

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DİSİPLİNLERARASI SİNİR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI



MULTİPL SKLEROZ VE DİĞER DEMİYELİNİZAN
HASTALIKLARDA KALPAİN İLE HMGB1/TLR4/NF-KB
SİNYAL YOLAĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

FİRDEVS ULUÇ

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Öğr. Gör. Dr. Şeyda KARABÖRK

BOLU, KASIM - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Firdevs ULUÇ tarafından hazırlanan “MULTİPL SKLEROZ VE DİĞER DEMİYELİNİZAN HASTALIKLARDA KALPAIN İLE HMGB1/TLR4/NF-KB SİNYAL YOLAĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Disiplinlerarası Sinir Bilimleri Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir.
21/11/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Erol AYAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Seyit Ali KAYIŞ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Şerif DEMİR
Düzce Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet YABALAK
Düzce Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 30/11/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 16 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için BAİBÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 04/01/2022 tarihli 2021/305 karar nolu 9 sayılı etik izin alınmıştır.

.....

FİRDEVS ULUÇ

ÖZET

MULTİPL SKLEROZ VE DİĞER DEMİYELİNİZAN HASTALIKLARDA KALPAIN İLE HMGB1/TLR4/NF-KB SİNYAL YOLAĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

FİRDEVS ULUÇ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI SİNİR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ŞULE AYDIN TÜRKÖĞLU)

(İKİNCİ DANIŞMAN: ÖĞR. GÖR. DR. ŞEYDA KARABÖRK

BOLU, KASIM - 2023

XV + 86

Demyelinizan hastalıklar için daha etkili tedavilerin bulunabilmesi açısından sinyal yolları ve ilişkili oldukları faktörlerin tespiti oldukça önemlidir. Bu doğrultuda; yeni tanı Multiple Skleroz (MS) ve Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozukluğu (NMOSD) hastalarında Kalpain-1 (CLPN1) ve Kalpain-2 (CLPN2) ile HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasındaki olası ilişkisinin incelenmesi ve bu proteinlerin İnterlökin 17A (IL-17A) ve İnterlökin 37 (IL-37) sitokinlerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. BAİBÜ Nöroloji polikliniğine başvuran ve yeni tanı almış 18-65 yaş arasındaki MS (n=36), NMOSD (n=9) ve Psödötümör Serebri (PTS, n=28) olgularının BOS örneklerinde CLPN1, CLPN2, HMGB1, TLR4, NF-κB, IL-17A ve IL-37 seviyeleri ELISA yöntemiyle belirlendi. CLPN1 seviyesi MS grubunda NMOSD ve PTS grubundan daha yüksekti. CLPN2 seviyesi MS olgularında PTS olgularından yüksek, NMOSD olgularında ise PTS olgularından düşüktü. Gruplar arasında HMGB1, TLR4, NF-κB, IL-17A ve IL-37 seviyelerinde anlamlı farklılık görülmedi. Ancak, IL-17A ve IL-37 arasında pozitif korelasyon görüldü. Yaş ve cinsiyete bağlı olarak tüm parametrelerde anlamlı farklılık görülmedi. MS olgularında CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasında pozitif korelasyon görüldü. CLPN2 ile HMGB1 ve TLR4 arasında pozitif korelasyon görüldü, ancak NF-κB ile korelasyon tespit edilmedi. NMOSD olgularında HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı ile CLPN1 ve CLPN2 arasında korelasyon olmadığı görüldü. Tüm gruplarda IL-37 seviyesi IL-17A'dan yüksekti. Bu sonuçlar neticesinde anti-enflamatuar IL-37 seviyesinin tüm gruplarda yüksek çıkmasının nöroprotektif olarak bildirilen CLPN1'in seviyesinin yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Nöroenflamasyonun erken döneminde CLPN1'in CLPN2'den daha etkin olduğu düşünülebilir. CLPN1 ve CLPN2 etki farkı ve HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı ile ilişkisinin daha kesin verilerle belirlenebilmesi için daha büyük çalışma gruplarında CLPN1'e özgü inhibitörlerle *in-vivo* ve *in-vitro* prospektif çalışmalar yapılması önerilmektedir.

ANAHTAR KELİMELE: Demyelinizan Hastalıklar, Kalpain-1, Kalpain-2, HMGB1, Sinyal Yolağı

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN CALPAIN AND HMGB1/TLR4/NF-KB SIGNALING PATHWAY IN MULTIPLE SCLEROSIS AND OTHER DEMYELINATING DISEASES

PHD THESIS

FİRDEVS ULUÇ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

INTERDISCIPLINARY NEUROSCIENCE

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ŞULE AYDIN TÜRKOĞLU)

(CO-SUPERVISOR: INSTRUCTOR DR. ŞEYDA KARABÖRK)

BOLU, NOVEMBER 2023

XV + 86

Identification of signaling pathways and their associated factors is crucial for finding more effective treatments for demyelinating diseases. Accordingly, it was aimed to investigate the possible relationship between Calpain-1 (CLPN1) and Calpain-2 (CLPN2) and HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway and to determine the effect of these proteins on Interleukin 17A (IL-17A) and Interleukin 37 (IL-37) cytokines in newly diagnosed Multiple Sclerosis (MS) and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) patients. CLPN1, CLPN2, HMGB1, TLR4, NF- κ B, IL-17A and IL-37 levels were determined by ELISA method in CSF samples of newly diagnosed MS (n=36), NMOSD (n=9) and Pseudotumor Cerebri (PTS, n=28) patients aged between 18-65 years who applied to BAİBÜ Neurology outpatient clinic. CLPN1 level is higher in the MS group than in the NMOSD and PTS groups. CLPN2 levels were higher in the MS group than in the PTS group and lower in the NMOSD group than in the PTS group. There were no significant differences in HMGB1, TLR4, NF- κ B, IL-17A and IL-37 levels between the groups. However, a positive correlation was observed between IL-17A and IL-37. No significant difference was observed in all parameters depending on age and gender. A positive correlation was observed between CLPN1 and HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway in MS patients. Also, a positive correlation was observed between CLPN2 and HMGB1 and TLR4, but not with NF- κ B. There was no correlation between HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway with CLPN1 and CLPN2 in NMOSD cases. IL-37 level was higher than IL-17A in all groups. As a result of these results, the high level of anti-inflammatory IL-37 in all groups may be thought to be due to the high level of CLPN1, reported to be neuroprotective. It may be considered that CLPN1 is more effective than CLPN2 in the early phase of neuroinflammation. *In-vivo* and *in-vitro* prospective studies with CLPN1-specific inhibitors in larger study groups are recommended to determine the difference in CLPN1 and CLPN2 effects and the relationship with HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway with more precise data.

KEYWORDS: Demyelinating Diseases, Calpain-1, Calpain-2, HMGB1, Signalling Pathway

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Multipl Skleroz	4
2.1.1 Multipl Skleroz Patolojisi.....	6
2.1.2 MS Tedavi Stratejileri	9
2.2 Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozukluğu	11
2.2.1 NMOSD Patolojisi.....	13
2.3 Psödotümör Serebri	14
2.3.1 PTS Patolojisi	15
2.4 Kalpain.....	16
2.4.1 Nörodejeneratif Hastalıklarda Kalpainlerin Önemi.....	19
2.5 High Mobility Group Box-1	21
2.5.1 MS ve NMOSD Patolojisinde HMGB1'in Rolü	23
2.6 HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı	24
2.7 MS ve NMOSD İlişkili Sitokinler: IL-17A ve IL-37	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 Hastaların Seçimi ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	30
3.2 Hastalardan BOS Numunelerinin Alınması ve Saklanması	32
3.3 ELISA Yöntemi ile BOS Numunelerinin Çalışılması	32
3.4 İstatistiksel Değerlendirme	32
4. BULGULAR	34

4.1 Gruplara Ait Katılımcı Sayıları	34
4.1.1 Katılımcıların Cinsiyet ve Yaş Dağılımları	34
4.2 Katılımcılara Ait OKB Tipleri, EDSS Skorları ve IgG indeksi.....	37
4.3 ELISA Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	40
4.3.1 Tüm Gruplara Ait CLPN1 ve CLPN2 Seviyeleri.....	40
4.3.2 Tüm Gruplarda CLPN1 ile CLPN2 İlişkisi	41
4.3.3 MS Grubunda CLPN1 ve CLPN2 İlişkisi	41
4.3.4 Tüm Gruplarda Cinsiyete Göre CLPN1 ve CLPN2 Seviyeleri.....	42
4.3.1 Tüm Gruplara Ait HMGB1, TLR4 ve NF- κ B Seviyeleri.....	42
4.3.2 Tüm Gruplara Ait IL-17A ve IL-37 Seviyeleri	44
4.3.3 MS Grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı İlişkisi	45
4.3.4 MS Grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı İlişkisi	46
4.3.5 NMOSD Grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı İlişkisi	47
4.3.6 NMOSD Grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı İlişkisi	47
4.3.7 PTS Grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı İlişkisi	47
4.3.8 PTS Grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı İlişkisi	48
4.3.9 Tüm Gruplarda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi	48
4.3.10 Tüm Gruplarda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	49
4.3.11 MS Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	50
4.3.12 MS Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	51
4.3.13 NMOSD Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi	52
4.3.14 NMOSD Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi	52
4.3.15 PTS Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	52
4.3.16 PTS Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	52
4.3.17 MS Grubunda HMGB1/TLR4/ NF- κ B Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi	52
4.3.18 NMOSD Grubunda HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	54

4.3.19 PTS Grubunda HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi	54
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR.....	67
8. EKLER.....	80



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. MS Lezyonlarının Dağılımı (A) periventriküler beyaz madde; (B) subpial korteks; (C) leptomeninksler; (D) talamus ve pons; (E) spinal kord; (F) optik sinir ve (G) retina (17)	7
Şekil 2.2. İnsan Kalpain Çeşitleri (81).....	17
Şekil 2.3. Kalpainlerin Etki Mekanizması ((93)'den uyarlanmıştır)	19
Şekil 2.4. HMGB1 ile İlişkili Moleküller ve Membran Reseptörleri (124).....	22
Şekil 2.5. NF-κB Aktivasyon Yolları (124).....	26
Şekil 3.1. Çalışma Planı	31
Şekil 3.2. ELISA Prosedürü Özeti	32
Şekil 4.1. Çalışma Gruplarının Dağılımı	34
Şekil 4.2. Olgu ve Kontrol Grubu Katılımcı Yüzdesi.....	34
Şekil 4.3. Yaş Gruplarına Göre Olgu ve Kontrol Grubu Dağılımı	35
Şekil 4.4. Yaş gruplarına Göre Yüzde Dağılımları.....	36
Şekil 4.5. Cinsiyete Göre Hastalık Başlangıç Yaşı.....	36
Şekil 4.6. Cinsiyete Göre Hastalık Başlangıç Yaşı Yüzde Dağılımı	37
Şekil 4.7. Katılımcıların OKB Tiplerine Göre Yüzde Dağılımı	37
Şekil 4.8. OKB tiplerine göre yüzde dağılımı.....	38
Şekil 4.9. EDSS Skoruna Göre Dağılım	38
Şekil 4.10. Hastalık Başlangıç Yaşına Göre IgG İndeksi	39
Şekil 4.11. Olgu ve Kontrol Gruplarına Ait CLPN1 ve CLPN2 ELISA Seviyeleri	40
Şekil 4.12. Tüm Gruplarda CLPN1 ve CLPN2 XY Dağılımı	41
Şekil 4.13. MS Grubunda CLPN1 ve CLPN2 XY Dağılımı	41
Şekil 4.14. Cinsiyete Göre CLPN1 ve CLPN2 Seviyeleri.....	42
Şekil 4.15. Olgu ve Kontrol Gruplarına Ait HMGB1, TLR4 ve NF-κB Seviyeleri	43
Şekil 4.16. Olgu ve Kontrol Gruplarında IL-17 ve IL-37 Seviyeleri.....	44
Şekil 4.17. Olgu ve Kontrol Grubunda IL-17A ve IL-37 XY Dağılımı	45
Şekil 4.18. MS Grubunda CLPN1 ve HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi	46
Şekil 4.19. MS Grubunda CLPN2 ve HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi	47
Şekil 4.20. CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 Arasındaki X-Y Dağılımı	48
Şekil 4.21. CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 Arasındaki X-Y Dağılımı	49
Şekil 4.22. MS Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 Arasındaki XY Dağılımı	50
Şekil 4.23. MS Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi.....	51
Şekil 4.24. MS Grubunda HMGB1/TLR4/ NF-κB Sinyal Yolağı ile IL-17A İlişkisi	53
Şekil 4.25. MS Grubunda HMGB1/TLR4/ NF-κB Sinyal Yolağı ile IL-37 İlişkisi	53

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1 Tüm Katılımcıların Cinsiyete Göre Yaş Ortalamaları	35
Tablo 4.2. Hastalık Başlangıç Yaşına göre IgG İndeksleri	39



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AD	: Alzheimer Hastalığı
ADCC	: Antikor Bağımlı Hücresel Sitotoksiste
AIM2	: İnterferonla İndüklenebilir Protein
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpreprionik asit
APP	: Amiloid Prekürsor Protein
APS	: Area Postrema Sendromu
AQP4	: Akuaporin 4
BAF	: B Hücresi Aktive Edici Faktör
BMI	: Beden Kitle İndeksi
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CLPN1	: Kalpain-1
CLPN2	: Kalpain-2
CXCL1	: Kemokin Ligand 1
CXCL2	: Kemokin Ligand 2
DAMP	: Endojen İlişkili Moleküler Patern
DC	: Dentritik Hücre
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EAE	: Deneysel Otoimmün Ensefalit
EC	: Endotel Hücre
EDSS	: Genişletilmiş Engellilik Durum Ölçeği
ER	: Endoplazmik Retikulum
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
GM-CSF	: Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
HMGB1	: High Mobility Group Box-1
IFN-β	: İnterferon Beta
IFN-γ	: İnterferon Gamma
IgG	: İmmünglobulin G
IKK	: İnhibitör Kappa Beta Kinaz
IL-17A	: İnterlökin 17A
IL-37	: İnterlökin 37

IP3	: İnositol 1,4,5-Trifosfat
IP3R	: İnositol 1,4,5-Trifosfat Reseptörü
IκB	: İnhibitör Kappa Beta
İİH	: İdiyopatik İntrakraniyal Hipertansiyon
KİS	: Klinik İzole Sendrom
LP	: Lomber Ponksiyon
LPS	: Lipopolisakkarit
LTB	: Lenfotoksin beta
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleks
MOG	: Miyelin Oligodentrosit Glikoprotein
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
NFT	: Nörofibriler Yumak
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa Beta
NK	: Doğal Öldürücü Hücre
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMOSD	: Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozukluğu
Nrf2	: Nükleer Faktör Eritroid Türevli 2
OKB	: Oligoklonal Bant
ON	: Optik Nörit
PBMC	: Periferik Kan Mononükleer Hücre
PD	: Parkinson Hastalığı
PPMS	: Primer Progresif MS
PRMS	: Primer Relapsing MS
PTS	: Psödotümör Serebri
RA	: Romatoid Artrit
RAGE	: Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri İçin Reseptör
RANK	: NFκB Reseptör Aktivatörü
RRMS	: Ataklar ve Remisyonla Seyreden MS
RyR	: Riyanodin Reseptör
S1P	: Sfingosin-1-Fosfat
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SOD1	: Süper Oksit Dismutaz 1
SPMS	: Sekonder Progresif MS

SS	: Sistemik Skleroz
Th1	: Yardımcı T Hücresi 1
Th17	: Yardımcı T Hücresi 17
TLR-4	: Toll Benzeri Reseptör-4
TM	: Transvers Miyelit
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
Treg	: Düzenleyici T Hücre
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
VGCC	: Voltaj Bağımlı Kalsiyum Kanalı
VZV	: Varisella Zoster Virus



TEŞEKKÜR

Dört yıllık süre boyunca hem manevi olarak hem de akademik olarak her türlü desteği sağlayan, sürecin en başına dönsem yine birlikte çalışmak isteyeceğim ve danışmanlığın ötesinde “abla şevkati” hissettiğim değerli hocam

Doç. Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU'na

Klinik çalışmalara başlamamda öncülük eden ve önce arkadaşım sonra da ikinci tez danışmanım olan

Öğr. Gör. Dr. Şeyda KARABÖRK'e

Tezimin oluşması sırasında ve sonrasında yardımlarını ve fikirlerini esirgemeyen, anabilim dalı başkanımız

Prof Dr. Erol AYAZ'a

Çalışmada elde ettiğim verilere bakışında ve değerlendirme aşamasındaki yol göstericiliğiyle, istatistik kısmında yaptığı katkılar ve yeni metotları öğrenmeye teşvik etme ve öğreticilik noktasında

Prof Dr. Seyit Ali KAYIŞ'a

Tez savunmamdaki görüş ve katkıları için jüri üyelerim *Prof. Dr. Şerif DEMİR* ve *Dr. Öğr. Üyesi Ahmet YABALAK'a*

“Üçüncü danışmanım” gibi tez sürecimin her adımında bana destek olan ve hep yanımda olan değerli dostum *Bihter Gökçe ÇELİK'e*

İstatistikte bildiklerini öğretmekten kaçınmayıp, analiz aşamasında sabırla verdiği büyük destek için *Öğr. Gör. Dr. Mücahit ÇAKMAK'a*

Doktora sürecinde birlikte dirsek çürüttüğümüz değerli *bölüm arkadaşlarıma,*

Doktora süresi boyunca bize kapılarını açan *DEHAM çalışanlarına,*

Nöroloji bölümü personeline,

Çalışmamda yer alan tüm hastalara,

Tez projemi destekleyen *BAİBÜ Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'ne,*

Hayatımın her noktasında ellerini üzerimde hissettiğim, her daim yanımda olan

biricik *ANNE VE BABAMA,*

Yol arkadaşım, sevgili eşim *Cumhur ULUÇ'a*

ve

doktoramın hediyesi, canım oğlum *Kutay Bülent ULUÇ'a*

verdikleri destek için sonsuz teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Multipl skleroz (MS), ilerleyici nöronal-aksonal dejenerasyona yol açabilen, merkezi sinir sisteminin (MSS) kronik, otoimmün demiyelinizan bir bozukluğudur (1). Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozukluğu (NMOSD) MSS'nin nadir görülen, enflamatuvar bir durumudur. Önceleri MS'in nadir, şiddetli bir varyantı olarak kabul edilirken, tanıdaki farklılıkları ortaya çıkaran yeni nöronal otoantikorların keşfiyle artık ayrı bir otoimmün bozukluk olarak kabul edilmektedir (2).

Son yıllarda MS ve NMOSD tedavisinde güncel yaklaşımların yetersizliği nedeniyle klinik ve deneysel çalışmalarda etkili ve hedefe yönelik sonuçlar elde edilmeye odaklanılmıştır. MS ve NMOSD patolojisinin hala tam olarak açıklanamaması bu hedefin önündeki en büyük engeldir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında MS ve NMOSD patogenezi ile ilişkili olarak Kalpain ve High Mobility Group Box 1 (HMGB1) proteinleri iki önemli etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Mevcut tedavi stratejileri göz önüne alındığında, özellikle aktif fazdaki MS ve NMOSD hastaları için birçok tedavi alternatifi mevcuttur. Ancak kısa süreli ve sınırlı etkinlikleri, yan etkileri ve relapsları önleyememeleri nedeniyle hastalığa özgü ileri tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Patogenez ile ilgili sinyal yolları etkin tedavi alternatiflerinin geliştirilmesi için deneysel ve klinik çalışmalarda önemli kilit noktalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüm Dünya'da giderek artış gösteren nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklardan MS ve NMOSD için klinik ve deneysel çalışmalarda son 10 yılda farklı biyobelirteçlerin belirlenmesi ve bunlara yönelik terapötik ajanlarla ilişkili çalışmalar yapılmaktadır. Literatürde Kalpain ve HMGB1'i indükleyici ajanların hem MS hem de NMOSD için hastalık aktivitesi üzerinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ancak enflamasyonun tetiklenmesinde etkili olan bu iki proteinin arasında olası bir ilişkinin olup olmadığı ve olası etki mekanizmaları hakkında yeterli verinin olmaması etkin tedavi stratejilerinin belirlenebilmesi açısından önemli bir eksikliktir.

Yukarıda belirtilen eksikliklerin sonucu olarak bu çalışmada MS ve NMOSD ile ilişkili olduğu ayrı ayrı çalışmalarda gösterilen Kalpain-1 (CLPN1) ve Kalpain-2 (CLPN2) ile HMGB1 düzeyleri arasındaki olası ilişkinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. MS ve NMOSD için daha etkili ve hedefe yönelik

tedavi seçeneklerinin genişletilebilmesi için hem CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1 düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi, hem de bu iki hastalıkta mevcut protein düzeylerinde farklılık olup olmadığının belirlenmesi tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından oldukça önemli sonuçlar ile literatüre katkı sağlayacaktır.

Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda çalışmamızın temelini aşağıdaki araştırma soruları oluşturmaktadır:

Araştırma sorusu 1: MS ve NMOSD hastalarında CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinde farklılık var mıdır?

Araştırma sorusu 2: CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri arasında bir ilişki var mıdır?

Araştırma sorusu 3: Gruplar arasında HMGB1, TLR4 ve NF- κ B seviyelerinde farklılık var mıdır?

Araştırma sorusu 4: Gruplar arasında IL-17A ve IL-37 seviyeleri farklılık gösterir mi?

Araştırma sorusu 5: Platelet kaynaklı mikropartiküller olarak bilinen CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1, TLR4 ve NF- κ B seviyeleri arasında bir ilişki var mıdır?

Araştırma sorusu 6: CLPN1 ve CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 ile korelasyon gösterir mi?

Araştırma sorusu 7: MS ve NMOSD gruplarında HMGB1, TLR4 ve NF- κ B proteinleri ile IL-17A ve IL-37 sitokin seviyeleri arasında ilişki var mıdır?

Belirtilen araştırma soruları doğrultusunda aşağıdaki hipotezler kurulmuştur:

Hipotez-1: Hastalık aktivitesiyle ilişkili olarak MS ve NMOSD hastalarında CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinde farklılık görülebilir.

Hipotez-2: Kalpain ailesinin üyeleri olan CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri birbirleriyle ilişkili olabilir.

Hipotez-3: Enflamasyon belirteçleri olan HMGB1, TLR4 ve NF- κ B seviyeleri hastalık aktivitesiyle ilişkili olarak gruplar arasında farklılık gösterebilir.

Hipotez-4: Proenflamatuar IL-17A ve antienflamatuar IL-37 sitokin seviyeleri gruplar arasında farklılık gösterebilir.

Hipotez-5: Otoimmün bir hastalık olan Sistemik Skleroz'da Kalpain ve HMGB1 seviyelerinin birbiriyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Benzer şekilde,

otoimmün hastalıklar olan MS ve NMOSD’de de CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1 seviyeleri birbiriyle ilişkili olabilir.

Hipotez-6: CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri ile pro-enflamatuar IL-17A ve anti-enflamatuar IL-37 seviyeleri arasında ilişki görülebilir.

Hipotez-7: Nöroenflamasyonun ana faktörlerinden olan HMGB1, TLR4 ve NF-κB proteinleri ile IL-17A ve IL-37 sitokin seviyeleri arasında ilişki olabilir.

Bu hipotezler doğrultusunda bu çalışmayla yeni tanı ve henüz tedavi uygulanmamış MS ve NMOSD hastalarında potansiyel bir terapötik hedef olarak bildirilen CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasındaki olası ilişkinin incelenmesi amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

MSS demiyelinizan hastalıkları aksonların göreceli olarak korunmasıyla enflamasyonun arka planında meydana gelen miyelin kaybı ile karakterize idiyopatik bozukluklar olarak tanımlanmıştır. Miyelin kaybı ile sinir iletimi yavaşlamakta ve bu süreçte farklı nörolojik durumlar ortaya çıkabilmektedir. Genellikle beyaz maddede görülen demiyeline plaklar serebral korteks ve beyin sapı çekirdeği gibi gri maddede de bulunabilir. Hastalık sürecinin etkinliği ilerleyen miyelin yıkımından kaynaklanan lezyonların varlığı ile takip edilir. Demiyelinizan hastalıklarda heterojen olarak kendini gösteren immünopatoloji hastalığın klinik yansımalarının anlaşılması, hastalık seyrinin takibi ve hastalar için bireysel olarak en uygun tedaviyi bulabilmek açısından oldukça önemlidir (3).

2.1 Multipl Skleroz

MS, genellikle 20-40 yaşları arası genç yetişkinleri etkileyen, MSS'nin kronik, enflamatuar ve demiyelinizan bir bozukluğudur. Demiyelinizasyon ve nöronal hasara ve aksonal kayba yol açan dejenerasyon ile tanımlanmaktadır (4). Otonomik, görsel, motor ve/veya duyuşal sistemi içeren çeşitli semptomların çokluğu ile akut nörolojik bozukluk epizotları veya zamanla oluşan bozukluklarla karakterizedir. MS oldukça karmaşık bir hastalık olmakla birlikte 100.000 kişide 50-300 prevalans ile dünya çapında yaklaşık 2,3 milyon kişiyi etkilemektedir (5). Kadın-erkek oranı 1,5:1 ile 2,5:1 arasında değişmektedir ve yapılan son çalışmalarda artan değerlere doğru bir eğilim görülmektedir. Kadınların genel olarak otoimmün koşullara daha duyarlı olduğu ve bu yatkınlığın bu nedenle hormonal olarak ilişkilendirilebileceği düşüncesine rağmen bunun nedeni halen bilinmemektedir (6). Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde MS insidansı ve prevalansı artmaktadır ancak halen hastalığın altında yatan nedenler belirsizliğini korumaktadır (7).

MS tanısı McDonald kriterlerine göre konulmaktadır (8). Tanı kriterleri klinik tablo, manyetik rezonans görüntüleme (MRG), oligoklonal bant (OKB) varlığı ve BOS örneklerinin değerlendirilmesini içermektedir. Tanıda lezyon varlığı ve bu lezyonların meydana getirdiği klinik tablonun zamanda ve mekânda dağılımı gerekmektedir. Semptomlar 24 saatten uzun sürmeli ve en az 1 ay arayla

ayrı epizotlar halinde ortaya çıkmalıdır. Teşhisi desteklemek için kullanılan ana testler MRG ve BOS analizleridir (9).

Klinik seyrine göre MS dört farklı tipte sınıflandırılır: (i) Tedaviyle düzelebilen nörolojik semptomlarla ve periyodik relapslarla karakterize Relapsing-Remitting MS (RRMS), (ii) RRMS tanısından sonra zamanla gelişen Sekonder Progresif MS (SPMS), (iii) hastaların %10'unu etkileyen ve sürekli nörolojik bozuklukla aşamalı olarak ilerleyen Primer Progresif MS (PPMS), ve (iv) PPMS'ye benzeyen ve hastaların %5'inden azında görülen Progresif Relapsing MS (PRMS). MS alt tipleri 2013 yılında güncellenmiş ve şu şekilde tanımlanmıştır: (i) Klinik İzole Sendrom (KİS, MS'in ilk klinik formu olarak tanımlanır), (ii) RRMS, (iii) PPMS ve (iv) SPMS; PRMS sınıflandırmadan çıkarılmıştır (10,11).

KİS, demiyelinizan MSS hastalığı varlığını düşündüren ancak MS tanısı için henüz zamanda dağılım göstermeyen ilk klinik olayı tanımlamaktadır. Ortaya çıkan semptomlar genellikle monofokaldır, akut veya subakut olarak gelişir ve optik sinir, omurilik, beyin sapı veya beyinciği kapsar. Diğer MS atakları gibi epizotların en az 24 saat sürmesi beklenir ve ateş veya enfeksiyon olmadan ortaya çıkar (12). KİS hastalarının %50-70'inde başlangıçtaki MR görüntülemelerinde demiyelinizan lezyonlarla uyumlu asemptomatik T2 beyaz cevher anormallikleri izlenmektedir. Uzun dönemli olarak yapılan gözlemsel çalışmalarda 20 yıla varan takip sürelerinde hastalığın %80 oranında MS'e dönüşüm gösterdiği bildirilmiştir (12,13).

