
224. Liuzzi GM, Trojano M, Fanelli M, et al. Intrathecal synthesis of matrix metalloproteinase-9 in patients with multiple sclerosis: implication for pathogenesis. *Multi Scler* 2002; 8: 222–28.
225. Gary A Rosenberg. Matrix metalloproteinases biomarkers in multiple sclerosis *The Lancet*, 2005; 365, 9467;
226. Kami A, Abramsky O. Association of MS with thyroid disorders. *Neurology* 1999;534:883–5.
227. Offenbacher H, Fazekas F, Schmidt R et al. Assessment of MRI criteria for diagnosis of MS. *Neurology* 1993;43:2625–2631

228. Schumacher GA, Beebe G, Kubler RF et al. Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: Report by the panel on the evaluation of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Annals of New York Academy of Science* 1965; 122:522-68.
229. Poser CM, Paty PW, Scheinberg L, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983;13:227-31.
230. Paty DW, Oger JJ, Kastrukoff LF, et al. MRI in the diagnosis of MS: A prospective study with comparison of clinical evaluation, evoked potentials, oligoclonal banding and CT. *Neurology* 1988;38:180-5.
231. McDonald WI, Compston A, Edan G et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology* 2001;50:121-7.
232. Barkhof F, Filippi M, Miller DH et al. Comparison of MR imaging criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain* 1997;120:2059-69.
233. Tinnore M, Rovira A, Martinez M, et al. Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Am J Neuroradiol* 2000;21:702-6.
234. Anderson M, Alveraz-Cermeno J, Bernardi G et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1994;57:897-902.
235. O' Connor J. Key Issues in the Diagnosis and treatment of multiple sclerosis: an overview. *Neurology* 2002;59 13:51-533.
236. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis results of an international survey. *Neurology* 1996;46:907-11.
237. Sadownic AD, Dymont D. Multiple sclerosis and other demyelinating disease Oxford Uni. Pres Contemporary Neurology Series 2000,374
238. McDonald WI, Barnes D, How many kinds of multiple sclerosis are there?. Tompson AD, Polman C . Multiple sclerosis: Clinical challenges and controversies. London, Martin Dunitz 1997:35-42
239. Brex P, Ciccarelli O, O'Riordan JI, et al. A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N Eng J Med* 2002;346:158-64.
240. Ucelli A, Pedemonte E. Biological markers of the inflammatory phase of multiple sclerosis. *Neurology Sci*:2003;5271-4
241. Philippe J, Debruyne J. In vitro TNF alpha, IL2, IFN gamma production as markers of relaps in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 1996;98:286
242. Olaf Stuve, Knowns and unknowns in the future of multiple sclerosis treatment, *Journal of the Neurological Sciences* 2009,287 ,1 ,30-6
243. Moss P, Rosenberg W. The human T cell receptor in health and disease. *Annual Reviews in immunology* 1992: 304;71-96
244. Durelli L, Ferraro B et al. The independent comparison of interferon trial: a multicenter randomized trial comparing clinical and MRI efficacy of IFN beta 1a and beta 1b in multiple sclerosis. *Neurology* 2001;56: 148
245. Coyle PK, Result of comparative efficacy trial using two formulations of interferon beta 1a in RRMS *J Neurol Sci*:2001; 187:436
246. Ziemssen T, Schrempf W. Glatiramer acetate: mechanisms of action in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol* 2007;79:537-70.
247. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006;354:899-910.
248. Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, et al. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008;359:1786-801.
249. Yudkin PL, Ellison GW. Overview of azathioprine treatment of multiple sclerosis. *Lancet* 1991;338; 1051-5
250. Adams and Victor's Principles of Neurology, Allan H. Ropper, Robert H. Brown, Çeviri Editörü; Murat Emre, 8 th ,1606

251. Giovannoni G, Comi G, Cook S, Rammohan K, Rieckmann P, Sorensen P, et al. Results from the CLARITY study: a phase III, randomized, double-blind study to evaluate the safety and efficacy of oral cladribine in relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS). 2009
252. Van de Wyngaert FA, Beguin C. A double blind clinical trial of mitoxantrone versus methylprednisolone in relapsing , seconder progressive multiple sclerorsis. *Acta Neurol Belg* 2001;22,2 ;210-6
253. Kurtzke JF, Rating neurological impairment in multiple sclerosis:An Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology* 1983;33; 1114-452
254. Kurtzke JF. A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Parts I and II. *Acta Neurol Scand* 1975; 51:110-157
255. Cassileth B, Lusk E, Strouse T, et al. Psychosocial status in chronic illness: a comperative analysis of six diagnostic groups. *N Eng J Med* 1984;211:506-9
256. Filippi, M., Wolinsky, J.S., Sormani, M.P., Comi, G., Enhancement frequency decreases with increasing age in relapsing– remitting multiple sclerosis. *Neurology* 2001,56, 422–423.
