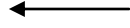


Adınızı soyadınızı giriniz

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



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



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**MS HASTALARININ BELLEK PROTEİN EKSPRESYON
DÜZEYLERİNİN KOGNİTİF REHABİLİTASYONA BAĞLI
DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

ECE AKBAYIR

**DANIŞMAN
PROF. DR. ERDEM TÜZÜN**

**SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI
SİNİRBİLİM PROGRAMI**

İSTANBUL- 2019

TEZ ONAYI

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

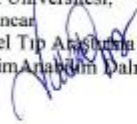
Istanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Sinirbilim Programında Yüksek Lisans öğrencisi Ece AKBAYIR tarafından Prof. Dr. Erdem TÜZÜN'ün danışmanlığında hazırlanan "MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 24/05/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



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

Jüri

Doç. Dr. Vuslat YILMAZ
Istanbul Üniversitesi,
Aziz Sancar
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü,
Sinirbilim Anabilim Dalı




Jüri
Prof. Dr. Elif ÖZKÖK
Istanbul Üniversitesi,
Aziz Sancar
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü,
Sinirbilim Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Recai TÜRKOĞLU
Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Nöroloji Anabilim Dalı



Jüri

Doç. Dr. Burcu ALTUNRENDE
Demiroğlu Bilim Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Nöroloji Anabilim Dalı



BEYAN**BEYAN**

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

Ece Akbayır

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Tez öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum, bilgisini, zamanını ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, espri anlayışı ile her daim neşe katan, güler yüzlü danışman hocam sayın Prof. Dr. Erdem Tüzün'e çok teşekkür ederim.

Her zaman bizlere kapısı açık olan, her konuda pratikliğini gösteren ve sadece bölümde ve çalışmalarda değil, her daim desteğini gösteren sayın hocam Doç. Dr. Vuslat Yılmaz'a çok teşekkür ederim.

Bölümün birliğini ve düzenini sağlayan, her konuda yardımını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Cem İsmail Küçükali'ye her şey için teşekkür ederim.

İçtenliği ile insanın yüzünü gülümseten, her zaman desteğini aradığım ve hissettiğim, her konuda yol gösteren ve bir hocadan çok bir abla gibi yaklaşan sayın hocam Doç. Dr. Nurcan Orhan'a çok teşekkür ederim.

Bölümümün hayatıma kattığı güzel insanların başında gelen arkadaşım Melis, her konuda ve her çalışmada gösterdiğin destekle her yükü benimle paylaştığın için ve en önemlisi de arkadaşlığın için çok ama çok teşekkür ederim. Yapılacak ve omuzlanacak nice güzel çalışmalara ve projelere...

Konuşması ile insanın içini açan, keyif getiren, çalışmalarımda kendi işleriymiş gibi titizlik ve özen göstererek yanımda olan, her zaman yardıma hazır olan arkadaşlarım Berrak ve Elif'e içtenlikle teşekkür ediyorum.

Yukarıda bahsetmiş olduğum saygıdeğer hocalarım ve güzel arkadaşlarım başta olmak üzere tüm Sinirbilim ailesine ve enstitümüzün hayatıma kattığı tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Desteğini ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen, her daim arkamda, ve özellikle yanımda olan, sevgimi kelimelerle ifade edemeyeceim canım ailem, size ne kadar teşekkür etsem azdır..

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30783

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Multipl Skleroz	2
2.1.1. Multipl Skleroz Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	2
2.1.2. Multipl Skleroz Etiyolojisi	2
2.1.2.1. Otoimmün Faktörler	3
2.1.2.2. Genetik Faktörler	3
2.1.2.3. Çevresel Etmenler	4
2.1.3. Multipl Skleroz Patogenezi	5
2.1.3.1. İmmünopatogenezi	6
2.1.3.2. Histopatogenezi	8
2.1.4. Multipl Skleroz Tanısı	9
2.1.4.1. MRG Bulguları.....	9
2.1.4.2. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Analizleri	10
2.1.4.3. Serolojik Analizleri	11
2.1.4.4. Uyarılmış Potansiyeller	11
2.1.5. Tanı Kriterleri	11
2.1.6. Klinik Bulgular ve Semptomlar	13
2.1.7. Klinik Alt Tipleri	14
2.1.7.1. Radyolojik İzole Sendrom (RİS).....	14

2.1.7.2. Klinik İzole Sendrom (KİS)	14
2.1.7.3. İyi Huylu / Benign MS (BMS)	14
2.1.7.4. Atak Seyirli MS / Relapsing Remitan MS (RRMS)	14
2.1.7.5. Progresif Yineleyen/Relapsing MS (PRMS)	14
2.1.7.6. Sekonder Progresif MS (SPMS)	14
2.1.7.7. Primer Progresif MS (PPMS)	14
2.1.7.8. Marburg Tipi MS	15
2.1.7.9. Optiko-Spinal Multipl Skleroz (OSMS)	15
2.1.8. Tedavi Yöntemleri	15
2.2. Kognitif Süreç ve Multipl Skleroz	16
2.3. Multipl Skleroz ve Rehabilitasyon	16
2.3.1. Bilgisayar Destekli Kognitif Rehabilitasyon	17
2.3.2. Rehabilitasyon ve İlişkili Sinyal Yolakları	18
2.3.2.1. PKA Yolağı	18
2.3.2.2. CREB Yolağı	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Örneklem Bilgileri	21
3.1.1. İşleme Kriterleri	21
3.1.2. Dışlama Kriterleri	21
3.2. Çalışma Materyali	21
3.3. Kullanılan Yöntemler	22
3.3.1. Nöropsikolojik Değerlendirme	22
3.3.2. Bilgisayar Destekli Kognitif Rehabilitasyon	22
3.3.3. Gradyan Yöntemi ile Periferik Kan Mononükleer Hücrelerin İzole Edilmesi	23
3.3.4. Hücrelerin Akım Sitometrisi için Florokrom Antikorlar ile İşaretlenmesi	23
3.3.5. RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi	24
3.3.6. Microarray ile Aday Genlerin Belirlenmesi	25
3.3.7. Aday Genlere Özgü Primer Dizaynı	27
3.3.8. Gradient PZR ile Primerlerin Bağlanma Derecelerinin Belirlenmesi	27
3.3.9. Gerçek-Zamanlı PZR ile Gen Validasyonlarının Yapılması ve Ekspresyon Analizi	27
3.4. İstatistik	28
4. BULGULAR	29

4.1. Klinik ve Demografik Veriler	29
4.2. Hastaların Kognitif Değerlendirmeleri	29
4.3. Periferik Kan Mononükleer Hücre Fenotiplerinin Karşılaştırması.....	30
4.3.1. Periferik Kan B, T ve Doğal Öldürücü Hücrelerinin Dağılımı	30
4.3.2. Periferik Kan B Hücreleri İmmüno-fenotiplerinin Gruplar Arasındaki Dağılımı ..	31
4.4. Microarray Sonuçlarının Analizi ile Belirlenen Aday Genlerin RT-PCR ile Ekspresyon Validasyonları	34
5. TARTIŞMA	36
KAYNAKLAR	40
FORMLAR	48
ETİK KURUL KARARI	52
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	59
ÖZGEÇMİŞ	60

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: MS hastalarının örneklerinde gözlemlenen anormallikler.	3
Tablo 2.2: 2017 Revize McDonald Kriterleri	12
Tablo 2.3: CREB'in immün sistemdeki farklı rolleri.....	20
Tablo 3.1: Rao'nun Test Bataryası'nda uygulanan testler	22
Tablo 3.2: Genler ve primer dizileri.	26
Tablo 3.3: Validasyonu yapılan genler.	28
Tablo 4.1: Klinik ve demografik veriler	29



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Doğal ve adaptif immün sistem.....	7
Şekil 2.2: Multipl Sklerozda rastlanan tipik lezyonlar	10
Şekil 4.1: Nöropsikolojik test skorlarının çalışma grupları arasındaki dağılımı	30
Şekil 4.2: Periferik kan B, T ve doğal öldürücü hücrelerin (NK ve NKT) çalışma grupları arasındaki dağılımı	31
Şekil 4.3: B hücre alt tipleri için kapılama stratejisi	32
Şekil 4.4: Periferik kan B hücresi immünofenotiplerinin gruplar arasındaki dağılımı.....	33
Şekil 4.5: Periferik kan B hücresi immünofenotiplerinin gruplar arasındaki dağılımı.....	34
Şekil 4.6: Çalışma grubunda rölatif gen ekspresyonlarının dağılımı.....	35

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

%: Yüzde

-: Negatif

+: Pozitif

⁰C: Santrigrad derece

μl: Mikrolitre

AKT: Protein kinaz B

APC: Allofikosiyanin

BANK1: Ankrin tekrarları ile B hücresi yapı proteini¹

BCR: B hücresi antijen reseptörü

BDNF: Beyinde-üretilen nörotrofik faktör

BDT: Bilişsel Davranış Terapisi

BLK: B lenfoid kinaz

BLNK: B hücresi bağlayan protein

BMS: Benign Multipl Skleroz

BOS: Beyin omurilik sıvısı

BRB-N: Nörolojik Psikolojik Testlerin Kısa Tekrarlanabilir Bataryası

Breg: Düzenleyici B hücreleri

cAMP: Siklik Adenozin Mono Fosfat

CBP: CREB bağlayıcı protein

CCR: Bilgisayar Destekli Kognitif Rehabilitasyon

CD 3,4,8,14,16,19,24,27,38,39,40,45,56,138: Yüzey farklılaşma antijenleri

cDNA: Komplementer / Tamamlayıcı DNA

CR: Kognitif rehabilitasyon

CRE: cAMP yanıt elemanı

CREB: cAMP yanıt elemanı bağlayıcı

DMT: Hastalık modifiye edici terapi

dNTP: Deoksi-Nükleotid Trifosfat

DMSO: Dimetilsülfoksit

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit
EBV: Epstein-Barr virüsü
FBS: Fetal Sığır Serumı
FCRL: Fc reseptör benzeri
FSC: Önden salınım
GWAS: Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
HLA: İnsan lökosit antijeni
IFN- β : İnterferon beta
IgA / IgD / IgM: İmmünglobulinA/D/M
IL-6: İnterlökin-6
KİS: Klinik İzole Sendrom
ml: Mililitre
MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS: Multipl Skleroz
MSS: Merkezi sinir sistemi
NK: Doğal öldürücü hücre
NKT: Doğal öldürücü T hücresi
ng: Nanogram
OKB: Oligoklonal bant
OSMS: Optiko-Spinal Multipl Skleroz
PBS: Fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi
PKA: Protein kinaz-A
PKMH / PBMC: Periferik kan mononükleer hücre
PPMS: Primer Progresif Multipl Skleroz
PRMS: Primer Yineleyici/Relapsing MS
PCR / PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PKA: Protein kinaz A
RİS: Radyolojik İzole Sendrom
RLT: RNA lizis tamponu
RNA: Ribonükleik asit

RRMS: Ataklarla Yineleyen Multipl Skleroz

RPM: Dakikadaki devir sayısı

RPMI1640: Roswell Park Memorial Institute 1640 medium

SNP: Tek nükleotid poliformizmi

SPMS: Sekonder Progresif Multipl Skleroz

SSC: Yandan saçılım

TBE: Tris-borate-EDTA

TLR: Toll-benzeri reseptör

TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa

Treg: Düzenleyici T hücreleri

UP: Uyarılmış potansiyeller

UVR: Ultraviyole radyasyonu

ÖZET

Akbayır, E. (2019). MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2019.

Multiple Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin progresif, inflamatuvar, demiyelinizan, nörodejeneratif ve otoimmün bir hastalığıdır. Nedeni bilinmemekle birlikte, özellikle T lenfosit aktivasyonu ve T ve B lenfositleri etkileşimleri immünpatogeneizde rol almaktadır. Hastalarda nöropsikolojik testlerle saptanabilen hafif, orta veya ağır kognitif yıkımın gerçekleştiği, bellek ve yürütücü işlevlerin özellikle etkilendiği bilinmektedir. Özel yazılımlarla yapılan bilgisayar destekli kognitif rehabilitasyon (CCR) çalışmalarının bellek işlevlerini iyileştirdiği, periferik kanda bellek proteinleri, nörotrofik faktör ve nörotransmitter düzeylerinin değiştiği bilinmektedir.

Çalışmaya CCR'nin bilişsel işlevler ve immün sistem üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla 45 MS hastası ve 28 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Hastaların 6 ay boyunca rehabilitasyona katılımları sağlanarak, çalışma başlangıcı ve rehabilitasyon sonrasında kan örnekleri alındı. Akım sitometrisiyle periferik kan mononükleer hücre (PKMH) örneklerinden, immün sistem hücrelerinin alt tipleri belirlendi. Microarray çalışması ile farklılığı belirlenen genlerin validasyonları gerçek zamanlı PZR analiziyle belirlendi. Kognitif ve motor işlevlerin değerlendirilmesi için gönüllülere geniş bir panel uygulandı.

Hastalarda bilişsel ve motor fonksiyonlarda, sözel ve görsel bellek azalma tespit edildi. Rehabilitasyon sonrasında yürütücü işlevlerde düzelme belirlenirken sözel ve görsel bellek ile motor işlevler üzerinde değiştirici etkisi gözlenmedi. Rehabilitasyon sonrasında NK hücrelerinde anlamlı olmayan artış görüldü. Düzenleyici B hücresi (Breg) alt grubunda rehabilitasyon sonrası artış olduğu ve bunun sadece sağlıklı gruptan farklı olduğu bulundu.

TGFB ve ATP1B3 gen ekspresyonlarının, rehabilitasyon sonrasında anlamlı olarak artması hücre aktivitesinin immün süpresyon yönüne kayması olarak yorumlanabilir. Ancak B hücresi alt gruplarının yüzdeleri, nöropsikolojik test skorlarıyla gen ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon belirlenmedi.

Bulgular kognitif rehabilitasyon gibi biyolojik temellere dayanmayan tedavi yöntemlerinin de moleküler ve hücresel etkileri olabileceği göstermektedir. Bu durum inflamasyonda ve klinik progresyonda gerilemeye yol açabilecekleri yönündeki görüşleri desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler : Multipl skleroz, otoimmün, immünfenotipleme, kognitif, gen ekspresyonu

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30783



ABSTRACT

Akbayir, E. (2019). Investigation of Changes in Memory Protein Expression Levels of MS Patients Due to Cognitive Rehabilitation. İstanbul University, Institute of Health Sciences, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Neuroscience, Master's Degree Thesis, İstanbul. 2019

Multiple Sclerosis (MS) is a progressive, inflammatory, demyelinating, neurodegenerative and autoimmune disease of the central nervous system. Although the cause is unknown, especially T lymphocyte activation and T and B lymphocytes' interactions play a role in immunopathogenesis. It is known that mild, moderate or severe cognitive degradation can be detected in patients with neuropsychological tests, and memory and executive functions are especially affected. Computer-assisted cognitive rehabilitation (CCR) studies performed with special software are known to improve memory functions and change the memory protein, neurotrophic factor and neurotransmitter levels in peripheral blood.

45 MS patients and 28 healthy volunteers were included in the study to evaluate the effects of CCR on cognitive functions and immune system. Patients were included in the rehabilitation for 6 months and blood samples were collected before the study and after rehabilitation. Immune system cells were determined from peripheral blood mononuclear cell (PBMC) samples by flow cytometry. The validation of the genes determined by Microarray study was done by real-time PCR analysis. A large panel was applied to the volunteers for the evaluation of cognitive and motor functions.

In patients, cognitive and motor functions were found to decrease in verbal and visual memory. While the improvement in executive functions was observed after rehabilitation, there was no modifying effect on verbal and visual memory and motor functions. There was no significant increase in NK cells after rehabilitation. The effect of rehabilitation was not determined between non-effector B cell subgroups. Regulatory B-cell (Breg) subgroup was found to be increased after rehabilitation and it was found to be different from only healthy group.

A significant increase in TGFB and ATP1B3 gene expression after rehabilitation can be interpreted as the shift of cell activity to the direction of immune suppression. However, no correlation was found between the percentages of B cell subgroups, neuropsychological test scores, and gene expression levels.

These findings suggest that treatment methods that do not rely on biological basis such as cognitive rehabilitation may have molecular and cellular effects. This supports the views that inflammation and clinical progression may lead to regression.

Key Words: Multiple sclerosis, autoimmune, immunphenotyping, cognitive, gene expression

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 30783



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multiple Skleroz (MS), merkezi sinir sistemde (MSS) meydana gelen progresif, inflamatuvar, demiyelinizan nörodejeneratif ve otoimmün bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hastalığın nedeni bilinmemekle birlikte, özellikle T lenfositlerinin aktivasyonunun ve T ve B lenfositlerinin etkileşimlerinin immünopatogenezinde rol aldığı bilinmektedir. Klinik tablolarına göre; ataklarla seyreden (RRMS), primer progresif (PPMS), sekonder progresif (SPMS), progresif-yineleyen ve benign MS olarak ayrılmaktadır. En yaygın tipi olan RRMS yeni veya artan nörolojik semptomların açıkça tanımlanmış atakları ile karakterizedir ve ataklar sonrası iyileşme tabloları (remisyonlar) görülmektedir. Remisyon sonrasında tüm semptomlar kaybolabilir veya bazı semptomlar devam edebilir ve kalıcı olabilir. Özellikle manyetik rezonans görüntülerinde (MRG) daha fazla beyin lezyonuna sahiptir.

MS olgularının önemli kısmında nöropsikolojik testlerle saptanabilen hafif, orta veya ağır kognitif yıkımın gerçekleştiği, bellek ve yürütücü işlevlerin özellikle etkilendiği bilinmektedir. Özel yazılımlarla yapılan nörokognitif rehabilitasyon çalışmalarının bellek işlevlerinde düzelmeye yol açtığı ve bu düzelmeye paralel olarak periferik kanda bellek proteinlerinin, nörotrofik faktörlerin ve nörotransmitterlerin düzeylerinin değiştiği bilinmektedir. MS olgularında ise nörokognitif rehabilitasyonun kognitif yıkımı önleyici etkisi ve rehabilitasyonla ifadesi değişen moleküllerle ilgili az sayıda çalışma mevcuttur.

Öğrenme sürecinde transkripsiyon faktörlerine eşlik eden çok kritik eş-uyarıcılardan biri CREB'in nöronal plastisitede rol oynadığı iyi bilinen bir olgudur. Yapılan çalışmalar sonucu CREB sinyalindeki herhangi bir değişimin immün sistem yanıtlarında değişime, yaşlanma sürecinde kognitif açıklıklara ve nörodejeneratif hastalıklarda ilerlemeye neden olabileceği söylenmektedir.

Çalışmamızın amacı, RRMS formuna sahip MS hastalarında immün sistem hücrelerinde bellek proteini ekspresyonlarını nörokognitif rehabilitasyon öncesi ve sonrasında belirleyerek, rehabilitasyonun hastalık üzerindeki etkisini değerlendirmek ve sağlıklı kişiler ile karşılaştırarak hastalığın immün sistem üzerindeki olası değişikliklerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multipl Skleroz

2.1.1. Multipl Skleroz Tanımı ve Epidemiyolojisi

Multipl Skleroz (MS); aksonal dejenerasyona, demiyelinizasyona ve inflamasyona bağlı olarak gelişen, merkezi sinir sistemini etkileyen otoimmün progresif bir hastalıktır. Fiziksel, bilişsel, duygusal ve sosyal işleyişi bozan çok çeşitli belirti ve bulgular ile tanımlanır. İlk olarak 1824'te, Charles Prosper Ollivier d'Angers tarafından yayınlanan bildiride sözü geçmiş, klasik tanımını, klinik ve patolojik bulgu ve tabloları 1868 yılında Jean-Martin Charcot tarafından yazılmış ve ismini Douglas McAlpine, Nigel Compston ve Charles Lumsden tarafından 1955'te yayınlanan "Multiple Sclerosis" isimli kitaptan almıştır.