MS hastalarının yaklaşık %85'inde görülen en yaygın MS alt tipi olan RRMS, relaps denilen birbirini izleyen nörolojik işlev bozukluğu dönemleriyle ve remisyon olarak adlandırılan yeni nörolojik semptomların olmadığı, kısmen klinik stabilite dönemleri ile karakterize edilir. Enfeksiyon veya metabolik bozukluk olmaksızın en az 24 saat süren relaps sırasında kişide halsizlik, denge bozukluğu, görme keskinliğinde bozulma ve renkli görme veya çift görme gibi çeşitli nörolojik semptomlar mevcut olabilir. Akut bir atağı önlemeye yönelik olarak yıllar boyunca birçok potansiyel relaps tetikleyicisi araştırılmıştır. Enfeksiyonlar, stres ve gebelik relapsları tetikleyici potansiyel risk faktörleri olarak düşünülmektedir (14).

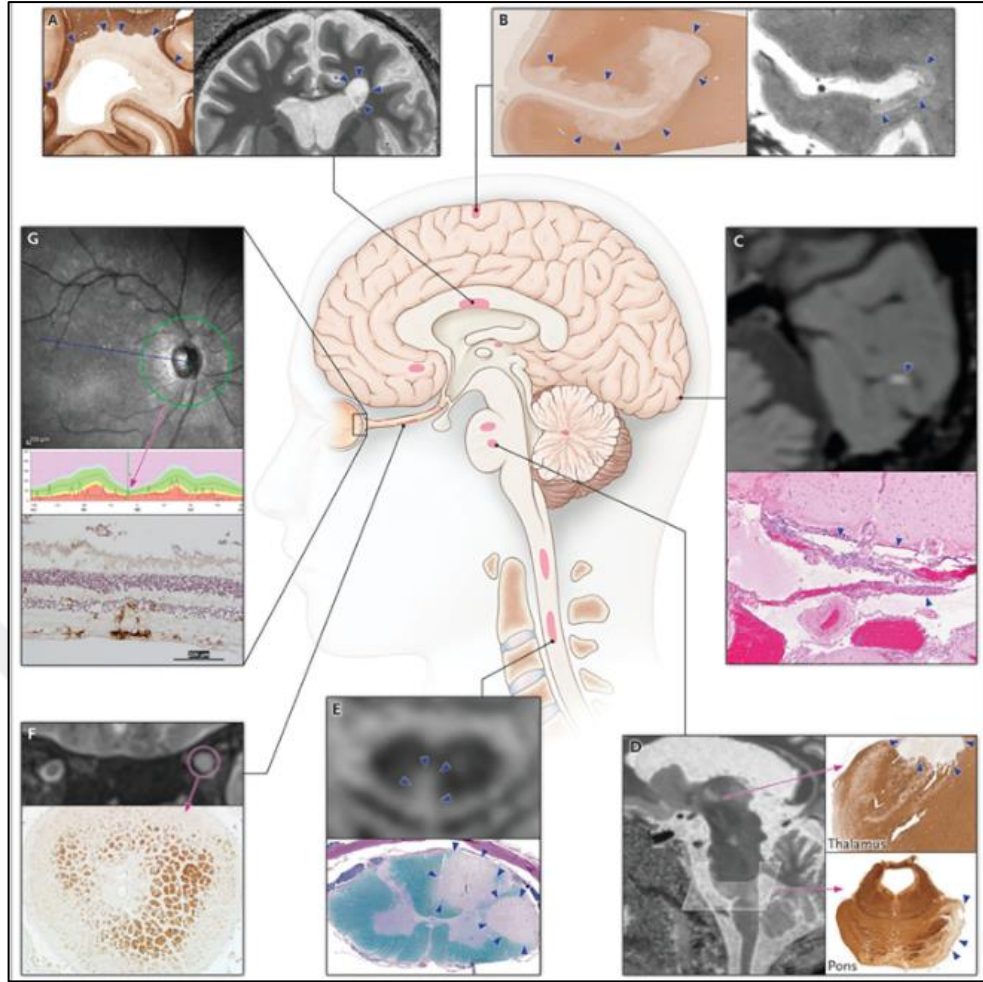
Tedavi edilmeyen RRMS hastalarının çoğu SPMS'ye ilerler. Yapılan araştırmalar RRMS'nin başlamasından sonra ilerleyici faza kadar geçen sürenin

yaklaşık 20 yıl olduğunu göstermektedir (15). SPMS patolojisi tam olarak anlaşılamamıştır, ancak mitokondriyal işlev bozukluğunun neden olduğu nörodejenerasyon ve bunun sonucunda ortaya çıkan aksonal hasarla birlikte RRMS'dekinden daha düşük olsa da bir dereceye kadar kalıcı enflamasyonu içermektedir (14). Hastalığın başlangıç yaşı, SPMS dönüşümünün en belirgin göstergesidir ve başlangıçta hasta ne kadar yaşlıysa, progresyonun başlama süresi de aynı oranda kısadır (16).

Hastaların yaklaşık %10-20'sinde başlangıç relaps ve remisyon fazının olmaması ve hastalığın başlangıcından itibaren devam eden ilerleme ile karakterize edilen PPMS hastalık fenotipi gelişmektedir (1). Bireysel olarak kişilerde hastalığın ilerlemesi tekdüze değildir ve peşpeşe relapsların yanı sıra göreceli hastalık stabilitesi dönemleri mümkündür. SPMS'ye benzer şekilde PPMS'deki patoloji de oldukça karmaşıktır ve hafif-orta derecede enflamasyonla birlikte meydana gelen nörodejenerasyonu içermektedir (14).

2.1.1 Multipl Skleroz Patolojisi

“Plak benzeri skleroz” ifadesiyle yaklaşık 150 yıl önce Charcot tarafından tanımlanan MS beyaz madde, gri madde, beyin sapı, omurilik ve optik sinir dahil olmak üzere birden fazla MSS bölgesini (Şekil 2.1) etkileyen ve zamanda yayılım gösteren kronik bir hastalıktır (17). MS patolojisinin ayrıntıları ve özellikle zaman içinde nasıl geliştiğini anlamaya yönelik verilerin elde edilmesinde immünohistokimya ve MRG gibi modern tekniklerle önemli ilerleme sağlanmıştır. Ancak günümüzde halen tanı konulması, hastalığın ilerlemesindeki etkenler ve bunları hedefleyecek etkin tedavi stratejileri geliştirilmesinde büyük eksiklikler bulunmaktadır. Hastalık modifiye edici tedavilerin kullanımı yaşam süresinin artışına ve SPMS'ye dönüşümün yavaşlatılmasına katkıda bulunmaktadır. Tedavi için yeni ajanların çeşitliliği doğru kişi için doğru ilacı doğru zamanda seçme gibi zorluklar getirmektedir ve bu nedenle mevcut araştırmalar kişiselleştirilmiş tedaviler için kanıt sağlamayı amaçlamaktadır (5).



Şekil 2.1. MS Lezyonlarının Dağılımı (A) periventriküler beyaz madde; (B) subpial korteks; (C) leptomeningeal; (D) talamus ve pons; (E) spinal kord; (F) optik sinir ve (G) retina (17)

MS patolojisinin ana ayırt edici özelliği MSS'ye miyeline özgü T hücrelerinin infiltrasyonundaki artıştır. Yardımcı T hücresi 1 (Th1) pro-enflamatuar sitokinlerin salınımını sağlar. Yardımcı T hücresi 17 (Th17) adı verilen T lenfositleri pro-enflamatuar sitokinlerin salınması sonucunda uyarılır (18). Th1 ve Th17 hücrelerinin uyarılması MS patogenezinde enflamasyonu başlatan sinyaller üretir. Th1 kaynaklı IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-12 ve Th17 kaynaklı IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 gibi sitokinlerin sinyalizasyonunun MS hastalarında arttığı bilinmektedir (19,20). Th1/Th17 hücreleri, Th2/Treg hücrelerine kıyasla pro-enflamatuar sitokinlerle MS'in aktif fazında önemli roller oynar. Buna karşılık, MS'de remisyon döneminde Th2/Treg hücreleri ve ilgili anti-enflamatuar sitokinler gözlenir (21). MS'in başlangıcı spesifik olarak miyeline yönelik bir otoimmün enflamatuar yanıtı içerir ve bir dizi sitokin ve

kemokin aracılık eder (22). Enflamasyonun bir sonucu olarak oligodendrosit hasarı ve demiyelinizasyon meydana gelir. Aksonlar hastalığın erken evrelerinde kısmen korunur, ancak zamanla geri dönüşümsüz aksonal hasar gelişir (23). Bu nedenle, MS tedavilerinin ana odak noktası bu enflamasyonu immünomodülatör stratejilerle kontrol etmektir. Fakat geliştirilen immünomodülatör ilaçların çoğu hastalığın ilerlemesini durduramazlar (24,25).

Lomber ponksiyon (LP) yapılması özellikle kesin tanı konulamayan vakalar ve tüm şüpheli PPMS vakaları için oldukça önemlidir. BOS anormallikleri, bir mononükleer hücre pleositozu ve intratekal olarak sentezlenmiş artmış IgG seviyesini içerir. OKB'ler MSS'de aktive edilmiş B hücreleri tarafından oluşturulan bağışıklık yanıtının ürünlerini yansıtır. Artmış bir IgG indeksi veya eşleştirilmiş bir serum örneğinde bulunmayan iki veya daha fazla ayrık OKB ile ölçülen gama globülinlerin anormal intratekal sentezi MS hastalarının %90'dan fazlasında mevcuttur. Artmış intratekal antikor üretimi MS'in ilk klinik yansıması ile gelen hastalarda "zaman içinde yayılma" kriterlerini sağlaması için de kullanılabilir (9).

MS patolojisinin altındaki mekanizmalar otoimmünite, enflamatuar demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon olarak bildirilse de hastalığı başlatan ana mekanizma henüz netlik kazanmamıştır. MS patolojisinin kökenine ilişkin tartışmalara öncülük eden ve birbirini tamamladığı düşünülen iki mekanizma öne sürülmektedir: "*dıştan içe*" ve "*içten dışa*" (26).

Günümüzde en çok kabul gören ve mevcut tedavi stratejilerinin de hedeflediği "*dıştan içe*" hipotezinde otoimmün enflamasyon birincil patogenezi oluşturmaktadır. Doğal bağışıklık yanıtında görevli otoreaktif T hücrelerinin kan beyin bariyerini (KBB) aşarak MSS'ye girişiyle oluşan enflamasyon yanıtının ardından gliozis, nöro-aksonal hasar ve miyelin yıkımı ikincil patogenezi oluşturur. Ancak bu otoimmün yanıtı başlatan tetikleyici olay halen net olarak açıklanamamıştır (27).

MS patolojisinde etkin olduğu öne sürülen bir diğer hipotez "*içten-dışa*" hipotezidir. Bu hipoteze göre, oligodendrositlerin ve miyelin dejenerasyonunun MS patogenezinde gerçekleşen ilk olay olduğu ve semptomların başlamasından önceki en erken dönemde ortaya çıkabileceği savunulmaktadır. Primer oligodendrosit ölümü ve/veya devamında oluşan hafif miyelinopatinin ikincil bir

otoimmün ataktan önce gelebileceği ve daha sonra enflamatuar demiyelinizasyona neden olabileceği düşünülmektedir (26).

MS, birden fazla klinik tablo gösteren bir sendrom olduğundan dolayı hastalarda hem immün uyarımlı (dıştan içe) hem de nörodejeneratif uyarımlı (içten dışa) moleküler yolların MS patogenezini başlatması muhtemeldir. Başarılı klinik öncesi çalışmalara rağmen MS tedavisinde miyelin onarımı için güncel olarak Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı herhangi bir tedavi bulunmamaktadır. Yapılacak deneysel çalışmalarda hem "*dıştan içe*" hem de "*içten dışa*" modellerin kullanılması MSS ve perifer arasındaki çok yönlü geri bildirimin kapsamlı bir şekilde incelenmesine olanak sağlayacaktır. Hem immün bozukluk hem de enflamatuar demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon hastalığının ilerlemesine yol açtığı için etkili tedavilerin geliştirilebilmesi için her iki hipotezin de detaylı şekilde araştırılması gerekmektedir (27).

MS gibi otoimmün hastalıklarda genetik yatkınlık ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimin de etkili olduğu genel olarak kabul edilmektedir. MS gelişiminde kesin olarak etkili olan çevresel faktörler henüz belirlenmemiş olsa da, UV maruziyeti veya D vitamini eksikliği, viral enfeksiyonlar, sigara kullanımı dahil olmak üzere bazı çevresel faktörlerin etkili olabileceği bildirilmiştir. D vitamininin T hücresi yanıtını şekillendirmede ve immünsüpresif özelliklere sahip T hücrelerini indüklemeye kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. Hem epidemiyolojik hem de deneysel çalışmalarda Epstein-Barr virusü enfeksiyonunun MS geliştirme riskini artırdığı gösterilmiştir (28). Bu ilişkiden sorumlu olabileceği düşünülen mekanizmalar arasında otoreaktif T ve B hücrelerinin aktivasyonu ve genişlemesi, kendi kendine tolerans bozulması için daha düşük eşik ve gelişmiş otoreaktif B hücresi hayatta kalması yer alır. MS oluşumunu etkileyen çevresel faktörlerin anlaşılması, hastalığı önlemek ve tedavi etmek için yeni ve daha etkili yaklaşımlara yol açacaktır (29).

2.1.2 MS Tedavi Stratejileri

Mevcut stratejiler akut atakları tedavi etmeye, semptomları iyileştirmeye ve hastalık modifiye edici tedaviler yoluyla biyolojik aktiviteyi azaltmaya odaklanmaktadır. Modifiye edici tedaviler bağışıklık fonksiyonunun baskılanması veya modülasyonu yoluyla MS'in seyrini değiştirmektedir. Öncelikle RRMS'de anti-enflamatuar aktivite gösterirler ve nüksetme oranını düşürmektedirler. MRG

lezyonlarının birikimini azaltıp stabilize etmektedirler. Bazı durumlarda da özürüllüğü orta derecede iyileştirmektedirler.

İnterferon beta (IFN- β) varyantları ve Glatiramer Asetat MS tedavisi için onaylanan ilk ajanlardır ve uygun risk-fayda profilleri ile piyasaya sürüldüklerinden beri dünya çapında kullanılmaktadırlar. IFN- β ; etki mekanizması antijen sunan hücrelerde majör histokompatibilite kompleksi (MHC) moleküllerinin ekspresyonunu azaltmak, pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar sitokinleri azaltmak, T-hücre proliferasyonunu inhibe etmek ve MSS'ye enflamatuar hücrelerin geçişini bloke etmek olan ve bu şekilde immünomodülasyonu sağlayan bir sınıf I interferondur. IFN- β nüks oranını orta derecede azaltır (30). IFN- β 'ya alternatif olarak kullanılan Glatiramer Asetat ise dört amino asitten oluşan rastgele polipeptitlerin karışımından oluşan bir asetat tuzudur. Etki mekanizması pro-enflamatuar ve düzenleyici sitokinler arasındaki dengeyi olumlu yönde değiştirmeyi kapsar (31). Öncelikle RRMS tipi için kullanılmaktadırlar ve iki ajan da ilerleyici hastalık durumlarında önemli bir etkiye sahip değildir. Ayrıca, klinik araştırmalardaki etkinlik kanıtlarına rağmen bu ajanlara karşı bireyler arası tedavi yanıtı oldukça heterojendir. Hastaların önemli bir kısmı nüksler veya klinik ilerleme yaşamaya devam ederler (32).

İnsan monoklonal antikoru olan Natalizumab, lenfositlerin yüzeyinde eksprese edilen ve endotelden MSS'ye transmigrasyonda yer alan adezyon molekülü olan $\alpha 4\beta 1$ integrinin inhibitörüdür. Natalizumab ile yapılan çalışmalarda plasebo veya IFN β -1a ile karşılaştırıldığında RRMS hastalarında nüksleri azaltmada ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatmada oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (33–35). Natalizumab genellikle iyi tolere edilir; ancak uzun süreli tedavide natalizumab ile tedavi edilen hastaların yaklaşık %0,4'ünde görülen ilerleyici multifokal lökoensefalopati önemli bir risktir. Antikor negatif hastalarda ilerleyici multifokal lökoensefalopati riski minimumdur, bu nedenle natalizumab genellikle sadece antikor negatif hastalar için önerilir (36).

Fingolimod, otoreaktif lenfositlerin MSS'ye sızmasını engelleyerek ikincil lenfoid organlardan lenfositlerin çıkışını önleyen bir sfingosin-1-fosfat (S1P) inhibitörüdür. RRMS için onaylanan ilk oral tedavidir. Fingolimod iyi tolere edilir, ancak rutin laboratuvar değerlendirmelerinde karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme veya lenfopeni gibi hafif yan etkiler görülebilir (37–40). Diğer yan etkiler arasında maküler ödem ve nadiren yayılmış varisella-zoster

virusü (VZV), kriptokokal enfeksiyonlar ve progresif multifokal lökoensefalopati yer alır. Bu nedenle tedaviye başlamadan önce seronegatif bireyler için göz muayenesi ve VZV aşılması endikedir. Yakın zamanda onaylanmış bir seçici S1P reseptör modülatörü olan Ozanimod'un da uygun güvenlik ve tolere edilebilirlik ile RRMS'de etkili olduğu gösterilmiştir (41).

Dimetil fumarat, birinci basamak MS tedavisinde oral yolla kullanılan bir fumarik asit esteridir. Nükleer faktör eritroid türevli 2 (Nrf2) yolunun ve Nrf2'den bağımsız yolların aktivasyonu yoluyla anti-enflamatuar ve sitoprotektif etkiler gösterir. Dimetil fumarat genellikle iyi tolere edilir, ancak tedavi ilerleyici multifokal lökoensefalopati riskiyle ilişkilendirilmiştir. Dimetil fumarat ile tedavi edilen vakaların çoğunda lenfopeni görülmüştür ve bu nedenle lenfopeni açısından hastaların takibi önerilir (42).

Siponimod, aktif SPMS de dahil olmak üzere MS'in tekrarlayan formları için onaylanan seçici bir S1P modülatörüdür (43). Ocrelizumab, PPMS tedavisi için onaylanmış tek hastalık modifiye edici ajandır. Klinik sakatlığın ilerlemesini yaklaşık dörtte bir oranında azalttığı, enflamatuar ve dejeneratif hastalık aktivitesinin diğer klinik ve MRG belirteçlerini de iyileştirdiği bildirilmiştir (44).

MS patogenezi ve aktivitesi ile ilgili elde edilen ilerlemelerin bir sonucu olarak tedavide önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Etkili tedavilerin geliştirilmesi, tekrarlayan hastalık ve fokal beyin enflamasyonunun neredeyse tamamen kontrol altına alınmasını sağlamıştır. Ancak, hastalık aktivitesindeki ilerlemenin durdurulmasında etkili bir tedavi halen bir ihtiyaç olmaya devam etmektedir. Mevcut tedavi yaklaşımları MS'in nörodejeneratif bileşenine karşı sadece kısmi koruma sağlamaktadır. Güncel tedavi ajanlarının tedavi döneminde hastalığın seyrini önemli ölçüde iyileştirdiği öne sürülse de bu tedaviler için uzun dönemli etkinlik ve güvenlik verileri toplamak için daha fazla klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. MS tedavisi ve yönetiminde kişiselleştirilmiş yaklaşımlar elde edebilmek ve en etkili ajanların değerlendirilmesine ilişkin ek çalışmalar da gereklidir.

2.2 Nöromiyelitis Optika Spektrum Bozukluğu

Nöromiyelitis optika spektrum bozukluğu (NMOSD) genellikle omuriliği, optik siniri, dorsal medullayı, talamusu ve korpus kallozumu etkileyen, MSS'nin nadir görülen, otoimmün ve demiyelinizan bir hastalığıdır (45). Eugène Devic

tarafından 1894 yılında tanımlanan ve “*Devic hastalığı*” olarak da bilinen hastalığın yakın zamana kadar ayrı bir hastalık mı yoksa sadece MS’in daha şiddetli bir formu mu olup olmadığı açık değildi. Antijenik hedef olarak AQP4 su kanalının keşfiyle birlikte bu iki hastalığın güvenilir bir şekilde ayırt edilebilmesi sağlanmıştır ve AQP4-IgG negatif ve pozitif formları NMOSD çatısı altında toplanmıştır (46).

NMOSD de MS gibi kendi içinde alt tipleri tanımlanmıştır. Bunlar optik nörit (ON), transvers miyelit (TM, akut miyelit), area postrema sendromu, akut beyin sapı sendromudur. En sık gözlenen alt tiplerinden ON, bağışıklık sisteminin gözden beyine görsel bilgi taşıyan optik sinir aksonlarının miyelin kılıfı hücrelerine saldırması sonucu bulanık görme ve görme kaybıyla ayırt edilebilecek şekilde ortaya çıkmaktadır (47). Diğer bir NMOSD alt tipi olan TM, bağışıklık sisteminin omurilikte bulunan miyelin kılıf hücrelerine saldırması ile ortaya çıkmaktadır (48,49). TM, immün aracılı bir sürecin omurilikte nöral hasara neden olduğu ve çeşitli derecelerde zayıflık, duyuşal değişiklikler ve otonomik fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanan klinik bir sendromdur (50). Area postrema sendromu (APS), emetik refleks merkezindeki enflamasyonla ilişkili olarak bulantı, kusma ve/veya hıçkırıkla karakterizedir. APS, vakaların yaklaşık %12’sinde NMOSD’nin ilk ortaya çıkan özelliğidir. Akut beyin sapı sendromları APS’lerle örtüşür, ancak lokasyona bağlı olarak diplopi ve nistagmus gibi okülomotor disfonksiyon veya diğer kraniyal sinir felci olan hastaları da içerir (51).

NMOSD’nin prevalans aralığı 0.5–4/100.000’dir ve belirli ırk gruplarında 10/100.000’e kadar ulaşabilmektedir. Doğu Asyalılarda daha yüksek prevalans (3.5/100.000) bildirilmiştir (52). Siyahların, çeşitli popülasyon çalışmalarında beyazlardan daha yüksek bir prevalansa sahip olduğu gösterilmiştir ve siyahlar arasında 1.8/100.000 prevalans oranı bildirmiştir. Ülkeler ve bölgeler bazında yapılan çeşitli çalışmalarda beyazlar arasındaki yaygınlık oranının 1/100.000 civarında olduğu gösterilmiştir. Beyazlar arasında yıllık insidansın 0,5-0,8/milyon olduğu bildirilmektedir (53,54). Ortalama başlangıç yaşı siyahlarda 28-33, Asyalılarda 35-40 ve beyazlarda 44’tür. Siyah ve Asyalı hastalarda beyin ve beyin sapı ataklarının daha olası olduğu bildirilmiştir. Siyahlarda şiddetli ataklar daha sık görülür ve bu nedenle ciddi sakatlık riski daha yüksektir (55).

2.2.1 NMOSD Patolojisi

NMOSD ile MS arasındaki ilişki uzun süredir tartışılmaktaydı, ancak 2004 yılında NMOSD'ye özgü AQP4 antikorunun keşfinden sonra NMOSD'nin MS'den farklı klinik, MRG, laboratuvar ve immünopatolojik özelliklere sahip olduğu açıklığa kavuşturulmuştur. NMOSD tanı kriterleri birçok kez revize edilmiştir ve AQP4 antikoru NMOSD tanısındaki ilerlemede çok önemli bir rol oynamıştır (56).

AQP4 beyinde, spinal kordda ve optik sinirde bulunan ve beyinde su homeostazını düzenlemeyi kontrol eden, astrosit uç ayaklarında lokalize olan su kanalları olarak bilinmektedir. AQP4, MSS'de kan damarlarını çevreleyen perivasküler astrosit uç ayaklarında en yüksek ekspresyon ile olmak üzere ventrikülleri kaplayan astrositlerde ve endotelial hücrelerde bol miktarda bulunur (57). AQP4 proteininin kan, beyin ve BOS bölmeleri arasındaki su hareketinin kolaylaştırılması, astrositlerin göçü ve glial hücreler tarafından skar oluşumu, nöral sinyal iletimi ve nöroenflamasyon dahil olmak üzere MSS'de farklı rolleri vardır. AQP4'e karşı periferde üretilen antikorlar akut hastalık nüksü sırasında KBB'yi geçer. AQP4 antikorunun astrositlerin yüzeyinde bulunan AQP4 proteinine bağlanması AQP4 fonksiyonunun bozulması, kompleman aracılı sitotoksikite ve antikora bağımlı hücrel sitotoksikite (ADCC) dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonel sonuçlara yol açar (58). AQP4 antikorlarının kompleman sisteminin bir aktivatörü olabileceği düşünülmektedir (59). Kompleman sisteminin aktivasyonu sonucu enflamasyon uyarılarak zar atak kompleksi oluşur ve astrositik hasar meydana gelir. Bunun sonucunda glial fibriller asidik protein (GFAP) salınır. Ortaya çıkan durumda hedef AQP4 olduğu için MS'dekinin tersine NMOSD'de miyelin kılıf veya aksonal hasardan ziyade astrositik hasar daha fazla gözlenmektedir. Aksonal hasar sonrası enflamasyonun tetiklenmesi ile oligodendrositlerin hasarlanması meydana gelir. Miyelin kılıf yapımına katkıda bulunan oligodendrositlerin hasarlanması ile demiyelinizasyon ve sonrasında da nöronal ölüm gerçekleşir. (60).

AQP4-IgG antikoru oldukça spesifiktir ve NMOSD'yi MS'den ayırt etmede oldukça önemlidir. Ancak hastaların AQP4-IgG seropozitifliği %75'tir ve bazı hastalarda da AQP4 antikoru negatiftir. Bu durum hastalığın klinik tanısını zorlaştırmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda miyelin oligodendrosit

glikoprotein antikorunun (MOG-IgG) AQP4-IgG seronegatif olan NMOSD hastalarının tanısını destekleyebileceği saptanmış olsa da, hem AQP4 hem de MOG-IgG negatifliği gösteren NMOSD hastası yaklaşık %18'dir. Bunun yanı sıra MOG-IgG ve AQP4-IgG pozitifliği hastalık aktivitesini ve şiddetini yansıtmamaktadır. NMOSD tedavisinde ilk onaylı ilaç olan Eculizumab kullanımı sonrası AQP4-IgG pozitifliğinin negatife döndüğü bildirilmiştir (60).

NMOSD'nin mevcut klinik profili AQP4-IgG pozitif vakalara ve yeni tespit edilen MOG antikoruyla ilişkili hastalığa dayanmaktadır. MOG ile ilişkili hastalığın klinik spektrumu ve hastalık seyri AQP4-IgG pozitif NMOSD'den farklıdır. Hastalığın yönetimi ile ilgili çalışmaların çoğu AQP4 seropozitif NMOSD olgularını içermektedir. MOG antikor pozitif NMOSD ve çift seronegatif olguların yönetimine ilişkin veriler oldukça sınırlıdır. Bu nedenle, NMOSD'nin tüm klinik alt tiplerini göz önünde bulunduran standart terapötik yaklaşımlar geliştirmek için gelecekte daha fazla randomize çalışmaya ihtiyaç vardır (58).

2.3 Psödotümör Serebri

İdiyopatik intrakraniyal hipertansiyon (İİH) olarak da adlandırılan Psödotümör serebri (PTS), normal beyin omurilik sıvısı bileşimi görülen ve intrakraniyal patoloji olmadan kafa içi basıncının yükseldiği nadir bir hastalıktır. Yılda 100.000 kişide 1-2 oranında görülür. Hastaların yaklaşık %90'ı kadındır ve %94'ü obezdir. 15-44 yaşları arasındaki obez kadınlar 100.000'de 19-21 gibi yüksek bir insidans oranıyla PTS için yüksek risk altındadır (61). Erkekler PTS olgularının %8-10'unu oluşturlar, kadın olgulara göre daha yaşlı olma olasılıkları yüksektir ve obez olma olasılıkları daha düşüktür (62,63). PTS, primer ve sekonder olarak iki şekilde tanımlanır. Primer PTS tanımı herhangi bir tanımlanabilir neden bulunmayan hastalar için kullanılır. Sekonder PTS ise sinüs anomalileri, tromboz, anemi, vitamin A ve türevlerinin aşırı kullanımı, oral kontraseptifler ve progesteron gibi hormonal tedaviler, tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kullanımı, polikistik over sendromu ve Addison hastalığı gibi tanımlanabilir ikincil nedenlere sahip hastalar için kullanılır (64,65).