257. Avolio C, Ruggieri M, Giuliani F, Liuzzi GM, Leante R, Riccio P et al. Serum MMP-2 and MMP-9 are elevated in different multiple sclerosis subtypes. *J Neuroimmunol* 2003; 136: 46-53.
258. Itoh, T., Matsuda, H., Tanioka, M., Kuwabara, K., Itohara, S., Suzuki, R., The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase- 9 in antibody-induced arthritis. *J. Immunol.* 2002, 169, 2643– 2647.
259. Bever, C.H., Rosenberg, G.A., Matrix metalloproteinases in multiple sclerosis. Targets of therapy or markers of injury. *Neurology* 1999, 53, 1380– 1381.
260. Johnston, J.B., Zhang, K., Silva, C., Shalinsky, D.R., Conant, K., Ni, W., Corbett, D., Yong, V.W., Power, C., HIV-1 Tat neurotoxicity is prevented by matrix metalloproteinase inhibitor. *Ann. Neurol.* 2001, 49, 230– 241.
261. Newman, T.A., Wolley, S.T., Hughes, P.M., Sibson, N.R., Anthony, D.C., Perry, V.H., T-cell and macrophage-mediated axon damage in the absence of CNS-specific immune response: involvement of metalloproteinases. *Brain* 2001,124, 2203– 2214.
262. Galboiz Y, Shapiro S, Lahat N, Rawashdeh H, Miller A Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors as markers of disease subtype and response to interferon-beta therapy in relapsing and secondary-progressive multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2001, 50:443–451
263. Trojano M,Avolio C, Liuzzi GM, Ruggieri M, Defazio G, Liguori M, Santacroce MP, Paolicelli D,Giuliani F, Riccio P, Livrea P Changes of serum sICAM-1 and MMP-9 induced by rIFNbeta-1 b treatment in relapsing- remitting MS.*Neurology* 1999,53: 1402–1408
264. Lindberg RL, De Groot CJ, Montagne L, Freitag P, van d,V,Kappos L, Leppert D. The expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in lesions and normal appearing white matter of multiple sclerosis. *Brain* 2001, 124: 1743–1753
265. Beck J, Rondot P, Catinot L, Falcoff E,Kirchner H,Wietzerbin J. Increased production of interferon gamma and tumor necrosis factor precedes clinical manifestation in multiple sclerosis: do cytokines trigger off exacerbations? *Acta Neurol Scand* 1988,78:318–323
266. Rieckmann P,Albrecht M,Kitze B,Weber T, Tumani H, Broocks A, L • r W, Helwig A, Poser S. Tumor necrosis factor- α messenger RNA expression in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is associated with disease activity.*Ann Neuro* 1995,1 37: 82–88
267. Waubant E,Goodkin DE, Gee L, Bacchetti P, Sloan R, Stewart T,Andersson PB, Stabler G, Miller K Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis.*Neurology* 1999; 53:1397–1401
268. Maryna Yushchenko, Michael Mäder, Ercan Elitok, Andreas Bitsch, Alexander Dressel Interferon- β -1 b decreased matrix metalloproteinase-9 serum levels in primary progressive multiple sclerosis *J Neurol* 2003; 250 : 1224–1228
269. Goodin DS, Frohman EM, Garmany GP Jr, Halper J, Likosky WH, Lublin FD, Silberberg DH, Stuart WH, Van den Noort S, Disease modifying therapies in multiple sclerosis: Subcommittee of the American Academy of Neurology and the MS Council for Clinical Practice Guidelines.*Neurol* 2002,58:169–178

270. Ozenci V, Kouwenhoven M, Teleshova N, Pashenkov M, Fredrikson S, Link H, Multiple sclerosis: pro- and anti-inflammatory cytokines and metalloproteinases are affected differentially by treatment with IFN-beta. *J Neuroimmunol* 2000;108:236–243
271. Waubant E, Gee L, Miller K, Stabler G, Goodkin D, IFN-beta1a may increase serum levels of TIMP-1 in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Interferon Cytokine Res* 2001, 21:181–185
272. Tayebjee MH, Nadar SK, MacFadyen RJ ve ark. Tissue inhibitor of MMP-1 and MMP-9 levels in patients with hypertension. Relationship to tissue Doppler indices of diastolic relaxation. *AJH*. 2004;17:770-774.
- 273- Laviades C et al. Abnormalities of the extracellular degradation of collagen type I in essential hypertension. *Circulation*. 1998;98:535-540.
274. Dzwonek J, Rylski M, Kaczmarek L. Matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors in neuronal physiology of the adult brain. 2004;1;567(1): 129-35.
275. Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. 1991 ;5,8:2145-54.
276. Camp TM, Smiley LM, Hayden MR ve ark. Mechanism of matrix accumulation and glomerulosclerosis in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 2003;21:1719-1727
277. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian ML. Matrix metalloproteinases: biological activity and clinical implications. *J Clin Oncol*. 2000;18:1135–1149.