Genç erişkinlerde en sık görülen nörolojik hastalıklardan biridir ve dünya çapında en az 2.3 milyon kişinin MS hastası olduğu tahmin edilmektedir¹. Daha çok 20-40 yaşları arasında ortaya çıkan hastalık kadınlarda daha yaygındır² ve kadın/erkek oranı 2.6'dır¹. Erişkinlerde sık görülmesine rağmen bazı hastalar ilk demiyelinizasyon olayını, tipik olarak atak seyirli MS (RRMS) formu ile, çocukluk veya ergenlik döneminde yaşarlar³.

Çoğunlukla Avrupa kökenli insanlarda görülen MS'in Asya'da 100.000 kişiden 2'sinde, Batı ülkelerinde 1.000 kişiden 1'ine kadar değişse de, bazı ülkelerde ise yüksek enlem oranı olan 400 kişiden 1'inin yaygın olduğu bildirilmiştir⁴.

2.1.2. Multipl Skleroz Etyolojisi

En çok araştırılan nörodejeneratif hastalıklardan olan MS, multifaktöriyel nedenlere sahiptir. Nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak genetik ve çevresel etmen etkileşimlerinin bir arada rol oynadığı ve hastalık riskini arttırdığı bilinmektedir. Genel popülasyon ile karşılaştırıldığında ise, özellikle psikiyatrik bozukluklar, serebrovasküler ve kardiyovasküler hastalık, diyabet veya kanser gibi komorbiditeleri olan MS hastalarında mortalite oranı daha yüksektir ve yaklaşık olarak 10 yıldan daha kısa bir yaşam ömrüne sahiptirler⁵.

2.1.2.1. Otoimmün Faktörler

Otoimmün bir hastalık olarak tanımlanan MS’de, merkezi sinir sisteminin inflamasyon ve demiyelinizasyona maruz kaldığı bilinmektedir. İmmünolojik parametrelerde rastlanan anormal değerler, klinik olarak MS hastası olan bireylerin çoğunda gözlemlenmiştir. Tablo 2.1’de parametreler gösterilmiştir.

BOS	Serum	Tam Kan
IFN-gamma ↑	IFN-gamma↑	IFN-gamma ↑
IgG and oligoklonal bantlar ↑	TNF ↑	IL-2 ↑
TNF ↑	IL-2 ↑	IL-4 ↑
Aktiflenmiş CD4 ⁺ hücreleri ↑	IL-2 reseptörleri↑	IL-1 ↑
	Makrofajlardan salınan PGE-2 ↓	
	CD8 ⁺ hücreleri ↓	

Tablo 2.1: MS hastalarının örneklerinde gözlemlenen anormaliler.

2.1.2.2. Genetik Faktörler

Ailesel MS prevalansı, tüm fenotipleri için yaklaşık %13’tür ve ailede tekrarlama riski genetik paylaşım yüzdesi ile artmaktadır². Kalıtım derecesi poligeniktir ve her biri hastalık riskinde küçük bir artışla ilişkili olan birkaç gende polimorfizm içermektedir ve bunlar arasında insan lökosit antijeni (HLA) sınıf I ve sınıf II genlerinde polimorfizmler en yüksek MS riskini taşır².

MS ile HLA kodlayan genlerdeki varyasyonlar arasındaki ilişki ilk olarak birkaç yıl önce gözlemlenmiştir⁶. Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) ise, tek nükleotit polimorfizmlerinin (SNP) IL7R ve IL2RA genleriyle ilişkilerinin tanımlanmasını sağlamıştır⁶. Bunlara ek olarak, MS riski ile istatistiksel olarak ilişkili en az 11 HLA aleli daha bulunmaktadır ve büyük gruplar ile yapılan GWAS çalışmaları da MS riski ile ilişkili olan 200’e kadar HLA olmayan genetik değişken tanımlamıştır⁷.

2.1.2.3. Çevresel Etmenler

Vitamin D ve Güneşe Maruz Kalım

MS prevalansı enleminden büyük ölçüde etkilenmektedir, bu nedenle güneşe maruz kalma potansiyel önemli bir belirleyici olarak rol almaktadır. Yüksek enlem alanları güçlü ultraviyole radyasyona (UVR) daha az maruz kalmaktadır ve bununla birlikte, ekvatorlardan uzaklaştıkça MS oranı yükselmektedir⁸.

MS hastalarında azalmış serum vitamin D seviyeleri Nieves ve ark. tarafında 1994 yılında gösterilmiştir⁹. O zamandan beri vitamin D'nin MS patogenezindeki rolü iyi tanımlanmıştır ve çalışmalar düşük vitamin D düzeyi ile MS riski arasındaki korelasyon için güçlü kanıtlar sağlamıştır⁷. Aylara bağlı olarak değişen serum vitamin D seviyeleri güneş ışığına maruz kalmanın bağlantılarını göstermektedir. Ayrıca serum düzeyleri kadınlarda erkeklere oranla daha düşüktür, yani cinsiyete göre farklılık göstermektedir¹⁰. Kadınlarda yaz ve sonbahar aylarında vitamin D seviyeleri erkeklere göre anlamlı derecede düşük olması, MS'in kadınlarda daha sık görülmesi ile ilişkilendirilebilir. Ek olarak, hamilelik sırasındaki seviyelerinin, çocukta MS teşhisi için bir risk faktörü olarak rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan bazı araştırmalar doğum ayının MS riski ile ilişkili olduğunu, ve belirli aylarda MS riskinde belirgin bir artış olduğunu göstermiştir¹¹.

Enfeksiyöz Ajanlar ve Virüsler

Enfeksiyöz ajanların MS'i tetiklemede rolü olduğunu Charcot'un öğrencisi Pierre Marie öne sürmüştür⁸. İncelenen patojenlerden Epstein-Barr virüsü (EBV) enfeksiyonu en tutarlı ve ilişkili olanıdır². Bu amaçla yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, MS'li hastaların% 100'ünün göre EBV için seropozitif olduğu dikkat çekmektedir¹². EBV ile ergenlik döneminde karşılaşılması MS gelişimi riskini arttırmaktadır⁸. Enfeksiyonun MS riskini arttırdığı mekanizma bilinmemektedir ve çapraz-reaktif T hücrelerinin ve antikorlarının oluşumuna yol açan moleküler benzerliğin neden olduğu düşünülmektedir².

Mikrobiyota

Bağırsak mikrobiyotası, distal bağırsakta bulunan, diğer görevlerinin yanı sıra, antimikrobiyal maddelerin aktif üretimi ile patojen kolonizasyonuna karşı savunma ve bağırsak epitel bariyerini güçlendiren IgA'nın indüklenmesi ile bakteri penetrasyonunu

sınırlama görevi gören karmaşık bir mikrobiyal ekosistem olarak tanımlanmaktadır¹³. Kolonizasyon doğumdan hemen sonra başlamakta ve bir yıl içinde yetişkin benzeri hale gelmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, mikrobiyotanın, beynin olgunlaşmasını ve işlevini, bağırsak-beyin eksenini olarak bilinen çift yönlü bir nöro-hormonal iletişim sistemi ile yönlendirebileceğini göstermektedir. Bu eksen, beynin doğum öncesi ve doğum sonrası gelişim programlamasını etkileyebildiği gibi¹⁴, MSS'de hücre göçünü sağlayan CD39 eksprese eden CD4⁺ T hücrelerinin yayılması gibi bağışıklık fonksiyonlarını da içerebileceği düşünülmektedir¹⁵.

Sigara Kullanımı ve Stres

Tütün dumanı, nefes başına yaklaşık olarak 1017 oksidan konsantrasyonunu ve birçok potansiyel kanserojen ve mutajen içermektedir fakat, sigara bileşenlerinin tümü MS riskini arttırmamaktadır⁸. Nikotin, koruyucu anti-inflamatuar ve immün modüle edici etkilere bile neden olabilmektedir¹⁶.

Sigara kullanımını, MS riski veya ilerlemesi ile ilişkilendiren olası mekanizmalar hakkında çok az çalışma yapılmıştır. Birkaç rapor, sigara içimi sonrasında MS semptomlarının şiddetini arttırdığını ve bazı çalışmalar ise başlangıç yaşı öncesi sigara kullanımının MS riski ile pozitif bir ilişkisi olduğunu göstermiştir¹⁷. Ayrıca, sigara kullanımı, tekrarlayan remisyonlardan sonra SPMS'e doğru hızlanan bir geçişle ilişkilendirilmiştir¹⁸.

Stres nöronal süreçleri önemli derece etkilemektedir ve nörotransmitter dengesini üzerinde etkileri olduğundan MS semptomlarını tetikleyebilir veya hastalığın seyrini kötüleştirebildiği düşünülmektedir.

2.1.3. Multipl Skleroz Patogenezi

Multipl sklerozun patolojik özelliği, MSS'te plak veya lezyon adı verilen miyelin kaybının çoklu fokal bölgelerin oluşudur. Demiyelinizasyona, değişkenlik gösteren gliosis, inflamasyon ve göreceli aksonal koruma ile eşlik eder, ve her ne kadar MSS'ye yayılsa da optik sinirler, subpial omurilik, beyin sapı, serebellum ve jukstakortikal ve periventriküler beyaz cevher bölgeleri öncelikli olarak etkilenmektedir¹⁹.

Lezyonlar erken ve kronik hastalık evreleri sırasında farklı evrelerde ortaya çıkmaktadır ve her evrede, demiyelinizasyon aktivitesi sonucunda farklı plak tipleri ve

plakları belirgindir²⁰. Histolojik olarak inflamasyon, miyelin yıkımı, astrogliosis, oligodendrosit hasarı, nörodejenerasyon ve akson kaybı ve remiyelinizasyon olayları plak oluşumuna neden olan etmenlerdir²⁰. Akut ve kronik aktif lezyonlarda aksonlar genel olarak korunmaktadır ve miyelin yapısını bozan bu lezyonlarda makrofajlar bulunmaktadır²¹. İnaktif plaklarda ise akson ve oligodendrosit kaybı vardır ve bunlara ek olarak sadece birkaç makrofaj veya mikroglia hücresi mevcuttur²¹.

MS'in immün süreci, T hücrelerinin yanı sıra B hücreleri, antikorlar ve doğal immün sistemin hücrelerini de içermektedir. Lezyonlarda hem yardımcı CD4⁺ hem de sitotoksik CD8⁺ T hücrelerine rastlanmaktadır. CD4⁺ T hücreleri perivasküler alanda daha yoğun bulunurken, CD8⁺ T hücreleri parankim içinde geniş bir biçimde dağılmış haldedir²². B hücrelerinin ise, antikor üreten fonksiyonunun bazı lezyonlarda önemli olduğuna dair bulgular vardır²³. Ayrıca yardımcı T hücrelerine antijen sunumu ve sitokin üretimi de dahil olmak üzere, B hücrelerinin diğer fonksiyonlarının daha çok rol aldığı olası görünmektedir. Doğal immün sistem elemanlarından olan ve dolaşım yolu ile gelen makrofajlar ise aktif lezyonlara sızarak miyelin döküntülerini ve inflamatuvar yan ürünleri temizlemektedir²². Merkezi sinir sisteminin primer endojen fagositleri olan mikroglia da lezyonlarda bol miktarda bulunmaktadır, ancak rollerinin patojenik mi yoksa koruyucu mu olduğu belirsizdir²⁴.

2.1.3.1. İmmünopatogenez

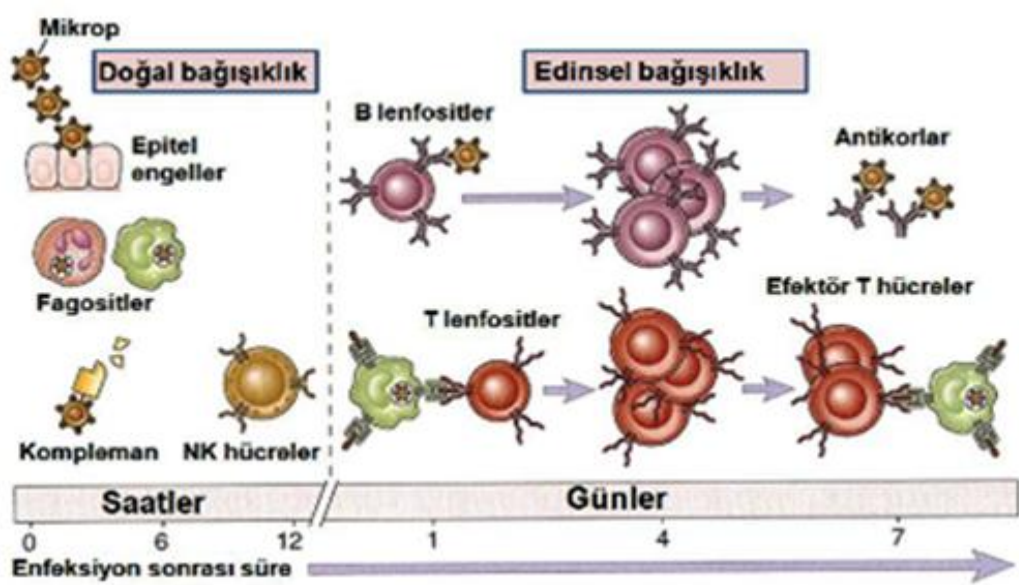
İmmün Sistem

İmmün sistem doğal ve uyarlanabilir bağışıklık tepkisinden meydana gelmektedir. Doğal immün yanıt bileşenleri çevredeki değişikliklere çok hızlı tepki verirken, adaptif immün yanıt daha fazla zaman alır ancak çok daha spesifik bir şekilde yanıt vermektedir. Doğal immün yanıtın elemanları arasında makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreleri, kompleman faktörleri, toll benzeri reseptörler (TLR) ve diğerleri bulunurken adaptif immün yanıt, T hücreleri ve B hücrelerinden oluşmaktadır.

Doğal bağışıklık antijene karşı erken savunma sistemini oluşturur. Enfeksiyondan önce bile mevcut olan ve hızlı bir şekilde enfeksiyonlara cevap vermeye hazır olan hücresel ve biyokimyasal savunma mekanizmalarından oluşmaktadır. Bu mekanizmalar, antijenlerin ve yaralanan hücrelerin ürünlerine tepki verir ve esas olarak tekrarlanan maruz kalma durumlarına aynı şekilde yanıt vermektedir.

Doğal bağışıklığın aksine, enfeksiyöz ajanlara maruz kalma sonucunda uyarılan ve belirli bir antijene art arda maruz kalındığında, büyüklük ve savunma yeteneğindeki artışla uyarılan başka bağışıklık tepkileri vardır. Bu bağışıklık formu, enfeksiyona bir cevap olarak gelişmesi ve enfeksiyona adapte olması nedeniyle, uyarılabilir/adaptif/edinsel bağışıklık adı verilir. Adaptif bağışıklık sistemi çok sayıda antijenik olan ve olmayan maddeyi tanıyarak ve tepki vermektedir.

Doğal ve adaptif bağışıklık sistemleri arasında sayısız bağlantılar bulunmaktadır. Antijene karşı doğuştan gelen immün tepki, adaptif immün tepkileri uyarır ve adaptif immün yanıtlar ise çoğu zaman doğal immüitenin koruyucu mekanizmalarını güçlendirerek çalışır, bu da onların patojenik antijenlere karşı daha etkin bir şekilde mücadele edebilmelerini sağlamaktadır²⁵. Şekil 2.1’de immün sistem tipleri gösterilmektedir.



Şekil 2.1: Doğal ve adaptif immün sistem²⁵.

Bağışıklık sisteminin farklı bileşenlerinin aracılık ettiği ve farklı antijen türlerini yok etme işlevi gören hüморal ve hücre aracılı/hücre sel bağışıklık olarak iki tür adaptif bağışıklık tepkisi bulunmaktadır. Hüморal bağışıklık sisteminde B lenfositleri, enfeksiyonları önleyen ve hücre dışı antijenleri ortadan kaldıran antikorlar salgımlarken, hücre sel immün sistemde, yardımcı T lenfositleri, fagosit antijenleri öldürmek için makrofajları aktive etmektedir veya sitotoksik T lenfositleri, enfekte olmuş hücreleri doğrudan ortadan kaldırmaktadır.

Spesifik reseptörlerin mikrobiyal antijenleri tanınması ile başlatılan doğal immün yanıt, spesifik reseptörler, özellikle de TLR'ler, tarafından başlatılır. Patojen grupları için benzersiz olan, patojen ilişkili moleküllerin TLR'lere bağlanması, adaptif immün yanıtı modüle eden sitokinlerin üretimine neden olmaktadır²⁶.

Doğal immün sistem, T ve B hücrelerinin efektör fonksiyonunu etkileyerek MS'in hem başlangıcında hem de ilerlemesinde rol oynamaktadır. Örneğin, TLR'lerle aktive edildiği durumda, dendritik hücreler yarı olgunlaştığında IL-10 veya TGF- β gibi inhibe edici sitokinler üretmek için düzenleyici T hücrelerini indüklemektedir ve dendritik hücreler olgunlaşmaya devam ettikçe, Th1, Th2 fenotipleri veya Th17 fenotiplerine farklılaşması için CD4⁺ T hücrelerini polarize etmeye başlamaktadır²⁶.

Adaptif cevap, spesifik bir antijenin, antijen sunan hücreler (APC'ler) tarafından T lenfositlere sunulmasıyla başlatılır. Antijen sunan hücreler, B hücreleri, dendritik hücreler, mikroglia ve makrofajları içermektedir. CD4⁺ ve CD8⁺ fenotipleri dahil birçok T hücresi tipi, APC'ler tarafından aktive edilebilmektedir. Polarize olan CD4⁺ hücrelerinin Th1, Th2 hücreleri ve Th17 alt tiplerine farklılaşması sonrasında, bu efektör T hücreleri spesifik sitokinler salgılamaya başlamaktadır.

Adaptif immün sistemde rol alan B hücreleri ise periferik lenfoid organlarda antijen ile karşılaşarak aktif hale gelmektedir. Birçok alt tipe değişebilen bu hücreler periferde naif tipte iken, germinal merkezden geçtikten sonra plazma hücrelerine dönüşmektedir. Naif B lenfosit hücre membranındaki IgM ve IgD tipindeki antijen reseptörleri ile antijeni tanımakta, klonal olarak çoğalmaktadır. T hücrelerinden gelen uyarıların da katılımıyla, antijene özgül antikor salgılayan efektör hücreye farklılaşmalar gerçekleşmektedir ve değişik efektör görevlere sahip farklı izotipte antikor üretimine başlamaktadır. Ayrıca protein yapısındaki antijenlerle tekrarlanan karşılaşmalar, yüksek afiniteli antikorların üretimine sebep olmaktadır. Aktive edilme tipine göre farklı işlevlere sahip olmaktadır.

2.1.3.2. Histopatogeneze

Akut Aktif Plaklar

Akut aktif plaklar, RRMS'te en sık görülen plak tipidir ve 'makrofajlar denizi'ni oluşturan makrofajlar tarafından, kitlesel olarak sızan ve eşit şekilde dağılan hiperselüler demiyelinizan plaklar olarak tanımlanmaktadır²⁰. Aktif makrofajların

yanında, inflamatuvar sızıntıda CD8-pozitif sitotoksik T lenfositleri ve CD4⁺ yardımcı T hücreleri, B hücreleri ve plazma hücreleri olan lenfositler de bulunmaktadır²⁰.

Kronik Plaklar

Kronik plaklar, progresif MS hastalarında aktif plaklara oranla daha sık görülmektedir²⁰. Kronik aktif plaklar, miyelin yüklü makrofaj plaklarının dış tabakada yoğun olduğu, dış tabakasında aktive olan mikroglia ile karakterize iken kronik inaktif plaklar ise önemli ölçüde akson ve oligodendrosit kaybı, astrogliosis ve makrofaj/mikroglia ve lenfosit infiltrasyonu ile karakterize edilen tamamen demiyelinizasyona uğramış lezyonlardır¹⁹.

İnflamasyon hastalığının her evresinde görülse de, şiddeti hastaların yaşı ve hastalık süresi ile azalmaktadır, fakat sadece hastalığın çok geç evresindeki yaşlı hastaların kronik inaktif lezyonlarında görülmektedir²⁷.