PTS tanı kriterleri ilk olarak 1937 yılında Dandy tarafından belirlenmiş (66) ve günümüze kadar da nörogörüntüleme ile ilerlemelere paralel olarak revize edilmiştir. PTS'nin en belirgin iki semptomu papil ödem ve kronik baş

ağrısından kaynaklanan ilerleyici görsel bozulmadır. Kranial sinir felçleri, kognitif bozukluklar, kulak çınlaması ve koku alma disfonksiyonu gibi ek semptomlar da sıklıkla klinik tablonun bir parçasıdır (67). Bunların yanı sıra MRG'lerde beyin parankiminin normal yapıda olması, BOS seviyesindeki artış, lomber ponksiyon (LP) sırasında açılış BOS basıncının yetişkinlerde ≥ 250 mm H₂O ve çocuklarda ≥ 280 mm H₂O olması durumunda kesin olarak PTS tanısından söz edilebilir. Ancak LP sırasında açılış basıncı normal olan kişilerde de diğer semptomların olması durumunda PTS tanısı muhtemeldir (68).

2.3.1 PTS Patolojisi

BOS salgılanmasındaki rol oynayan dinamiklerinin düzensizliğinin PTS patofizyolojisinde ana etken olduğu düşünülmektedir, ancak kesin mekanizma hala bilinmemektedir. Günümüze kadar birçok hipotez oluşturulmuş ve muhtemel ilişkili pek çok faktör araştırılmıştır (69).

PTS'nin nedeni halen bilinmemektedir, ancak obezite ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hem obez hem de obez olmayan hastalarda % 5 ile % 15 arasında hafif bir kilo alımı ile beden kitle indeksindeki (BMI) artışın özellikle semptom başlangıcından önceki 12 ay içinde meydana gelmesi durumunda hastalık riskini arttırdığı bildirilmiştir (70,71). Daha yüksek bir BMI, daha kötü görme kaybı sonuçlarıyla ilişkilidir; BMI'deki her 10 birimlik artış ciddi görme kaybı olasılığını 1,4 kat arttırmaktadır (70,72). Merkezi vücut yağ dağılımının merkezi venöz basınçta bir artışı ve sonuç olarak artmış bir venöz intrakraniyal basıncın BOS geri emilimini engellemesini belirleyebileceği varsayılmıştır. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda PTS'li obez kadınlarda, PTS'li olmayan aynı yaştaki obez kadınlara kıyasla abdominal yağ dağılımının daha yaygın olduğu bulunmuştur (73). Bir başka düşünceye göre de obez hastalarda distal venöz dolaşımın kesilmesine neden olan ve benzer bir mekanizma ile BOS drenajını da engelleyen nedensel bir faktörün gizli venöz mikro tromboz olabileceği bildirilmektedir. Ayrıca, PTS'li obez hastalarda obez olmayanlara kıyasla yüksek fibrinojen, D-Dimer, faktör VIII, faktör IX ve faktör XI seviyeleri bulunmuştur (74). Son olarak, obez hastalarda BOS sekresyonunu modüle edebilen farklı sitokin ve adipokin profillerini içeren bir nöroendokrin yol olabileceği düşünülebilir. Bazı klinik çalışmalarda obez PTS hastalarında merkezi leptin direncinin bir işareti olarak yüksek leptin seviyeleri tespit edilmiştir. Bu nedenle,

kronik yüksek leptin seviyelerinin koroid pleksus epitelinde artan Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi boyunca BOS sekresyonunu artırabileceği varsayılmıştır (75).

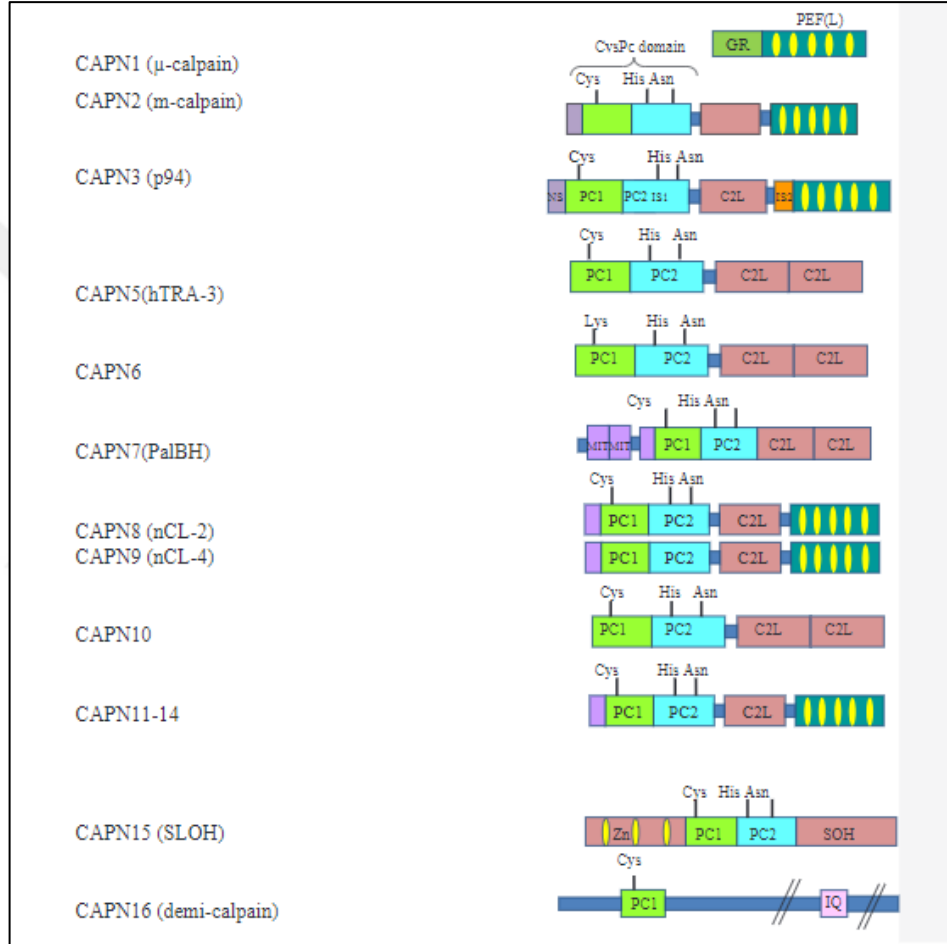
Dural venöz hipertansiyon ve dural venöz sinüs stenozu gibi serebral venöz çıkış anormallikleri intrakraniyal basınç artışına neden olabilir. Venöz sinüs stenozunun intrakraniyal hipertansiyonun bir nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu tartışmalıdır ve çalışmalar her ikisinin de olabileceğini düşündürmektedir (76). Pozitif bir geri bildirim mekanizması hem venöz sinüs stenozunu hem de intrakraniyal hipertansiyonu besleyebilir. İntrakraniyal basınç artışının stresi ile transvers sinüslerin duvarları yeniden şekillenerek fibrozis ve stenozu tetikleyebilir. Stenoz, venöz hipertansiyonu şiddetlendirerek BOS emilimini azaltır. Sonuç olarak, intrakraniyal basınç yükselmeye devam eder ve venöz stenoz kötüleşir (77).

A vitamininin aşırı alımının veya kronik düşük dozlarının sekonder PTS'ye neden olabileceği bilindiğinden A vitamini ve retinoidler de olası ilişkili faktörler olarak değerlendirilmektedir. Retinol bağlayıcı protein ve transtiretin ile bir kompleks halinde dolaşımda bağlanan retinol koroid pleksusta yüksek seviyelerde üretilir. Hücrelere alınıp all-trans-retinoik aside dönüştürülerek araknoid granülasyon hücrelerinde, ependimal veya glial hücrelerde gen ekspresyonunu modüle ederek BOS'un yeniden emilimini azaltabilir. Böyle bir mekanizmanın koroid pleksus epitelinde eksprese edilen ve BOS üretiminde yer alan AQP1 ve ependim ve astrositlerde eksprese edilen ve belki de BOS geri emiliminde birlikte görev alan AQP4 gibi molekülleri içerdiği öne sürülmüştür (78).

2.4 Kalpain

Kalpainler, insan ve diğer organizmaların hücrelerinde eksprese edilen, çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer alan, nonlizozomal kalsiyum (Ca^{2+}) bağımlı sistein proteazları ailesinin üyeleridir (79). İnsan genomundaki on beş gen kalpain ailesini oluşturan kalpain izoformlarını kodlar (80). Kalpainler vücuttaki farklı dağılımlarına bağlı olarak yaygın olarak eksprese edilen kalpainler (Kalpain-1,2,5,7,10,13,15) ve dokuya özgü eksprese edilen kalpainler (kalpain-3,6,8,9,11,12,14,16) olarak sınıflandırılabilir (Şekil 2.2) (81). Farklı lokasyonlara sahip kalpainler farklı işlevler yerine getirirken, dokuya özgü kalpainler genellikle özel olarak işlev görür. Sırasıyla μ -calpain ve m-calpain olarak da adlandırılan Kalpain-1 (CLPN1) ve Kalpain-2 (CLPN2) kalpain ailesi üyeleri arasında en

yaygın olarak eksprese edilen ve kapsamlı olarak incelenenlerdir. Memelilerin çoğu organında ve hücresinde bulunurlar, baskın olarak beyinde eksprese edilirler ve beynin işlevleriyle yakından ilişkilidirler (82,83). μ -kalpain ve m-kalpain izoformları, katalitik 80 kD büyük alt birimden ve düzenleyici 28 kD küçük alt birimden oluşan heterodimerler olarak bulunur. *In vitro* ortamda yarı maksimum aktivite için μ -kalpain ve m-kalpain aktivasyonu için sırasıyla mikromolar (μ M) ve milimolar (mM) Ca^{2+} konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulur (84).



Şekil 2.2. İnsan Kalpain Çeşitleri (81)

Kalpain, dinlenme halindeki hücrelerde normal serbest Ca^{2+} konsantrasyonu aralığının 50-100 nM olduğu sitozolde bir pro-enzim olarak bulunur. İnaktif kalpain, hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonlarında bir artışla sitozolde aktive olan bir pro-enzimdir. Pro-enzim ayrıca, zara bağlı fosfolipidlerle temas halinde aktivasyon için ve daha sonra zar proteinlerinin bozunması için yer değiştirebilir (85). Hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonlarının normal aralığında kalpain, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, uzun süreli güçlenme,

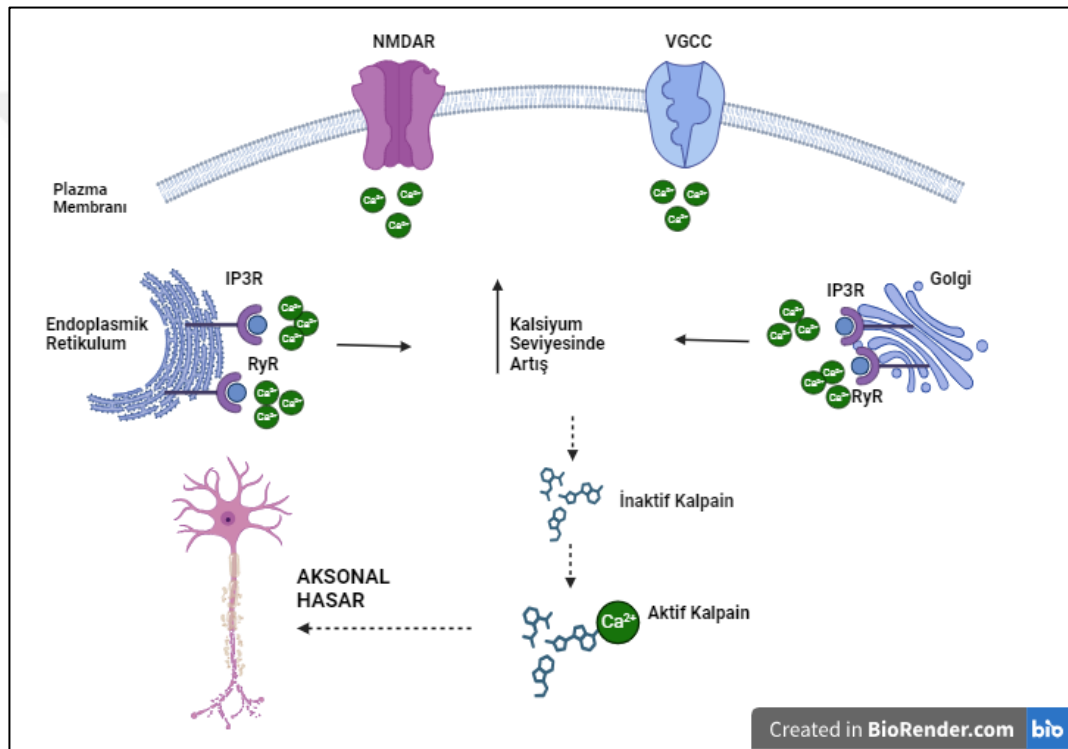
hormonların işlenmesi ve protein döngüsü gibi önemli fizyolojik işlevleri yerine getirmek için aktive edilir (82,83). Ancak, hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonları normal eşiği aştığında kontrolsüz ve uzun süreli kalpain aktivasyonu meydana gelebilir (86,87).

Dinlenme koşulları altında, sitoplazmik Ca^{2+} seviyesi, hücre içi Ca^{2+} depolarındaki veya hücre dışı boşluktaki Ca^{2+} seviyesinden birkaç kat daha düşüktür (88). Ca^{2+} 'nin dinamikleri, hücre altı yerleşimi ve Ca^{2+} kanallarının ve Ca^{2+} 'ya geçirgen reseptörlerin protein seviyeleri tarafından belirlenir. Plazma zarı, endoplazmik retikulum (ER) veya Golgi'de bulunan Ca^{2+} geçirgen iyon kanallarının ve reseptörlerinin açılması kalpainleri aktive etmek için hızlı Ca^{2+} akışına neden olur. Nöronal hücrelerde hücre içi Ca^{2+} voltaj kapılı Ca^{2+} kanalları (VGCC'ler) ve NMDA reseptörleri (NMDAR'lar) (89) dahil olmak üzere çeşitli yollardan artar. ER'den Ca^{2+} salınması inositol 1,4,5-trisfosfatın (IP3) inositol 1,4,5-trisfosfat reseptörlerine (IP3R'ler) bağlanması ve ryanodin reseptörlerinin (RyR'ler) aktivasyonunun bir sonucu olarak gerçekleşir (Şekil 2.3). Dendritlerde Ca^{2+} geçicileri dendritik shaft boyunca VGCC'lere bağlıyken, iyonotropik glutamat reseptör aracılı Ca^{2+} akımları çoğunlukla dendritik dikenlerde lokalize olan NMDAR'lar ve α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonikasit reseptörleri (AMPA'lar) yoluyla meydana gelir (90). Spesifik olarak nöronlarda Ca^{2+} sinyalizasyonunu kontrol eden zar-membran etkileşimi plazma zarındaki L-tipi Ca^{2+} VGCC'leri ile ER'deki RyR'ler arasındaki karmaşık bir birimdir (91). Ca^{2+} kanallarının ve Ca^{2+} geçirgen reseptörlerinin konumu ve aktivitesi Ca^{2+} geçişlerinin zamanlamasını ve sıklığını etkiler ve Ca^{2+} konsantrasyonundaki değişikliklerin hücre içinde genel mi yoksa lokalize mi olduğunu belirler (92). Bunun yanı sıra, nöronlardaki Ca^{2+} geçişlerinin bu uzamsal-zamansal kalıpları, dendritik budama ve akson dejenerasyonunda yer alan kalpain aktivasyonu gibi aşağı akış süreçlerini yönlendirir (93).

Kalpain aktivitesi üzerinde birçok faktör etkilidir. Hiperglisemi gibi stresörler, endotel hücrelerinde (EC'ler) CLPN1 ekspresyonunu yukarı regüle edebilir (94). Glutamik asidin sıçan spinal ganglion nöronlarında CLPN2'nin mRNA seviyelerini arttırdığı bildirilmiştir (95). miR-223 ve miR-145'in CLPN2 ekspresyonunu azaltabildiği gösterilmiştir (96).

Kalpainlerin makrofajlar, nötrofiller, dendritik hücreler (DC), mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler (NK) ve lenfositler gibi bağışıklık sistemi

hücrelerinde eksprese edildiği ve bunların immünolojik işlevlerinin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (97). Kalpainler, enflamatuar hücrelerin aktivasyonunda ve yanıtında etkindir (98). Lenfatik dolaşımda yer alan peptitlerden biri olarak kalpain, dolaşımdaki dendritik hücrelere doğrudan yüklenebilir ve merkezi ve periferik immün tolerans için mevcut olan kendi antijenik repertuarını genişletebilir (99). Kalpainler, DC'ler tarafından proenflamatuar sitokinlerin salınmasını düzenler. Kalpainlerin plazmasitoid DC'lerin melanom 2'de interferonla indüklenebilir protein (AIM2) enflamatuar bağımlı şekilde IL-1 α 'yı serbest bırakma sürecine katıldığı kanıtlanmıştır (100).



Şekil 2.3. Kalpainlerin Etki Mekanizması ((93)'den uyarlanmıştır)

2.4.1 Nörodejeneratif Hastalıklarda Kalpainlerin Önemi

Kalpainler, beyin bozukluklarında etkili olduğu kabul edilen sistein proteazlarından biridir. Kalpain, nörodejenerasyon patofizyolojisinde önemli bir biyobelirteç ve mediyatördür. Son yıllarda, kalpain aktivasyonunun inhibisyonu nörodejeneratif hastalıkları yönetmek için olası bir terapötik hedef olarak ortaya çıkmıştır (101). Kalpainlerin Alzheimer hastalığı (AD) (79), Parkinson hastalığı (PD) (102), Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) (103), Epilepsi (104), MS (105,106) ve ON (107) gibi çeşitli patolojik durumlarda oldukça etkili olduğu bildirilmiştir.

AD, amiloid prekürsör proteini (APP) ve hiperfosforile tau proteininin neden olduğu hücre içi nörofibriler yumaklar (NFT'ler) içeren hücre dışı yaşlılık plakları ile karakterize edilir (108). Kalpainlerin bu süreçlerin her ikisinde de yer aldığı bilinmektedir. Spesifik olarak kalpainin amiloid plak oluşumunun arkasındaki anahtar mekanizma olan APP proteolizinden doğrudan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bununla tutarlı bir şekilde, kalpain inhibisyonunun AD fare modelinde hafızayı ve sinaptik iletimi geliştirdiği gösterilmiştir (109).

PD, substantia nigra pars compacta'daki dopaminerjik nöronal hücrelerin dejenerasyonunun yanı sıra Lewy cisimcikleri ve α -sinüklein'in anormal birikimi ve aglomerasyonu ile tanımlanır (110). PD'de mitokondriyal disfonksiyon ve kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla anormal Ca^{2+} seviyesi baskındır. PD olgularının substantia nigrasında kalpain ekspresyonu gösterilmiştir, bu da kalpain aktivasyonunun nöronal apoptozdan yüksek oranda sorumlu olduğunu göstermektedir (111). Yapılan çalışmalarda kalpainin PD'de kaspaza bağımlı ve kaspazdan bağımsız apoptotik nöronal hücre ölümünü modüle ettiğini ortaya koymaktadır (102,111).

ALS, motor nöronlarda ilerleyici kayıp ile karakterize edilen ve kas güçsüzlüğü ve sonuç olarak da felce neden olan en yaygın motor nöron hastalığı türüdür (112). Ribonükleik asit (RNA) prosesinin düzenlenmesinde yer alan bir nükleer protein olan TDP-43'ün C terminalindeki motor nöronlardaki kalpain aracılı bölünmenin hem hasta hem de hayvan modellerinde ALS'nin patogenezinde çok önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (103). Ayrıca, ALS modellerinde kullanılan hSOD1^{G93A} transgenik farelerde kalpain inhibitörünün nörodejenerasyonda yer aldığı varsayılan nörotoksik kaspaz-bölünmüş tau üretimini ve CDK5 aktivasyonunu inhibe ettiği ve ayrıca süperoksit dismutaz 1 (SOD1) oligomerlerinin oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. Kalpain inhibisyonunun ALS fare modelinde nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (113).

MS ve diğer demiyelinizan hastalıkların karmaşık patofizyolojisi ve heterojenliği, terapötik ajanların hastalığın hem enflamatuar hem de nörodejeneratif kollarına yönlendirilmesi gerektiğini göstermektedir (85). MS patogenezinde etkili olduğu bilinen Kalpain aktivitesiyle ilgili MS hastalığı için deneysel model olarak kullanılan deneysel otoimmün ensefalomyelit (MS/EAE)'de kalpain inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda önemli sonuçlar alınmıştır. RRMS hastası periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC)

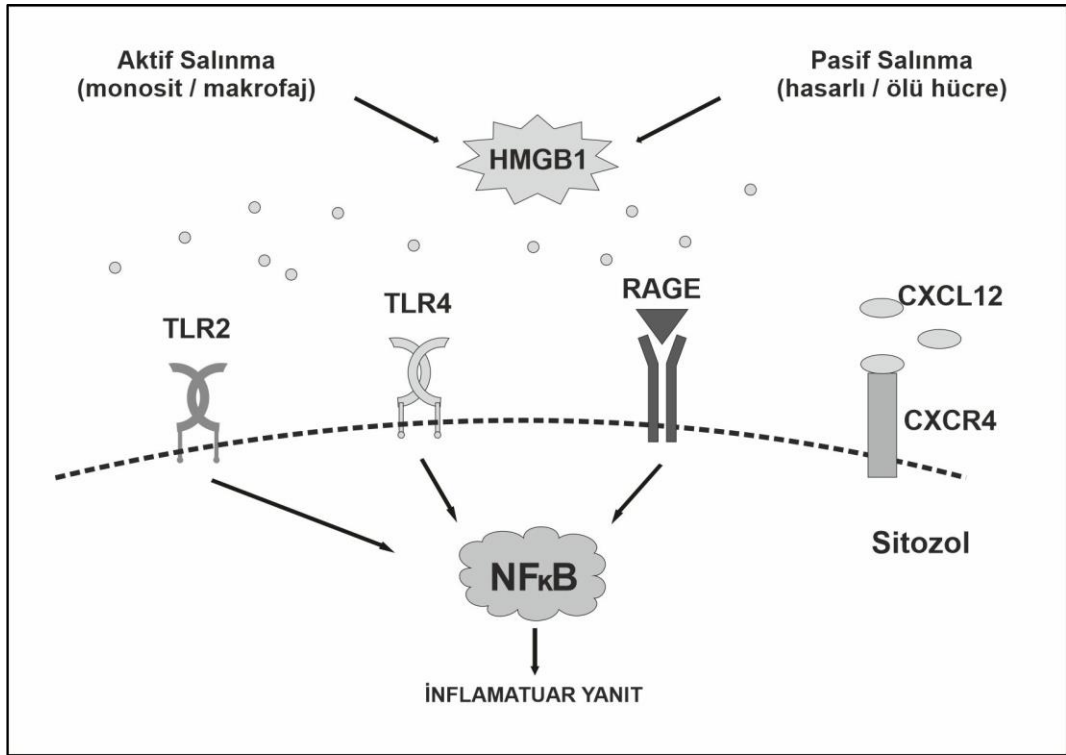
kalpain inhibitörü ile yapılan çalışmalarda hem RRMS, hem de SPMS'de anti-enflamatuar etki kaydedilmiştir. PBMC'lerde uygulanan kalpain inhibisyonu, Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör (GM-CSF), IFN- γ ve IL-17A gibi proenflamatuar sitokinlerin/kemokinlerin ekspresyonunda bir azalma ve IL-13 ve IL-4 gibi sitokinlerde kısmi bir artışla anti-enflamatuar etkiye yol açmıştır (114). SPMS hastası PBMC'lerinde yapılan başka bir çalışmada da kalpeptin ile yapılan kalpain inhibisyonu GM-CSF, IL-10, IL-17A, IL-1 α , IL-3, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi proenflamatuar sitokin seviyelerini azaltmıştır (115). Bu nedenle, artan kalpain aktivitesinin inhibisyonunun, hem aksonal hasarda azalma hem de anti-enflamatuar etkileri nedeniyle bu hastalığın tedavisi için olası bir hedef olabileceği düşünülmektedir (114–116). MS'deki etkilerinin yanı sıra deneysel modelle oluşturulmuş akut ON modelinde de kalpain inhibitörlerinin etkinliği gösterilmiş ve optik sinirdeki enflamasyonu ve mikrogliozisi azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca kalpain inhibisyonunun astrogliozisi ve AQP4 ekspresyonunu da azalttığı görülmüştür (107). Bir başka deneysel çalışmada da Kalpain inhibitörü SNJ1945 ile günlük oral tedavinin görme keskinliğini koruduğu ve retinal ganglion hücrelerini ve aksonlarını koruduğu bildirilmiştir. Elde edilen veriler kalpain inhibisyonunun ON'de görmenin korunması için aday bir tedavi ajanı olabileceğini göstermektedir (117).

Yukarıda açıklandığı şekilde kalpainler çeşitli nörodejeneratif ve nöromüsküler hastalıklar da dahil olmak üzere çok sayıda hastalığın moleküler mekanizmasında rol almaktadır. Bu özellikleri göz önüne alındığında özellikle doku tahribatındaki rollerinin doğrudan tedavi için oldukça önemli bir fırsat sağlaması, kalpain inhibitörlerinin doğrudan tek bir ajan olarak ya da diğer farmasötiklerle kombinasyon halinde etkili terapötik ajanlar olabilecekleri düşünülebilir (118).

2.5 High Mobility Group Box-1

Amfoterin olarak da adlandırılan, endojen hasarla ilişkili moleküler patern (DAMP) olan High Mobility Grup Box 1 (HMGB1) tüm memeli hücrelerinde bulunan histon olmayan bir deoksiribonükleik asit (DNA) bağlayıcı proteindir (119). HMGB1'in ana yapısı A box ve B box ve C-terminal asidik kuyruk olmak üzere iki homolog HMG box alanından oluşur (120). HMGB1, gelişmiş glikasyon son ürünleri için reseptörler (RAGE) ve sinyal kaskadı için toll-benzeri reseptörler

(TLR'ler) gibi farklı membran reseptörlerini bağlayarak etki eder (121) (Şekil 2.4). HMGB1'in RAGE bağlayıcı etkileşimi farklı sinyal iletim yollarının aktivasyonuna neden olur ve hücre proliferasyonu ve sitokin ve kemokin üretimi gibi hücresel tepkilerle sonuçlanır. TLR'lerin etkileşimi ise HMGB1 tarafından uyarılan makrofajların ve nötrofillerin pro-enflamatuar yanıtı ile ilgilidir (122). HMGB1 ile indüklenen sitokin stimülasyonunda TLR4 sinyal yolu gereklidir. HMGB1'e yanıt olarak makrofajlar tarafından pro-enflamatuar sitokinlerin salınması TLR4'ün yokluğunda gerçekleşmez (123).



Şekil 2.4. HMGB1 ile İlişkili Moleküller ve Membran Reseptörleri (124)

HMGB1, MSS'deki astrositlerde, nöronlarda ve mikroglia ve periferik sinir sisteminde bulunur, ayrıca nöronların ve Schwann hücrelerinin sitoplazmasında ve hücre dışı boşluklarında bulunur (125). Ayrıca dentat girus ve olfaktör bulbus gibi beyin nörogenez bölgelerinde yüksek ekspresyona sahiptir (126). Fizyolojik koşullar altında çekirdekte DNA şaperonu olarak kilit bir rol oynar. Hasarlı veya ölü hücrelerden pasif olarak salınır veya makrofajlar tarafından aktif olarak salgılanır. Ayrıca erken enflamatuar yanıtı indükleyen bir sitokin olarak da rol oynayabilir (123,127) (Şekil 2.4). HMGB1 pasif olarak salınır ve doğal bağışıklık sistemi tarafından tanınmaz. Bununla birlikte,

çekirdekten aktif olarak salınan HMGB1, bağışıklık sistemi tarafından tanınır ve enflamasyonu indükleyen/tetikleyen ve güçlendiren proenflamatuar sitokinleri sentezler ve serbest bırakır (121). *In vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlar, HMGB1'in T hücre aktivasyonu/proliferasyonu ve dendritik hücre olgunlaşmasını indükleyerek bağışıklık fonksiyonunu etkileyebileceğini göstermektedir. (128,129).