278. Chen ZL, Strickland S. Neuronal death in the hippocampus is promoted by plasmin-catalyzed degradation of laminin. *Cell*. 1997;91:917–925.
279. V. Lucivero, M. Prontera, D. M. Mezzapesa, M. Petruzzellis et. all. Different roles of matrix metalloproteinases -2 and -9 after human ischaemic stroke, *Neurol Sci* 2007, 28:165-170
280. Sikkeland LI, Skogstad M, Ovstebo R, Brusletto B, Haug KB, Kongerud J, Eduard W, Kierulf P. Circulating LPS in the blood from BioProtein production workers. *Occup Environ Med*. 2007;12;
281. Borkakoti N. Matrix metalloprotease inhibitors: Design from structure. *Biochem Soc Trans* 2004;32:17-20.
282. Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug discovery. *Heart Fail Rev* 2004;9:63-79.
283. Loftus IM, Thompson MM. The role of matrix metalloproteinases in vascular disease. *Vasc Med* 2002;7:117-33.
284. Axisa B, Loftus IM, Naylor AR, et al. Prospective, randomized, double-blind trial investigating the effect of doxycycline on matrix metalloproteinase expression within atherosclerotic carotid plaques. *Stroke* 2002;33:2858-64.
285. Zempo N, Koyama N, Kenagy RD, Lea HJ, Clowes AW. Regulation of vascular smooth muscle cell migration and proliferation in vitro and in injured rat arteries by a synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:28-33.
286. Lapchak PA, Chapman DF, Zivin JA. Metalloproteinase inhibition reduces thrombolytic (tissue plasminogen activator)-induced hemorrhage after thromboembolic stroke. *Stroke* 2000;31:3034-30
287. Leppert, D., Waubant, E., Burk, M.R., Oksenberg, J.R., Hauser, S.L., Interferon beta-1b inhibits gelatinase secretion and in vitro migration of human T cells: a possible mechanism for treatment efficacy in multiple sclerosis. *Ann. Neurol*. 1996;40, 846– 852.
288. Stuve, O., Dooley, N.P., Uhm, J.H., Antel, J.P., Francis, G.S., Williams, G., Yong, V.W., Interferon h-1b decreases the migration of T lymphocytes in vitro: effects on matrix metalloproteinase-9. *Ann. Neurol*. 1996; 40, 853– 863.
289. Neuhaus, O., Farina, C., Wekerle, H., Hohlfeld, R., Mechanisms of action of glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology* 2001;56, 702–708.
290. Yong, V.W., Differential mechanisms of action of interferon-h and glatiramer acetate in MS. *Neurology* 2002, 59, 802– 808.

291. Liedtke, W., Cannella, B., Mazzaccaro, R.J., Clements, J.M., Miller, K.M., Wucherpfennig, K.W., Gearing, A.J.H., Raine, C.S., Effective treatment of models of multiple sclerosis by matrix metalloproteinase inhibitors. *Ann. Neurol.* 1998;44, 35–46.
292. Gijbels, K., Galaray, R.E., Steinman, L., Reversal of experimental autoimmune encephalomyelitis with a hydroxamate inhibitor of matrix metalloproteases. *J. Clin. Invest.* 1994, 94, 2177– 2182.
293. Hewson, A.K., Smith, T., Leonard, J.P., Cuzner, M.L., Suppression of experimental allergic encephalomyelitis in the Lewis rat by the matrix metalloproteinase inhibitor Ro31-9790. *Inflamm. Res.* 1995, 44, 345– 349.
294. Dubois, D., D’Hooghe, M.B., De Lepeleire, K., Ketelaer, P., Opdenakker, G., Carton, H., Toxicity in a double-blind, placebo-controlled pilot trial with D-penicillamine and metacycline in secondary progressive multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 1998; 4, 74– 78.
295. Yong, V.W., Power, C., Forsyth, P., Edwards, D.R., Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001;2, 502– 511.
296. Rosenberg, G.A., Matrix metalloproteinase in multiple sclerosis: it is time for a treatment trial, *Ann. Neurol.* 2001;50, 431–433.
297. Kieseier, B.C., Seifert, T., Giovannoni, G., Hartung, H.P., Matrix metalloproteinases in inflammatory demyelination: targets for treatment. *Neurology* 1999;53, 20– 25.
298. Taoka Y, Okojima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998;56. 341-358
299. Liqun Yang, Nigel R. Jones, et al, Severity-dependent expression of proinflammatory cytokines in traumatic spinal cord injury in the rat. *Journal of Clinical Neuroscience* 2005; 12,3, 276-284.
300. Giselle Pentón-Rol, Majel Cervantes-Llanos, Gregorio Martínez- Sánchez, José A Cabrera-Gómez, Carmen M Valenzuela-Silva et. al. TNF- α and IL-10 downregulation and marked oxidative stress in Neuromyelitis Optica, *Journal of Inflammation* 2009; 6:18