Remiyelinizan Plaklar

Remiyelinizan plaklar, kısa mesafeli ince miyelinli aksonların varlığı ile karakterizedir²⁰. Gölge plakları olarak adlandırılan tamamen remiyelinizan lezyonlar, remiyelinizasyonun geç bir fazını yansıtmakla, daha eski plaklar ise neredeyse normal bir miyelin kalınlığı gösterdiğinden normal beyaz maddeden ayırt etmek zordur²⁰.

Gölge plaklara daha çok RRMS hastalarında rastlanmaktadır, diğer MS hastalarında ise neredeyse tüm plaklar bu tiptedir²⁸. Ayrıca remiyelinize plaklar, ikinci bir inflamatuvar demiyelinizan atağa normal beyaz maddeden daha hassastır²⁹.

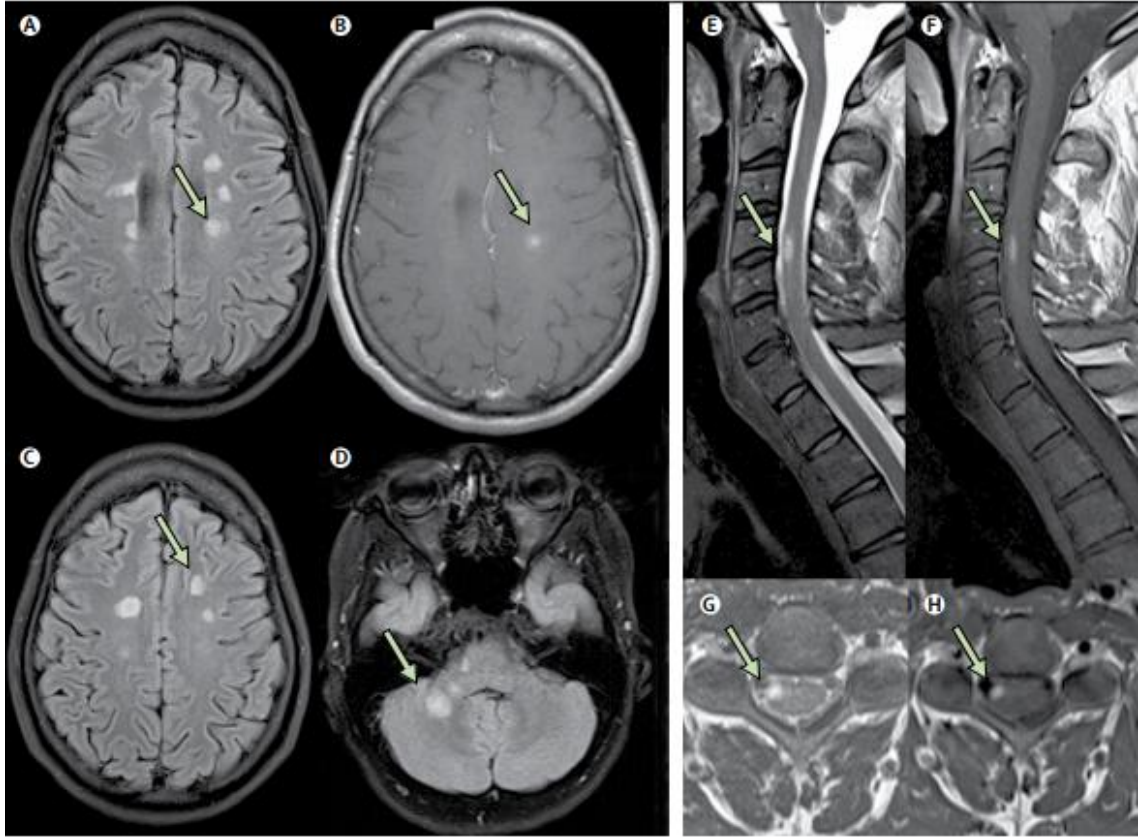
2.1.4. Multipl Skleroz Tanısı

MS tanısı için klinik bulgulara ek olarak bir takım tetkikler ve analizlere gerek duyulmaktadır. Tanı için kullanılan bu yöntemler manyetik rezonans görüntüleme, serolojik testler, beyin omurilik sıvısı (BOS) analizi ve uyarılmış potansiyellerdir.

2.1.4.1. MRG Bulguları

Omurilik lezyonları, hastaların% 80-90'ında, CIS hastalarının ise yarısında, en sık servikal bölümde görülmektedir³⁰. Beyin MRG'si karakteristik lokasyonlarda multifokal T2-hiperintens beyaz cevher lezyonlarını göstermektedir. T1 ağırlıklı görüntülemelerde ise lezyonlar hipertansif görünebilmektedir. Şekil 2.2'de tipik beyin ve omurilikte rastlanan lezyonlar gösterilmiştir.

Beyin MRG'si lezyonlu hastalarda tanı ve ayırıcı tanıya yardımcı olmak için kontrast-sonrası T1 ağırlıklı tarama önerilmektedir. Miyelopatili hastalarda veya MRG'de beyin bulguları olan hastalarda, MS teşhisi olmadığında spinal kord MRG çekimi önerilmektedir.



Şekil 2.2: Multipl Sklerozda rastlanan tipik lezyonlar³⁰.

Lezyonlar oklarla belirtilmiştir. Kontrast artışı ile belirginleşen periventriküler lezyon (A), periventriküler lezyon (B), jukstakortikal lezyonlar (C), infratentoryal lezyonlar (D), sagittal (E, F) ve aksiyal çekimlerdeki (G, H) lezyonlar görülmektedir³⁰.

2.1.4.2. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Analizleri

Tipik olarak gözlemlenen klinik ve MR bulguları olan hastaların çoğunda, beyin BOS incelenmesi gerekli değildir, ancak destekleyici olarak kullanılabilir. İki veya daha fazla BOS'a özgü oligoklonal bandın (OKB) kalitatif gösterimi IgG endeksi bulgusunda daha güvenilirdir³¹. Revize edilen McDonald kriterleri, oligoklonal bantların BOS'a özgü olduğunu doğrulamak için eşleştirilmiş BOS ve serum örnekleri analizinin önemini vurgulamıştır³¹.

2.1.4.3. Serolojik Analizleri

MS tanısı için laboratuvar testleri ve serolojik analizler istenmektedir fakat sistemik otoimmün hastalıklar için kullanılan rutin testler, MS tanısında düşük bir verime sahiptir.

2.1.4.4. Uyarılmış Potansiyeller

Uyarılmış potansiyellerin (UP) görsel, duysal veya işitsel yollarda nörofizyolojik olarak test edilmesi, MSS'de uzamda yayıldığını gösteren, klinik olarak sessiz bir lezyonun tanımlanması için destekleyici olarak kullanılabilir.

Uyarılmış potansiyel testinde uzun süreli bir gecikme ve iyi korunmuş bir dalga formu demiyelinizasyonun bir göstergesidir. Spesifik olmamasının yanında, görsel uyarılmış potansiyeller (visual evoked potential; VEP) kesin MS tanısı almış olan hastaların büyük çoğunluğunda anormallik göstermiştir ve yapılan MAGNIMS analizi, MRG ile tespit edilen optik sinir tutulumuna VEP'in eklenmesinin, ikinci bir atağın gelişimini öngörme hassasiyetinde az de olsa gelişmeye yol açtığını göstermiştir³¹.

2.1.5. Tanı Kriterleri

Tanı kriterleri ilk kez Schumacher ve arkadaşları tarafından 1965 yılında yayınlanmıştır. Poser ve arkadaşlarının 1983 yılında yayınladıkları kriterler 2001 yılına kadar geçerli görülmüştür³². MS tanısı için 2001'de toplanan panelde MRG ve görsel uyarılmış potansiyeller (VEP) katkısı ön planda tutulmuş ve progresif MS tanısı için kriterler eklenerek McDonald kriterleri yayınlanmıştır³³.

Son olarak 2017 yılında revize edilen McDonald kriterleri, BOS'ta pozitif OKB'nin bulgusu, lezyon artışına işaret olabilecek asemptomatik ve semptomatik MRG lezyonlarının uzaysal ve/veya zamansal yayılımının belirlenebilirliği ve lezyon alanları ile ilgili eklemeler yapılarak yeni kriterler belirtilmiştir³¹. Güncel tanı kriterleri Tablo 2.2'de gösterilmektedir.

Tablo 2.2: 2017 Revize McDonald Kriterleri

Klinik Durum	MS Tanısı İçin Ek Kriterlere
2 veya daha fazla atak ve 2 veya daha fazla lezyonun klinik kanıtı ya da; 2 ya da daha fazla atak ve farklı lokasyonlarda lezyon içeren önceki atakların net tarihsel kanıtı ile 1 lezyonun klinik kanıtı	Ek teste gerek yoktur.
2 ya da daha fazla atak ve 1 lezyonun klinik kanıtı	- Uzaysal dağılım, bu kriterlerden biri ile gösterilmelidir: - Farklı MSS alanını etkileyen ek klinik atak - MSS'nin periventriküler, kortikal, jukstakortikal, infratentoryal veya spinal kord alanlarından 2 veya daha fazlasında 1 veya daha fazla MS'e özgü T2 lezyonu
1 atak ve 2 veya daha fazla lezyonun klinik kanıtı	- Zamansal dağılım bu kriterlerden biri ile gösterilmelidir: - Ek klinik atak - MS tipik MRG lezyonlarının hem güçlendirici hem de güçlendirici olmayan eşzamanlı varlığı, veya yeni T2 veya güçlendirilmiş MRG lezyonunun karşılaştırılması - BOS OKB'leri
1 atak ve 1 lezyonun klinik kanıtı	- Uzaysal dağılım bu kriterlerden biri ile gösterilmelidir: - Farklı MSS bölgelerini etkileyen ek atak - MSS'nin periventriküler, kortikal, jukstakortikal, infratentorial veya spinal kord alanlarından 2 veya daha fazla bölgesinde 1 veya daha fazla MS'e özgü T2 lezyonu: - Zamansal dağılım bu kriterlerden biri ile gösterilmelidir: - Ek klinik atak - MS tipik MRG lezyonlarının hem güçlendirici

	hem de güçlendirici olmayan eşzamanlı varlığı, veya yeni T2 veya güçlendirilmiş MRG lezyonunun karşılaştırılması • BOS OKB'leri
• 1 yıllık hastalık ilerlemesi (geriye dönük veya ileriye dönük)	• Uzaysal dağılım bu kriterlerden biri ile gösterilmelidir: • MSS'nin periventriküler, kortikal, jukstakortikal ve infratentorial alanlarından 1 veya daha fazla MS-tipik T2 lezyonu • 2 veya daha fazla T2 omurilik lezyonu • BOS OKB'leri

Tablo 2.2: 2017 Revize McDonald kriterleri (Devam).

2.1.6. Klinik Bulgular ve Semptomlar

MS'in kliniğe yansması heterojendir ve lezyonların merkezi sinir sistemindeki yerleşimine bağlıdır. Ataklar genellikle saatler ile günler arasında subakut olarak gelişir, birkaç hafta süren bir platoya ulaşır ve ardından yavaş yavaş iyileşir³⁴. Relapslarda görülen hızlı klinik iyileşme, sıklıkla MS'in başlarında görülmektedir fakat çoğu atak sonrası hasarlar kalmakta ve nöronal rezerv kaybolduğu için nörolojik bozukluklar, devam eden engelliliğe yol açmaktadır³⁴.

Hastalar anormal yürüyüş, titreme, görsel problemler, mesane ve bağırsak sorunları, ekstremitelerde uyuşukluk/karınalanma, anormal somatik duyumlar, kronik ağrı, spastisite, cinsel işlev bozukluğu ve konuşma bozuklukları gibi belirtiler gösterir³⁵. Hastalığın diğer belirtilerinden olan yorgunluk, depresyon, uyku bozukluğu ve bilişsel gerilemedir, zihinsel ve fiziksel yorgunluk ise hastaların % 50'sinden fazlasını etkileyen en yıkıcı semptomlardan biri olarak kabul edilmektedir¹.

Optik nörit, hastaların % 25'inde ilk görülen ataktır ve klinik başlangıcından 10 ila 15 yıl sonra hastaların %34-75'inde klinik olarak kesin MS'e dönüşüm ile ilişkilidir². Temel olarak miyelit veya beyin sapı sendromlarından kaynaklanan duysal belirtiler ise ilk klinik bulgulardır³⁶. Motor belirtiler ise hastalığın ilk semptomlarıdır ve hastaların büyük çoğunluğunu etkilemektedir.

2.1.7. Klinik Alt Tipleri

2.1.7.1. Radyolojik İzole Sendrom (RİS)

İlk olarak 2009'da tanıtılan RİS terimi³⁷, klinik belirti veya semptomların yokluğunda demiyelinizasyonu düşündüren ve tesadüfen saptanan MRG anormallikleri olan hastaları tanımlamaktadır.

2.1.7.2. Klinik İzole Sendrom (KİS)

RRMS hastalarının akut veya subakut atakla başlayan ilk nörolojik rahatsızlığı olarak tanımlanmaktadır³⁸. Sunulan semptomlar genellikle monofokaldır ve optik sinir, omurilik, beyin sapı veya serebellumu içerir³⁹.

2.1.7.3. İyi Huylu / Benign MS (BMS)

Farklı tanımları bulunmasına rağmen genellikle 10 yıl veya daha uzun bir hastalık süresinde nispeten daha düşük genişletilmiş engellilik durumu skalası (EDSS) skoruna (genel olarak ≤ 3.0) sahip olarak tanımlanan alt tiptir⁴⁰.

2.1.7.4. Atak Seyirli MS / Relapsing Remitan MS (RRMS)

En yaygın olarak görülen alt tip olan RRMS, hastaların yaklaşık %85'ini kapsamaktadır³⁹. Değişen nörolojik fonksiyon bozukluğu dönemleri olarak tanımlanan relaps ve yeni nörolojik semptomlar içermeyen göreceli klinik stabilite dönemleri olan remitanlar ile karakterize edilir.

2.1.7.5. Progresif Yineleyen/Relapsing MS (PRMS)

Başlangıçtan itibaren bir hastalık progresyonuna sahip olan alt tiptir. Ancak hastalık seyri sırasında tam iyileşme olan veya olmayan belirgin akut nöksler birlikte bulunmaktadır.

2.1.7.6. Sekonder Progresif MS (SPMS)

Tedavi edilmeyen RRMS hastalarının çoğu, sonunda SPMS'e dönüşmektedir ve tanısı genellikle ilerlemenin başlamasından yıllar sonra, geriye dönük olarak konmaktadır.

2.1.7.7. Primer Progresif MS (PPMS)

Başlangıcından itibaren belirgin nöks veya remisyon olmadan, nörolojik fonksiyonu sürekli kötüleyen MS alt tipidir. İlerleme seyir boyunca aynı şekilde gitmez ve üst üste gelen relapsların yanında hastalık stabilitesi dönemleri de mümkündür³⁹.

2.1.7.8. Marburg Tipi MS

Nadiren akut, idiyopatik, inflamatuvar, demiyelinizan bir hastalık sık ve ciddi ataklar ile çok hızlı bir şekilde ilerleyebilmektedir. Özellikle, kötü huylu bir seyri olan bu olgular Marburg MS terimi ile ifade edilmektedir⁴¹.

2.1.7.9. Optiko-Spinal Multipl Skleroz (OSMS)

Optiko-spinal MS (OSMS), ilk olarak Asya popülasyonlarında tarif edilen bir MS alt tipidir ve daha fazla kadın baskınlığı, ileri yaşlarda başlangıç, artan atak sayısı ve artmış engellilik düzeyi ile tanımlanmaktadır.

2.1.8. Tedavi Yöntemleri

MS tedavisi, inflamatuvar hastalık aktivitesini ve uzun süreli klinik sonuçlarını azaltmak için kullanılan hastalık modifiye ediciler (disease modifying therapy; DMT), ve MS tekrarlarının yönetimine ve yorgunluk, ağrı ve spastisite gibi semptomların kısa süreli iyileştirilmesinde kullanılan semptomatik tedaviler olarak gruplandırılmaktadır.

Hastalığın ilerleme riskini azaltmak için, RRMS veya KİS teşhisi konulduğu anda bir DMT verilmelidir. Enjekte edilebilir DMT'ler (interferon- β (IFN- β) veya glatiramer asetat gibi) güvenli olduklarından ve yeni ilaçlara göre düşük maliyetlerde olduklarından tercih edilirler. İndüksiyon tedavisi ise, geri dönüşü olmayan MSS hasarının ve klinik engelliliğin ilerlemesini önlemek için daha etkili ilaçlar ile (örneğin alemtuzumab veya ocrelizumab) daha erken tedaviye dayanmaktadır.

MS ataklarının akut tedavisi için en temel tedavi yüksek doz kortikosteroidlerdir. Hızlı bir fonksiyonel iyileşme ile ilişkilendirilirler ve tedaviden sonraki ilk haftalarda daha ciddi eksikliklerin ortaya çıkmasına karşı koruma sağlarlar ancak uzun bir süreçteki faydaları bilinmemektedir.

Semptomatik tedavilerde hastalık sürecinde bozulmuş yürüme kabiliyeti, spastisite, ağrı, mesane ve bağırsak kontrolünün kaybı ve nöropsikiyatrik semptomlar için çeşitli farmakolojik ajanlar kullanılmaktadır² ancak klinik etkileri tam olarak bilinmemektedir.

2.2. Kognitif Süreç ve Multipl Skleroz

19. yüzyılda MS'in klinik ve patolojik özelliklerini tanımlayan ilk nörolog olan Jean-Martin Charcot, “hafızanın belirgin bir şekilde kaybedilmesi, kavramada yavaşlama ve bunların bütünlüğünde entellektüel ve duygusal kabiliyetlerin körelmesi” şeklinde bilişsel zorlukları not etmiştir⁴².

Günümüzde ise kognitif bozulmanın MS hastalarının %70'inde görüldüğü bilinmektedir⁴³. Bilgi işlem hızındaki eksiklikler MS'te en yaygın bilişsel açığı temsil etmektedir⁴⁴. Diğer açıklıklar ise dikkat, yürütücü işlevler, çalışma hafızası ve uzun-süreli hafızada görülmektedir⁴⁴. Bu işlev bozukluklarının MS hastalarının günlük yaşamları üzerinde önemli bir olumsuz etki yarattığı bilinmektedir. Bireyler daha az sosyal ve mesleki aktiviteye katılır, işsizlik oranları daha yüksektir ve rutin ev işleri yaparken daha büyük zorluklar yaşamaktadırlar⁴⁵.

Bilişsel işlev kaybına ek olarak, efektif bozuklukların sıklığı MS'li hastalarda genel popülasyona göre üç kat daha yüksektir ve duygusal dengesizlik hastaların %10'unda görülmekte ve sosyal etkileşimlerini bozmaktadır⁴⁶. Kontrol edilemeyen ağlama, kontrol edilemeyen gülmekten daha yaygındır⁴⁷. Bu tür belirtiler, MS'te sık görülen limbik sistemin ön kısmındaki lezyonlarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir⁴⁶. Özellikle, MS hastalarında, prefrontal lob ile duyguların düzenlenmesi için önemli olan amigdala beyin devreleri arasında bozulmuş beyin bağlantısı gözlenmiştir⁴⁸. Bunlara ek olarak yapılan nörogörüntüleme çalışmalarında, MS'teki depresif semptomların beyin lezyonlarının toplam derecesi ve bozulmuş kortikal-subkortikal bağlantıların derecesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir⁴⁹.

Ayrıca MS'in psikolojik sorunları, genellikle fiziksel etkilerden daha fazla sıkıntıya neden olmaktadır ve bazı araştırmalar depresyon ve fiziksel engellilik arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösterilmiştir⁵⁰. Bu nedenlerden dolayı bilişsel açıklıkların en erken şekilde tanımlanması ve uygun rehabilitasyon yöntemlerinin hastalara sunulması gerekmektedir.