2.5.1 MS ve NMOSD Patolojisinde HMGB1'in Rolü

Son yıllarda yapılan çalışmalarda romatoid artrit (RA) (130) ve sistemik lupus eritematozus (SLE) (131) gibi otoimmün hastalıklarda hastalık şiddeti ile artmış serum HMGB1 düzeylerinin ilişkili olduğu gösterilmiştir (132). Ayrıca epilepsi (133), AD (134) ve ALS (135,136) gibi çeşitli nöroenflamatuar hastalıklarda ve PD'de (137) yüksek HMGB1 seviyeleri tespit edilmiştir. Benzer şekilde; MS hastalarında HMGB1 düzeyleri arasındaki belirgin bir ilişki ortaya konmuş ve BOS, serum ve PBMC'lerde artmış HMGB1 düzeylerinin MS için risk oluşturduğu vurgulanmıştır (138). Bunun yanı sıra; MS hastalarında PBMC HMGB1 düzeyi NMOSD hastalarına göre daha yüksek bulunmuş (139) ve ayrıca MS alt tipleri karşılaştırıldığında RRMS hastalarında PBMC mRNA'larında HMGB1 düzeyinde artış kaydedilmiş, PPMS hastalarında kontrol grubuna göre fark gözlenmemiştir (140). Elde edilen sonuçlar, HMGB1'in MSS'deki enfeksiyon ve enflamatuar sinyaller sırasında hasarlı hücrelerden veya uyarılmış mikrogliya, makrofajlar ve olgun DC'lerden salınabilme olasılığına dayandırılmaktadır. Bu olasılıkla tutarlı olarak; başka bir çalışmada immünohistokimyasal olarak boyanmış MS beyaz cevherinde sağlıklı bireylere göre HMGB1 düzeyine sahip makrofaj ve mikrogliyal hücre sayısı daha yüksek saptanmıştır (141). HMGB1 ve MS lezyonları karşılaştırıldığında HMGB1 düzeyinin lezyon sayısı ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkili olduğu ve Genişletilmiş Engellilik Durum Ölçeği Skoru (EDSS) yüksek olan hastalarda HMGB1 düzeyinin de daha yüksek olduğu görülmüştür (142).

Sonuç olarak, klinik ve deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar, HMGB1'in MS hastalığı için bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir (143) ve ayrıca hastalık aktivitesini belirlemede ayırt edici bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (140,142).

2.6 HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı

Günümüzde MS ve diğer demiyelinizan hastalıkların patogenezindeki enflamasyon ve immün yanıtın altında yatan moleküler mekanizma halen tam olarak anlaşılamamıştır. Mevcut mekanizmanın aydınlatılması bu hastalık için etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi için oldukça önemlidir. MS'in tetiklenmesinde nöroenflamasyonu başlatıcı rolü olan pro-enflamatuar benzeri HMGB1'in ve ilgili sinyal yolaklarının MS tedavisinde ana hedeflerden biri olabileceği düşünülmektedir. HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağının MS patolojisinde ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde HMGB1 ile ilişkili odak noktası olabileceği öngörülmektedir.

TLR'ler, patojenle ilişkili moleküler paternleri (PAMP'ler) ve DAMP'leri ve doğal bağışıklık yanıtını tanıyan sensörlerdir (144,145). TLR'ler ER'de sentezlenir ve hücre yüzeyine veya hücre içi lokalizasyonlara iletilir. Literatürde şimdiye kadar insanlarda en az 10 farklı TLR (TLR1–TLR10) tanımlanmıştır. Konumlarına göre hücre yüzeyi TLR'leri ve hücre içi TLR'ler olarak alt gruplara ayrılırlar. TLR'lerin hücre içi konumu ligand tanıma için kritiktir ve otoimmün yanıt için TLR'lerin kendi nükleik asitleriyle bağlantı kurmasını önler (146).

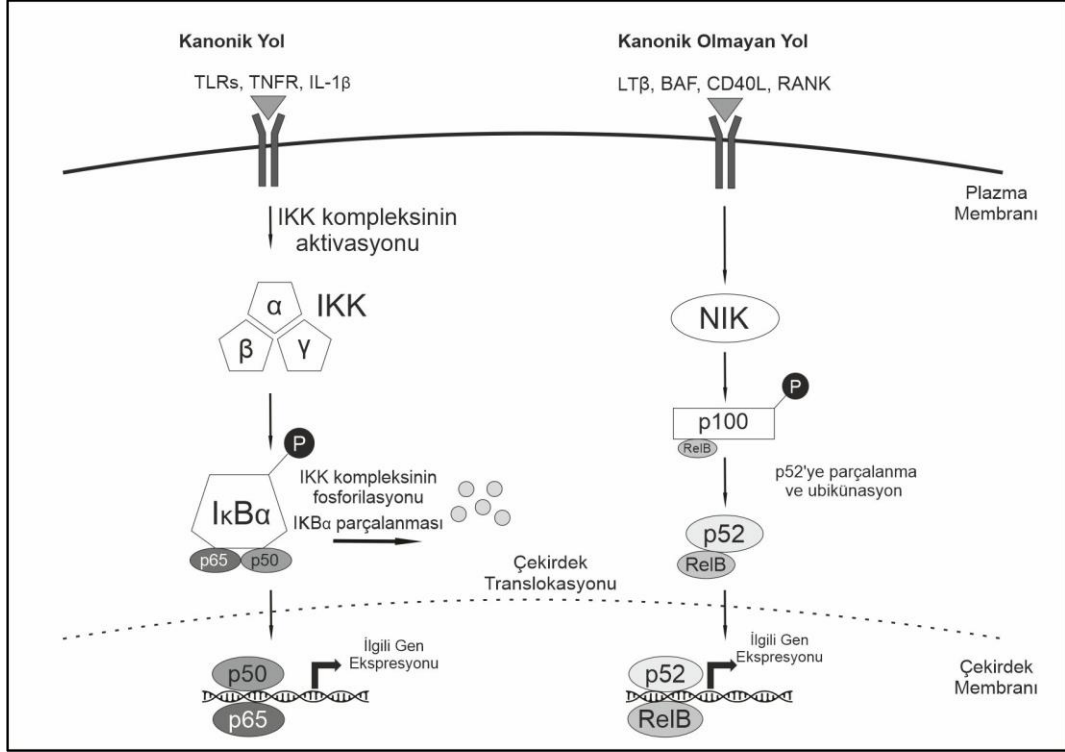
TLR4, bakteriyel lipopolisakkaritleri (LPS) tanıyan bir hücre yüzeyi reseptörüdür (145) ve ayrıca sitokin üretimi için bir HMGB1 reseptörü olarak da bilinir. Beyinde astrositlerde, mikroglialarda, oligodendrositlerde ve nöronlarda eksprese edilir (147–150). TLR4, doğal ve edinilmiş bağışıklık arasında bağlantı oluşturmada önemli bir rol oynar (143,151). HMGB1/TLR4 sinyali enflamasyon ile ilişkili patolojilerde (152,153) esas olarak enflamatuar yanıtları modüle ettiği için çok önemlidir (154). Deneysel çalışmalarda doğal bağışıklıkta TLR2 ve TLR4 ekspresyonunun MS/EAE'de önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (141,155). HMGB1, biyolojik aktivitesini TLR4 reseptörüne bağlanarak gösterir, ancak hastalık patogenezinde HMGB1 ile indüklenen TLR4 aktivasyonunun anahtar rolünü destekleyen sınırlı kanıt vardır (156). HMGB1 ve TLR4'ün etkileşimi NF-κB'nin yukarı regülasyonunu tetikler ve proenflamatuar sitokinlerin, kemokinlerin ve enzimlerin salınmasına neden olur (157,158). MS hastalarıyla yapılan çalışmalarda lezyonlarda artan TLR ekspresyonu ve ayrıca glial hücrelerde TLR1-TLR8'in artışı gösterilmiştir.

MS/EAE ve TLR4 aktivasyonunun enflamatuar süreç ile ilişkisi bilinmesine rağmen, TLR'lerin hastalığın seyrini nasıl değiştirebileceğine dair

kesin bir açıklama yoktur. TLR4'ün MS/EAE'deki rolü hakkında bazı zıt görüşler belirtilmiştir (159). TLR4 susturulmuş farelerde, EAE semptomlarının daha düşük şiddette olduğu bildirilmiştir (160). Bunun aksine diğer bir çalışmada TLR4 eksikliğinin EAE'nin şiddetini arttırdığı belirtilmiştir (161). Ayrıca, TLR4 susturulmuş farelerde, daha yüksek serum IL-17 ve Th17 hücreleri seviyeleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre TLR4'ün MS/EAE'de tartışmalı bir rolü olduğu söylenebilir (159). Bu tartışmalı rolün açıklamasında bazı hipotezler sunulmuştur. Birincisinde, TLR3 ve TLR4 aktivasyonu, mikrogliaların antijen sunan hücrelere dönüştürülmesinde ve T hücre infiltrasyonunun kolaylaştırılmasından sorumlu tutulmuştur (162). İkincisinde ise, TLR'lerin pro-enflamatuar sitokinlerin salınımına yol açarak hücre hasara neden olabileceği belirtilmiştir. LPS kaynaklı mikrogliyal TLR4 aktivasyonu, oligodendrositlerde ve nöronlarda hasara ve ölüme neden olmaktadır (163,164). Yenidoğan sıçan beyinde, proenflamatuar sitokin IL-1 β 'nin aracılık ettiği oligodendrosit ve miyelin kaybıyla sonuçlanan LPS ile indüklenen TLR4 aktivasyonu rapor edilmiştir (165). Tüm bu sonuçlar, TLR4'ün MS/EAE'deki tartışmalı rolünü desteklemektedir.

NF- κ B; hücre ölümü, proliferasyon, enflamasyon ve hücre farklılaşmasını içeren genlerin ekspresyonunu düzenleyen ana transkripsiyon faktörlerinden biridir (166). NF- κ B ailesi p50, p52, P65, c-Rel ve Rel B gibi beş ana transkripsiyon faktöründen oluşur. Memeli hücrelerinde tespit edilebilir ve çeşitli genlerin ekspresyonunu farklı şekilde düzenler (167,168). Dinlenme halinde NF- κ B proteini inhibitör κ B (I κ B)'ye bağlı inaktif bir sitoplazmik protein kompleksidir. Uyarıldığında, I κ B kinaz (IKK) I κ B'yi fosforile ederek ubiquinasyon ve proteasomal degradasyonu kolaylaştırır. Bu durum, NF- κ B 'nin çekirdeğe girmesine ve çekirdeğin transkripsiyonel aktivitesinin gerçekleşmesini sağlar (169). Kanonik (klasik) ve kanonik olmayan (alternatif) yol olarak iki ana NF- κ B aktivasyon yolu bilinmektedir (Şekil 2.5) (170). En çok çalışılan yol olan kanonik yol, IKK kompleksinin aktivasyonuna neden olan IL-1, TNF ve TLR'ler için sitokin reseptörlerinden gelen sinyallerle uyarılır. Bu kompleks, I κ B proteinlerinin fosforilasyonunu sağlar ve bozulmuş I κ B'den sitoplazmik NF- κ B dimerleri olan p50 ve p65'in salınmasıyla sonuçlanır. Kanonik yol çeşitli biyolojik işlevlerde yer alır (171). Kanonik olmayan yol, B hücresi aktive edici faktör (BAF), CD40 ligandı, lenfotoksin β (LT β) reseptörü ve NF- κ B reseptör aktivatörü (RANK)

tarafından indüklenir. Bu uyarılar, NF- κ B indükleyici kinazı (NIK) aktive eder. NIK, IKK1'i aktive eder ve fosforile eder ve p100'ün fosforilasyonu ile sonuçlanır. Bu, ubiquinasyona ve p52'ye bozulmasına neden olur. Daha sonra p52, RelB ile dimerizasyonu yoluyla çekirdeğe doğru yer değiştirir. Kanonik olmayan yol önemli ölçüde daha yavaştır ve sınırlı sayıda hücrel yanıtla ilişkilidir (171,172).



Şekil 2.5. NF- κ B Aktivasyon Yolları (124)

Mikroglia, astrosit ve oligodendrositlere lokalize olan MSS lezyonlarında NF- κ B aktivasyonunun varlığı bilinmektedir (169). İnflamatuvar lezyonlarda hücre canlılığının NF- κ B tarafından düzenlendiği bilinmektedir (173). TLR4/NF- κ B sinyal yolağı, mikroglia aracılı enflamasyonda önemli bir rol oynar. MS hastalarından izole edilen PBMC'lerde CD3+/CD4+ T hücrelerde ve monositlerde NF- κ B seviyesinde artış bildirilmiştir (174). NF- κ B'nin yukarı regülasyonu TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun ve salınımının artışıyla sonuçlanmaktadır. Deneysel çalışmalarda, bu inflamatuvar belirteçlerin EAE'nin ileri aşamalarında giderek arttığı ve NF- κ B inhibisyonunun EAE gelişimini baskıladığı gözlenmiştir (121,175). Tüm bu veriler, HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolunun inhibisyonunun mevcut bilinen tedavi olanakları dışında MS/EAE'yi baskılamak için önemli bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir (176).

Güncel tedavi stratejilerine bakıldığında özellikle aktif fazdaki MS hastaları için pek çok tedavi seçeneği mevcuttur. Ancak kısa süreli ve sınırlı etkinlikleri, yan etkileri ve relapsları engellemedeki eksiklikleri nedeniyle hastalığa özgü ileri tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Hastalığın patogenezi ile ilişkili sinyal yolları etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi için deneysel ve klinik çalışmalarda önemli kilit noktalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Literatür verilerine dayanarak, deneysel ve klinik çalışmalarda daha etkili tedavi ajanlarının keşfi için HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolağının kilit bir hedef olabileceği düşünülmektedir.

2.7 MS ve NMOSD İlişkili Sitokinler: IL-17A ve IL-37

Nörodejeneratif hastalıklar MSS'de ilerleyici nöron ve akson kaybının bir sonucudur, bilişsel ve motor işlev bozukluğuna yol açmaktadırlar. MSS enflamasyonu ve immün aktivasyonunun nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı uzun yıllardır bilinmektedir. Birçok pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar sitokin MS patogeneziye katkıda bulunduğu öne sürülmüş ve bu zıt sitokinler arasındaki dengenin MS şiddetini düzenleyebileceği düşünülmüştür. Sitokinler gibi enflamatuar mediyatörler ile astrositler ve mikroglia dahil olmak üzere uyarılmış bağışıklık yanıtı arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılması nörodejeneratif hastalıklar için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir (177).

İnterlökin-17 (IL-17), granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve kemokin ligand 1 (CXCL1) ve kemokin ligand 2 (CXCL2) gibi kemokinlerin salınmasını uyaran ve enflamatuar mediyatör görevi gören bir sitokindir (178). IL-17 ailesi, altı alt üyeden (IL-17A–IL-17F) oluşur ve ilgili tüm reseptörleri de yakın zamanda tanımlanmıştır. Bu sitokinler arasında en çok araştırılan IL-17A'dır. Diğer üç sitokinin fonksiyonu hakkında çok az şey bilinmektedir. IL-17 reseptörü A (IL-17RA), IL-17A için yeni bir sitokin reseptörü olarak tanımlanmıştır (178). IL-17RA, IL-17A molekülüne bağlandığında adaptör proteini Act1 ve tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör 6 (TRAF6) moleküler mekanizmaları düzenler. TRAF6, NF- κ B aktivasyonu için aşağı akış TRAF6'ya bağlı mitojenle aktive olan protein kinaz (MAP3K/TAK1)'i aktive eder. Sonuç olarak IL-17A sinyalizasyonu kanonik NF- κ B aktivasyon yolunu uyarır. Kanonik NF- κ B yolağının aktivasyonu ile birkaç pozitif ve negatif geri

besleme devresi indüklenir, anti-mikrobiyal ve proenflamatuar genlerin ekspresyonu kolaylaşır (179).

Diğer nörodejeneratif hastalıklarla karşılaştırıldığında, IL-17A ile ilgili çalışmalar çoğunlukla MS'e yoğunlaşmıştır. IL-17A'nın MS patogenezinde olası bir işlevi olduğu ileri sürülmüştür (180). MS hastalarında IL-17A seviyesinin arttığı bildirilmiştir. İnsan MS beyin dokusunda, IL-17A üreten hücreler bulunmuş, ancak enflamasyon oluşmamış beyin dokusunda veya normal beyaz maddede bulunmamıştır (181). Postmortem MS numunelerinde IL-17A mRNA artışı saptanmış (182) ve IL-17A içeriğinin BOS'da KBB bozulması ve nötrofil genişlemesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (183). MS'te IL-17A doğrudan glutamat seviyeleri ile ilişkilidir ve Ca^{+2} bağımlı glutamat salınımını uyarabileceği düşünülmektedir. MS/EAE'de, IL-17RA ekspresyonunun MSS'de önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (184). IL-17A, MSS'de IL-17RA kompleksine bağlandıktan sonra, CD4+ hücre göçünü teşvik ederek ve kemokinler salgılayarak EAE'nin patogenezinde katılmaktadır (185). Deneysel çalışmalarda IL-17 geni susturulmuş farelerde EAE'nin önemli ölçüde bastırıldığı ve histolojik değişikliklerin iyileştiği, hastalık başlangıç süresinin geciktiği ve maksimum şiddetin azaldığı görülmüştür (186).

IL-37; IL-1 ailesinin en son keşfedilen bir üyesi olup, proenflamatuar sitokinlerin salınımını engelleyerek enflamasyonu ve bağışıklık tepkisini önlemede etkin olduğu bildirilen bir anti-enflamatuar sitokindir (187). IL-37 bağışıklık hücrelerinde esas olarak dolaşımdaki monositlerde, doku makrofajlarında, DC'lerde, tonsil B hücrelerinde ve plazma hücrelerinde eksprese edilir (188). Ancak, dinlenme halindeki PBMC ve DC'lerindeki IL-37 transkriptlerinin temel seviyeleri çok düşüktür. IL-37 ekspresyonu doku hücrelerinde belirli proenflamatuar uyaranlar tarafından uyarılır ve daha sonra monositler, DC'ler ve T hücreleri gibi bağışıklık hücreleri IL-37'yi eksprese eder. Özetle, yapısal ekspresyonu nispeten düşük olmasına rağmen indüklenebilme özelliği ile güçlü bir anti-enflamatuar etki veya immün düzenleyici rol oynayabilir (189).

IL-37, çeşitli enflamatuar ve otoimmün hastalıkta önemli bir rol oynar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda enflamatuar bağırsak hastalıkları, enflamatuar solunum yolu hastalıkları, ateroskleroz, hepatit, obezite, Graves hastalığı, RA, ankilozan spondilit, SLE, MS, sedef hastalığı ve Behçet hastalığı gibi birçok

hastalıkta IL-37 ekspresyonunda anormallik olduğu gösterilmiştir (190). Otoimmün hastalıklarda IL-37'nin rolü olduğu bildirilmesine rağmen, IL-37 olası etkileriyle ilgili MS hastalığı özelinde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (191–194). Yapılan bir çalışmada IL-37 serum düzeylerinin hem RRMS hastalarında hem de NMO hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, hastaların serum IL-37 seviyeleri ile EDSS arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (194). MS hastalarında serum IL-37 düzeylerinin daha yüksek olduğu ve hastalık aktivitesinin yanı sıra IL-33 seviyeleri ve çözünür vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) reseptörü 2 ile ilişkili olduğunu gösteren başka bir bağımsız çalışmada bu veriler doğrulanmıştır (191).

Mevcut literatür verilerine göre, IL-17A ve IL-37 sitokinlerinin MS gibi enflamatuvar hastalıklarda etkinlikleri oldukça açıktır. Otoimmün bir hastalık olan MS'de hastalık modifiye edici terapilerin geliştirilebilmesi için bu sitokinlerin hedeflendiği ileri deneysel ve klinik çalışmalara olan ihtiyaç halen devam etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hastaların Seçimi ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi (BAİBÜ) Klinik Araştırmaları Etik Kurulundan 04/01/2022 tarihli 2021/305 karar nolu etik izin alınmıştır (Ek-1). Çalışmamızın bütçesi BAİBÜ Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) birimi tarafından 2022.08.32.1579 nolu proje ile desteklenmiştir.

BAİBÜ Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğine Şubat 2022-Mayıs 2023 tarihleri arasında MS ve diğer demiyelinizan hastalık ön tanısı ile başvuran ve bu ön tanı gereği Bilgilendirilmiş Olur Formu (Ek-2) ile izni alınan hastalar dahil edilmiştir. Nöroloji servisine yatışları yapılan hastalardan BOS Bilgilendirme Formu (Ek-3) imzalatılarak kesin tanı amacıyla LP yöntemiyle alınan BOS numuneleri kullanılmıştır. Sağlıklı kişilerden BOS numunesi alınamadığından dolayı çalışmamızda sağlıklı kontrol olarak literatürde enflamasyon konusunda sınırlı sayıda yayın bulunan PTS hastalığı tanılı hastalar seçilmiş ve hastaların BOS numuneleri kullanılmıştır. MS tanısı 2017 yılında yenilenmiş McDonald kriterlerine göre (8), NMOSD tanısı 2015 Uluslararası NMO tanı paneli kriterlerine göre (195) ve PTS tanıları ise Dandy kriterlerine göre (196) belirlenmiştir. MS grubundaki hastalar RRMS alt tipinden ve NMOSD hastaları da ON ve TM alt tiplerinden seçilmiştir. PTS hastaları da hastalığın sebebinin bilinmediği primer PTS hastalarından seçilmiştir. Belirtilen hasta gruplarında ELISA yöntemiyle CALP1, CALP2, HMGB1, TLR4, NF-κB, IL-17A ve IL-37 düzeyleri incelenmiştir.

Çalışmaya dahil edilme ve dışlama kriterleri aşağıda belirtildiği şekildedir:

Dahil edilme kriterleri:

1. Hastaların çalışmaya katılmaya gönüllü olması,
2. Hastaların 18-65 yaş aralığında olması,
3. MS hastalığı için McDonald kriterlerine göre RRMS tanısı alınmış olması,
4. NMOSD hastalığı için NMO Tanı Paneli kriterlerine göre tanı alınmış olması,
5. PTS için Dandy tanı kriterlerine göre tanı alınmış olması

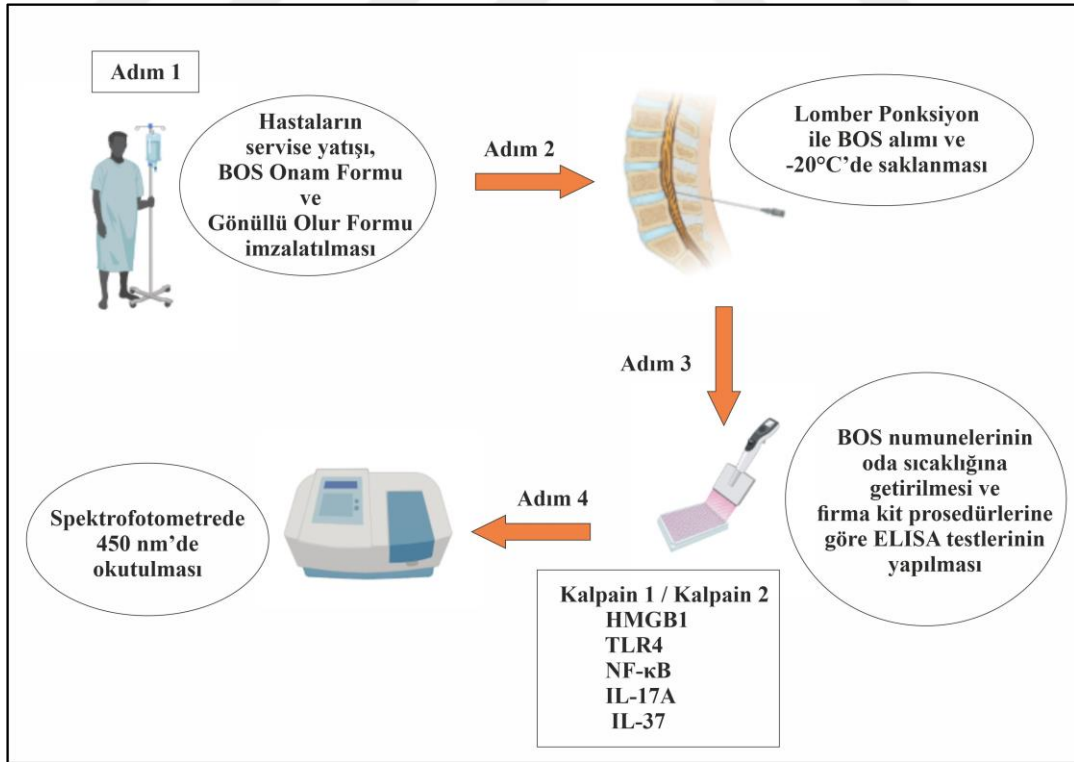
Dışlama kriterleri:

1. Hastaların çalışmaya katılmaya gönüllü olmaması,
2. Hastaların 18-65 yaş aralığında olmaması,
3. Çapraz reaksiyon görülebileceğinden dolayı başka bir otoimmün hastalığın (Diyabet, SLE, vs.,) olması

BAİBÜ İzzet Baysal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğinde MS, NMOSD ve PTS tanısı almış hastalara aşağıdaki prosedürler uygulanmıştır:

1. MS, NMOSD ve PTS tanısı almış hastalarının izlemleri Nöroloji Uzmanı Doç. Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU tarafından yapılmış ve hastalara çalışma hakkında bilgi verilmiştir.
2. MS tanılı hastalar için MS Hasta Bilgi Formu (Ek-4) doldurulmuştur.
3. NMOSD tanılı hastalar için NMOSD Hasta Bilgi Formu (Ek-5) doldurulmuştur.
4. PTS tanılı hastalar için PTS Hasta Bilgi Formu (Ek-6) doldurulmuştur.

Çalışma planı özeti Şekil 3.1’de sunulmaktadır.



Şekil 3.1. Çalışma Planı

3.2 Hastalardan BOS Numunelerinin Alınması ve Saklanması

Nöroloji kliniğine ön tanı ile başvuran hastalardan olur formu alınarak LP yöntemi ile BOS numuneleri alınmış ve numunelerden çalışmamız için gerekli olan miktar (100 µl) ependorflara ayrılarak ELISA çalışması yapılana kadar -20 °C’de saklanmıştır.