2.3. Multipl Skleroz ve Rehabilitasyon

MS'te beyindeki nörolojik hasar görülmekle birlikte, son çalışmalar MS hastası olan kişilerde bilişsel görevler için nöroplastisitenin olasılığını, eğitime yanıt olarak göstermektedir.

Rehabilitasyon, tam bir iyileşme sağlamak amacıyla, uygun engellilik yönetimi ve engelliliğin kısıtlamalarını en aza indirmeye odaklanan aktif bir eğitim ve olanaklandırma süreci olarak tanımlanabilir. Ancak tam iyileşmenin mümkün olmadığı MS gibi bir durumda, hedefler hastaların en iyi fiziksel, zihinsel ve sosyal potansiyelini elde etmeye odaklanmaya başlamaktadır.

Bilişsel rehabilitasyon ise son yıllarda çalışılmaya başlayan, bireyin hafızasını ve diğer bilişsel işlevleri yeniden ele almak için tasarlanmış yapılandırılmış bir terapötik aktivite setidir. Bilişsel rehabilitasyonun beyin hasarını takiben bilişsel eksikliklerin tedavisinde faydalı olduğu bildirilmiştir⁵¹. Ayrıca, bilişsel egzersizlerin, dikkatin önemli ölçüde artmasına ve dolayısıyla spesifik olmayan eğitim ile karşılaştırıldığında dikkatle ilgili sorunların azalmasına yol açabildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır⁴⁶.

Psikiyatrik durumlarda inflamasyonun tek olası biyolojik mekanizma olduğunu gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Proinflamatuvar sitokinlerin periferik seviyeleri- adaptif ve doğal immün yanıtı koordine eden proteinler- ise sistemik inflamasyonun ortak bir ölçütü olarak kullanılmaktadır. Psikiyatrik koşullarda zayıf fiziksel sağlık⁵², nöropsikolojik bozukluk⁵³ ve kronik ağrı⁵⁴ ile ilişkilendirilmiştir ve yüksek oranlarda görülmüştür. Major depresif bozuklukta⁵², şizofrenide⁵⁵ ve anksiyete bozukluklarında⁵⁶ değişmiş proinflamatuvar sitokin seviyeleri gözlenmiştir.

Sinir sisteminde immün düzenleyici ve modüle edici fonksiyonları olan sitokinlerden interlekin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinler, sinaptogenez ve nöronal plastisite de dahil olmak üzere merkezi sinir sisteminde önemli roller oynamaktadır⁵⁷. Yapılan çalışmalar depresyon hastalarının proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artış olduğunu göstermiştir⁵⁸. Ayrıca, bu artışın, bu psikiyatrik bozukluğun ciddiyeti ile de ilişkili olduğu tahmin edilmektedir⁵⁹. Moreira ve arkadaşlarının 2015 yılında bilişsel davranış terapisi (BDT) üzerine yaptıkları çalışma, BDT'nin depresif semptomların tedavisinde etkili olduğunu ve genç yetişkinlerde TNF- α ve IL-6 konsantrasyonlarını azalttığını göstermiştir⁵⁷.

2.3.1. Bilgisayar Destekli Kognitif Rehabilitasyon

Farmakolojik tedaviler MS'li kişilerde bilişsel işlev bozuklukları için iyileştirici tedaviler olarak araştırılmıştır. Bu tedavilerin yanı sıra, bilişsel rehabilitasyon (BR) gibi farmakolojik olmayan müdahalelerin de rolü vardır.

BR teknikleri, işlevleri geri yüklemek veya bilişsel işlev bozukluğunu telafi etmek için stratejiler geliştirmek üzere tasarlanmıştır ancak MS hastalarında bilişsel işlev bozukluğunun yönetimi üzerine araştırmalar sınırlıdır. Bununla birlikte, son birkaç yılda yapılan bazı çalışmalar MS'te bilişsel işlev bozukluğu için semptomatik tedavileri değerlendirmiş ve sonuçların bazıları umut verici olmuştur. MS içerisinde mevcut olan az sayıdaki BR programı, dikkat açığını ve hafıza fonksiyonunu iyileştirmeyi amaçlamaktadır⁶⁰. Ancak MS hastalarında bilişsel kaynakları geri yüklemek için BR uygulamasındaki büyük bir sınırlama, tüm bilişsel işlev bozukluklarının BR'den fayda görmemesi olabilir. Bunun nedeni, MS popülasyonunda etkilenen bilişsel işlevlerin, bellek, dikkat, dil ve yönetici işlevlerini içermesi ve yaygın olmasıdır. Bu nedenle, homojen hasta popülasyonlarının (klinik engellilik ve sınırlı bilişsel bozulma açısından) seçimi ve özel rehabilitasyon stratejileri, MS'teki rehabilitasyon programları için karar alma sürecinde önemli bir rol oynamaktadır.

Bilişsel rehabilitasyonu kullanan nöro-davranışsal müdahaleler, MS hastalarının bilişsel performansı ve diğer ilgili beceriler üzerinde olumlu etkiler göstermiştir ve bazı durumlarda, bu olumlu etkileri bir MS bireyinin günlük yaşam işlevselliği kabiliyetine yaygınlaştırmayı başarmıştır⁶¹. Messinis ve arkadaşları tarafından RehaCom yazılımı kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada, tedaviden sonra, MS hastalarının sözel epizodik ve görsel-uzaysal hafıza, semantik akıcılık, işlem hızı/çalışma hafızası, tepki inhibisyonu, dikkat / visuomotor tarama hızı ve grup değiştirme kabiliyeti üzerinde önemli bir gelişme görülmüştür⁶¹.

2.3.2. Rehabilitasyon ve İlişkili Sinyal Yolakları

2.3.2.1. PKA Yolağı

Uzun süreli hafıza oluşumu ve uzun süren sinaptik plastisite formları, yeni gen ve proteinlerin ekspresyonuna bağlıdır. Anlık erken genler (AEG'ler) olarak adlandırılan ve aktivite ile regüle edilen bu genler, sinaptik aktiviteyi doğrudan nöral fonksiyon değişikliklerine çevirme potansiyeline sahip olan transkripsiyon faktörlerini ve proteinleri kodlar. Bu transkripsiyonel değişikliklerin en çok çalışılan mediyatörlerinden biri, transkripsiyon faktörü 3'-5' siklik AMP (cAMP) yanıt elemanı bağlayıcı (CREB) proteindir ve aslında, AEG'lerin çoğu cAMP yanıt elemanları (CRE) içermektedir ve bu nedenle transkripsiyon faktörü CREB tarafından düzenlenmektedir⁶².

CREB'in fosforile olması ile sinyali başlamaktadır. Birkaç sinyal yolunun ve kinazın CREB fosforilasyonunu indüklediği bilinmesine rağmen, en önemli CREB kinazı protein kinaz A (PKA)'dır. cAMP seviyesi hücrelerde yükseldiğinde, PKA'nın düzenleyici alt birimlerine bağlanarak PKA'nın aktif katalitik alt birimlerini serbest bırakmasına ve substratlarını fosforile etmelerine izin veren bir konformasyonel değişikliğe uğramasına neden olur. Fosforile olan PKA molekülü ise, hücre nükleusu içinde bulunan inaktif CREB moleküllerinin fosforile olarak aktif hale dönüşmelerini teşvik etmektedir. PKA aktivitesinin ise, G proteini-bağımlı reseptörlerden adenilil siklazların aktivitesi ile intraselüler cAMP seviyesini yükselttiği bilinmektedir.

2.3.2.2. CREB Yolağı

CREB, en iyi anlaşılan fosforilasyona bağlı transkripsiyon faktörlerinden biridir. Birkaç farklı serin-treonin kinazın, CREB'in transkripsiyon aktive edici bölgesi olan serin 133 bölgesinde fosforilasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu kinazların içinde bir cAMP-bağımlı protein kinaz A (PKA), protein kinaz C (PKC), ekstraselüler alandan intraselülere geçen kalsiyum akışına cevap veren kalmodulin kinazlar, pp90 ribozomal S6 kinaz (RSK2) bulunmaktadır⁶³. Fosforile olan CREB, CREB'e cevap veren genlerin transkripsiyonunu başlatmak için koaktivatör proteini olan CREB bağlayıcı protein (CBP) veya p300 ile etkileşime girmektedir.

CREB'in hücre çoğalması, hayatta kalma, farklılaşma, adaptif tepkiler, glukoz homeostazı, spermatogenez, sirkadiyen ritimler ve hafıza ile ilişkili sinaptik plastisite dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlemlerde yer aldığı bilinmektedir. Bununla birlikte, son on yılda ortaya yapılan çalışmalar CREB'in bağışıklık tepkilerinde (Tablo2.3) önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Rolü	Hücre Tipi	İmmün Sistemdeki Rolü
NF-κB sinyali inhibisyonu	Monosit ve endotelial hücreler	Anti-inflamatuar
Antiapoptotik sağkalım sinyali	Makrofajlar	Patojenik
TNF-α-aracılı sağkalım sinyali	Makrofajlar	Patojenik
IL-10 indüksiyonu	Makrofajlar ve miyeloid dendritik hücreler	Anti-inflamatuar
IL-10 indüksiyonu	Makrofajlar	Patojenik

HIV-1 Tat ile IL-10 indüksyonu	Makrofajlar	Bilinmemekte, patojenik olabilir
T hücresi aktivasyonu ve proliferasyonun artışı ve Th hücresi aktivitesi	T hücreleri	Koruyucu veya patojenik olabilir
IFN- γ üretiminin artışı	T hücreleri	Koruyucu
FoxP3 indüksyonu, Treg üretimi ve onarımı	T hücreleri	Anti-inflamatuar
B hücresi aktivasyonunun ve proliferasyonunun artışı	B hücresi	Koruyucu veya patojenik olabilir

Tablo 2.3: CREB'in immün sistemdeki farklı rolleri⁶³.

Kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızada birleşmesini önlenmesi ile ilgili ortaya çıkan bir hipotez, proteinlerin veya transkripsiyon faktörlerinin inhibisyonunu içermektedir. Bu hipotez ayrıca hafıza birleşmesi ile duygusal ve duygusal anlamaya bağlı devreler arasındaki ilişkiyi de ortaya koymaktadır⁶⁴.

Brunelli ve arkadaşları serotoninin duyusal nöronlardaki cAMP seviyesini arttırdığını bulmuştur ve yayınları cAMP ile öğrenme ve hafıza arasındaki ilişkinin ilk raporlarından biridir⁶⁵. Belleğe bağlı sinaptik plastisitede cAMP yolunda CREB transkripsiyon faktörlerinin doğrudan rolünün ilk raporu sunan Dash ve arkadaşları Aplysia nöronlarındaki uzun süreli hafıza sırasında PKA'nın CREB yoluyla gen ekspresyonunu aktive ettiğini göstermiştir⁶⁶. Son zamanlarda yapılan bir dizi çalışma CREB'in kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüşümünün altında yatan ana unsur olduğunu göstermiştir ve uzun süreli hafıza gelişiminin, CREB transkripsiyonel aktivitesinin düzenlenmesi ile artırılmış bellek oluşumu yoluyla gerçekleştiği tespit edilmiştir⁶⁷. Buna karşılık, bir CREB hedef geni olan bazal beyinde-üretilen nörotrofik faktör (BDNF) seviyelerindeki artış, kısa süreli hafıza gelişmesi ile ilgilidir ve BDNF ve CREB aktivitesinin artması, uzun süreli hafıza oluşumunu sinerjistik olarak iyileştirmektedir⁶⁷. Mevcut bulgular ile, CREB'in hafızayı birkaç farklı mekanizma ile geliştirdiğini göstermektedir ve doğrudan belleği modüle eden genlerin ekspresyonunu artırabildiği bilinmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklem Bilgileri

Çalışmanın yapılması için İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 27 Mart 2018 06 sayılı toplantısında 34790 sayılı yazısı ile izin alınmıştır.

Bireylere gönüllü olur formu imzalatılmış ve çalışma hakkında bilgiler verilmiştir. Toplanan örnekler İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı'nda kullanılacak yöntemler için uygun bir şekilde saklanmış ve çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

3.1.1. İşleme Kriterleri

Gönüllülük esasını kabul eden, 18 yaşından büyük olan ve 2017 revize McDonald kriterlerini sağlayan hasta bireyler çalışmaya dahil edilmiştir.

Sağlıklı bireylerden ise 18 yaşın üzerinde olan, eşlik eden sistemik ve nörolojik bir hastalığı olmayan, son 3 ay içinde enfeksiyöz hastalık geçirmemiş ve immünsüpresif ilaç almamış gönüllüler çalışmaya dahil edilmiştir.

3.1.2. Dışlama Kriterleri

Son üç ay içerisinde atak geçirmiş olan ve/veya immünsüpresif ilaç almış olan, 18 yaşın altında olan ve çalışmaya katılmayı kabul etmeyen hasta bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Sağlıklı gönüllülerde ise 18 yaşın altında olan ve herhangi bir nörolojik ve/veya otoimmün hastalığı olan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. Çalışma Materyali

Örneklerin toplama aşaması İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda, örnekler ile yapılacak çalışmalar ise İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar DETAE'de gerçekleştirildi. Araştırmadan sorumlu olan bölüm Aziz Sancar DETAE Sinirbilim Anabilim Dalı'nda bulunan derin dondurucu, +4°C buzdolabı, hassas terazi, santrifüj, hücre kültürü kabini ve şartları, vorteks, pipet takımı, otoklav, çeker ocak, sıcak su banyosu ve distile su cihazı kullanıldı. İmmün sistem hücrelerinin fenotiplenmesi için İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar DETAE, İmmünoloji AD'de

bulunan akım sitometri cihazında gerçekleştirildi. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR/PCR) işlemi için ise Aziz Sancar DETAE Moleküler Tıp AD'de bulunan (Agilent Technologies Stratagene Mx3005P) cihazı kullanıldı.

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3.1. Nöropsikolojik Değerlendirme

Çalışmamıza katılan tüm gönüllüler Rao'nun Test Bataryası (Nörolojik Psikolojik Testlerin Kısa Tekrarlanabilir Bataryası, BRB-N) tarafından başlangıçta ve 6 aylık bilgisayar destekli kognitif rehabilitasyon uygulaması sonrasında değerlendirildi. Uygulanan testler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Uygulanan Test	İlişkili Olduğu Süreç
Seçmeli Hatırlatma Testi (Srttl)	Sözel bellek ile ilişkili
Spasyal Geriçağırma Testi (Sparttl)	Görsel bellek ile ilişkili
Sürdürülen dikkat ve bilgi işlem hızı testi	Yürütücü işlevlerle ilişkili
Sembol Basamağı Modaliteleri Testi (SDMT)	Yürütücü işlevlerle ilişkili
Sözel Akıcılık ve Kategorik Akıl Yürütme Testi (COWAT)	Yürütücü işlevlerle ilişkili

Tablo 3.1: Rao'nun Test Bataryası'nda uygulanan testler.

Bu testlere ek olarak yürütücü işlevlerini değerlendirmek için Stroop Renk-Kelime Testi, duygudurum değerlendirmesi için Beck Depresyon Envanteri ve motor işlevlerin değerlendirilmesi için 9-Delikli Test ve 25-Ayak Yürüme Testi uygulandı.

3.3.2. Bilgisayar Destekli Kognitif Rehabilitasyon

Bilgisayar destekli kognitif rehabilitasyon (computer assisted cognitive rehabilitation; CCR), NOROSOFT Zihinsel Egzersiz Programına dayanmaktadır. Program dikkat, hafıza, muhakeme, görsel ve sözlü görevler olmak üzere 5 modülden oluşmaktadır. Gönüllü hasta bireylerden haftada 5 gün 50 dakika boyunca uygulamayı yapmaları istendi. Seanslar, hastaların her modülde performans göstermelerini sağlayan 20 dakikalık bir günlük egzersiz bölümü ve her hastanın Rao'nun BRB-N puanlarına

göre 30 dakikalık özel bir eğitime sahipti. Haftalık takip için, hastalar programın kurumsal arayüzü tarafından denetlendi. Ayrıca aylık olarak çalışmaya katılan doktorlar tarafından değerlendirildi.

3.3.3. Gradyan Yöntemi ile Periferik Kan Mononükleer Hücrelerin İzole Edilmesi

Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) gradyan yöntemi ile izole edildi. Tüm gönüllü bireylerden Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)'lı tüplere alınan donör kanları (20 ml), eşit hacimde steril fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi (phosphate buffered saline, PBS) eklenerek kan+PBS süspansiyonu oluşturuldu. Süspansiyon hacminin 1/3'ü kadar Ficoll (Lympho-paque) içeren başka bir tüpe aktarıldıktan sonra, tüp 3000 rpm'de 20 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Yoğunluklarına göre ayrılan mononükleer hücrelerin bulunduğu ara faz PBS ile yıkanmak üzere 1800 rpm'de 15 dakika +4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst sıvı (süpernatant) uzaklaştırıldıktan sonra, hücre peleti 1 mL PBS ile çözülüp 1800 rpm'de 10 dakika +4°C'de tekrar santrifüj edildi. İzole edilen hücreler sayma cihazında sayılarak minimum 1 cryo tüpte 10 milyon hücre olacak olacak şekilde, 1:1 oranında %20 DMSO içeren fetal sığır serumu (fetal bovine serum, FBS) ve FBS içinde -80°C derin dondurucuda saklandı. Gönüllü hastalardan 6 aylık bilgisayarlı rehabilitasyon sonrası alınan kan örneklerinden PKMH hücreleri izole edildi.

3.3.4. Hücrelerin Akım Sitometrisi için Florokrom Antikorlar ile İşaretlenmesi

Dondurulan PKMH örnekleri 37°C'de su banyosunda çözündürülerek FBS ve RPMI 1640 ile hazırlanan medyum içinde 1800 rpm'de 10 dakika, 4°C'de yıkandı ve hücrelerin canlılığı tripan mavisi ile belirlendi. Hesaplanan hücre sayılarına göre hücreler akım sitometri tüplerine 500.000 ve 1 milyon PKMH olacak şekilde boyama tamponu (PBS) içinde eklendi ve floresan işaretli monoklonal antikorlarla 30 dakika +4°C'de, karanlıkta inkübe edildi. İlk tüpte genel hücre gruplarının ayrımı için anti-insan CD3-FITC, CD16/CD56-PE, CD45-PerCP, CD19-APC (BD Mix: 342446BD Multitest™) antikorları kullanıldı. İkinci tüpte ise B hücre alt gruplarını belirlemek amacıyla anti-insan CD19-APC, CD27-FITC, CD24-PerCP, CD38-Alexa Fluor 700, CD138-PE, IgD-APC/Cy7 (Biolegend) antikorları kullanıldı. Bu floresan işaretli monoklonal antikorlar, protokolün önerdiği miktarlarda kullanıldı. İnkübasyon sonrası hücreler PBS ile 1800 rpm'de 5 dakika +4°C'de santrifüj yapılarak yıkandıktan sonra, tüpler üzerine eklenen okuma tamponu (150 µl PBS ve 150 µl %2'lik paraformaldehid)

içerisinde 6 renkli akım sitometrisi (BD FACS Aria II) cihazı ile değerlendirildi. Hücre gruplarının belirlenmesi için veri analizlerinde FlowJo analiz programları kullanıldı.

İşlem sonrası kalan hücreler ise 1.5ml'lik eppendorflara aktarıldı, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek pelet haline gelmeleri sağlandı. Santrifüj sonrası üst sıvı uzaklaştırılarak, pelet üzerine RNA lizis tamponu (RLT) (QIAGEN) eklenerek ($<5 \times 10^6$ hücre için 350µl ve 5×10^6 - 10^7 hücre için 600µl) sonraki basamaklarda kullanılmak üzere -80°C 'de saklandılar.