3.3 ELISA Yöntemi ile BOS Numunelerinin Çalışılması

Çalışmada 96’lık insan ELISA kitleri (Sunred Biological Technology Co., Ltd, Şangay, ÇİN) kullanıldı. BOS numuneleri ve ELISA kitleri çalışma başlangıcından 30 dakika önce oda sıcaklığına çıkarıldı. Testler tedarikçi firmanın yönergeleri doğrultusunda Şekil 3.2’deki prosedüre göre yapıldı:



Şekil 3.2. ELISA Çalışma Prosedürü

3.4 İstatistiksel Değerlendirme

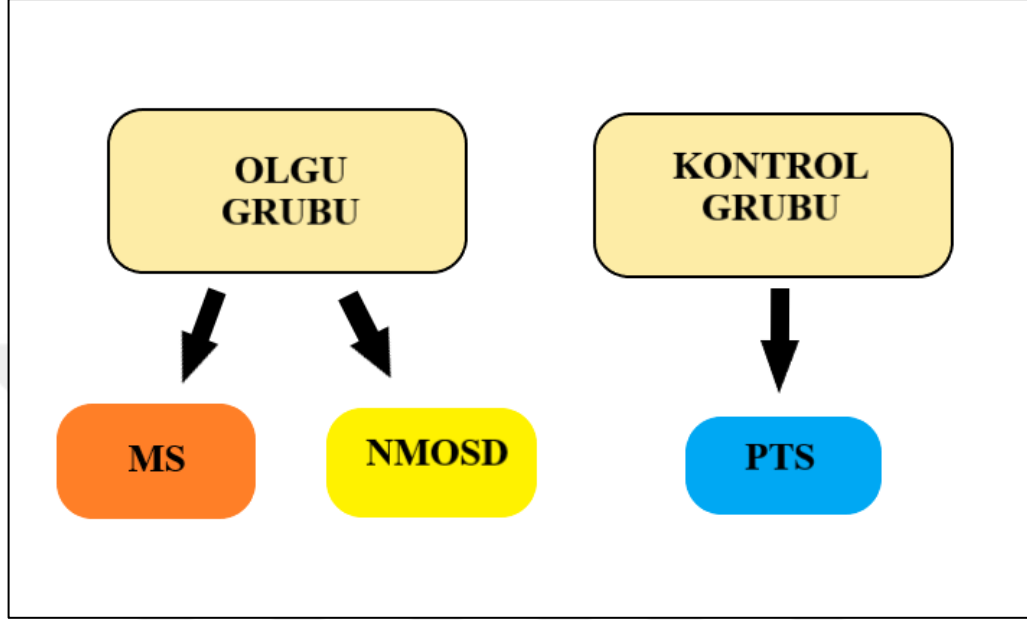
Çalışmamızda verilerin istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) programının 22.0 versiyonu kullanıldı. Grafiklerin çizimi için Graphpad Prism Versiyon 9.5.1 deneme sürümü kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen olgu ve kontrollere ait kategorik-demografik verilerin değerlendirilmesinde yüzde dağılımları verildi. Sürekli varyasyon gösteren değişkenlerin dağılım özellikleri Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Çoklu

gruplarda normal dağılım özelliği gösteren veriler için Tek Yönlü ANOVA kullanıldı, farklı olan grup ya da grupların tespiti için t-testi kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Normal dağılım özelliği göstermeyenler veriler için ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı, farklı olan grup ya da grupların tespiti için Mann Withney U testi kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Tanımlayıcı istatistikte normal dağılım özelliği gösteren özellikler için ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılım özelliği göstermeyenler özellikler için ise medyan ve minimum-maksimum değerleri verildi. Değişkenler arası ilişkinin saptanması için Pearson korelasyon analizi yapıldı. Korelasyonun gücü açısından; r değeri 0-0,3 ise zayıf, 0,3-0,6 ise orta, 0,6-0,8 ise güçlü ve 0,8-1,0 ise çok güçlü olarak yorumlandı. Tüm değerlendirmelerin sonucunda istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Gruplara Ait Katılımcı Sayıları

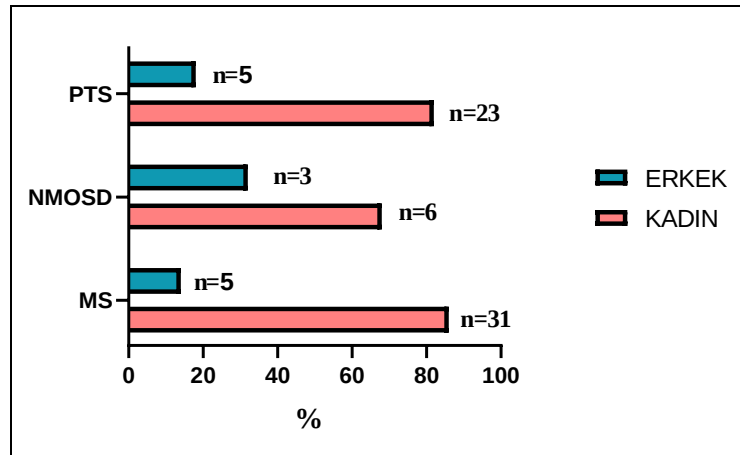
MS grubu için n=36, NMOSD grubu için n=9 ve PTS grubu için de n=28 olmak üzere toplam N=73 hasta sayısına ulaşıldı. (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Çalışma Gruplarının Dağılımı

4.1.1 Katılımcıların Cinsiyet ve Yaş Dağılımları

Çalışmaya dahil edilen katılımcıların cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde MS grubunun %86,1'i kadın, %13,9'u erkek, NMOSD grubunun %66,7'si kadın, %33,3'ü erkek ve PTS grubunun %82,1'i kadın ve %17,9'u erkek hasta olduğu görülmektedir. Olgu ve kontrol gruplarının katılımcı oranları Şekil 4.2'de detaylı şekilde gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Olgu ve Kontrol Grubu Katılımcı Yüzdesi

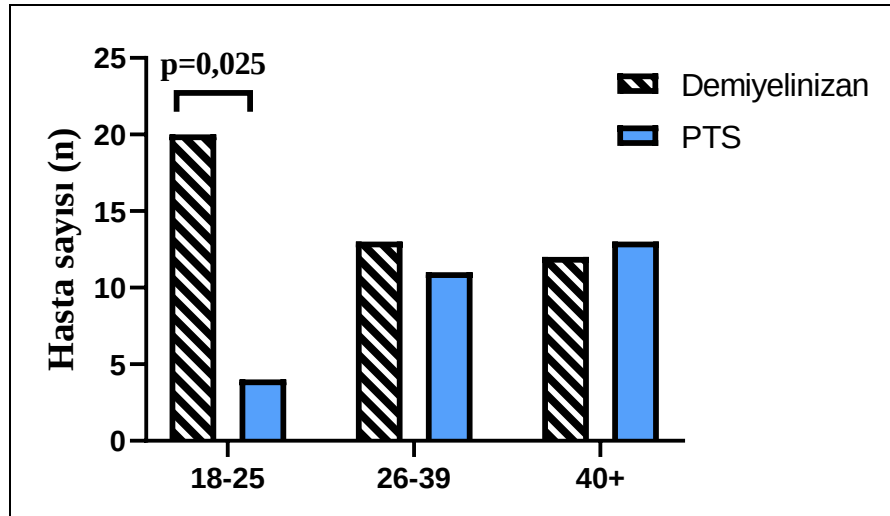
Tüm katılımcılar 18-60 yaş aralığında yer almaktadır. Katılımcıların cinsiyetlerine göre yaş ortalamaları karşılaştırıldığında kadınların yaş ortalaması ile erkeklerin yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi; $p=0,306$. (Tablo 4.2).

Tablo 4.1 Tüm Katılımcıların Cinsiyete Göre Yaş Ortalamaları

		n	Ortalama	SD	p
Yaş Ortalaması	Kadın	60	34,20	9,91	0,306 ^b
	Erkek	13	37,53	13,39	

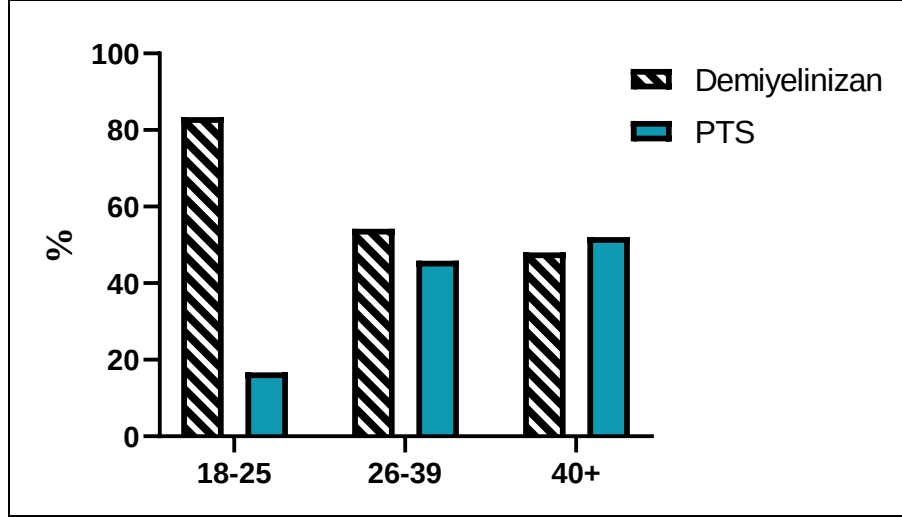
^b: Bağımsız Örneklem T Testi, SD.: Standart Sapma;

Olgu ve kontrol gruplarında yer alan kişiler 18-25, 26-39 ve 40 yaş ve üzeri olmak üzere 3 alt kategoriye ayrılarak hastalık başlangıç yaşları değerlendirildi ve 18-25 yaş kategorisinde demiyelinizan hastalıklarda PTS'ye göre anlamlı farklılık görüldü ($p=0,025$) (Şekil 4.3). Yaş gruplarına göre yüzde dağılımları Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



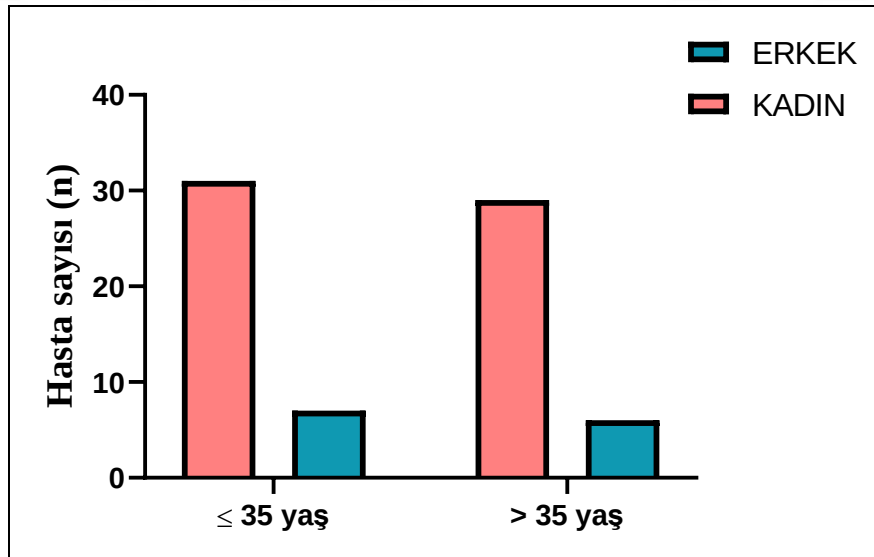
Fisher's Exact Test

Şekil 4.3. Yaş Gruplarına Göre Olgu ve Kontrol Grubu Dağılımı



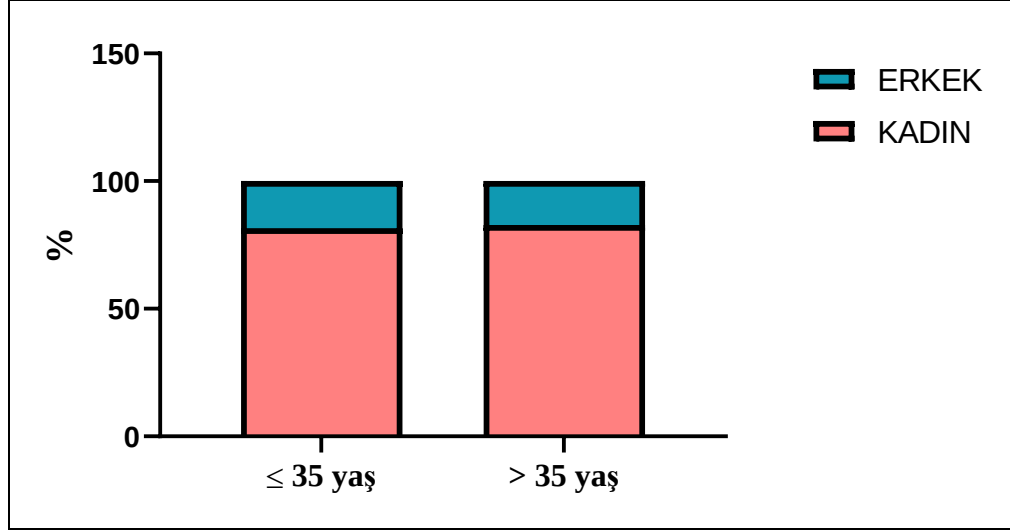
Şekil 4.4. Yaş gruplarına Göre Yüzde Dağılımları

Hastalık başlangıç yaşı 18-35 yaş aralığında olanlar “Erken başlangıçlı”, 35’ten büyük olanlar ise “Geç başlangıçlı” olarak kategorikleştirildi (Şekil 4.5). Hastalık başlangıç yaşı ve cinsiyet karşılaştırması yapıldığında, cinsiyete göre hastalık başlangıç yaşında anlamlı fark görülmedi ($p=1,000$) ve kadın ve erkeklerdeki erken/geç başlangıçlı olguların yüzde dağılımlarının eşit olduğu görüldü (Şekil 4.5).



Ki-kare Testi, $p=1,000$

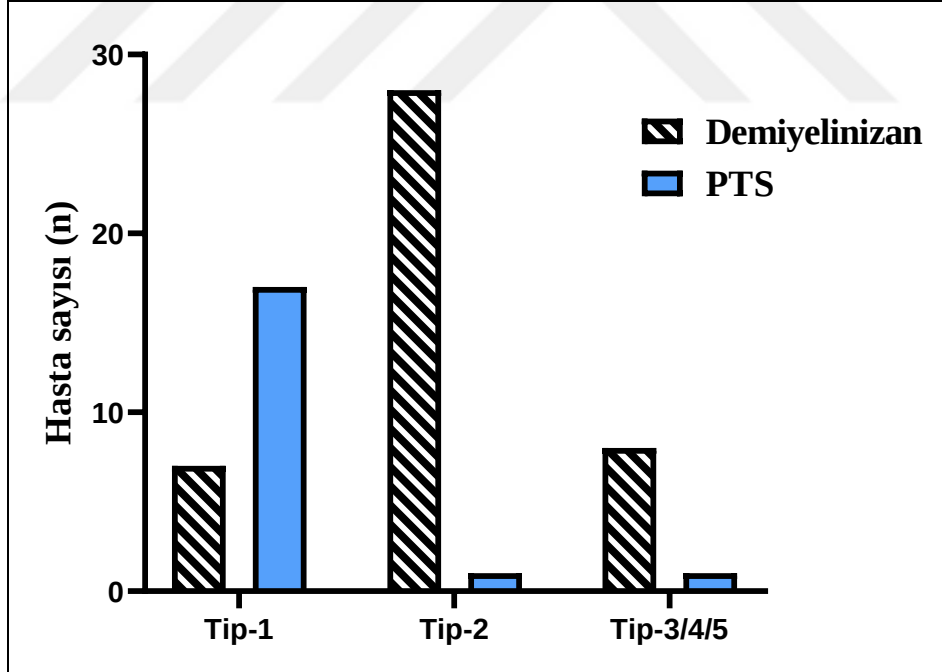
Şekil 4.5. Cinsiyete Göre Hastalık Başlangıç Yaşı



Şekil 4.6. Cinsiyete Göre Hastalık Başlangıç Yaşı Yüzde Dağılımı

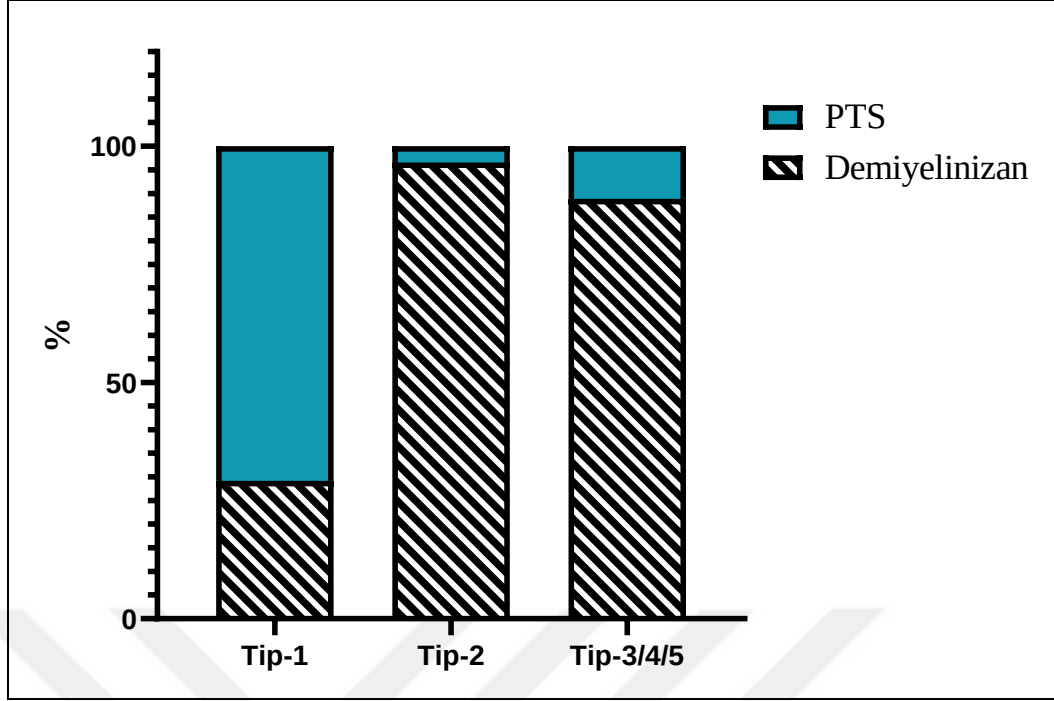
4.2 Katılımcılara Ait OKB Tipleri, EDSS Skorları ve IgG indeksi

Katılımcıların OKB tiplerine bakıldığında demiyelinizan hastalık gruplarında Tip 2 pozitifliği, PTS grubunda ise en fazla Tip 1 negatifliği görüldü (Şekil 4.7). OKB tiplerine göre yüzde dağılımı Şekil 4.8’de gösterilmektedir.



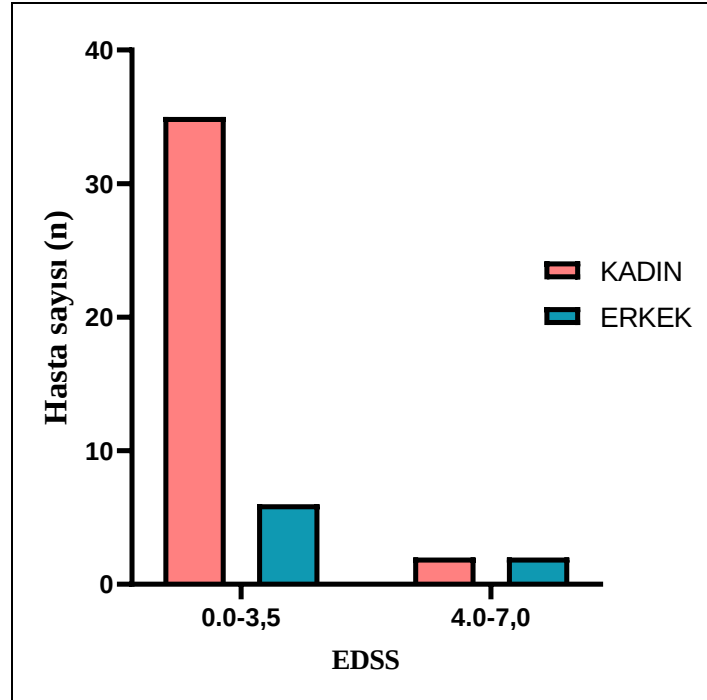
Fisher’s Exact Test

Şekil 4.7. Katılımcıların OKB Tiplerine Göre Dağılımı



Şekil 4.8. OKB tiplerine göre yüzde dağılımı

EDSS skoru kategorikleştirilerek değerlendirildi. EDSS skorunun MS grubunda NMOSD grubundan anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Cinsiyete bağlı olarak EDSS skoru kadınlarda erkeklerden daha yüksek görüldü ($p=0,008$) (Şekil 4.9).



Fisher's Exact Test

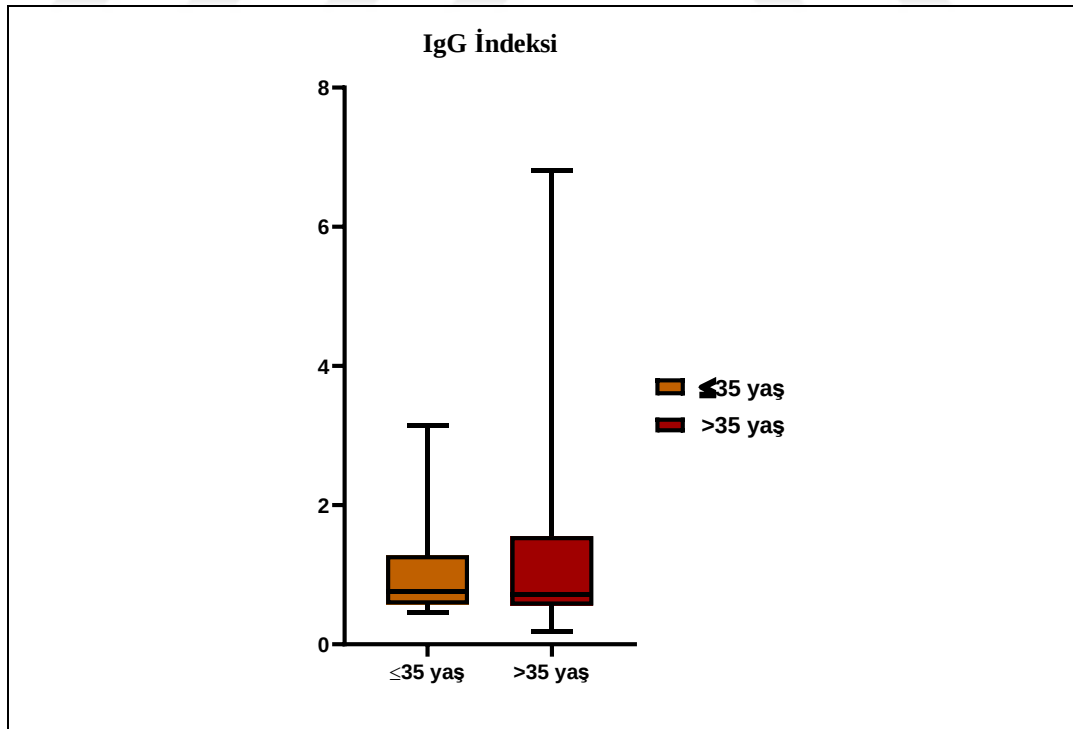
Şekil 4.9. EDSS Skoruna Göre Dağılım

Tüm katılımcıların hastalık başlangıç yaşlarına göre IgG indeksleri incelendiğinde anlamlı bir farklılık bulunmadı, $p = 0,634$. Erken ve geç dönem hastalık başlangıç yaşının IgG indeksine etkisi olmadığı görüldü (Tablo 4.2) (Şekil 4.10).

Tablo 4.2. Hastalık Başlangıç Yaşına göre IgG İndeksi

		n	Medyan	Min.	Maks.	p
IgG İndeksi	Erken Başlangıçlı	35	0,77	0,45	3,14	0,634 ^m
	Geç Başlangıçlı	27	0,70	0,19	6,81	

m: Mann Whitney-U Testi; IgG İndeksi: İmmünglobulin G İndeksi; Min.: Minimum Değer; Maks.: Maksimum Değer



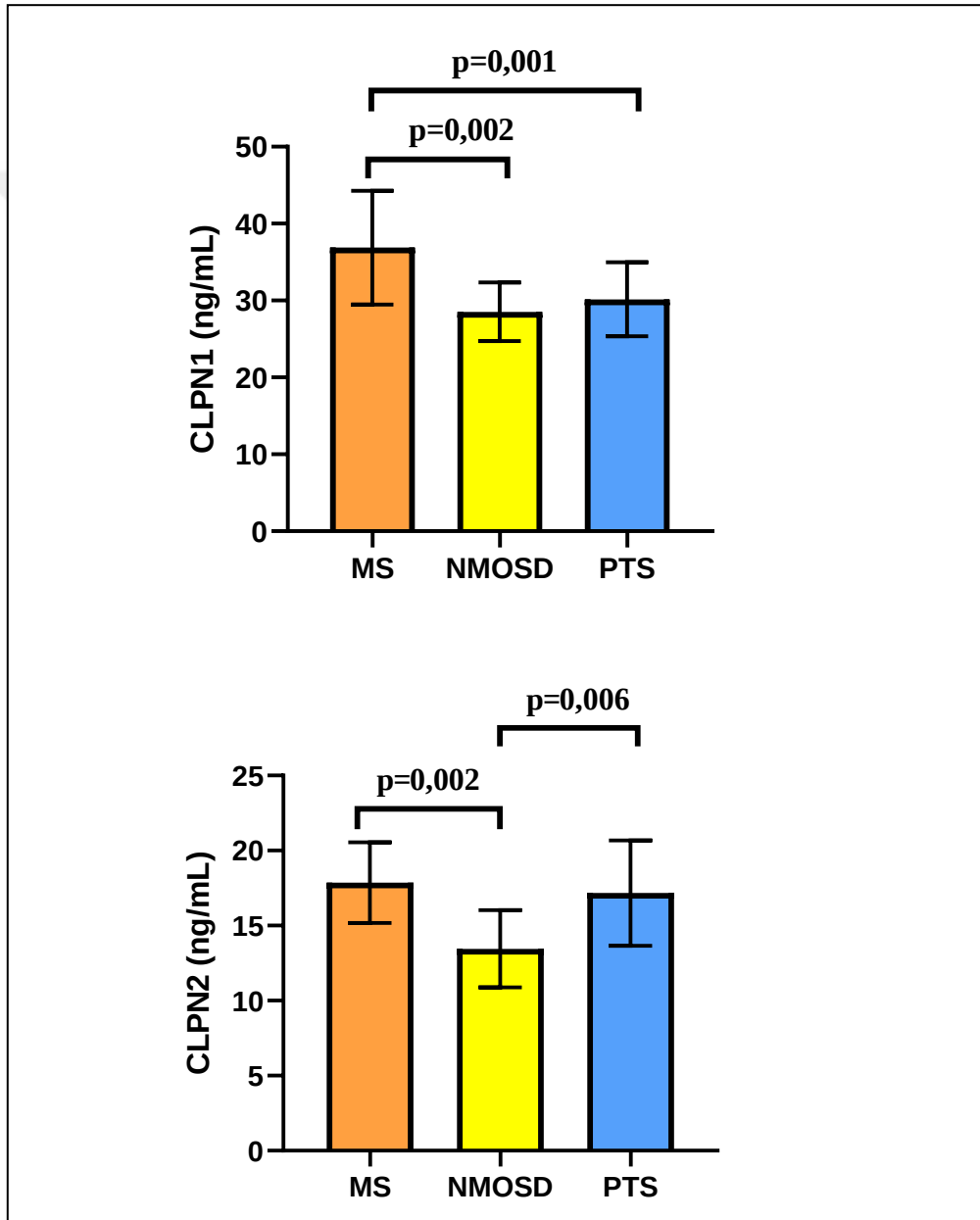
Whisker tolerans değerleri. Medyan değerleri her kutunun ortasındaki siyah çizgiyle gösterilmiştir.

Şekil 4.10. Hastalık Başlangıç Yaşına Göre IgG İndeksi

4.3 ELISA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.3.1 Tüm Gruplara Ait CLPN1 ve CLPN2 Seviyeleri

Tek Yönlü ANOVA Bonferroni test kullanılarak yapılan ELISA testi analizi sonuçlarına göre CLPN1 seviyesinin MS grubunda PTS grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü ($p=0,001$). Benzer şekilde, CLPN1 seviyesi MS grubunda NMOSD grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,002$). Gruplar arası CLPN1 ve CLPN2 seviyelerine ait grafik Şekil 4.11’ de verilmiştir.