3.3.5. RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

RNA izolasyonu için, RLT içinde saklanan örnekler oda ısısına alınarak çözdürüldü. Elde edilen sıvı miktarı kadar %70'lik etanol eklendi, enjektör yardımı ile homojenize edilen hücreler RNeasy kolonuna aktarılıp 12.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi. Kolonun altına geçen sıvı uzaklaştırıldı ve kolon sırası ile bir defa 700 µl RW1 ve iki defa da 500µl RPE solüsyonları ile yıkandı. Her basamakta 12.000 rpm'de 15 saniye santrifüj sonrası kolonun altına geçen sıvı, son basamakta ise kolon altında bulunan eppendorf atıldı. Temiz bir eppendorf kolonun altına yerleştirilerek kolona 40µl DNaz ve RNaz ile muamele edilmiş steril distile su eklenip 15.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek RNA'nın kolondan eppendorfa geçirilmesi sağlandı.

İzole edilen RNA spektrofotometrede (nanodropta) ölçülerek miktar ve saflık tayini yapılarak -80°C 'de saklandı. RNA saflığı için 260nm'deki OD değerleri 1.9 ve 2.1 arasında olanlar çalışmaya dahil edildi.

cDNA sentezi için; kitin belirttiği (Roche) prosedür uygulandı. Template mix'in hazırlığı için kit içinde bulunan Anchored-oligo(dT)18 ve PCR grade water eppendorfları oda ısısına alınarak eritildi, santrifüj edilerek buz üstüne alındı. Saklanan RNA örnekleri de buz üstüne alınarak her örnek için eppendorflar hazırlandı. Prosedürde belirtilen son konsantrasyonlara ve miktarlara göre; 1µl Anchored-oligo(dT)18, konsantrasyonu 100ng olacak şekilde RNA örnekleri ve son hacmi 13µl'ye tamamlayacak şekilde PCR grade water eklendi, pipetaj yapıldı. Hazırlanan eppendorflar PCR cihazına (Biorad T100) yerleştirilerek 65°C 'de 10 dakika inkübasyona alındı. İşlem sonrasında tüm eppendorflar buz üstüne alındı. Revers transkriptaz mix'ini hazırlamak için eppendorf hazırlandı. Kit içinde bulunan Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer, Protector RNase Inhibitor, Deoxynucleotide (dNTP) Mix ve Transcriptor Reverse Transcriptase (RT) eppendorfları

oda ısısına alınarak eritildi. Mix'in hazırlanacağı eppendorfa, pipetaj hatası eklenerek, gereken total hacim için miktarlar belirlendi. Her örnek başına 4 µl Buffer, 0,5 µl Inhibitor, 2 µl dNTP Mix ve 0,5 µl RT olacak şekilde hesaplar yapılarak eppendorfa aktarıldı. Hazırlanan revers transkriptaz mix'i pipetaj yapılarak, buz üstüne alınan eppendorflara 7µl , total hacimleri 20 µl, olacak şekilde eklenerek pipetaj edildi. PZR cihazına yerleştirilen eppendorflar 50°C'de 1 saat boyunca inkübe edildi ve 85°C'de 5 dakikada transkriptör revers transkriptazın inaktivasyonu sağlandı. Cihazdan alınan örnekler -30°C'de, diğer aşamalara kadar saklandı.

3.3.6. Microarray ile Aday Genlerin Belirlenmesi

Microarray çalışmasında 5 RRMS, 6 Benign MS hastası ve 5 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu olmak üzere, toplamda 16 bireye ait periferik kan örneklerinden elde edilen RNA materyalleri için *Sureprint G3 Human Gene Expression V3* mikroarray (MA) sistemi ile tüm genom ekspresyon profilleri çıkarılmış ve toplamda 26083 Entrez gen değerlendirilmiştir. Deneysel süreçlerden kaynaklanabilecek hata ve problemleri engellemek amacıyla ham MA kalite kontrol sürecinden geçirilmiştir. Sonrasında, elde edilen verileri, çiplerden elde edilen veriler ile karşılaştırılabilmek için normalize edilmiştir. Günümüzde en sık kullanılan *Quantile* normalizasyon uygulanmıştır. Bu amaçla, ham veriler için RMA normalizasyonu uygulanmıştır. Normalizasyon sonrasında temel bileşen analizi (*Principle component analysis*: PCA) yapılmıştır. Böylece örnekler arasındaki dışarıda kalanların belirlenmesi (*outlier*) yapılmış, normalizasyon öncesi ve sonrası arasındaki varyansa bağlı değişimlerin kontrolü ve belirli gen kümelerinin fenotipe ilişkili olarak gösterdiği ekspresyon paterninin örnekler arasında farklı kümelenmelere sebep olup olmadığına bakılmıştır.

Fenotipler arasında diferansiyel ekspresyon farklılığı olan genlerin belirlenmesi amacıyla varyans temelli istatistiksel yöntemler kullanılmıştır. Parametrik ve parametrik olmayan T-Test (Mann Whitney U) örneklerin ikili karşılaşmalarında ve ANOVA testi ise 3'lü grup karşılaştırmalarında kullanılmıştır. Fenotip grupları arasında yapılan karşılaştırmalar dört farklı kombinasyonda; (1) RRMS/kontrol, (2) benign MS/kontrol, (3) RRMS/benign MS ve (4) RRMS/benign/kontrol, gerçekleştirilmiştir. Uygulanan tüm istatistiksel analizlerde $p < 0,05$ değeri olan, ve ekspresyon rölatif değişimi 2 katın üstünde bulunan genler filtrelenmiştir. Özellik seçiminde (*feature selection*) kullanılan istatistiksel modeller ve filtrelemeler sonucunda elde edilen genlere ait ekspresyon

paternlerinin oluşturduğu fenotipik kümelenmelerin analizinde ward algoritması kullanılmış ve hiyerarşik kümelemeler elde edilmiştir. Fenotip grupları arasında, ekspresyon paternlerine göre kümelenmelerin tespitinde Öklid uzaklığı kullanılmış, ve genlerin ekspresyonları arasındaki korelasyonlarının belirlenmesinde *pearson correlation* metrikleri kullanılarak hiyerarşik şekilde kümelenmeler yapılmıştır. Dendogram analizinde RRMS, benign MS ve sağlıklı kontrol gruplarına göre ayrı kümelenmeler dikkat çekmiştir. Sonuçlar *feature selection* işleminin başarısını göstermektedir.

Filtrelenen fenotipler arasında, DAVID algoritması kullanılarak, diferansiyel farklılık gösteren genlerden hangilerinin biyolojik yollarda yer aldığı ve biyolojik işlevlerde rol oynadığını analiz edilmiş, *Gene set enrichment analizi* yapılmış ve sonuçlar GEGG ve GO veritabanlarına anote edilmiştir. Sonuçların görselleştirme aşamasında R tabanlı *parthview* kütüphanesi kullanılmış ve rölatif diferansiyasyonu tespit edilen genlerin interaksiyonlarını görmek için *GeneMania prediction server* kullanılmıştır. Yapılan tüm analizler sonucunda hipotezimiz ile uyumlu olan hedef genler belirlenmiştir (Tablo3.2).

Gen	Primer Dizisi	Gen	Primer Dizisi
BLK_Frw	TAGATCACAGGGTCGGAAGG	GPRC5C_Frw	AAACTCCCATCTCCCTCACC
BLK_Rev	GGCAGCGGATCTTATAGTGC	GPRC5C_Rev	GAGCGGTACACAGGTTGTA
TGFB1_Frw	GTACCTGAACCCGTGTTGCT	CCL19_Frw	CCTGCTGGTTCTCTGGACTT
TGFB1_Rev	CAACTCCGGTGACATCAAAA	CCL19_Rev	GTGAACACTACAGCAGGCAC
EBI3_Frw	TGTTCTCCATGGCTCCCTAC	GLRA2_Frw	TGCCAACTTCCACGATGTCA
EBI3_Rev	AGCTCCCTGACGCTTGTAAC	GLRA2_Rev	ACTCTCCAGCTGCATTGTACA
ATP1B3_Frw	CAGTCTGTCTGATGGAGCA	CCL16_Frw	GATGAAGGTCTCCGAGGCTG
ATP1B3_Rev	TGGCACTCCTTCAGGCTTTA	CCL16_Rev	TGGTGCAGACTTCTCGGTTC
BANK1_Frw	GTTCAGACCCCGCACATATT	KCNS3_Frw	AATCGCTACCAGGAACGCAA
BANK1_Rev	CCTTCCCCTTCCATTTTATT	KCNS3_Rev	CGATCTCCACTCCTTCCAGC
BLNK_Frw	GAGCAGTGGTCCGATGACTT	DGKB_Frw	TCCCCGGACTACTTCTCCTG
BLNK_Rev	TGGGCTTACTGGGAAGTGTC	DGKB_Rev	AAGCCATTCCCATCCGTGTC
FCRL2_Frw	CTCTGGGGACTGTTTGGTGT	RASAL2_Frw	AGTATCCTGATGACCGCACA
FCRL2_Rev	GGTTGGGCTTGAATAGGTGA	RASAL2_Rev	TGGGGTGTGTTGAGATGGTGT
SWAP70_Frw	CGGTGCTGAAGGTTCTCAT	ACTB_Frw	TGGCACCACACCTTCTACAA
SWAP70_Rev	GACACAGAGGGTCCAACACA	ACTB_Rev	CCAGAGGCGTACAGGGATAG
MSLN_Frw	GCCTTGGCACAGAAGAATGT	HPRT1_Frw	AGTGATGATGAACCAGGTTATGA
MSLN_Rev	GGAGAAGAAACGGGTGCAG	HPRT1_Rev	GCTACAATGTGATGGCCTCC
PXDN_Frw	CCAGATTCGTTCCAGCATCT	GAPDH_Frw	CCATCAATGACCCCTTATT
PXDN_Rev	CTGGATGCGTCTGGGATATT	GAPDH_Rev	TTGACGGTGCCATGGAATTT

Tablo 3.2: Genler ve primer dizileri.

3.3.7. Aday Genlere Özgü Primer Dizaynı

Microarray datası analizleri sonuçları ile belirlenen hedef genlerin ekspresyon paternlerini daha geniş MS ve sağlıklı kontrol gruplarında değerlendirmek üzere kantitatif PZR primerleri dizayn edilmiştir. İlk olarak <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> sitesinden hedef genlerin dizilerine ulaşılmış, ve sonrasında <http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi> sitesi yardımıyla uygun primer dizileri tasarlanmıştır.

3.3.8. Gradient PZR ile Primerlerin Bağlanma Derecelerinin Belirlenmesi

Hedef genlerin primerleri için uygun bağlanma sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla kullanılan yöntemdir. Kullanılacak her primer için 8 farklı sıcaklık değerlerinden (55°C, 55,7°C, 56,9°C, 58,8°C, 61,1°C, 63°C, 64,3°C, 65°C) en uygun değeri belirlemek amacıyla, her örneğe 8 adet olmak üzere eppendorflar hazırlandı.

Her örnek/eppendorf için miktarları Mg: 1µl; reverse ve forward primerler: 0,5µl; Sybr Green: 5µl, DNase-RNase free su: 2µl olmak üzere PZR mixleri hazırlanarak, mixlerden her bir eppendorfa 9µl ve kontrol cDNA'sından ise 1µl eklenerek PZR örnekleri hazırlandı. PZR cihazında uygun program ayarlanarak işlem başlatıldı.

Elde edilen PZR ürünlerinin hangi sıcaklıklarda daha iyi bağlanma gösterdiklerinin belirlenmesi için %1'lik agaroz jel hazırlanarak, Tris-borate-EDTA (TBE) tmponu içinde 150 voltta yaklaşık 30-45 dakika süresince elektroforez işlemi yapıldı.

3.3.9. Gerçek-Zamanlı PZR ile Gen Validasyonlarının Yapılması ve Ekspresyon Analizi

İşlemler Mx3005P qPCR System cihazında (Agilent Tehcnologies), kitin önerdiği (Fast Start DNA Master SYBR Green I kiti, Roche) program ve prosedür kullanılarak yapıldı.

Tüm genler (Tablo 3.3) için örnekler çift olarak çalışıldı. cDNA'lar için her dokuda eşit miktarda eksprese edilen ve temel hücresel fonksiyonlardan sorumlu olarak (house-keeping gen, referans gen) gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) geni kullanıldı. Her kuyucuğa, toplam hacmi 10 µl olacak şekilde, 5µl (1x) Sybr Green I floresan boyası/enzimi, 100ng (1µl) cDNA ve her primerin forward ve reverse

örneklerinden 600-800nM (0,5µl) reverse ve forward primerlerden oluşan karışım hazırlandı. İşlem sonrasında amplifikasyon eğrileri ve erime tepe noktaları (melting peak) değerlendirildi.

Gen	Primer Dizisi	Gen	Primer Dizisi
BLK_Frw	TAGATCACAGGGTCGGAAGG		
BLK_Rev	GGCAGCGGATCTTATAGTGC	SWAP70_Frw	CGGTGCTGAAGGTTCTCAT
TGFB1_Frw	GTACCTGAACCCGTGTTGCT	SWAP70_Rev	GACACAGAGGGTCCAACACA
TGFB1_Rev	CAACTCCGGTGACATCAAAA	KCNS3_Frw	AATCGCTACCAGGAACGCAA
ATP1B3_Frw	CAGTCTGTCCTGATGGAGCA	KCNS3_Rev	CGATCTCCACTCCTTCCAGC
ATP1B3_Rev	TGGCACTCCTTCAGGCTTTA	ACTB_Frw	TGGCACCACACCTTCTACAA
BANK1_Frw	GTTTCAGACCCCGCACATATT	ACTB_Rev	CCAGAGGCGTACAGGGATAG
BANK1_Rev	CCTTCCCCTTCCATTTCATT	HPRT1_Frw	AGTGATGATGAACCAGGTTA TGA
BLNK_Frw	GAGCAGTGGTCCGATGACTT	HPRT1_Rev	GCTACAATGTGATGGCCTCC
BLNK_Rev	TGGGCTTACTGGGAAGTGTC	GAPDH_Frw	CCATCAATGACCCCTTCATT
FCRL2_Frw	CTCTGGGGACTGTTTGGTGT	GAPDH_Rev	TTGACGGTGCCATGGAATTT
FCRL2_Rev	GGTTGGGCTTGAATAGGTGA		

Tablo 3.3: Validasyonu yapılan genler.

3.4. İstatistik

Periferik kan hücre alt gruplarının belirlenmesi ve veri analizlerinde Cell Quest (BD) ve FlowJo analiz programları kullanıldı. Akım sitometrisinin sonuçlarında, ikiden fazla grubun olduğu durumların karşılaştırılmasında ANOVA ve Tukey'in post-hoc testi kullanıldı ve, iki grubun olduğu durumlarda ise (rehabilitasyon öncesi vs. rehabilitasyon sonrası) veriler paired t-test ile karşılaştırıldı.

Hedef genlerin relatif kantifikasyonunda, hedef genlerin CT değerleri, referans gen olan GAPDH'e oranla rölatif miktarlarının tayini için $2^{-\Delta\Delta CT}$ ($\Delta\Delta C_T = \text{hedef gen } C_T - \text{evsel düzenleme geni } C_T$) formülü kullanıldı.

Hasta ve sağlıklı bireylerin yaşları, standart sapma ile birlikte, ortalama değer ve aralık ile birlikte ortanca değer olarak verildi. Korelasyon analizleri Pearson korelasyon testi ile yapıldı.

İstatistiksel anlamlılık olarak, p değeri 0,05'ten küçük olarak tanımlandı ve analizler SPSS 15.0 programı ile gerçekleştirildi. Grafiklerin oluşturulmasında GraphPad Prism 5 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik ve Demografik Veriler

Çalışma grubuna ait klinik ve demografik veriler Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

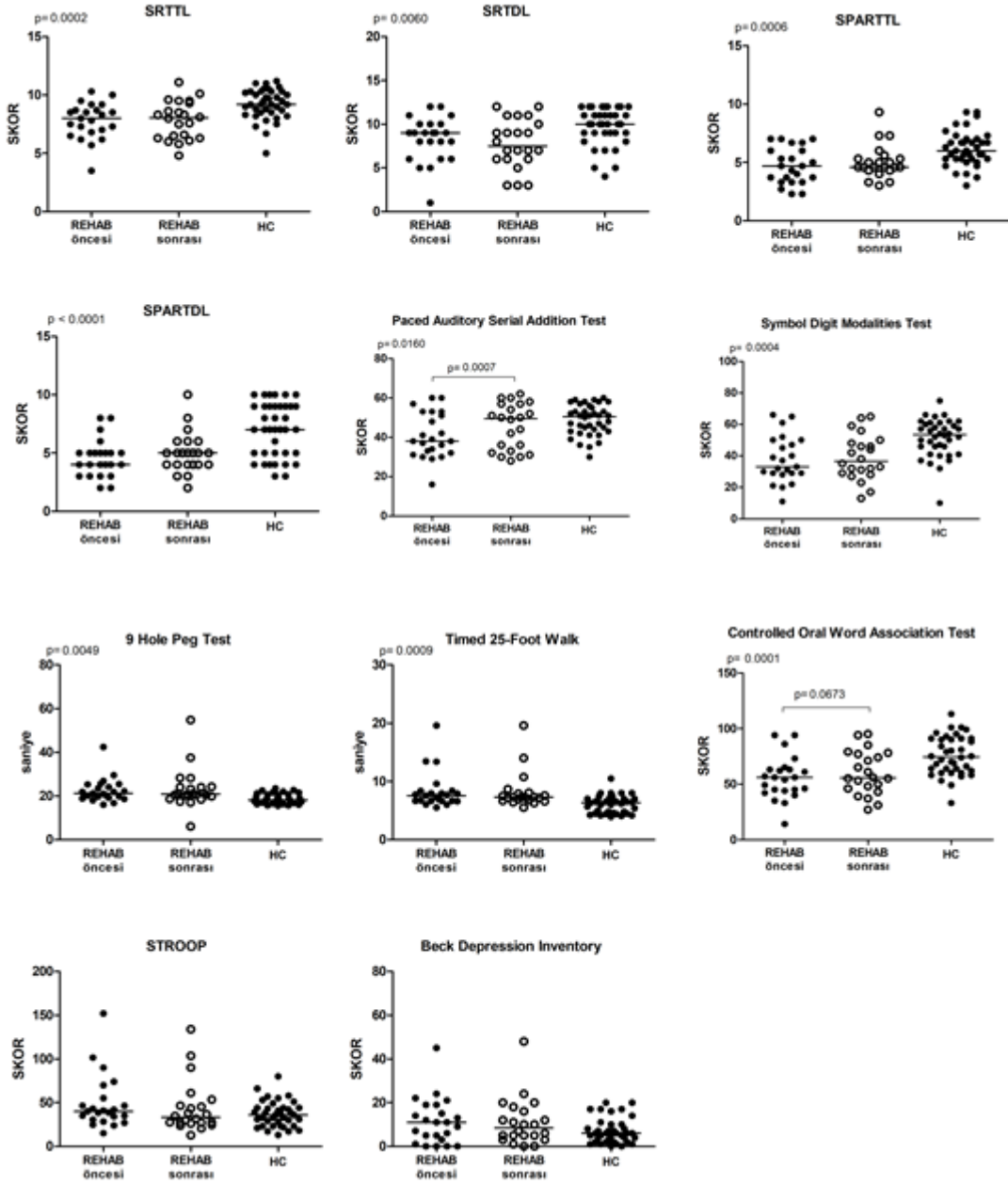
	Multiple Skleroz (n=45)	Sağlıklı Kontrol (n=28)
Cinsiyet (K/E)	26/19	14/14
Yaş (yıl, SS)	42,64±9,6	39,3±8,7
Hastalık Başlangıç Yaşı (yıl, SS)	30,42±9,87	
Hastalık süresi (yıl, SS)	11,3±5,33	
Son EDSS (ort., SS)	3,29±1,38	
Toplam Atak sayısı (ort., SS)	6,49±3,88	
Yıllık Atak sayısı (ort., SS)	0,69±0,46	

Tablo 4.1: Klinik ve demografik veriler

Çalışmaya dahil edilen benign, benign olmayan MS ve sağlıklı kontrol olgularının yaş hastalık başlangıç yaşı, hastalık süresi, EDSS ve atak sayısı ($p=0,76$) t testi ile cinsiyet ise ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Benign MS olgularının yaş, hastalık başlangıç yaşı ve EDSS skorlarının benign olmayan MS olgularından anlamlı olarak düşük olduğu bulundu ($p=0,002$, $p=0,022$ ve $p<0,0001$). Hastalık süresi ve toplam atak sayısı ise gruplar arasında farklı değildi ($p=0,69$ ve $p=0,76$). Çalışmaya dahil edilen MS olgularının tamamı bir immünmodulator tedavi altındaydı (interferon-beta, glatiramer asetat veya fingolimod).