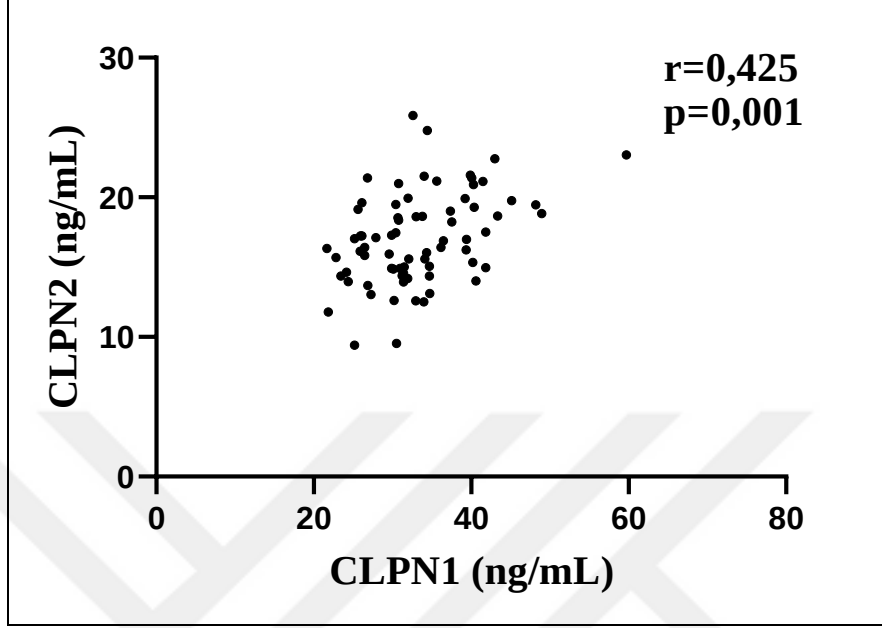


Tek Yönlü ANOVA, Tukey Testi, Ortalama $\pm$ Standart Sapma

Şekil 4.11. Olgu ve Kontrol Gruplarına Ait CLPN1 ve CLPN2 ELISA Seviyeleri

4.3.2 Tüm Gruplarda CLPN1 ile CLPN2 İlişkisi

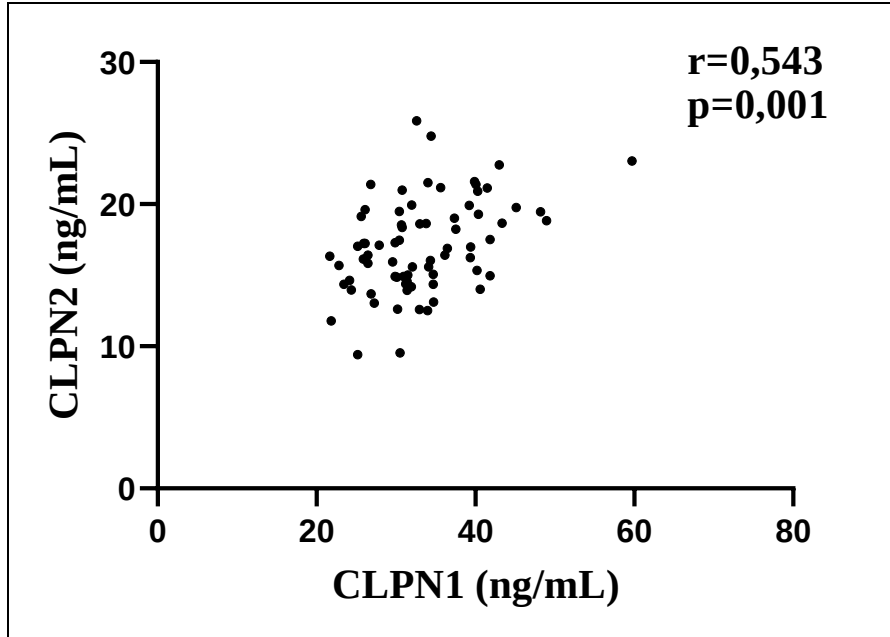
Gruplar arasında yapılan Pearson korelasyon analizi neticesinde CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri arasında orta düzeyde pozitif korelasyon görüldü ($r=0,425$, $p=0,001$) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Tüm Gruplarda CLPN1 ve CLPN2 XY Dağılımı

4.3.3 MS Grubunda CLPN1 ve CLPN2 İlişkisi

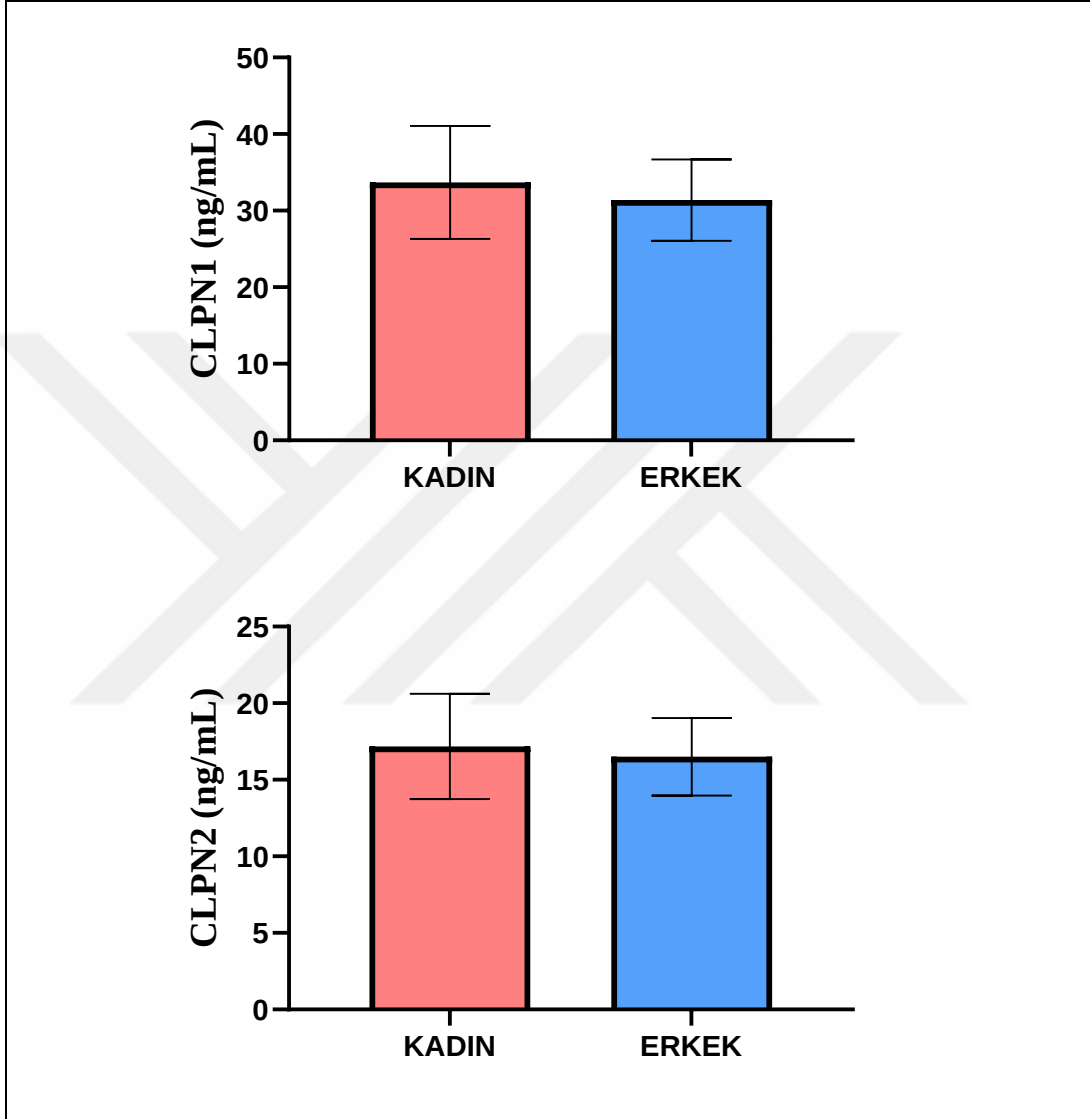
MS grubunda yapılan Pearson korelasyon analizinde CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri arasında orta düzeyde pozitif korelasyon görüldü ($r=0,543$, $p=0,001$) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. MS Grubunda CLPN1 ve CLPN2 XY Dağılımı

4.3.4 Tüm Gruplarda Cinsiyete Göre CLPN1 ve CLPN2 Seviyeleri

Cinsiyete bağlı olarak CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinde farklılık olabileceği göz önünde bulundurularak yapılan analiz sonucuna göre  grupta da CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinde cinsiyete göre farklılık görülmedi (Şekil 4.14).

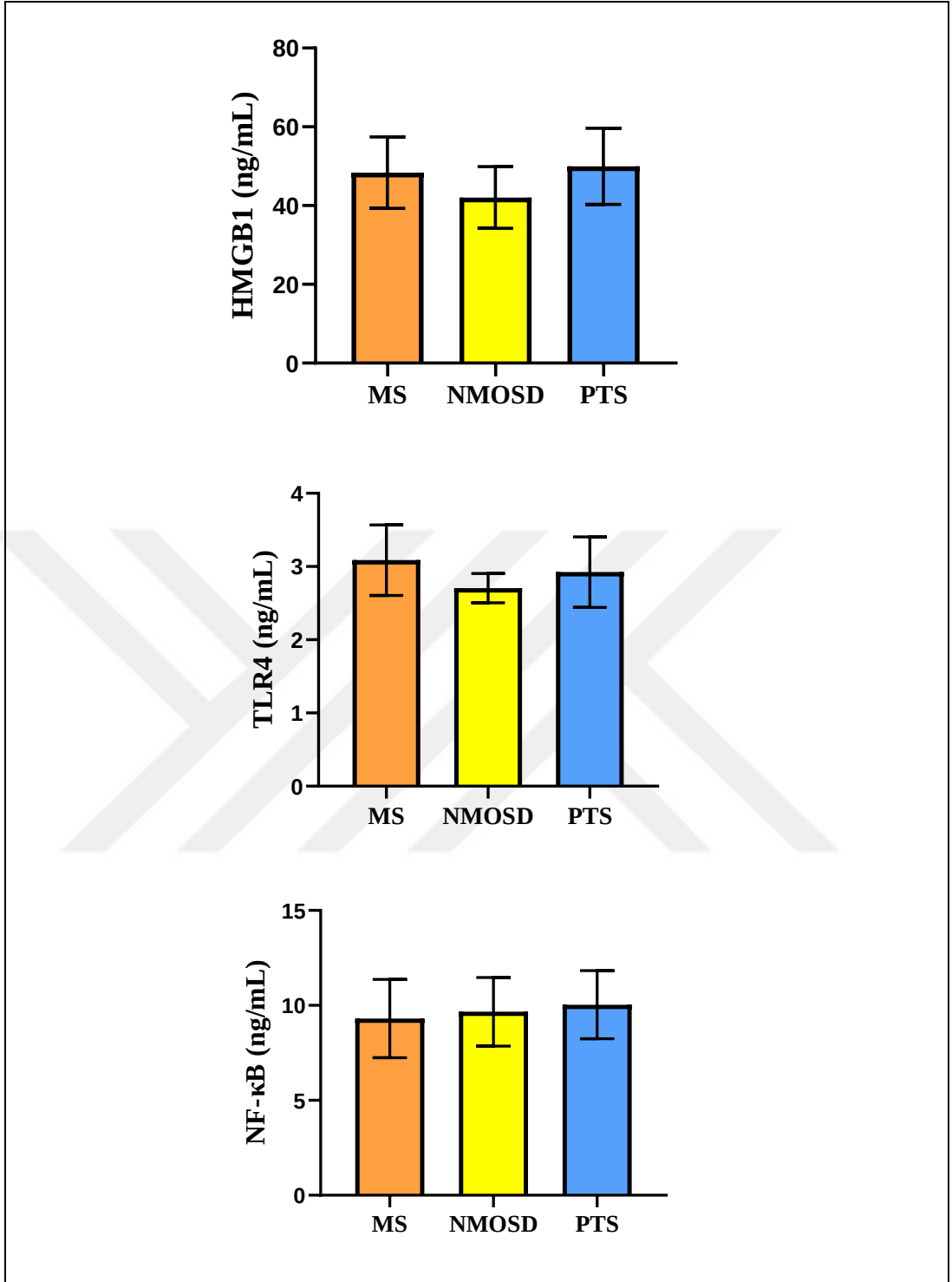


Bağımsız rneklem T Testi, Ortalama±Standart Sapma

Şekil 4.14. Cinsiyete Göre CLPN1 ve CLPN2 Seviyeleri

4.3.1 Tüm Gruplara Ait HMGB1, TLR4 ve NF-κB Seviyeleri

Tek Yönlü ANOVA, Bonferroni test kullanılarak yapılan ELISA testi analizi sonuçlarına göre gruplar arasında BOS HMGB1, TLR4 ve NF-κB seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmadı (Şekil 4.15).

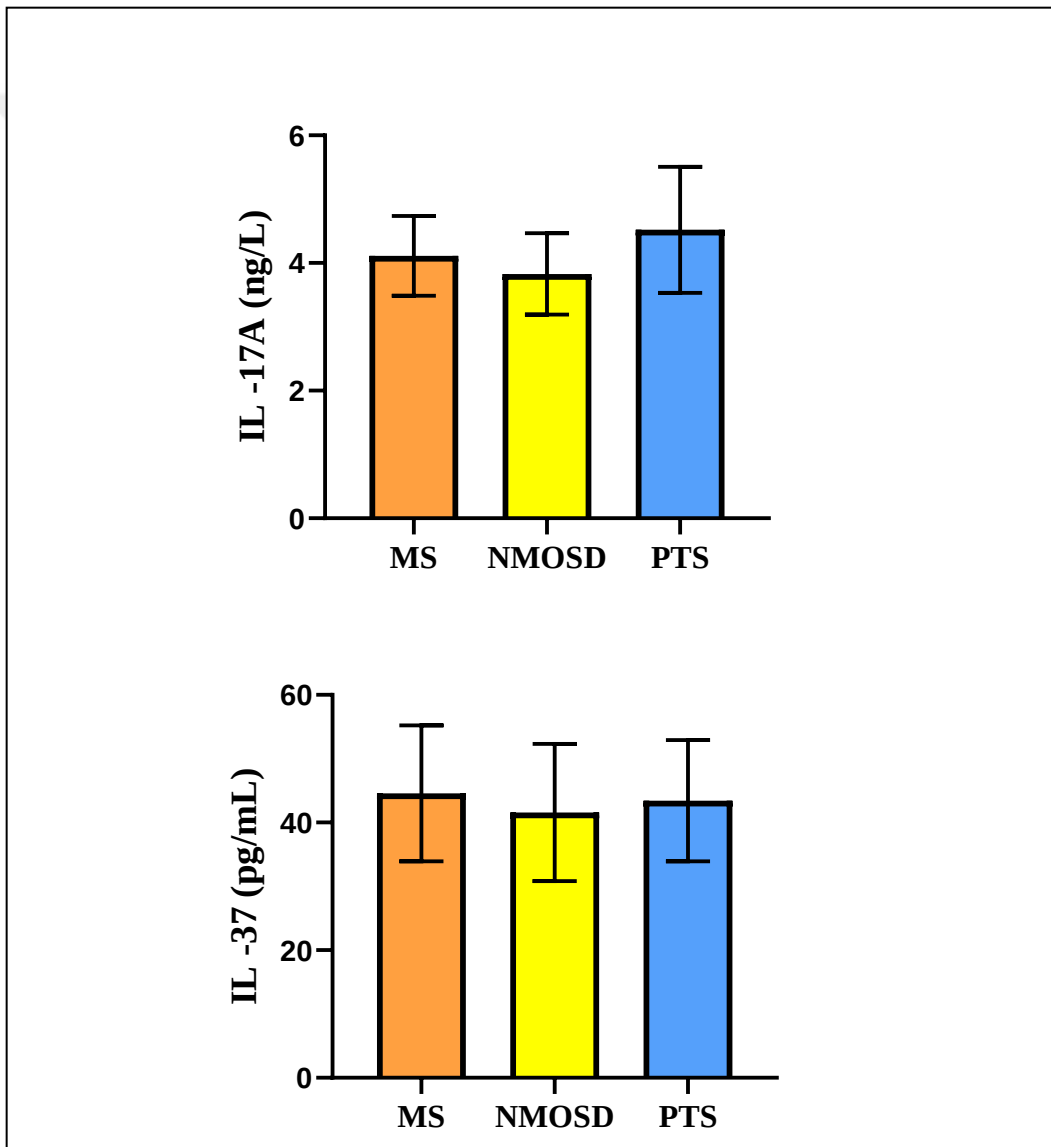


Tek Yönlü ANOVA, Tukey Testi, Ortalama $\pm$ Standart Sapma

Şekil 4.15. Olgu ve Kontrol Gruplarına Ait HMGB1, TLR4 ve NF-κB Seviyeleri

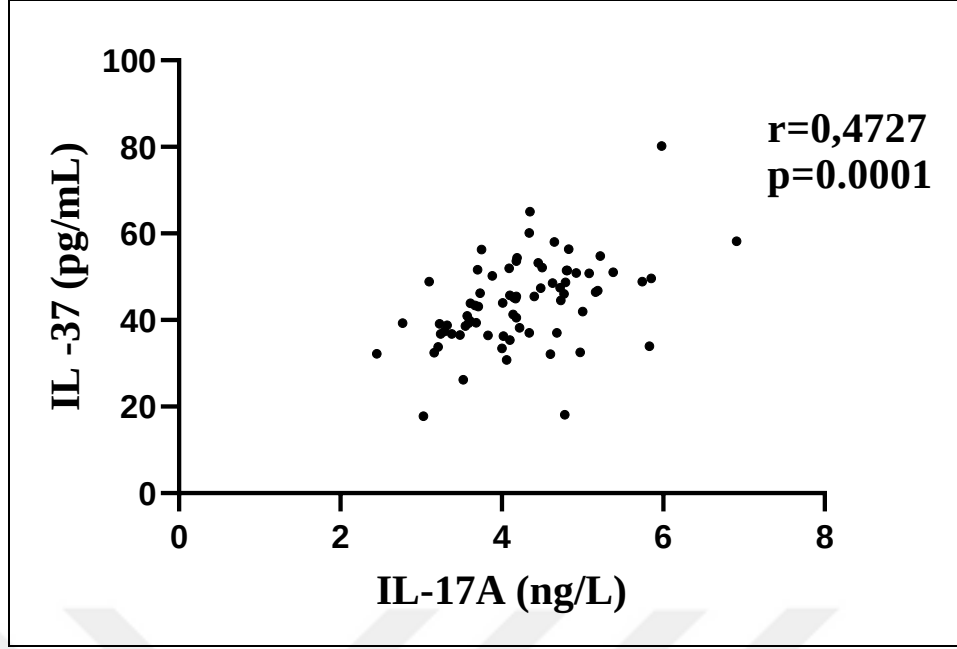
4.3.2 Tüm Gruplara Ait IL-17A ve IL-37 Seviyeleri

Tek Yönlü ANOVA, Bonferroni test kullanılarak yapılan ELISA testi analizi sonuçlarına göre gruplar arasında IL-17A ve IL-37 seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmadı (Şekil 4.16). Ancak, korelasyon analizi sonucuna göre IL-17A ve IL-37 arasında orta düzeyde pozitif korelasyon görüldü ($p=0,001$, $r=0,472$) (Şekil 4.17). Grupların kendi içinde yapılan değerlendirmede ise IL-37 seviyesi üç grupta da IL-17A seviyesinden yüksek görüldü ($p=0,001$). Yaş ve cinsiyet IL-17A ve IL-37 seviyelerindeki artışla korelasyon göstermedi (IL-17A için sırasıyla; $p=0,516$, $p=0,711$ ve IL-37 için sırasıyla; $p=0,752$, $p=0,543$).



Tek Yönlü ANOVA, Tukey Testi, Ortalama $\pm$ Standart Sapma

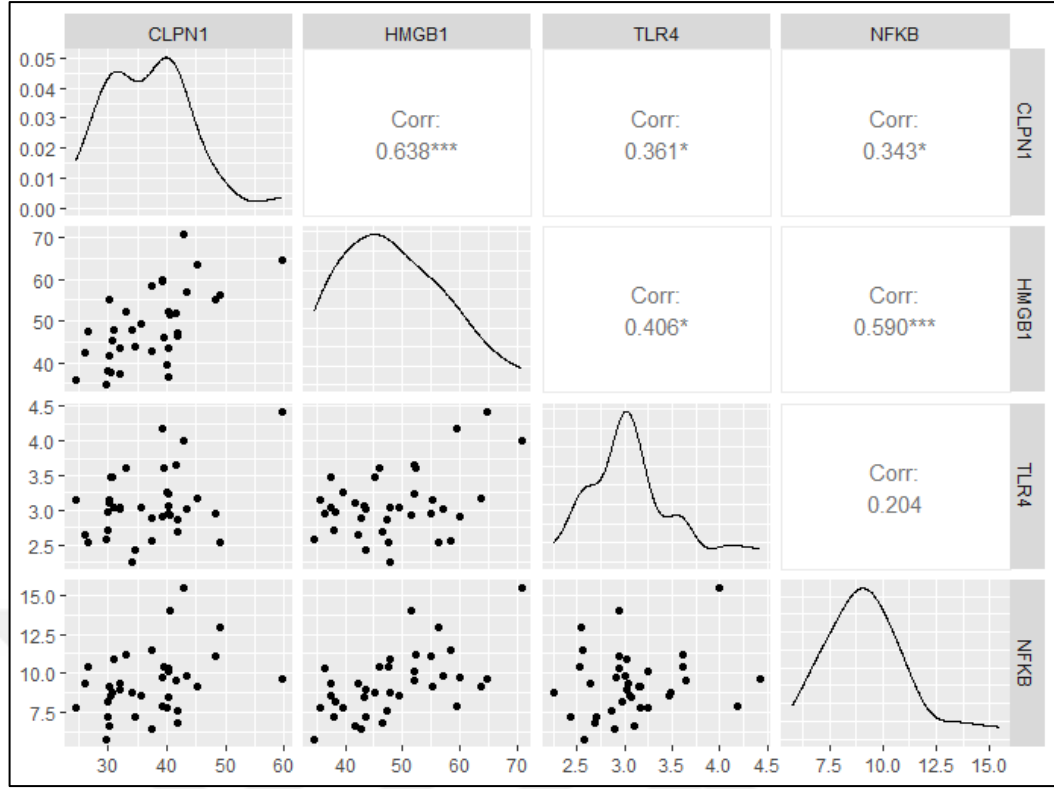
Şekil 4.16. Olgu ve Kontrol Gruplarında IL-17 ve IL-37 Seviyeleri



Şekil 4.17. Olgu ve Kontrol Grubunda IL-17A ve IL-37 XY Dağılımı

4.3.3 MS Grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

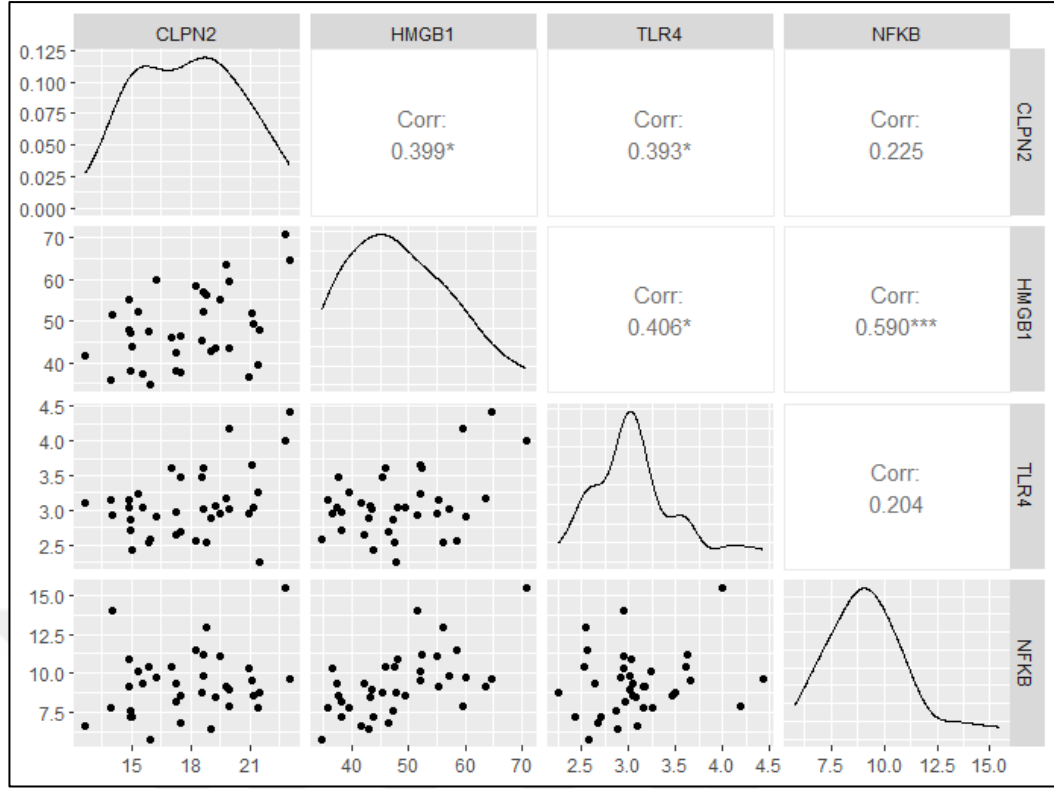
MS hastalarında yapılan korelasyon analizi sonucunda CLPN1 ile HMGB1 arasında pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,0001$, $r=0,638$). CLPN1 ile TLR4 ve NF-κB arasında da benzer şekilde pozitif yönde zayıf bir korelasyon olduğu görüldü (sırasıyla; $p=0,031$, $r=0,361$ ve $p=0,040$, $r=0,343$). MS grubunda CLPN1 ve HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon matrisi Şekil 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.18. MS Grubunda CLPN1 ve HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

4.3.4 MS Grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

MS hastalarında yapılan korelasyon analizi sonucunda CLPN2 ile HMGB1 arasında pozitif yönde zayıf bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,016$, $r=0,399$). CLPN2 ile TLR4 arasında da benzer şekilde pozitif yönde zayıf bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,018$, $r=0,393$). NF-κB ile CLPN2 arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi ($p=0,187$). MS grubunda CLPN2 ve HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon matrisi Şekil 4.19’da verilmiştir.



Şekil 4.19. MS Grubunda CLPN2 ve HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

4.3.5 NMOSD Grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

NMOSD hastalarında yapılan korelasyon analizi sonucunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,576$, $p=0,668$, $p=0,286$).

4.3.6 NMOSD Grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

NMOSD hastalarında CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,732$, $p=0,668$, $p=0,637$).

4.3.7 PTS Grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

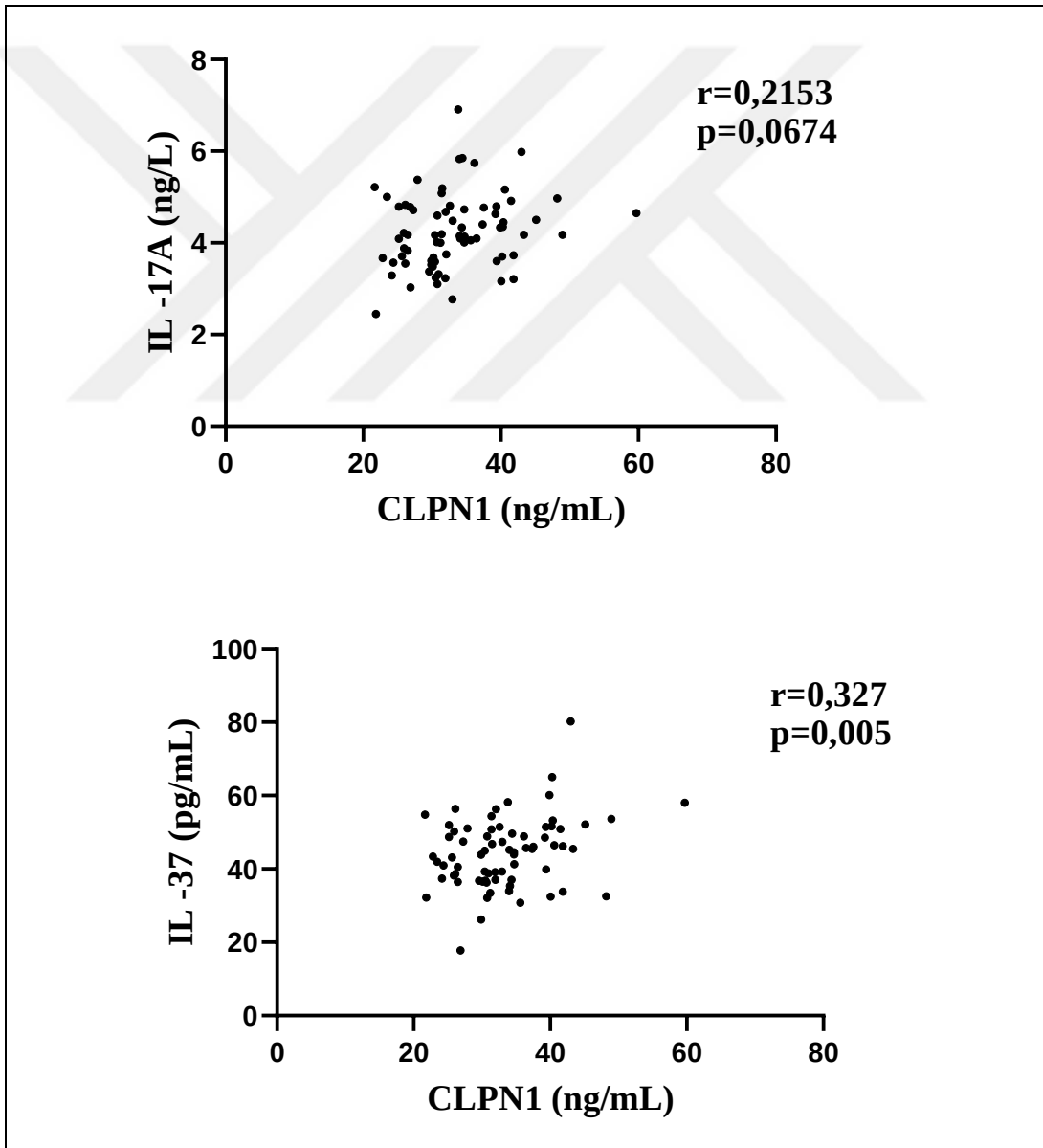
PTS hastalarında CLPN1 ile HMGB1 ve TLR4 seviyeleri ile anlamlı korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,576$, $p=0,668$). Fakat CLPN1 ile NF-κB seviyesi arasında orta düzeyde anlamlı bir korelasyon görüldü ($r= 0,540$, $p=0,286$).

4.3.8 PTS Grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı İlişkisi

PTS hastalarında CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağı arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,286$, $p=0,727$, $p=0,176$).

4.3.9 Tüm Gruplarda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

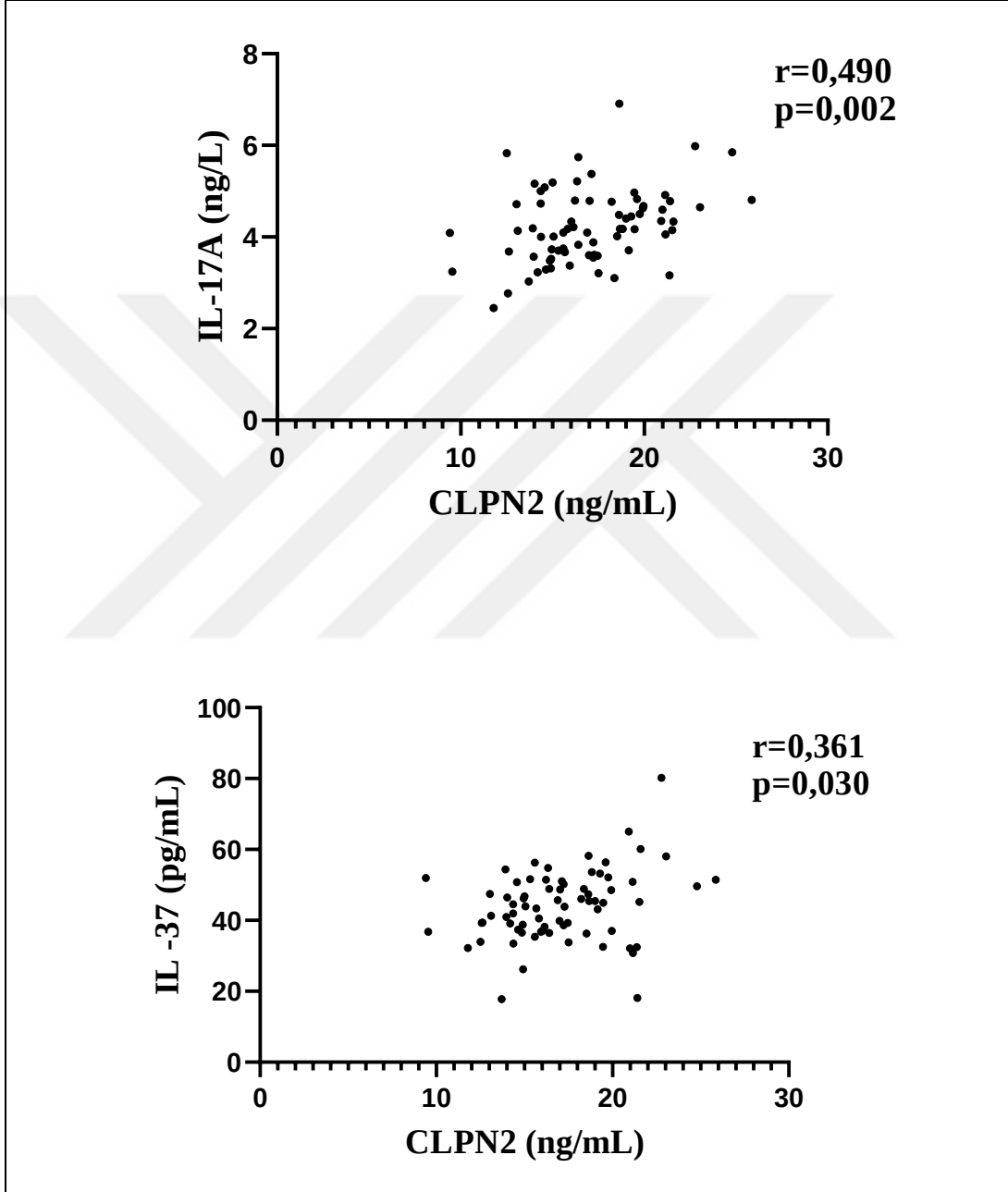
Gruplar arasında yapılan korelasyon analizinde CLPN1 ile IL-17A arasında korelasyon görülmedi, ancak IL-37 ile CLPN1 arasında pozitif korelasyon görüldü ($p=0,005$, $r=0,327$) (Şekil 4.20). Yaş ve cinsiyet faktörleri ile IL-17A ve IL-37 seviyelerinde korelasyon görülmedi.



Şekil 4.20 CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 Arasındaki X-Y Dağılımı

4.3.10 Tüm Gruplarda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

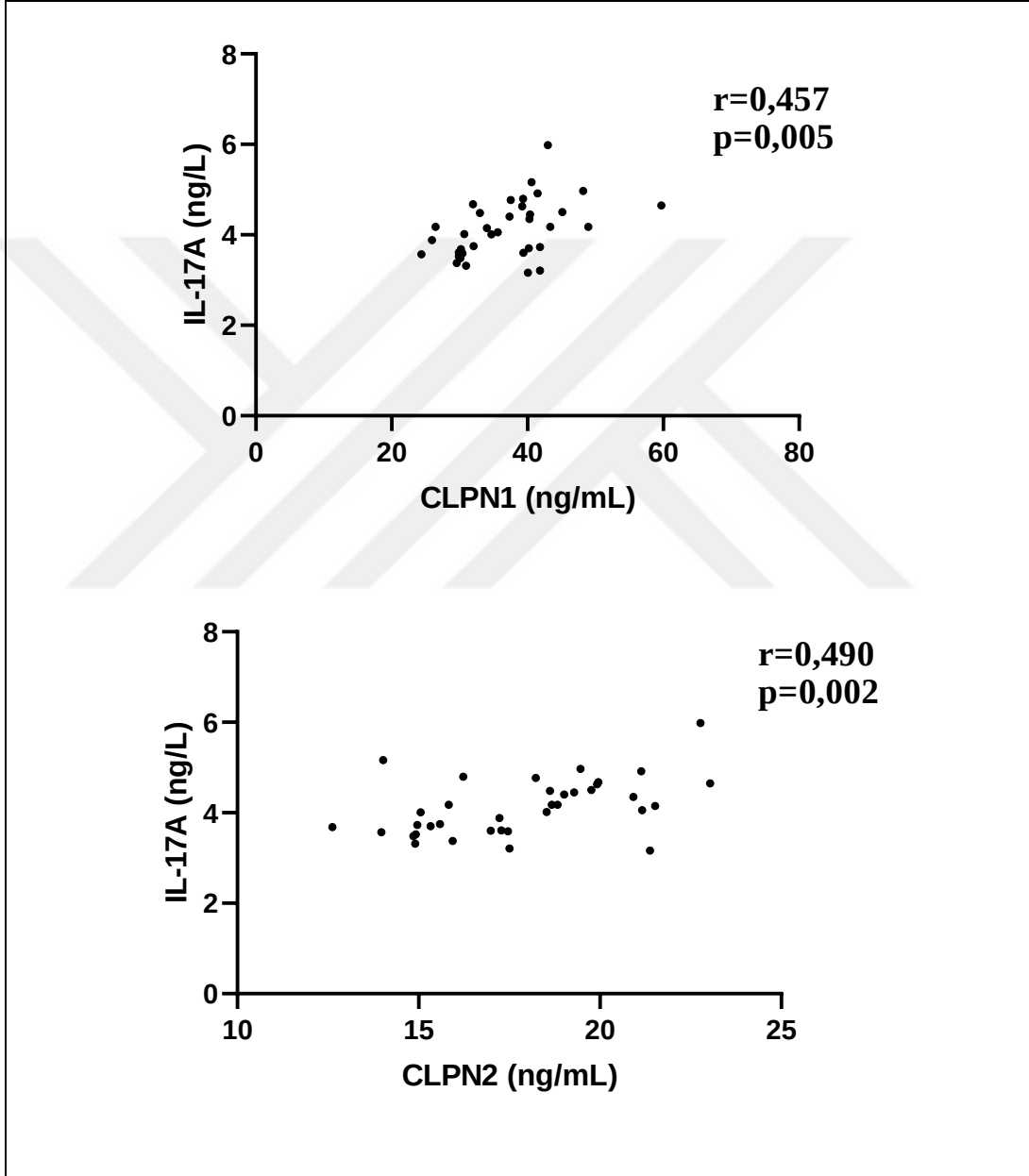
Gruplar arasında yapılan korelasyon analizinde CLPN2 ile IL-17A arasında ve IL-37 ile CLPN2 arasında pozitif korelasyon görüldü (sırasıyla; $p=0,002$, $r=0,356$ ve $p=0,011$, $r=0,295$) (Şekil 4.21). Yaş ve cinsiyet faktörleri ile IL-17A ve IL-37 seviyelerinde korelasyon görülmedi.



Şekil 4.21. CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 Arasındaki X-Y Dağılımı

4.3.11 MS Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

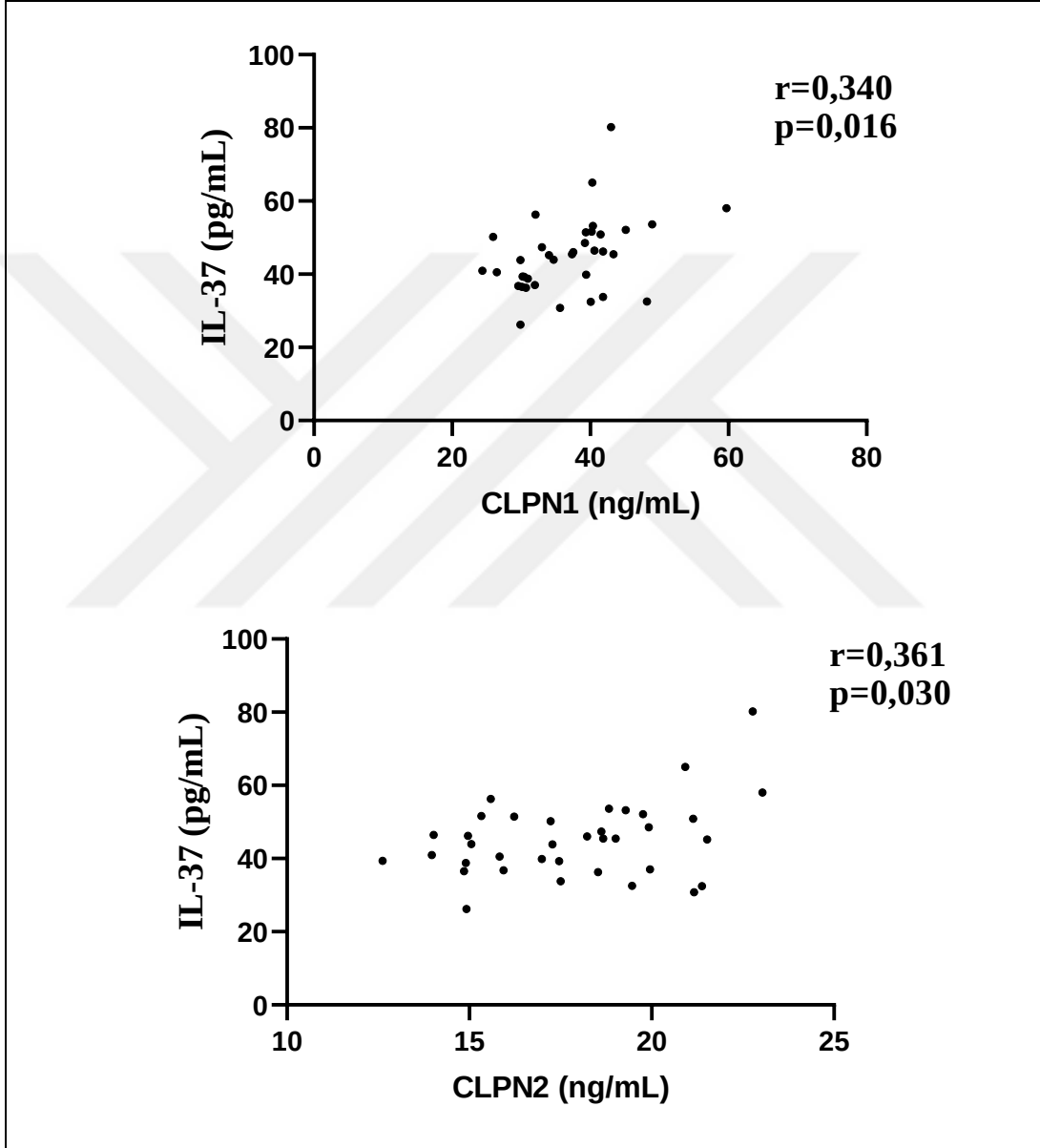
MS grubunda CLPN1 ile IL17A arasında pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,005$, $r=0,457$). CLPN1 ve IL-37 arasında da benzer şekilde pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,016$, $r=0,340$). MS grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafikleri Şekil 4.22’de verilmiştir.



Şekil 4.22. MS Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 Arasındaki XY Dağılımı

4.3.12 MS Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

MS grubunda CLPN2 ile IL17A arasında pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,002$, $r=0,490$). CLPN2 ve IL-37 arasında da benzer şekilde pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,030$, $r=0,361$). MS grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafikleri Şekil 4.23’de verilmiştir.



Şekil 4.23. MS Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

4.3.13 NMOSD Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

NMOSD grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,606$, $p=0,831$).

4.3.14 NMOSD Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

NMOSD grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,966$, $p=0,668$).

4.3.15 PTS Grubunda CLPN1 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

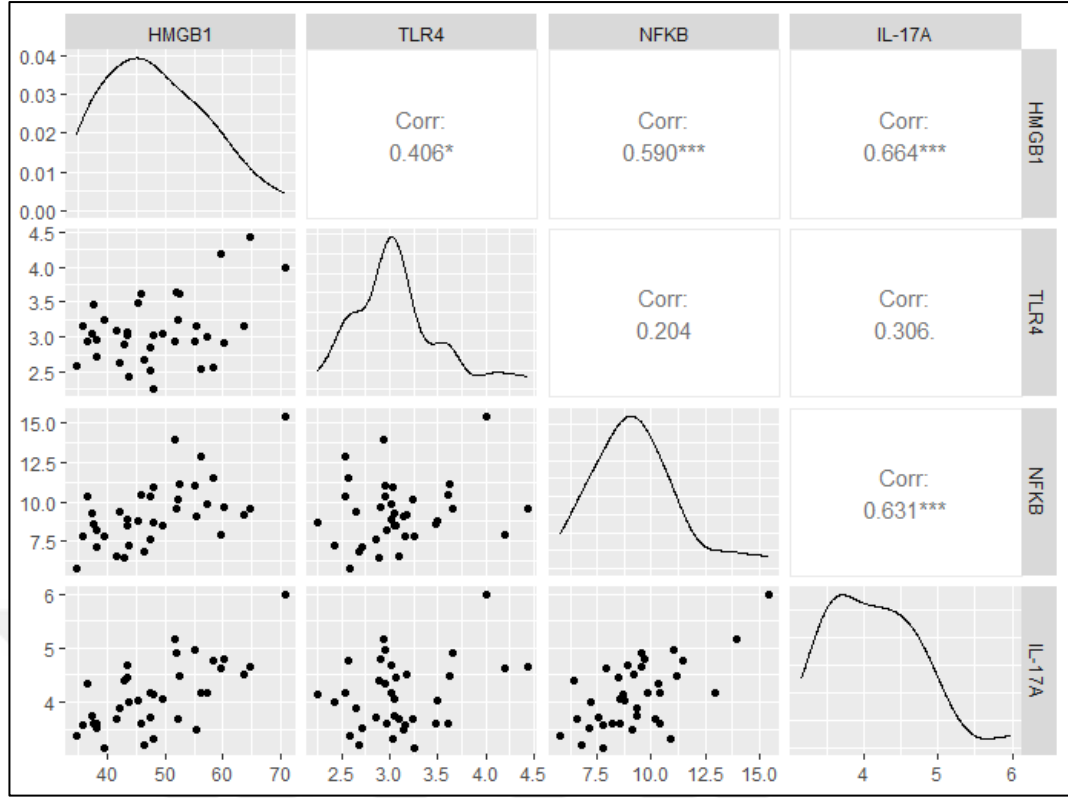
PTS grubunda CLPN1 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolağı arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,206$, $p=0,258$).

4.3.16 PTS Grubunda CLPN2 ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

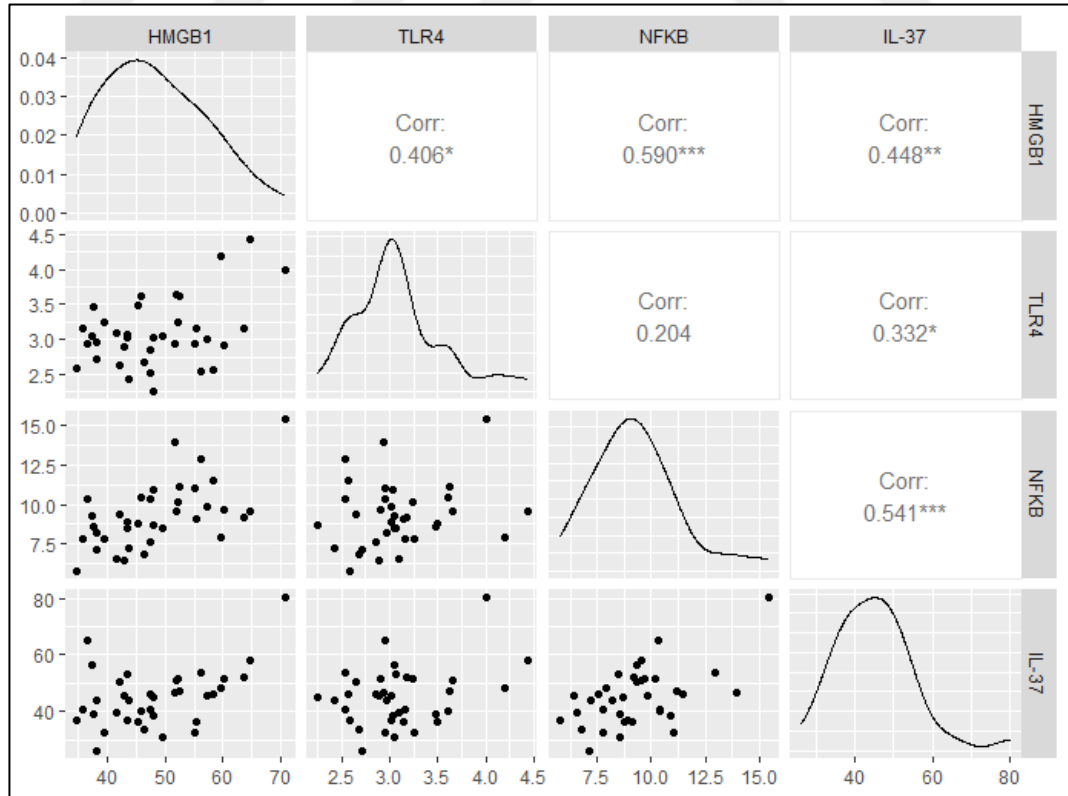
PTS grubunda CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolağı arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (sırasıyla; $p=0,114$, $p=0,120$).

4.3.17 MS Grubunda HMGB1/TLR4/ NF- κ B Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

MS grubunda HMGB1 ile IL17A arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,001$, $r=0,664$). HMGB1 ve IL-37 arasında da benzer şekilde pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0,006$, $r=0,448$). MS grubunda HMGB1 ile IL-17A ve IL-37 arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafikleri sırasıyla Şekil 4.24 ve Şekil 4.25’de verilmiştir.



Şekil 4.24. MS Grubunda HMGB1/TLR4/ NF-κB Sinyal Yolağı ile IL-17A İlişkisi



Şekil 4.25. MS Grubunda HMGB1/TLR4/ NF-κB Sinyal Yolağı ile IL-37 İlişkisi

4.3.18 NMOSD Grubunda HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

NMOSD grubunda HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi (IL-17A için sırasıyla; $p=0,088$, $p=1,000$, $p=0,205$ ve IL-37 için sırasıyla; $p=0,433$, $p=0,798$, $p=0,244$).

4.3.19 PTS Grubunda HMGB1/TLR4/NF- κ B Sinyal Yolağı ile IL-17A ve IL-37 İlişkisi

PTS grubunda IL-17A ve IL-37 ile HMGB1 ve TLR4 seviyeleri ile anlamlı korelasyon görülmedi, fakat IL-17A ve IL-37 ile NF- κ B seviyesi arasında orta düzeyde anlamlı bir korelasyon görüldü (sırasıyla; $r= 0,529$, $p=0,004$, $r= 0,517$, $p=0,005$).

5. TARTIŞMA

MS patogenezinin demiyelinizasyonla ilerlediği bilinmekle birlikte aksonal hasarın da başlangıçtan itibaren olduğu düşünülmektedir (197). Aksonal hasara neden olan mekanizma tam olarak açıklanamamış olsa da pek çok faktörün hasar mekanizmasında rol aldığı bilinmektedir. Demiyelinizasyon elektrik sinyallerinin iletiminin bozulmasına veya kaybolmasına neden olarak, sinyal iletiminin yeniden sağlanması için sodyum kanalı ekspresyonunda kademeli olarak telafi edici artışlara yol açar. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiştirici yoluyla aksonlara sodyum akışının artması, kalpain aktivasyonunun artışı da dahil olmak üzere artan Ca^{2+} salınımını tetikler (118). Kalpain sistemi 50 yılı aşkın bir süredir bilinmekte ve birçok çalışmada kalsiyuma bağımlı bu proteaz ailesinin beyinde ve diğer organlarda fizyolojik ve patolojik koşullar altında önemli işlevler oynadığı gösterilmiştir. Ancak bu proteazlar tarafından düzenlenen sinyal yollarının organizasyonu ve işlevleri ile ilgili bilgiler hala yetersizdir (84). Etkin tedavi ajanlarının geliştirilebilmesi için kalpainlerle ilişkili sinyal yollarının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu gereklilik doğrultusunda bu çalışmada aksonal hasarın öne çıktığı MS ve diğer demiyelinizan hastalıklarda, yeni tanı almış, erken evredeki hastalarda CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinin belirlenmesi, bu kalpain türleri ile HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolağı arasındaki olası ilişkinin incelenmesi ve IL-17A ve IL-37 sitokinlerine etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Kalpain düzeyleri incelendiğinde MS, NMOSD ve PTS olgularında CLPN1 seviyesi CLPN2'ye göre daha yüksek tespit edildi. CLPN1 aktivasyonu genellikle nöroprotektif, CLPN2 aktivasyonu ise nörodejeneratif olarak bilinmektedir. Klinik ve deneysel çalışmalarda MS ve NMOSD patogenezinde çoğunlukla CLPN2'nin etkinliğine odaklanılmıştır. CLPN1 makrofajların, mikrogliaların ve astrositlerin sitoplazmasında eksprese edilmektedir. CLPN2 bu hücrelerde bulunmakla birlikte, plakların dışında bazı nöronal sitoplazmalarda da mevcuttur. Akut MS lezyonlarında CLPN1 ve CLPN2 ekspresyon düzeylerinin belirlendiği bir çalışmada akson hasarı ile ilişkili olarak CLPN1 ekspresyonunda belirgin bir artış görülmüş, CLPN2'de de benzer şekilde artış olduğu bildirilmiştir. CLPN1, akut plaklarda CLPN2'den çok daha fazla miktarda bulunmuş ve bu plaklarda akson hasarına paralel bir artış göstermiştir. Bunun yanı sıra, her iki

kalpainin ekspresyonu birbirine paralel ve akson hasarının azaldığı bölgelerde bile yüksek bulunmuştur. Genel olarak, her iki kalpainin ekspresyonu plaklarla sınırlı olmayıp, tüm plak alt tiplerinde, beyaz ve gri maddede yüksek olduğu bildirilmiştir (84,198–201). CLPN1'in koruyucu etkisinin belirtildiği çalışma sonuçlarının aksine; ALS modelinde yapılan bir deneysel çalışmada ALS hastalığının erken evresinde CLPN1 aktivasyonunun yüksek seviyede olduğu ve bu artışın nöronları hücre ölümüne ve geri dönüşü olmayan hasardan korumayı amaçlayan hücre içi moleküler mekanizmalarla ilişkili olabileceği belirtilmiştir (202). Araştırmacılar CLPN1 artışının patolojik etkilerinin aksine gerçekleşmesi beklenen hücresel olayları engellemek için koruyucu bir faktör olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da olgu ve kontrol gruplarında yeni tanı almış, hastalığın erken evresindeki kişilerde CLPN1 seviyesinin CLPN2'ye göre daha yüksek görülmüş olması ALS çalışmasına benzer şekilde olası bir koruyucu mekanizma varlığına dayandırılabilir. CLPN1 ve CLPN2'nin zıt etkisine ilişkin literatür verileri yetersizdir. Şimdiye kadar demiyelinizan hastalıklarda yapılmış klinik ve deneysel çalışmalarda kalpainlerin patogenezdaki olumsuz etkileri üzerinde durulmuştur. Hem yukarıda belirttiğimiz ALS çalışmaları sonuçları, hem de bizim çalışmamızdaki sonuçlar CLPN1 özelinde kalpainlerin erken evrede hasarı engellemek için koruyucu bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. MS'de kesin tanı öncesi nöroenflamasyonun görüldüğü, 2 yıllık bir klinik öncesi dönem bulunmaktadır. Bu dönemde enflamasyonu tetikleyen sitokinlerdeki artışın yanı sıra, anti-enflamatuar sitokinlerin seviyelerinde de artış olmaktadır (181). Çalışma sonuçlarımızda gösterdiğimiz erken evrede CLPN1 düzeyindeki artış sitokin aktivitesinin düzenlenmesi ile ilişkili olabilir. CLPN1'in koruyucu rolü nöroenflamasyon sürecindeki bu rolünden kaynaklanıyor olabilir. Ancak bunun kesin ifadesi için hastalığın ileri dönemlerinde ve tedavi sonrası da CLPN1 ve CLPN2 düzeylerinin nasıl değiştiğinin incelenmesi gerekmektedir.

Çalışma sonuçlarımıza göre tüm gruplarda CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri arasında cinsiyete bağlı anlamlı farklılık görülmedi. Yukarı regüle edilen bir proteaz olan CLPN1'in erkeklerle karşılaştırıldığında dişi kemirgenlerde hem transkripsiyonel hem de translasyonel seviyelerde önemli ölçüde farklılık gösterdiği bildirilmiştir (203). Literatürdeki bilginin aksine çalışmamızda cinsiyete bağlı olarak kalpain düzeylerinde farklılık tespit edilmemesi hasta

sayısının az olmasından kaynaklanabilir. Eldeki verilerimize göre cinsiyetin hem CLPN1 hem de CLPN2 seviyeleri açısından bir kofaktör olabileceğini, başka faktörlerle birlikte etki gösterdiğini düşünebiliriz. Yaşa bağlı olarak yapılan değerlendirmede de gruplar arasında CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinde farklılık görülmedi. Deneysel çalışmalarda beyindeki kalpain ekspresyonun yaşa bağlı değişiklik gösterdiği ve genç sıçanlarda yetişkin sıçanlardan daha yüksek olduğu belirtilmiştir (204, 205). Bir başka çalışmada ise yaşlanma ile beyindeki kalpain aktivitesi arasında bir ilişki olduğu öne sürülmüş ve beyindeki kalpain seviyelerinin bölgesel heterojenliğinin yaşa bağlı bozulmanın bölgesel heterojenliği ile paralel olduğu öne sürülmüştür (206). Hastalık başlangıç yaşının ileri olması MS ve NMOSD’de kötü prognozun göstergesidir. Elde ettiğimiz sonuçlar yaş faktörünün kalpain seviyeleri üzerindeki olası etkisine ilişkin yorum yapmayı kısıtlamaktadır. Hasta sayısını az olması yaşa bağlı farklılık çıkmamasının nedeni olabilir. Yaş ve kalpain seviyeleri ilişkisinin tespiti için daha büyük örneklem gruplu çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bunun yanı sıra yaş faktörü de cinsiyetle benzer şekilde CLPN1 ve CLPN2 seviyelerindeki değişim için bir kofaktör olarak değerlendirilebilir. Yaşın doğrudan etkili olup olmadığının belirlenmesi ya da hangi faktörlerle etkileşimde olduğunun incelenmesi için detaylı çalışmalar planlanmalıdır.