4.2. Hastaların Kognitif Değerlendirmeleri

Bilgisayarlı rehabilitasyonun etkisini değerlendirmek için, hastalara uygulanan nöropsikolojik test skorlarının dağılımı Şekil 4.1’de yer almaktadır. Genel olarak MS hastalarında bilişsel ve motor fonksiyon ile sözel ve görsel bellek azalma tespit edildi. Rehabilitasyon sonrası ise yürütücü işlevlerde (PASAT ve COWAT testleri) düzelme (sırasıyla $p=0,0007$ ve $p=0,06$) belirlenirken rehabilitasyonun sözel ve görsel bellek ile motor işlevler üzerinde değiştirici etkisi gözlenmedi (Şekil4.1).



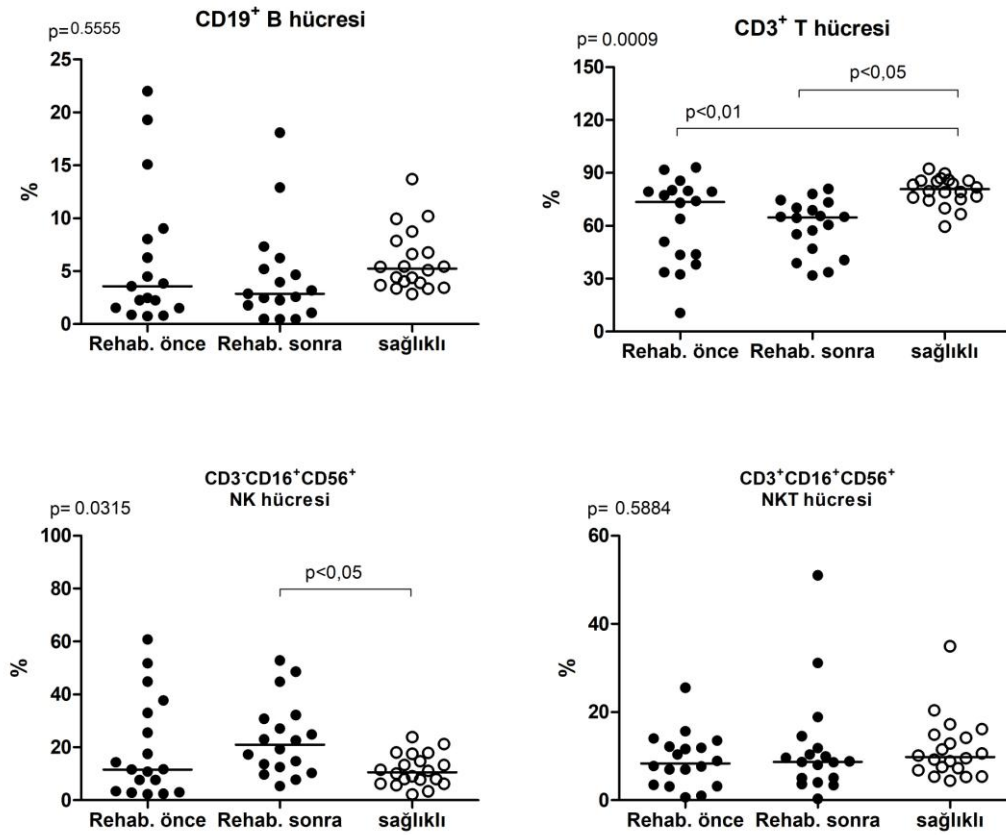
Şekil 4.1: Nöropsikolojik test skorlarının çalışma grupları arasındaki dağılımı

4.3. Periferik Kan Mononükleer Hücre Fenotiplerinin Karşılaştırması

4.3.1. Periferik Kan B, T ve Doğal Öldürücü Hücrelerinin Dağılımı

Yirmi benign ve 16 benign olmayan MS olgusu ve 28 sağlıklı kontrol donörünün PKMH grupları değerlendirildiğinde; CD19 eksprese eden B hücresi yüzdesinin gruplar arasında farklı olmadığı, CD3⁺ T hücresi yüzdesinin ise rehabilitasyon öncesi ($p < 0,01$) ve sonrası ($p < 0,05$) gruplarda sağlıklılardan anlamlı olarak düşük olduğu bulundu. Ancak bu etkinin rehabilitasyon etkisinden bağımsız

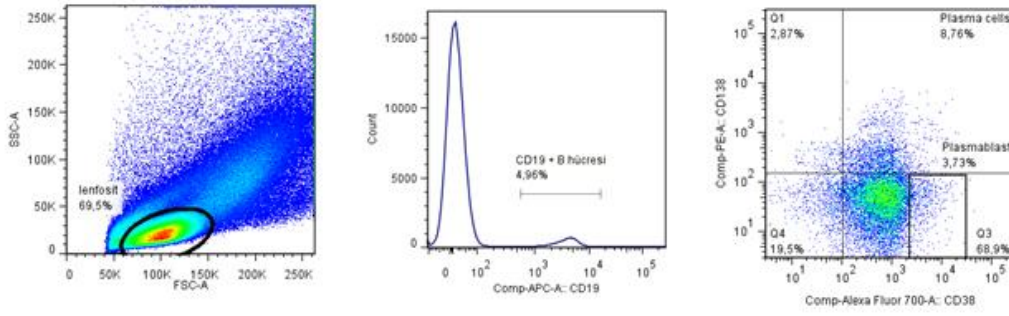
olduğu belirlendi. $CD3^+CD16^+CD56^+$ doğal öldürücü (NK) hücre ($p=0,0315$) gruplarının farklı olduğu belirlendi. Bu farklılık sadece rehabilitasyon sonrası grupta ($p<0,05$) sağlıklılardan anlamlı olarak yüksekti. Rehabilitasyonun NK hücre yüzdesine anlamlı olmasa da artış yönünde bir etkisi olduğu belirlendi. $CD3^+CD16^+CD56^+$ NKT hücrelerinin ise çalışma gruplarında benzer yüzdelere sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Periferik kan B, T ve doğal öldürücü hücrelerin (NK ve NKT) çalışma grupları arasındaki dağılımı

4.3.2. Periferik Kan B Hücresi İmmünofenotiplerinin Gruplar Arasındaki Dağılımı

Periferik B hücre dağılımı çalışma grupları arasında farklı olmamasına rağmen, MS hastalığında önemi giderek artan B hücre alt gruplarının hücre yüzey moleküllerine (cluster of differentiation; farklılaşma kümesi; CD) göre immünofenotiplendirmesi temel kapılama stratejisi ile yapıldı (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: B hücre alt tipleri için kapılama stratejisi

Akım sitometresinde hücreler önden saçılım (Forward Scatter-FSC) ve yandan saçılım (Side Scatter-SSC) ile konumlanmakta ve şekil 4.2’de gösterildiği üzere lenfositler tanımlanmaktadır. B hücreleri CD19’u yüzeyinde eksprese eden, aynı zamanda CD3, CD14 ve CD56 bulundurmeyen (negatif) hücrelerdir.

B hücrelerinin spesifik alt grupların tanımlanması, çeşitli belirteçlerin yüzey ekspresyonuna dayanarak daha fazla sıralı kapılama ile gerçekleştirildi. Bu şekilde naif, hafıza (switched ve unswitched), plazma, plazmablast ve düzenleyici B hücrelerinin, tanımlanması sağlandı. Böylelikle spesifik olarak antikor yapımı ve antijen sunumunda rol oynayan B hücre alt gruplarının detaylı olarak incelenmesi hedeflendi. Değerlendirilen B hücre alt grupları şu şekilde sıralanmaktadır:

Naif B Hücresi: $CD19^+IgD^+CD27^-$

İmmatür B Hücresi: $CD19^+IgD^-CD27^-$

Dönüşmemiş Hafıza B Hücresi (Unswitched): $CD19^+IgD^+CD27^+$

Dönüşmüş Hafıza B Hücresi (Switched): $CD19^+IgD^-CD27^+$

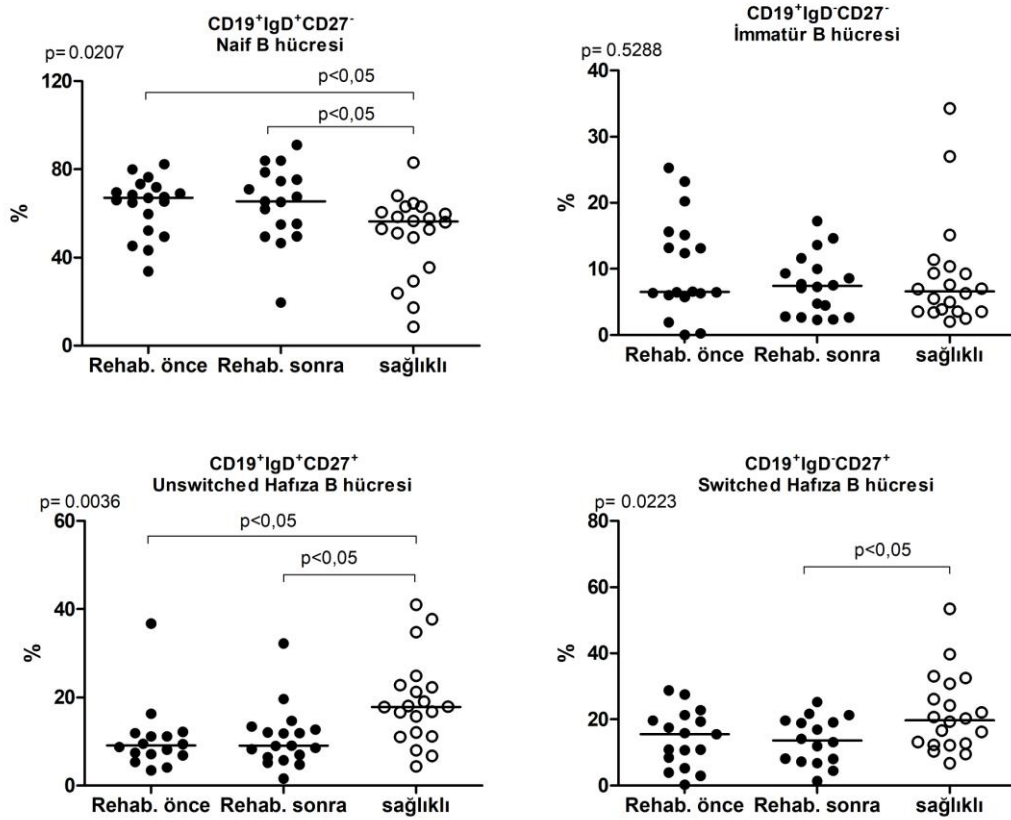
Plazma Hücresi: $CD19^+CD38^+CD138^+$

Plazmablast: $CD19^+CD38^{++}CD138^-$

Düzenleyici B Hücresi: $CD19^+CD24^{++}CD38^{++}$

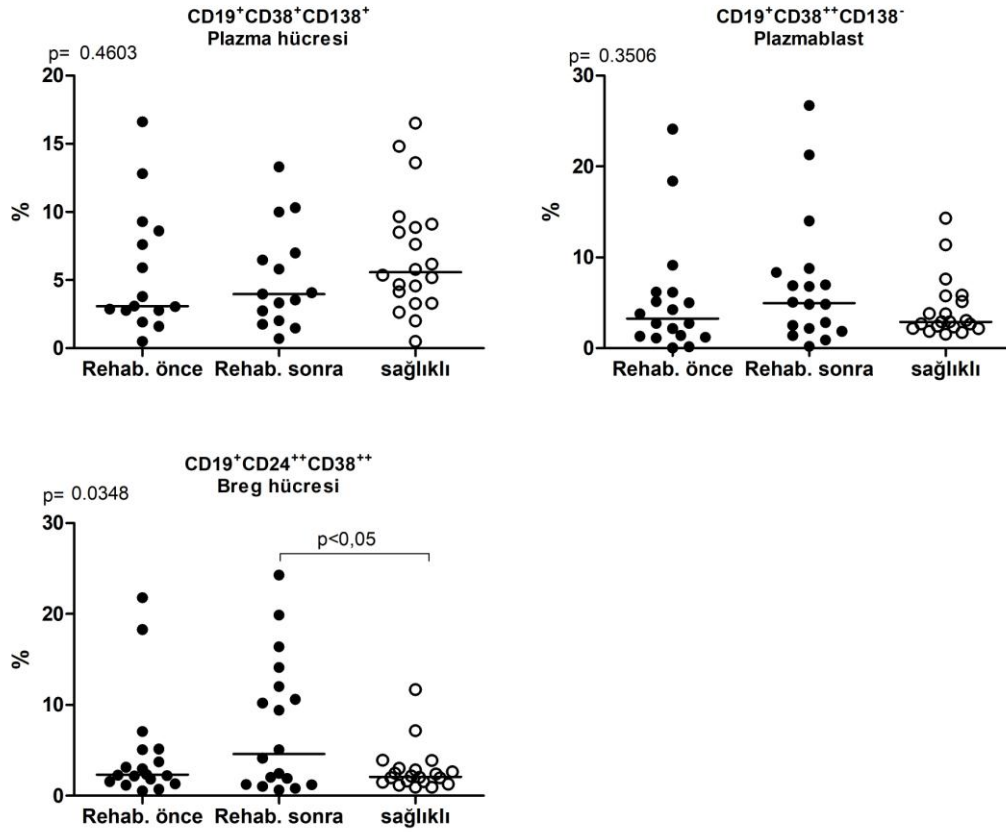
Antijen ile karşılaşmamış yani olgunlaşmamış B hücrelerinin immatür ($CD19^+IgD^-CD27^-$) alt grubunda çalışma grupları arasında fark yokken, naif ($CD19^+IgD^+CD27^-$) hücre yüzdesinin rehabilitasyondan etkilenmeyerek sağlıklı gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$). Bu alt B hücresi grubunun aksine, hafıza B hücrelerinde ise zıt yönde anlamlı değişiklikler gözlemlendi. Dönüşmemiş hafıza B

hücrelerinin (unswitched hafıza, $CD19^+IgD^+CD27^+$) rehabilitasyon öncesi ve sonrası grupların sağlıklılarına göre düşük olduğu bulundu ($p<0,05$). Dönüşmüş (switched, $CD19^+IgD^-CD27^+$) ($p=0.0525$) hafıza B hücrelerinin ise sadece rehabilitasyon sonrası grupta sağlıklılarına göre anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi ($p<0,05$). Bu sonuçlar rehabilitasyonun B hücrelerinin bu alt grupları arasında fark yaratmadığını göstermektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: Periferik kan B hücresi immünofenotiplerinin gruplar arasındaki dağılımı

Antikor yapan hücre öncülleri olan plazmablastlar ($CD19^+CD38^{++}CD138^-$) ve antikor yapan B hücreleri olan plazma hücrelerinin ($CD19^+CD38^+CD138^+$) çalışma grupları arasında farklı olmadığı belirlendi. İmmün baskılayıcı hücre özelliği taşıyan, düzenleyici B hücre (Breg, $CD19^+CD24^{++}CD38^{++}$) alt grubunda ise, rehabilitasyon sonrası artış meydana geldiği ve bunun da sadece sağlıklı gruptan farklı olduğu bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Periferik kan B hücresi immünofenotiplerinin gruplar arasındaki dağılımı

4.4. Microarray Sonuçlarının Analizi ile Belirlenen Aday Genlerin RT-PCR ile Ekspresyon Validasyonları

Mikroarray verilerinin değerlendirilmesi sonucu belirlenen genlerin ekspresyon düzeyleri MS hastalarından “Bilgisayar Destekli Kognitif Rehabilitasyon” öncesi ve sonrasında alınan kan örneklerindeki total PKMH’lerinde değerlendirildi. Hastalarda bilgisayarlı rehabilitasyondan en az 6 ay sonra tekrar örneği alındı.

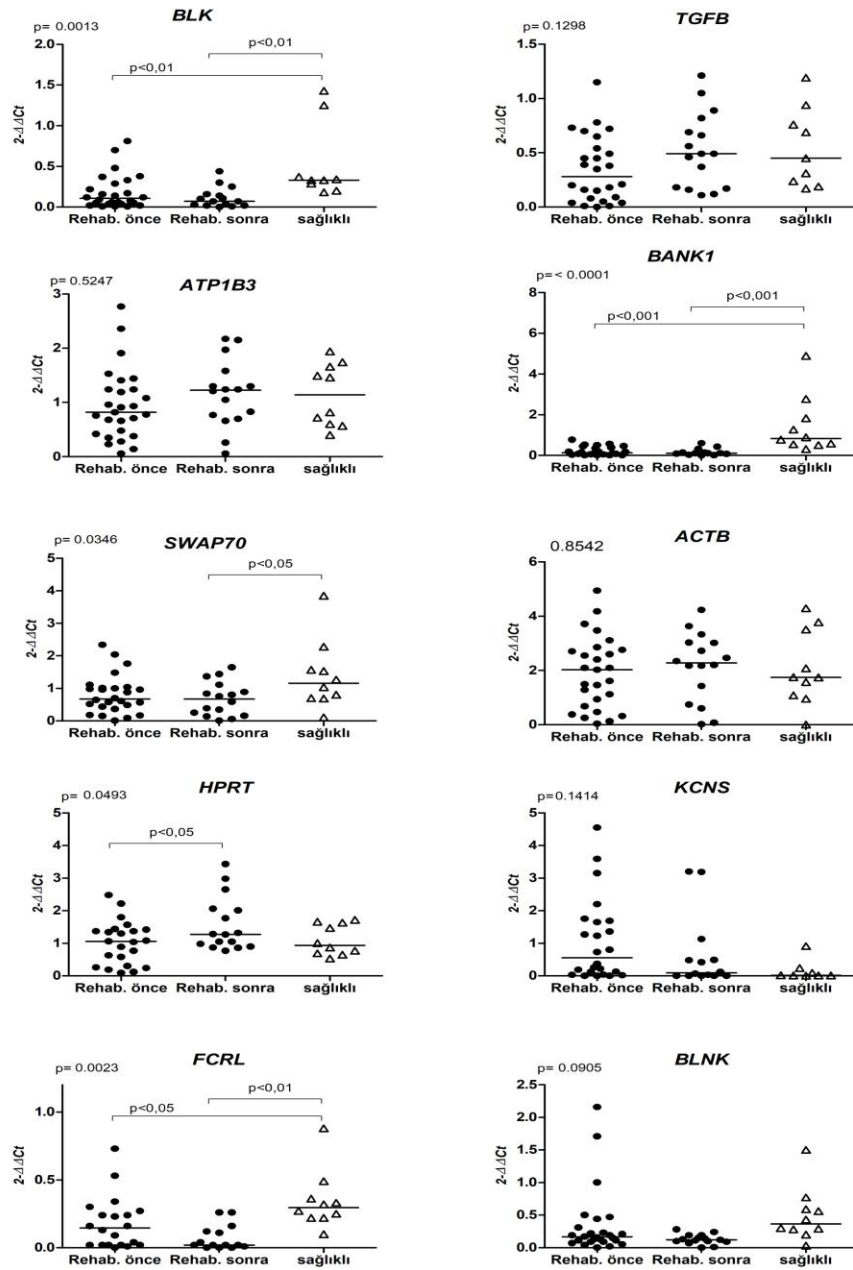
BLK, BANK1, SWAP70, FCRL gen ekspresyonları hasta gruplarında sağlıklı donörlerden anlamlı olarak düşük belirlendi (Şekil 4.5). Ancak bilgisayarlı rehabilitasyon bu gen ekspresyonları üzerinde herhangi değişiklik yaratmadı. Bu, akım sitometri sonuçlarına göre periferik B hücre yüzdesinin gruplar arasında değişiklik göstermemesine rağmen, B hücre fonksiyonlarında baskılanma olabileceğini düşündürmektedir.

TGFB ve ATP1B3 gen ekspresyonunda çalışma grupları arasında fark yokken, bilgisayarlı rehabilitasyon sonrasında ekspresyonların anlamlı olarak artması (p=0,0169

ve $p=0,0437$) hücre aktivitesinin immün süpresyon yönüne kayması olarak yorumlanabilir (Şekil 4.6).

KCNS ve BLNK ekspresyon düzeylerinde ise gruplar arasında fark görülmedi (Şekil 4.6).

B hücresi alt gruplarının yüzdeleri, nöropsikolojik test skorları ve gen ekspresyon düzeyleri arasında ikili olarak yapılan istatistiksel analizler sırasında korelasyon bulunmadı.



Şekil 4.6: Çalışma grubunda rölatif gen ekspresyonlarının dağılımı

5. TARTIŞMA

Multipl Skleroz aksonal dejenerasyona, demiyelinizasyona ve inflamasyona bağlı olarak gelişen, merkezi sinir sistemini etkileyen otoimmün progresif bir hastalıktır. Genç yetişkinlerde sık görülen ve üstünde en çok çalışılan nörodejeneratif hastalıklardan biridir¹. Genetik ve çevresel etmen etkileşimlerinin bir arada rol oynadığı ve hastalık riskini arttırdığı bilinmektedir.

Tanı konulma aşamasında ilk olarak klinik bulgular gerekmektedir. Tanıyı destekleme ve ayırıcı tanı konulması amacı ile klinik bulgulara ek olarak bir takım tetkik ve testler gerekmektedir. Bu yöntemler manyetik rezonans görüntüleme, serolojik testler, BOS analizi ve uyarılmış potansiyellerdir. MS'in kliniğe yansması heterojendir ve lezyonların merkezi sinir sistemindeki yerleşimine bağlıdır. Bu nedenle çeşitli MS alt tipleri tanımlanmaktadır³⁷⁻⁴¹.

MS'in patolojik özelliği, MSS'te plak veya lezyon adı verilen miyelin kaybının olduğu fokal bölgelerin oluşudur ve her ne kadar MSS'ye yayılsa da optik sinirler, subpial omurilik, beyin sapı, serebellum ve jukstakortikal ve periventriküler beyaz cevher bölgeleri öncelikli olarak etkilenmektedir¹⁹. MS'in immün süreci, T hücrelerinin yanı sıra B hücreleri, antikolar ve doğal immün sistemin hücrelerini de içermektedir. Uzun zamandır patogenezinde T hücrelerinin rol aldığı ve etken olduğu bilinmektedir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar ile B hücrelerinin de patogenezinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Özellikle antikor üretimi dışında, T hücrelerine antijen sunma rolü olan B hücrelerinin önemi artmaktadır.

Optik nörit, hastaların % 25'inde ilk görülen ataktır ve klinik başlangıcından 10 ila 15 yıl sonra hastaların %34-75'inde klinik olarak kesin MS'e dönüşüm ile ilişkilidir². Miyelit veya beyin sapı sendromlarından kaynaklanan duysal belirtiler ise ilk klinik bulgulardır³⁶. Motor belirtiler ise hastalığın ilk semptomlarıdır ve hastaların büyük çoğunluğunu etkilemektedir. Ancak bunlara ek olarak; günümüzde kognitif bozulmanın MS hastalarının %70'inde görüldüğü bilinmektedir⁴³. Bilgi işlem hızındaki eksiklikler MS'te en yaygın bilişsel açığı temsil etmektedir⁴⁴. Ayrıca hastaların psikolojik sorunları, görülen fiziksel etkilerden daha fazla sıkıntıya neden olmaktadır ve yapılan bazı araştırmalarda da depresyon ve fiziksel engellilik arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösterilmiştir⁵⁰. Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak MS hastalarında motor

fonksiyonlar ile sözel ve görsel bellekte azalma tespit edildi. Bilgisaylı rehabilitasyon sonrası ise yürütücü işlevlerde (PASAT ve COWAT testleri) düzelme belirlenirken rehabilitasyonun sözel ve görsel bellek ile motor işlevler üzerinde etkisi gözlenmedi.

PASAT ve COWAT karmaşık dikkat, bilgi işleme hızı, sözel akıcılık, kategorik akıl yürütme gibi yürütücü işlevleri değerlendiren yöntemlerdir. Frontal lobu da içine alan kognitif şebekelerin sorumlu olduğu yürütücü işlevlerin ön planda düzelme göstermesi bu anatomik bölgelerin nöronal plastisite kapasitesinin daha yüksek olması ile ilişkili bulunması mümkündür. Alternatif olarak bu bölgeler çalışma olgularımızda daha az etkilenmiş ve bu sebeple rehabilitasyondan daha kolay yararlanabilecek kognitif rezerve sahip bölgeler de olabilir^{68,69}.

Yapılan çalışmalar depresyon hastalarının proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artış olduğunu göstermiştir⁵⁸. Moreira ve arkadaşlarının bilişsel davranış terapisi (BDT) üzerine yaptıkları çalışma, BDT'nin depresif semptomların tedavisinde etkili olduğunu ve genç yetişkinlerde TNF- α ve IL-6 konsantrasyonlarını azalttığını göstermiştir⁵⁷. Bu bulgular anti-inflamatuar ilaç tedavisi ve fiziksel rehabilitasyonu kapsamayan ve kognisyon üzerine etkili olan yöntemlerin de MS hastalarına hakim olan pro-inflamatuar fenotipin baskılanmasında yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Beklendiği gibi çalışmamızda nörorehabilitasyon sonrasında pro-inflamatuar efektör bellek B hücrelerinin azaldığı, anti-inflamatuar düzenleyici B hücrelerinin (Breg) arttığı, B lenfosit proliferasyonu yönünde çalışan FCRL2 gen ekspresyonunun azaldığı, B hücre proliferasyonunu engelleyen TGFB ve ATP1B3 genlerinin ekspresyonunun ise arttığı saptanmıştır.

Kognitif rehabilitasyonun inflamasyon yönünde çalışan efektör bellek B hücrelerini azaltıp, anti-inflamatuar Breg hücrelerini arttırması önemlidir. B hücreleri immün yanıtı antikor üreterek ve antijen sunumu ile T hücrelerini etkinleştirerek kuvvetlendirirler. Son yıllarda yapılan çalışmalar Breg adı verilen özgün bir hücre grubunun aşırı inflamatuvar yanıtı IL-10, TGF-beta ve IL-35 gibi anti-inflamatuar sitokinlerle baskılayabildiğini göstermektedir. Ayrıca Breg hücreleri Th1/Th17 hücre farklılaşmasını baskılayarak ve düzenleyici T lenfositlerini (Treg) arttırarak inflamasyonu kontrol altına almaktadır. Breg düzeylerindeki azalma pek çok nöroimmünolojik hastalığın alevlenmesi ile ilişkilendirilmiştir⁷⁰. Bu bilgiler ışığında,

Breg hücrelerindeki artışın efektör T hücrelerini baskılamış olması ve bunun sonucunda bellek B hücrelerinin de azalmış olması mümkündür.

Breg hücreleri tarafından üretildiği bilinen ve efektör hücreleri baskılayıcı özelliği olan TGF-beta sitokininin gen ekspresyon düzeyinin artması da bu sonuçlarla uyumludur. TGF-beta B hücre işlevlerini kontrol eden bir sitokindir ve bu etkisini B hücresinde apoptoz yaparak, Ig üretimini azaltarak ve uyarılmış B hücrelerinin yüzey Ig ekspresyonunu azaltarak gösterir. TGF-beta hücre içinde Ship-1, CD72, JAK-STAT gibi B hücre aktivasyonu için gerekli sinyal yollarını baskılayabilir. TGF-beta nakavt farelerde spontan anti-DNA antikoru gelişimi ve progresif otoinflamasyon gözlenmiştir. TGF-betanın sadece B hücrelerinde etkinliğinin baskılanması ise lenfatik dokularda hiperplaziye, serum Ig düzeylerinde artışa ve otoantikor gelişimine yol açmıştır. Bu bulgular TGF-betanın özellikle otoreaktif B hücrelerini kontrol etmek için önemli olduğunu göstermektedir⁷¹. Bu bulgular ışığında nörorehabilitasyon tedavisi alan MS olgularındaki kognitif düzelmenin en azından kısmen TGF-beta artışı ile ilişkilendirilmesi mümkündür.

B hücresine özgü bir yapı proteinini kodlayan, ankrin tekrarları ile B hücresi yapı proteini 1 (BANK1) geni otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir⁷² ve dopamin sinyal yolağının bir parçası olan CD40 aracılı protein kinaz B (AKT) yolağını negatif olarak etkilediği gösterilmiştir⁷³. Önemi ise AKT'nin ayrıca glukoz metabolizması, apoptoz, proliferasyon, transkripsiyon ve hücre göçü gibi birçok hücrel süreçte rol almasıdır⁷². Tirozin kinaz ailelerinden olan B lenfoid kinaz (BLK) romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıklarla ilişkidir ve GWAS çalışmalarında tanımlanan risk allelleri, B hücreleri⁷⁴ ve B hücre hatlarında azalmış BLK ekspresyonu ile tutarlı görülmüştür⁷⁵. Simfendorfer ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışma ise BLK ile otoimmün hastalık arasındaki ilişki mekanizmasında B hücresi antijen reseptörü (BCR) sinyalinin düşük eşikli oluşu ve B hücresi-T hücresi arasındaki etkileşimlerin rol aldığını bildirmiştir⁷⁶. Fc reseptör benzeri (FCRL) moleküller, potansiyel aktivasyon ve inhibe edici rolleri olan, Ig üst ailesine ait yeni bir molekül sınıfı olarak tanımlanmaktadır⁷⁷. FCRL, toll-benzeri reseptör aracılı B hücre proliferasyon, aktivasyon ve sağkalımını NFkB ve MAPK yolları üzerinden arttırmaktadır⁷⁸. Bu nedenle, FCRL ekspresyonunda herhangi bir değişiklik ve B hücrelerindeki yoğunluğu, BCR sinyalini ve daha sonra B hücresi tepkilerini dengelemek için önemli olduğu düşünülmektedir⁷⁷.

SWAP-70 nükleer protein olarak tanımlanmaktadır ve IgG ile olan ilişkisinin, önceden aktive edilmiş hafıza B hücrelerinin daha hızlı ve güçlü sinyal vermesinde rolü olduğu düşünülmektedir⁷⁹. B hücresi bağlayan protein (BLNK), moleküler kompleksleri bir araya getirmek için bir iskele görevi yapmaktadır; pre-B reseptöründen ve B hücre antijen reseptöründen sinyal iletiminde görevlidir⁸⁰. BLNK fosforilasyonunun, B hücresi antijen reseptörü aktivasyonu sonrasında farklı sinyalizasyon efektörleri oluşturduğu gösterilmiştir⁸¹. Ayrıca hayvan çalışmalarında; BLNK eksikliği olan farelerde B hücresi gelişiminde tamamlanmamış süreçler gözlemlenmiştir⁸². Çalışmamızda ekspresyon düzeyini ölçtüğümüz diğer bir faktör olan ATP1B3 aktif B lenfositlerini ve inflamatuvar NFkB yolağını baskılama özelliği gösterilmiş bir Na-K ATPaz beta altbirim izoformudur⁸³. Nörorehabilitasyon sonrasında MS olgularında bu faktörlerden B hücrelerini baskılayan TGF-beta ve ATP1B3'ün arttığı, B hücresini etkinleştiren FCRL'nin ise azaldığı saptanmıştır. İmmünofenotipleme çalışmalarında anti-inflamatuvar yöne kaydığı gözlenen B hücre değişikliklerinin ve buna eşlik eden kognitif iyileşmenin bu B hücre genlerinin ekspresyonuna bağlı olduğunu ileri sürmek mümkündür.

Sonuç olarak, klinik ve demografik özellikleri birbirine yakın bulunan, çalışma süresince hastalıklarında ve tedavilerinde herhangi bir değişiklik olmayan bir MS hasta grubunda kognitif rehabilitasyon sonrasında anti-inflamatuvar B hücrelerinin arttığı, B hücre gelişimini destekleyen genlerin düzeylerinin azaldığı, B hücresini baskılayan genlerin ise arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular kognitif rehabilitasyon gibi biyolojik temellere dayanmayan tedavi yöntemlerinin de moleküler ve hücresel etkileri olabileceği ve inflamasyonda ve klinik progresyonda gerilemeye yol açabilecekleri yönündeki görüşleri desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Sakkas GK, Giannaki CD, Karatzaferi C, Manconi M. Sleep Abnormalities in Multiple Sclerosis. *Curr Treat Options Neurol.* 2019;21(1):4. doi:10.1007/s11940-019-0544-7
2. Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, et al. Multiple sclerosis. *Nat Rev Dis Prim.* 2018;4(1):43. doi:10.1038/s41572-018-0041-4
3. Yeshokumar AK, Narula S, Banwell B. Pediatric multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2017. doi:10.1097/WCO.0000000000000452
4. Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol.* 2010. doi:10.1016/S1474-4422(10)70064-8
5. Oh J, Vidal-Jordana A, Montalban X. Multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2018;31(6):752-759. doi:10.1097/WCO.0000000000000622
6. Leray E, Moreau T, Fromont A, Edan G. Epidemiology of multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris).* 2016;172(1):3-13. doi:10.1016/j.neurol.2015.10.006
7. Tarlinton RE, Khaibullin T, Granatov E, Martynova E, Rizvanov A, Khaiboullina S. The Interaction between Viral and Environmental Risk Factors in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(2). doi:10.3390/ijms20020303
8. Pantazou V, Schluep M, Du Pasquier R. Environmental factors in multiple sclerosis. *Presse Med.* 2015;44(4):e113-e120. doi:10.1016/J.LPM.2015.01.001
9. Nieves J, Cosman F, Herbert J, Shen V, Lindsay R. High prevalence of vitamin D deficiency and reduced bone mass in multiple sclerosis. *Neurology.* 1994.
10. Heidari B, Mirghassemi MBH. Seasonal variations in serum vitamin D according to age and sex. *Casp J Intern Med.* 2012.
11. Dobson R, Giovannoni G, Ramagopalan S. The month of birth effect in multiple sclerosis: Systematic review, meta-analysis and effect of latitude. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013. doi:10.1136/jnnp-2012-303934
12. Haahr S, Plesner AM, Vestergaard BF, Höllsberg P. A role of late Epstein-Barr virus infection in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 2004;109(4):270-275. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15016009>. Accessed March 16, 2019.
13. Round JL, O'Connell RM, Mazmanian SK. Coordination of tolerogenic immune

- responses by the commensal microbiota. *J Autoimmun.* 2010. doi:10.1016/j.jaut.2009.11.007
14. Douglas-Escobar M, Elliott E, Neu J. Effect of intestinal microbial ecology on the developing brain. *JAMA Pediatr.* 2013. doi:10.1001/jamapediatrics.2013.497
 15. Berer K, Krishnamoorthy G. Microbial view of central nervous system autoimmunity. *FEBS Lett.* 2014. doi:10.1016/j.febslet.2014.04.007
 16. Hedström AK, Hillert J, Olsson T, Alfredsson L. Nicotine might have a protective effect in the etiology of multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2013. doi:10.1177/1352458512471879
 17. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol.* 2007;61(6):504-513. doi:10.1002/ana.21141
 18. Hernán MA, Jick SS, Logroscino G, Olek MJ, Ascherio A, Jick H. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain.* 2005. doi:10.1093/brain/awh471
 19. Popescu BFG, Lucchinetti CF. Pathology of Demyelinating Diseases. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2011. doi:10.1146/annurev-pathol-011811-132443
 20. Popescu BFG, Pirko I, Lucchinetti CF. Pathology of multiple sclerosis: Where do we stand? *Contin Lifelong Learn Neurol.* 2013;19(4):901-921. doi:10.1212/01.CON.0000433291.23091.65
 21. Weissert R. The immune pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2013;8(4):857-866. doi:10.1007/s11481-013-9467-3
 22. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 2018;378(2):169-180. doi:10.1056/NEJMr1401483
 23. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: Implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol.* 2000. doi:10.1002/1531-8249(200006)47:6<707::AID-ANA3>3.0.CO;2-Q
 24. Prinz M, Priller J, Sisodia SS, Ransohoff RM. Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration. *Nat Neurosci.* 2011. doi:10.1038/nn.2923
 25. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Preceded by: Abbas AK. *Cellular and Molecular Immunology.*

26. Loma I, Heyman R. Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Treatment. *Curr Neuroparmacol*. 2011;9(3):409-416. doi:10.2174/157015911796557911
27. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain*. 2009. doi:10.1093/brain/awp070
28. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, et al. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain*. 2006. doi:10.1093/brain/awl217
29. Bramow S, Frischer JM, Lassmann H, et al. Demyelination versus remyelination in progressive multiple sclerosis. *Brain*. 2010. doi:10.1093/brain/awq250
30. Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *Lancet (London, England)*. 2017;389(10076):1336-1346. doi:10.1016/S0140-6736(16)30959-X
31. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17(2):162-173. doi:10.1016/S1474-4422(17)30470-2
32. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 1983. doi:10.1002/ana.410130302
33. 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. *Ann Neurol*. 2001. doi:10.1002/ana.1032
34. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis - a review. *Eur J Neurol*. 2019;26(1):27-40. doi:10.1111/ene.13819
35. Gilmour H, Ramage-Morin PL, Wong SL. Multiple sclerosis: Prevalence and impact. *Heal Reports*. 2018.
36. Rae-Grant AD, Eckert NJ, Bartz S, Reed JF. Sensory symptoms of multiple sclerosis: a hidden reservoir of morbidity. *Mult Scler*. 2003. doi:10.1191/135245899678846032
37. Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, et al. Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: The radiologically isolated syndrome. *Neurology*. 2009. doi:10.1212/01.wnl.0000335764.14513.1a
38. Aktura ŞD, Yılmaz V, Özkan-Yaşargün D, Ulusoy C, Tüzün E, Türkoğlu R. Peripheral blood memory B cell frequency predicts conversion from clinically

- isolated syndrome to multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2018;23:9-14. doi:10.1016/j.msard.2018.04.015
39. Klineova S, Lublin FD. Clinical Course of Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(9):a028928. doi:10.1101/cshperspect.a028928
 40. Bobholz JA, Rao SM. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: a review of recent developments. *Curr Opin Neurol*. 2003;16(3):283-288. doi:10.1097/01.wco.0000073928.19076.84
 41. Simon JH, Kleinschmidt-DeMasters BK. Variants of Multiple Sclerosis. *Neuroimaging Clin N Am*. 2008;18(4):703-716. doi:10.1016/J.NIC.2008.06.003
 42. Maloni H. Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis. *J Nurse Pract*. 2018. doi:10.1016/j.nurpra.2017.11.018
 43. Charvet LE, Yang J, Shaw MT, et al. Cognitive function in multiple sclerosis improves with telerehabilitation: Results from a randomized controlled trial. *PLoS One*. 2017. doi:10.1371/journal.pone.0177177
 44. Chiaravalloti ND, Genova HM, DeLuca J. Cognitive rehabilitation in multiple sclerosis: The role of plasticity. *Front Neurol*. 2015. doi:10.3389/fneur.2015.00067
 45. Rao SM, Leo GJ, Ellington L, Nauertz T, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning. *Neurology*. 1991. doi:10.1212/WNL.41.5.692
 46. Kesselring J, Beer S. Symptomatic therapy and neurorehabilitation in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2005;4(10):643-652. doi:10.1016/S1474-4422(05)70193-9
 47. Feinstein A, O'Connor P, Gray T, Feinstein K. Pathological laughing and crying in multiple sclerosis: a preliminary report suggesting a role for the prefrontal cortex. *Mult Scler*. 2003. doi:10.1191/135245899678847248
 48. Hung Y, Yarmak P. Neurorehabilitation for multiple sclerosis patients with emotional dysfunctions. *Front Neurol*. 2016;6(JAN). doi:10.3389/fneur.2015.00272
 49. Berg D, Supprian T, Thomae J, et al. Lesion pattern in patients with multiple sclerosis and depression. *Mult Scler*. 2000. doi:10.1191/135245800701566016
 50. McIvor GP, Riklan M, Reznikoff M. Depression in multiple sclerosis as a function of length and severity of illness, age, remissions, and perceived social

- support. *J Clin Psychol*. 1984. doi:10.1002/1097-4679(198407)40:4<1028::AID-JCLP2270400427>3.0.CO;2-1
51. Cicerone KD, Dahlberg C, Malec JF, et al. Evidence-based cognitive rehabilitation: updated review of the literature from 1998 through 2002. *Arch Phys Med Rehabil*. 2005. doi:10.1016/j.apmr.2005.03.024
 52. Amato MP, Ponziani G, Rossi F, Liedl CL, Stefanile C, Rossi L. Quality of life in multiple sclerosis: The impact of depression, fatigue and disability. *Mult Scler*. 2001. doi:10.1191/135245801681138059
 53. Meyers CA, Albitar M, Estey E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2005. doi:10.1002/cncr.21234
 54. Backonja MM, Coe CL, Muller DA, Schell K. Altered cytokine levels in the blood and cerebrospinal fluid of chronic pain patients. *J Neuroimmunol*. 2008. doi:10.1016/j.jneuroim.2008.01.005
 55. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: Clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry*. 2011. doi:10.1016/j.biopsych.2011.04.013
 56. Vogelzangs N, Beekman ATF, De Jonge P, Penninx BWJH. Anxiety disorders and inflammation in a large adult cohort. *Transl Psychiatry*. 2013. doi:10.1038/tp.2013.27
 57. Moreira FP, Cardoso T de A, Mondin TC, et al. The effect of proinflammatory cytokines in Cognitive Behavioral Therapy. *J Neuroimmunol*. 2015. doi:10.1016/j.jneuroim.2015.06.004
 58. Munzer A, Sack U, Mergl R, et al. Impact of antidepressants on cytokine production of depressed patients in vitro. *Toxins (Basel)*. 2013. doi:10.3390/toxins5112227
 59. Maes M, Berk M, Goehler L, et al. Depression and sickness behavior are Janus-faced responses to shared inflammatory pathways. *BMC Med*. 2012. doi:10.1186/1741-7015-10-66
 60. Cerasa A, Gioia MC, Valentino P, et al. Computer-assisted cognitive rehabilitation of attention deficits for multiple sclerosis: A randomized trial with fMRI correlates. *Neurorehabil Neural Repair*. 2013. doi:10.1177/1545968312465194

61. Messinis L, Nasios G, Kosmidis MH, et al. Efficacy of a Computer-Assisted Cognitive Rehabilitation Intervention in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Patients: A Multicenter Randomized Controlled Trial. *Behav Neurol*. 2017. doi:10.1155/2017/5919841
62. Didier S, Sauvé F, Domise M, Buée L, Marinangeli C, Vingtdeux V. AMP-activated Protein Kinase Controls Immediate Early Genes Expression Following Synaptic Activation Through the PKA/CREB Pathway. *Int J Mol Sci*. 2018;19(12). doi:10.3390/ijms19123716
63. Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS. The Role of the Transcription Factor CREB in Immune Function. *J Immunol*. 2010. doi:10.4049/jimmunol.1001829
64. Ortega-Martínez S. A new perspective on the role of the CREB family of transcription factors in memory consolidation via adult hippocampal neurogenesis. *Front Mol Neurosci*. 2015. doi:10.3389/fnmol.2015.00046
65. Brunelli M, Castellucci V, Kandel ER. Synaptic facilitation and behavioral sensitization in Aplysia: Possible role of serotonin and cyclic AMP. *Science (80-)*. 1976. doi:10.1126/science.186870
66. Dash PK, Hochner B, Kandel ER. Injection of the cAMP-responsive element into the nucleus of Aplysia sensory neurons blocks long-term facilitation. *Nature*. 1990. doi:10.1038/345718a0
67. Suzuki A, Fukushima H, Mukawa T, et al. Upregulation of CREB-Mediated Transcription Enhances Both Short- and Long-Term Memory. *J Neurosci*. 2011;31(24):8786-8802. doi:10.1523/JNEUROSCI.3257-10.2011
68. Rocca MA, Valsasina P, Ceccarelli A, et al. Structural and functional MRI correlates of Stroop control in benign MS. *Hum Brain Mapp*. 2009;30(1):276-290. doi:10.1002/hbm.20504
69. Hansen S, Muenssinger J, Kronhofmann S, Lautenbacher S, Oschmann P, Keune PM. Cognitive screening in Multiple Sclerosis: the Five-Point Test as a substitute for the PASAT in measuring executive function. *Clin Neuropsychol*. 2017;31(1):179-192. doi:10.1080/13854046.2016.1241894
70. Han J, Sun L, Fan X, et al. Role of regulatory b cells in neuroimmunologic disorders. *J Neurosci Res*. 2016;94(8):693-701. doi:10.1002/jnr.23749
71. Fujio K, Komai T, Inoue M, Morita K, Okamura T, Yamamoto K. Revisiting the regulatory roles of the TGF- β family of cytokines. *Autoimmun Rev*.

- 2016;15(9):917-922. doi:10.1016/j.autrev.2016.07.007
72. Blokland GAM, Wallace AK, Hansell NK, et al. Genome-wide association study of working memory brain activation. *Int J Psychophysiol.* 2017;115:98-111. doi:10.1016/j.ijpsycho.2016.09.010
 73. Aiba Y, Yamazaki T, Okada T, et al. BANK Negatively Regulates Akt Activation and Subsequent B Cell Responses. *Immunity.* 2006;24(3):259-268. doi:10.1016/j.immuni.2006.01.002
 74. Simpfendorfer KR, Olsson LM, Manjarrez Orduño N, et al. The autoimmunity-associated BLK haplotype exhibits cis-regulatory effects on mRNA and protein expression that are prominently observed in B cells early in development. *Hum Mol Genet.* 2012;21(17):3918-3925. doi:10.1093/hmg/dds220
 75. Guthridge JM, Lu R, Sun H, et al. Two Functional Lupus-Associated BLK Promoter Variants Control Cell-Type- and Developmental-Stage-Specific Transcription. *Am J Hum Genet.* 2014;94(4):586-598. doi:10.1016/j.ajhg.2014.03.008
 76. Simpfendorfer KR, Armstead BE, Shih A, et al. Autoimmune Disease-Associated Haplotypes of *BLK* Exhibit Lowered Thresholds for B Cell Activation and Expansion of Ig Class-Switched B Cells. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(11):2866-2876. doi:10.1002/art.39301
 77. Rostamzadeh D, Dabbaghmanesh M, Shabani M, Hosseini A, Amirghofran Z. Expression Profile of Human Fc Receptor-Like 1, 2, and 4 Molecules in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Hashimoto's Thyroiditis and Graves' Disease. *Horm Metab Res.* 2015;47(09):693-698. doi:10.1055/s-0035-1545280
 78. Li FJ, Schreeder DM, Li R, Wu J, Davis RS. FCRL3 promotes TLR9-induced B-cell activation and suppresses plasma cell differentiation. *Eur J Immunol.* 2013;43(11):2980-2992. doi:10.1002/eji.201243068
 79. Masat L, Caldwell J, Armstrong R, et al. Association of SWAP-70 with the B cell antigen receptor complex. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97(5):2180-2184. doi:10.1073/pnas.040374497
 80. Kamino H, Futamura M, Nakamura Y, Kitamura N, Kabu K, Arakawa H. B-cell linker protein prevents aneuploidy by inhibiting cytokinesis. *Cancer Sci.* 2008;99(12):2444-2454. doi:10.1111/j.1349-7006.2008.00990.x

81. Chiu CW, Dalton M, Ishiai M, Kurosaki T, Chan AC. BLNK: molecular scaffolding through 'cis'-mediated organization of signaling proteins. *EMBO J.* 2002;21(23):6461-6472. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12456653>. Accessed April 9, 2019.
82. Ishiai M, Kurosaki M, Pappu R, et al. BLNK required for coupling Syk to PLC gamma 2 and Rac1-JNK in B cells. *Immunity.* 1999;10(1):117-125. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10023776>. Accessed April 9, 2019.
83. Nishitsuji H, Sugiyama R, Abe M, Takaku H. ATP1B3 Protein Modulates the Restriction of HIV-1 Production and Nuclear Factor κ Light Chain Enhancer of Activated B Cells (NF- κ B) Activation by BST-2. *J Biol Chem.* 2016;291(9):4754-4762. doi:10.1074/jbc.M115.679357

FORMLAR

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU METNİNDE BULUNMASI GEREKENLER

“Bu gereklilikleri yerine getirirken, araştırmanın amacı ve yöntemine göre gönüllü olur formunun gerektiğinde hastaların yanı sıra çocuklar, kısıtlılar ve bilinci kapalı bireyler gibi onam yeteneği olmayan ya da kısıtlı olanlar, hasta yakınları, ve sağlıklı kişiler için ayrı ayrı ve dili tıbbi kelimelerden arındırılarak, katılımcıların anlayabileceği şekilde hazırlanmasına özen gösterilmelidir”

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi ; (bu bölüm hastanın anlayabileceği bir dille tıbbi terimlerden kaçınarak yazılmalıdır)

- “MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi” isimli bir çalışma için sizin gönüllü olmanızı istiyoruz.
- İçinde bulunacağınız çalışma, aynı özellikte olan gruplar arasında rastgele kontrol grupları izlenerek karşılaştırılır. Bu araştırma tedavi yöntemini test etmek amacı ile yapılacaktır.
- Çalışmamızın amacı, MS hastalığında bir tedavi yöntemi olarak kullanılan nörorehabilitasyonun hastalık süresince gelişen olgular üzerindeki etkilerini araştırmaktır.
- Çalışmada size herhangi ilaç uygulanmayacaktır. Çalışma kapsamında sizden iki tüp kan alınacaktır.
- Kan almak için; kolunuz turnikeyle sıkılarak damarınız bulunacak ve steril bir kan tüpüne bir tüp kan alınacaktır.
- Kan alma sırasında damar çeperiniz çizilebilir, hafif morarmalar oluşabilir. Kan alımı sırasında görevinde uzman bir hemşireden destek alınacağından nadiren rastlanacak bu riskler aşılabılır. Kan alma işleminden sonra kuru bir pamukla sıkıca kanama odağına bastırılacak ve cilt altında oluşacak morarmaların önüne geçilecektir.

- Bu çalışma 1 yıl sürecektir. Başlangıçtaki ilk 3 ayda katılımcılardan örnekler toplanacak ve kalan sürede toplanan biyolojik materyalle bazı özel testler yapılacaktır. Kanınızda bazı protein bileşenleri araştırılacaktır.

- Çalışma için katılımcılar İ.Ü Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda muayene edilecektir ve örnek alma işlemleri burada gerçekleştirilecektir. Bu işlemi takiben gerçekleştirilecek araştırmalar ise Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilecektir. Araştırmacıların bu çalışma için hedefledikleri katılımcı sayısı 20'dir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgi Verilmesi

- Gönüllü olmayı kabul etmeniz bile, çalışmanın istediğiniz herhangi bir döneminde araştırmaya katılmayı red edebilirsiniz.

- Bu araştırmadan istediğiniz herhangi bir zamanda araştırmacıya haber vererek çekilebilirsiniz ya da gerekli bazı durumlarda araştırmacı sizi çalışmadan çıkarabilir.

- Araştırmaya dahil olmayı kabul etmemeniz durumunda veya kendi isteğinizle çalışmadan ayrılmanız durumunda, hastalığınız ile ilgili tedavinizde bir aksama olmayacaktır.

- Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecek, ayrıca size de bir ödeme yapılmayacağını bilmeniz gerekmektedir.

- Tarafınızdan alınacak numuneler (kan) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacaktır.

- Bu çalışma, hekim hasta mahremiyeti gözetilerek yapılacak, kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Adınız ve soyadınız hiç bir şekilde çalışmayla ilgili bir belgede geçmeyecektir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

(Bu bölüm hazırlanan gönüllü olur formunun sonuna eklenmelidir)

Sayın Prof. Dr. Betül Baykan Baykal İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Başağrısı Polikliniği'nde tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Prof. Dr. Erdem Tüzün'e 0212 414 20 00 / 33356 no'lu telefondan ve İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı'nda 34093 Fatih / Çapa İstanbul adresinde ulaşabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı”

(denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

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

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

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

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

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

ETİK KURUL KARARI

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



Sayı : 477

Konu: Prof. Dr. Erdem TÜZÜN hk.

Tarih : 27.03.2018

Sayın Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
Sinirbilim Anabilim Dalı

İlgi :Sinirbilim Anabilim Dalının 25/01/2018 gün ve 34790 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Biyolog Ece AKBAYIR' ın yürüteceği 2018/450 dosya numaralı "MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 23/03/2018 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu



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



Sayı : 477

Konu: Prof. Dr. Erdem TÜZÜN hk.

Tarih : 27.03.2018

Sayın Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
Sinirbilim Anabilim Dalı

İlgi :Sinirbilim Anabilim Dalının 25/01/2018 gün ve 34790 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Biyolog Ece AKBAYIR' ın yürüteceği 2018/450 dosya numaralı "MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 23/03/2018 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu



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



Sayı : 477
Konu: Prof. Dr. Erdem TÜZÜN hk.

Tarih : 27.03.2018

Sayın Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
Sinirbilim Anabilim Dalı

İlgi :Sinirbilim Anabilim Dalının 25/01/2018 gün ve 34790 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Biyolog Ece AKBAYIR' ın yürüteceği 2018/450 dosya numaralı "MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 23/03/2018 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


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

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞKANIN AÇIK ADI

"MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi"

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	☒		
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
OLGU RAPOR FORMU	☐			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐	Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06	Tarih: 23/03/2018	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD	

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalında görevli **Prof. Dr. Erdem TÜZÜN** ün sorumluluğunda ve Biyolog Ece AKBAYIR' ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi *	Katılım **	İmza	
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Dr. Sevda ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		

* :Araştırma ile ilişkisi
 ** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞKANIN AÇIK ADI "MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi"

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	■		
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	■			Türkçe ■ İngilizce □ Diğer □
OLGU RAPOR FORMU	□			Türkçe □ İngilizce □ Diğer □
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	□			Türkçe □ İngilizce □ Diğer □
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	□		Açıklama
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	□		
	SİGORTA	□		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	■		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	□		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	□		
	İLAN	□		
	YILLIK BİLDİRİM	□		
	SONUÇ RAPORU	□		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	□		
DİĞER:	■		Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06	Tarih: 23/03/2018		
	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Erdem TÜZÜN' ün sorumluluğunda ve Biyolog Ece AKBAYIR' ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ■	K □	E □	H ■	E ■	H □	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E □	K ■	E □	H ■	E ■	H □	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K □	E □	H ■	E ■	H □	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K □	E □	H ■	E ■	H □	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E □	K ■	E □	H ■	E ■	H □	

* :Araştırma ile ilişki

** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığının izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi”		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Erdem TÜZÜN		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Sinirbilim		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı		
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
		FAZ 4	☐	
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐	
		Yüksek Doz Araştırması	☐	
		Diğer ise belirtiniz :		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒
				ULUSLAR ARASI ☐

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“MS Hastalarının Bellek Protein Ekspresyon Düzeylerinin Kognitif Rehabilitasyona Bağlı Değişimlerinin İncelenmesi”			
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Erdem TÜZÜN			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Sinirbilim			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı			
DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
	Yüksek Doz Araştırması	☐		
	Diğer ise belirtiniz :			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLAR ARASI ☐

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

MS HASTALARININ BELLEK PROTEİN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN KOGNİTİF REHABİLİTASYONA BAĞLI DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 2	% 1	% 1	% 1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
3	ubithesis.ubi.pt İnternet Kaynağı	<% 1
4	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	<% 1
5	bilimvebilimadami.com İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.tjn.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	acikerisim.istanbulbilim.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
8	ÇELEBİ, Canan, SOLMAZ, Volkan, İNALKAÇ, Yağmur and ÇELİK, Yahya. "Trakya	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ece	Soyadı	Akbayır
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	24.05.1994
Uyruğu	T.C	TC Kim No	27484972036
Email	eceakbayir@gmail.com	Tel	0530 523 21 89

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim AD, Sinirbilim Yüksek Lisans Programı	
Lisans	İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2016
Lise	Fahreddin Kerim Gökay Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	90,0	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	76,44	69,14	76,72
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1. Şen M, Ay U, Akbayır E, Şenyer S, Tüzün E, Küçükali Cİ. NF-κB, SUMO ve Ubikitinasyon ilişkisi. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2017;13(7):35- 46.

2. Akbayır E, Sen M, Ay U, Şenyer S, Tüzün E, Küçükali Cİ. Parkinson Hastalığı'nın Etyopatogenezi. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2017;13(7):1-23.
3. Ay U, Sen M, Akbayır E, Tüzün E, Küçükali Cİ. Nörodejeneratif Hastalıklar ve SUMO. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2017;13(7):59-70.
4. Gencer M, Akbayır E, Şen M, Arsoy E, Yılmaz V, Bulut N, Tüzün E, Türkoğlu R. Serum orexin-A levels are associated with disease progression and motor impairment in multiple sclerosis. Neurological Sciences 2019 (manuscript number NEUS-D-18-00814)
5. Şen M, Akbayır E, Mercan Ö, Arsoy E, Türkoğlu R, Yılmaz V, Tüzün E. Optikospinal Multipl Sklerozun Sitokin Profilinin İncelenmesi. 16.Ulusal Sinirbilim Kongresi Sözlü Sunum. SS-23MAY-A05. Mayıs,2018.
6. Akbayır E, Şen M, Arsoy E, Türkoğlu R, Tüzün E. Bilgisayarlı Kognitif Rehabilitasyonun Benign Multipl Sklerozda Yürütücü İşlevlere Etkisi. 16.Ulusal Sinirbilim Kongresi Poster Sunumu. PS048, Mayıs,2018.
7. Özyurt S, Ülger Z, Akbayır E, Şen M, Arsoy E, Küçükali Cİ, Benbir G, Karadeniz D, Tüzün E, Türkoğlu R. Benign Multipl Sklerozda Uyku Bozukluklarının Sıklığı ve İlişkili İmmün Sistem Genlerinin Ekspresyon Düzeyleri 54. Ulusal Nöroloji Kongresi Sözel Sunum ID:483,2018.
8. Akbayır E, Şen M, Arsoy E, Ulusoy C, Yılmaz V, Tüzün E, Türkoğlu R. Multipl Sklerozda Hipotalamus ve Pineal Beze Ait Mediyatör Düzeylerinin Hastalık Progresyonu ve Motor Sistem Performansı ile İlişkisi 54. Ulusal Nöroloji Kongresi Sözel Sunum ID:518,2018.
9. Akbayır E, Şen M, Şanlı E, Arsoy E, Türkoğlu R, Tüzün E. Multipl Skleroz Hastalarında Bilgisayarlı Kognitif Rehabilitasyonun Yürütücü İşlevlere Etkisi. 54. Ulusal Nöroloji Kongresi Sözel Sunum ID:485,2018.
10. Şen M, Akbayır E, Mercan Ö, Arsoy E, Yılmaz V, Gencer M, Küçükali Cİ, Tüzün E, Türkoğlu R. Optik Sinir ve Omurilik Tutulumu Olan Multipl Skleroz Hastalarının Sitokin-Kemokin Düzeyi ve Bilişsel Profili. 54. Ulusal Nöroloji Kongresi Tartışmalı Poster ID:519,2018.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):