MS ve NMOSD olguları arasında EDSS skoru açısından fark görülmedi. Olgu gruplarında EDSS skoru ile CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri arasında korelasyon görülmedi. EDSS skorlaması hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi için önemli bir parametredir (207). Hastalık progresyonuna paralel olarak tedavi sonrası EDSS skoru ile CLPN1 ve CLPN2 seviyelerindeki değişimin takip edilmesi gerektiğini söyleyebiliriz. Yapılacak bu ileri takip CLPN1 seviyesinin olguların erken evrelerinde koruyucu bir faktör olarak mı yükseldiği ya da bu artışın nörodejeneratif etkiyle mi sonuçlandığına ilişkin sorumuza da cevap olabilecek verilerin toplanmasını sağlayacaktır.

Enflamasyonun bir belirteci olan HMGB1 seviyesi değerlendirmesinde üç grupta da anlamlı bir farklılık görülmedi. Şimdiye kadar yapılmış çalışmalarda serum HMGB1 seviyesinin NMOSD hastalarında MS hastalarından daha yüksek olduğu gösterilmiştir (139). BOS numuneleriyle yapılan bir çalışmada ise NMO

ve MS hastalarının HMGB1 seviyesinde anlamlı bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (208). Bizim verilerimizde de MS ve NMOSD hastalarının HMGB1 seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmadı ve çalışmamızın bu sonuçlarla uyumlu olduğu görüldü. HMGB1 aktivitesiyle ilişkili parametreler olan TLR4 ve NF-κB düzeylerinde de gruplar arası farklılık bulunmadı, fakat HMGB1 ile TLR4 ve NF-κB arasında pozitif korelasyon görüldü. Bu sonuç HMGB1'in etki mekanizmasıyla ilişkili olarak tutarlıdır.

HMGB1 ile EDSS skoru arasında hem MS hem de NMOSD gruplarında anlamlı bir korelasyon görülmedi. Önceki çalışmalarda EDSS skoru yüksek olan hastalarda HMGB1 düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir (142). MS aktivitesini belirlemede HMGB1 seviyesinin ayırt edici bir biyobelirteç olabileceği düşünülmüştür (140,142). Fakat çalışma sonuçlarımız neticesinde MS ve NMOSD'de hastalık aktivitesinin doğrudan HMGB1'e bağlanamayacağı ve hastaların prospektif olarak takibi ile HMGB1'e ilişkin daha kesin veriler elde edilebileceğini söyleyebiliriz.

HMGB1 seviyesi trombosit kaynaklı mikropartiküllerle ilişkilidir ve HMGB1 gibi aktif kalpainlerin de trombosit kaynaklı mikropartiküllerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (209). Bu bilgi doğrultusunda CLPN1 ve CLPN2 seviyeleri ile HMGB1 seviyesinin ilişkili olabileceğine yönelik yaptığımız incelemede CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1 arasında orta düzeyde ve pozitif bir korelasyon olduğu görüldü. Bu sonuçlar kurduğumuz hipotezimizi desteklemektedir. Fakat tespit ettiğimiz bu korelasyonun sadece istatistiksel bir veri olarak mı kalacağı yoksa demiyelinizan hastalıklar için geliştirilecek tedavi stratejileri için etkili olacak bir ilişki mi olduğuna yönelik daha sağlam verilerin elde edilmesi için *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara ihtiyaç vardır. Kalpainlere spesifik inhibitörler ya da anti-HMGB1 antikörlerinin kullanıldığı çalışmaları CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1 arasında tespit ettiğimiz ilişkinin detaylandırılması açısından aydınlatıcı çalışmalar olarak yapılmasını önerebiliriz.

Çalışmamızda enflamasyonla ilişkili olarak kısıtlı verinin olduğu PTS olguları "sağlıklı kontrol" olarak seçildi. Fakat PTS grubu için hem kalpainler hem de HMGB1 seviyesi MS ve NMOSD olgularıyla benzerlik gösterdi. Enflamatuvar parametrelerdeki bu benzerlik PTS için dikkate alınması gereken bir

sonuçtur. PTS patolojisi halen tam olarak anlaşılmamakla birlikte, enflamasyon kesin olarak PTS'nin bir bileşeni olarak kabul edilmemektedir. PTS hastalarının BOS numunelerinde değişen düzeylerde sitokin ekspresyonu gösterilmiştir, ancak kanıtlar oldukça tutarsızdır. Bazı çalışmalar PTS hastalarının enflamatuvar nörolojik durum olan MS'e kıyasla daha yüksek BOS IL-17, IL-4, IL-2, IL-10 ve IFN- γ seviyeleri gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak bunun hastalığın bir nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu bilinmemektedir (210). PTS olgularında kalpain düzeylerinin değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır. Ancak HMGB1 için yapılan bir çalışmada PTS hastalarında nörolojik enflamasyon ve Rasmussen ensefaliti gibi enflamatuvar hastalıklara kıyasla HMGB1'in BOS seviyesi normal olarak belirtilmiştir (211). HMGB1, CLPN1 ve CLPN2 seviyelerinde elde ettiğimiz sonuçlar PTS için enflamasyonun hastalığın bir bileşeni olabileceği hipotezinin desteklenmesi açısından önemli bir veri olarak literatürde yerini alacaktır. Şimdiye kadar ciddi bir hastalık olarak görülmeyen PTS'nin daha ciddi bir hastalık olabileceğini düşünebiliriz. Ayrıca elde ettiğimiz sonuçlar PTS olgularının enflamasyonla ilişkili çalışmalarda sağlıklı kontrol olarak yer almaması gerektiğini de göstermektedir. PTS'de kalpainler ve HMGB1'e bağlı olası enflamasyonun detaylı şekilde incelenmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Literatürde PTS patogenezinin ilişkin olarak oldukça kısıtlı bilginin olduğunu düşünürsek çalışmamızın sonuçları PTS olguları için yeni çalışmaların yapılmasının önünü açmaktadır.

Şimdiye kadar ayrı ayrı çalışmalarda MS ve NMOSD hastalarında kalpain ve HMGB1'in bu hastalıkların patogenezinde etkili olabileceği gösterilmiş, ancak kalpain aktivitesi ile HMGB1 seviyesi arasındaki olası bir korelasyona ilişkin çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışma oldukça özgün bir değere sahiptir. Literatüre yapacağımız katkıların yanı sıra, elde ettiğimiz veriler ileri çalışmalar için önemli bir ön çalışma sonucu olarak sayılabilir. Ayrıca yukarıda bahsettiğimiz şekilde PTS patogenezinin ilişkin yeni sorular sorulması gerektiğine ilişkin öncü bir çalışma olacaktır.

Hem kalpain hem de HMGB1 inhibisyonunun nöroenflamasyon ve demiyelinizasyonda tedavi hedefi olarak düşünülmüş, MS ve NMOSD patolojisindeki etkinlikleri ayrı ayrı çalışmalarda gösterilmiştir. HMGB1, TLR4

reseptörü aracılığıyla nöroenflamasyonda rol oynarlar. Sadece anti-HMGB1 monoklonal antikorlar kullanılarak hastalarda nöroenflamasyonun etkileri azaltılmaktadır, fakat aksonal hasarın ve demiyelinizasyonun önlenmesinde etkisiz kalmaktadırlar. Kalpainler ise hem nöroenflamasyon hem de demiyelinizasyonda etkilidir. MS ve NMOSD gibi hastalıklarda demiyelinizasyon ön planda olmasına rağmen, aksonal hasarın da başlangıçtan itibaren var olduğu kabul edilmektedir (26, 27). CLPN1 ve CLPN2 ile HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolağı arasında tespit ettiğimiz bu ilişki ile, doğrudan spesifik kalpain inhibitörü kullanımının hem enflamasyonun birincil faktörlerinin inhibisyonu hem de demiyelinizasyonun doğrudan tedavisinde etkili bir strateji geliştirilebilmesi için oldukça önemli olduğunu söyleyebiliriz. Özellikle CLPN1 ve CLPN2'ye özgü inhibitörlerin kullanıldığı *in-vivo* ve *in-vitro* çalışmalar bu açıdan oldukça önem arz etmektedir.

CLPN1, CLPN2 ve HMGB1'in nöroenflamasyon etkinliğinin belirlenmesi için nöroenflamasyon sürecinde yer aldığı bilinen IL-17A ve IL-37 seviyeleri karşılaştırıldı. Üç grupta da IL-17A seviyesi IL-37 seviyesinden daha düşük görüldü. Önceki çalışmalarda MS tanılı olguların BOS numunelerinde IL-7A sitokin seviyesinde artış olduğu bildirmiştir, ancak hastalığın farklı evrelerinde serumda tespitine ilişkin sonuçlar oldukça tartışmalıdır. IL-17A'nın MS patogenezindeki rolüne ilişkin çalışmalar olmasına rağmen, farklı çalışmalarda da inflamatuvar aktiviteyi incelemek için IL-17A tespitinin tek başına yeterliliğinin olmadığı da bildirilmiştir (212, 213). Bizim çalışmamızda da özürlülük durumunu gösteren EDSS skoru ile IL-17A arasında korelasyon görülmedi. Bu sonuç, IL-17A seviyesindeki artışın hastalık aktivitesine ilişkin olarak doğrudan etkili olmadığını düşündürmektedir. IL-37, son yıllarda nöroenflamatuvar hastalıkların progresyonundaki etkinliği gösterilmiş bir sitokindir, ancak MS ve NMOSD'deki etkinliğine ilişkin veriler kısıtlıdır. Daha önceki çalışmalarda akut enflamasyonda serum ve BOS'da artmış IL-37 seviyeleri bildirilmiştir (214, 215). Bu bağlamda relaps döneminde toplanan numunelerle yapılan çalışmamızda elde ettiğimiz yüksek IL-37 seviyesi bu verilerle tutarlılık göstermektedir. Daha önce bahsettiğimiz şekilde hastalara göre değişmekle birlikte MS'de 2 yıllık bir pre-klinik dönem olduğu bilinmektedir. Bu dönemde sitokin/kemokin profilindeki değişimler hastalık aktivitesini şekillendirmektedir. Anti-enflamatuvar IL-37

seviyesinde pro-enflamatuar IL-17A'ya göre görülen artış bu pre-klinik dönemin bir yansıması olarak gerçekleşmiş olabilir.

PTS grubunda IL-17A ve IL-37 seviyelerinin enflamatuar olgu gruplarıyla benzer sonuçlar göstermesi oldukça dikkat çekicidir. Daha önce yapılmış çalışmalarda PTS olgularında enflamasyonun göstergelerinden biri olan yüksek IL-17A seviyesi görülebildiği bildirilmiş (213), ancak IL-37'ye ilişkin veri bulunmamaktadır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar neticesinde, şimdiye kadar kesin olarak enflamasyonla ilişkilendirilmeyen PTS olguları için ileri çalışmalarda enflamasyonun dikkate alınmaya değer olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmaya dahil edilen kişilerin özellikleri incelendiğinde literatürdekine benzer şekilde (4) kadın hasta sayısının erkek hastalara kıyasla yüksek olduğu gözlemlendi. Olgu ve kontrol grubunda yer alan kadınların yaş ortalaması 34, erkeklerin yaş ortalaması ise 38 olarak belirlendi. Gruplar arasında yaşa ve cinsiyete bağlı anlamlı farklılık görülmedi. Hastalık başlangıç yaşlarına göre erken başlangıçlı olguların %51,4'ünü kadınlar, %53,8'ini erkekler oluşturdu. Geç başlangıçlı olguların ise 48,3'ünü kadınlar, % 46,2'sini erkekler oluşturdu.

Demyelinizan hastalık varlığını düşündüren Tip-2 OKB pozitifliğinin MS ve NMOSD hastalarında görülme yüzdesi yüksekti. PTS olgularında ise Tip-1 OKB negatifliği görülme yüzdesi yüksekti. OKB Tip-2 pozitifliği MS'de beklenen bir sonuçtur. Bazı NMOSD olgularında da görülebilmekle birlikte Tip-2 pozitifliği NMOSD tanısını dışlamamaktadır. Hastalık başlangıç yaşının OKB pozitifliğine ve IgG indeksine etkisi olmadığı görüldü.

Çalışmamız elde ettiğimiz dikkat çekici sonuçların yanı sıra bazı kısıtlılıklar içermektedir. Bunlardan ilki hasta sayısının az olmasıdır. Nöroloji polikliniğimizde ayda 1-2 hastaya MS tanısı konulmaktadır. Fakat nadir görülen bir hastalık olan NMOSD için kliniğe başvuran hasta sayısı oldukça düşüktür. Daha ağır bir progresyon gösteren NMOSD için CLPN1, CLPN2 ve HMGB1 proteinlerin etkilerinin değerlendirilmesinde numune sayımız yetersiz olabilir. Bu nedenle daha büyük örneklem grupları ile, çok merkezli ileri çalışmaların ve değerlendirmelerin yapılması gerektiğini düşünüyoruz. Nadir görülen bir hastalık

olması açısından NMOSD olgularıyla yapılacak uzun dönemli çalışmalar oldukça önem arz etmektedir.

Farklı alt tiplerin görüldüğü MS hastalığı için çalışmamızda sadece RRMS olgularının yer alması da bir başka kısıtlılıktır. MS tipleri arasında en yaygın görülen alt tip RRMS olup hastaların %85'inde görülmektedir (14). SPMS tipi ileri dönemlerde RRMS'in dönüşümüyle geliştiği ve PPMS tipi de hastaların %10'dan azında görüldüğü için çalışmamıza dahil edilememiştir. Tüm alt tiplerde değerlendirme yapılamaması bir kısıtlılıktır, ancak çalışmaya dahil edilen olguların erken evrede olmaları ve herhangi bir tedavi almamış olmaları çalışmamızın özgünlüğünü oluşturmaktadır. Mevcut tedaviler MS'in progresif alt tiplerinde oldukça yetersizdir. Hızlı ve ağır progresyonla ilerleyen SPMS ve PPMS hastalarında daha etkili olacak ilaçların keşfinin önünün açılabilmesi için CLPN1 ve CLPN2 düzeylerinin bu alt tiplerde de değerlendirilmesinin oldukça katkı sağlayıcı olacağını düşünüyoruz.

Literatürde hem MS hem de NMOSD olgularında CLPN1 ve CLPN2 düzeylerinin karşılaştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle, verilerimiz literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır. MS ve NMOSD için etkin tedavi stratejilerinin belirlenebilmesi ve uygulanabilmesi için potansiyel hedefler olan kalpainler için bu sonuçlar önem arz etmektedir. Tespit ettiğimiz önemli BOS verilerine rağmen BOS numuneleriyle eş zamanlı olarak alınmış serum numuneleriyle karşılaştırma yapılmamış olması çalışmamızın kısıtlılığıdır. BOS ve serum düzeylerinde farklılık olabileceği düşünülerek ileri çalışmalarda her iki numunenin de incelenmesi gerekmektedir. Eş zamanlı BOS ve serum numuneleriyle birlikte, büyük örneklem gruplarıyla ve çok merkezli yapılacak çalışmalar daha kesin verilerin elde edilmesini sağlayacaktır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların prospektif değerlendirmelerinin yapılabilmesi için tedavi sonrasında alınmış BOS numunesi gerekmektedir. Fakat invaziv bir işlem olan LP'nin hali hazırda nöroloji polikliniğimizde sadece tanı amaçlı olarak yapılıyor olması ve endikasyon dışı BOS numunesi alınmaması ileri takip çalışmalarının BOS numuneleriyle yapılmasını kısıtlamaktadır. Ayrıca, PTS olgularında demiyelinizan olgulara benzer sonuçlar elde etmiş olmamız ileri çalışmalarda enflamasyonla ilişkili olmayan başka sağlıklı kontrol olgularına

ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Fakat nöroloji polikliniğine başvuran hastaların büyük kısmında BOS incelemesi yapılmaması enflamasyon dışı hastalık tanılı BOS numunesi toplanmasını ciddi anlamda kısıtlamaktadır. Bu kısıtlılığın aşılması için ileri çalışmalarda farklı merkezlerden de numune toplanması faydalı olabilir.

Demiyelinizan hastalıklar kişilerin hayat kalitesini ciddi anlamda düşüren durumlardır ve mevcut uygulanan tedavilerin hayat kalitesini arttırmada oldukça yetersizdir. Demiyelinizasyonun yavaşlatılmasından öte durdurulmasını hedefleyen tedavi çalışmalarında kalpainler önümüzdeki yıllarda da önemini koruyacaktır. Bu multifaktöriyel hastalıklar için kapsamlı ve detaylı çalışmaların yapılması ve patogeneze etki eden başka mekanizmaların da tespiti etkili tedavilerin keşfi için son derece önemli unsurlardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kalpain düzeyleri incelendiğinde MS, NMOSD ve PTS olgularında CLPN1 seviyesi CLPN2'ye göre daha yüksek tespit edildi. HMGB1, TLR4 ve NF-κB seviyelerinde ise gruplar arası farklılık görülmedi. MS grubunda hem CLPN1 hem de CLPN2 ile HMGB1, TLR4 ve NF-κB seviyeleri arasında pozitif korelasyon görüldü. NMOSD ve PTS gruplarında ise bu protein düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi.

Çalışmada kullandığımız BOS numuneleri hastalardan ilk atak döneminde toplanmıştır. CLPN1 ve CLPN2 hem de HMGB1'in remisyon dönemindeki düzeylerinin de karşılaştırılması için prospektif takip çalışmalarının geliştirilmesi birincil önem arz etmektedir. Nöroenflamasyon ve nörodejenerasyonda CLPN1 ve CLPN2'nin rolüne ilişkin ikililik, odak tedavi hedeflerinin geliştirilebilmesi açısından bu çalışmada da eksik noktalar içermektedir. Bu doğrultuda; sonuçlarımızda tespit ettiğimiz yüksek CLPN1 seviyesinin literatürde belirtildiği şekilde nöroprotektif bir hedefle mi yoksa nörodejenerasyonla sonuçlanan bir özellikle mi gerçekleştiğinin belirlenebilmesi için, öncelikle *in-vitro* olmak üzere, kalpain inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmalar geliştirilmelidir. Spesifik inhibitörlerin kullanıldığı çalışmalarla bu kalpain türlerinin hastalık aktivitesindeki doğrudan etkileri ve HMGB1/TLR4/NF-κB sinyal yolağıyla ilişkisi hakkında daha kesin sonuçlar elde edilebilir.

Gruplar arasında CLPN1, CLPN2 ve HMGB1 seviyelerinde cinsiyete ve yaşa bağlı olarak anlamlı farklılık görülmedi.

Hasta sayısını az olması yaşa ve cinsiyete bağlı farklılık çıkmamasının nedeni olabilir. CLPN1, CLPN2 ve HMGB1'in yaş ve cinsiyet ile ilişkisinin tespiti için daha büyük örneklem grubu, çok merkezli çalışmalar yapılması gerekmektedir.

MS ve NMOSD hastalarının HMGB1 seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmadı. HMGB1 aktivitesiyle ilişkili parametreler olan TLR4 ve NF-κB düzeylerinde de gruplar arası farklılık bulunmadı, fakat HMGB1 ile TLR4 ve NF-κB arasında pozitif korelasyon görüldü. HMGB1 ile EDSS skoru arasında hem MS hem de NMOSD gruplarında anlamlı bir korelasyon görülmedi.

HMGB1'in doğal aktivitesine ilişkin olarak TLR4 ve NF- κ B ile arasındaki korelasyon beklenen bir durumdur. Fakat EDSS skoru ile HMGB1 arasında ilişki tespit edilmemiş olması MS ve NMOSD'de hastalık aktivitesinin doğrudan HMGB1'e bağlanamayacağını ve hastaların prospektif olarak takibi neticesinde HMGB1'e ilişkin daha kesin veriler elde edilebileceğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra nöroenflamasyonda etkinliği biline HMGB1/TLR4/NF- κ B sinyal yolağının prognozda tek başına etkinlik göstermeyebileceği düşünülerek farklı faktörlerin de değerlendirildiği çalışmaların yapılması gerekmektedir.

MS ve NMOSD gruplarında proenflamatuar IL-17A seviyesi antienflamatuar IL-37 seviyesinden daha düşük görüldü. IL-17A ve IL-37 seviyeleri arasında pozitif korelasyon görüldü. MS ve NMOSD gruplarında EDSS skoru ile IL-17A ve IL-37 seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmeydi.

Hastalık başlangıç döneminde sitokin düzeylerindeki artış beklenmekle birlikte, IL-17A seviyesinin IL-37'den düşük olması dikkate alınması gereken bir sonuçtur. Fakat bu iki sitokinin hastalık aktivitesinde doğrudan etkili olmayabileceği düşünülebilir. Hasta sayımızdaki düşüklük de dikkate alınarak daha büyük örneklem gruplu çalışmalarla IL-37'deki artışın CLPN1 düzeyindeki artışla paralel şekilde erken evrede koruyucu bir faktör olarak gerçekleşip gerçekleşmediğine ilişkin daha kesin sonuçlar elde edilebilir.

PTS grubu için hem CLPN1 ve CLPN2 hem de HMGB1 seviyeleri MS ve NMOSD olgularıyla benzerlik gösterdi. MS ve NMOSD'ye benzer şekilde proenflamatuar IL-17A seviyesi antienflamatuar IL-37 seviyesinden daha düşük görüldü. IL-17A ve IL-37 seviyeleri arasında pozitif korelasyon görüldü.

“Sağlıklı kontrol” olarak çalışmamıza dahil edilen PTS olgularının MS ve NMOSD olgularıyla benzer sonuçlar göstermesi PTS hastalığının şimdiye kadar düşünüldüğü şekilde masum bir hastalık olmadığını, patogenezi ve patogeneze etki eden faktörlere ilişkin olarak ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu kesin olarak göstermektedir. İlerideki çalışmalarda enflamasyonla ilişkili olarak kısıtlı verinin bulunduğu PTS olguları yerine mümkünse sağlıklı kişilerden alınan BOS numunelerinin ya da “enflamatuar olmayan” olguların kontrol grubu olarak dahil edilmesi etkili bir karşılaştırma yapılabilmesi için birincil önem arz etmektedir. PTS olgularında IL-17A seviyesinin MS ve NMOSD olgularındakine

benzer şekilde çıkması sebebiyle, özellikle nöroenflamasyonda biyobelirteç olarak bildirilen IL-17A'nın tanı için kesin bir ifade oluşturmadığını söyleyebiliriz. Bu nedenle, çalışmamızda yer alan erken evrede ilk atağını geçiren ve tedavi almamış hastalarda düşük seviyedeki pro-enflamatuar IL-17A'nın nöroenflamasyon için doğrudan bir etken olmadığı, farklı parametrelerle birlikte nöroenflamasyonda rol alan bir etken olarak değerlendirilmesi gerektiğinin söyleyebiliriz. Yüksek IL-37 seviyesinde yeterli literatür bilgisinin olmadığı PTS olguları için dikkat çekici ve detaylı şekilde incelenmesi gereken bir sonuçtur.

Kalpainler ve HMGB1 proteinleri uzun yıllardır nöroenflamatuar ve demiyelinizan hastalıklarda incelenen, fakat hala yeterli verinin olmadığı potansiyel tedavi hedefleridir. İleriye dönük olarak yapılacak *in-vivo* ve *in-vitro* çalışmalarda öneminin korumaktadırlar. Çalışmamızın sonuçları literatürdeki verilere yapacağı katkının yanı sıra, daha kapsamlı olarak yapılabilecek çalışmalar için bir ön çalışma özelliği taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008;372(9648):1502–17.
2. Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, Cabre P, Carroll W, Chitnis T, et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology*. 2015;85(2):177–89.
3. Popescu BFG, Lucchinetti CF. Pathology of demyelinating diseases. *Annu Rev Pathol*. 2012;7(1):185–217.
4. Yamout BI, Alroughani R. Multiple sclerosis. *Semin Neurol*. 2018;38(2):212–25.
5. Ascherio A, Munger KL. Epidemiology of Multiple Sclerosis: From Risk Factors to Prevention--An Update. *Semin Neurol*. 2016;36(2):103–14.
6. Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J, Hemmer B, Ciccarelli O. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2018;391(10130):1622–36.
7. Browne P, Chandraratna D, Angood C, Tremlett H, Baker C, Taylor BV, et al. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology*. 2014;83(11):1022–4.
8. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001;50(1):121–7.
9. Hauser SL, Cree BAC. Treatment of multiple sclerosis: A review. *Am J Med*. 2020;133(12):1380-1390.e2.
10. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G. Position Paper Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17(2):162-173.
11. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*. 2014;83(3):278–86.
12. Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol*. 2012;11(2):157–69.
13. Tintore M, Rovira A, Arrambide G, Mitjana R, Río J, Auger C, et al. Brainstem lesions in clinically isolated syndromes. *Neurology*. 2010;75(21):1933–8.
14. Klineova S, Lublin FD. Clinical course of multiple sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(9):1–11.
15. Rovaris M, Confavreux C, Furlan R, Kappos L, Comi G, Filippi M. Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges. *Lancet Neurol*. 2006;5(4):343–54.
16. Krieger SC, Sumowski J. New insights into multiple sclerosis clinical course from the topographical model and functional reserve. *Neurol Clin*. 2018;36(1):13–25.
17. Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2018;378(2):169–80.
18. Wan Z, Zhou Z, Liu Y, Lai Y, Luo Y, Peng X, et al. Regulatory T cells and T helper 17 cells in viral infection. *Scand J Immunol*. 2020;91(5): e12873.

19. Kaskow BJ, Baecher-Allan C. Effector T Cells in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(4): a029025.
20. van Langelaar J, van der Vuurst de Vries RM, Janssen M, Wierenga-Wolf AF, Spilt IM, Siepman TA, et al. T helper 17.1 cells associate with multiple sclerosis disease activity: perspectives for early intervention. *Brain*. 2018;141(5):1334–49.
21. Trager N, Butler JT, Haque A, Ray SK, Beeson C, Banik NL. The involvement of calpain in CD4+ T helper cell bias in multiple sclerosis. *J Clin Cell Immunol*. 2013;4(4):1000153.
22. Amedei A, Prisco D, D’Elios MM. Multiple sclerosis: the role of cytokines in pathogenesis and in therapies. *Int J Mol Sci*. 2012;13(10):13438–60.
23. Cree BAC, Arnold DL, Chataway J, Chitnis T, Fox RJ, Pozo Ramajo A, et al. Secondary progressive multiple sclerosis: New insights: New insights. *Neurology*. 2021;97(8):378–88.
24. Dendrou CA, Fugger L. Immunomodulation in multiple sclerosis promises and pitfalls. *Curr Opin Immunol*. 2017; 49:37–43.
25. Wiendl H, Toyka KV, Rieckmann P, Gold R, Hartung H-P, Hohlfeld R. Basic and escalating immunomodulatory treatments in multiple sclerosis: Current therapeutic recommendations. *J Neurol*. 2008;255(10):1449–63.
26. Stys PK, Zamponi GW, van Minnen J, Geurts JJG. Will the real multiple sclerosis please stand up? *Nat Rev Neurosci*. 2012;13(7):507–14.
27. Titus HE, Chen Y, Podojil JR, Robinson AP, Balabanov R, Popko B, et al. Pre-clinical and clinical implications of “inside-out” vs. “outside-in” paradigms in multiple Sclerosis etiopathogenesis. *Front Cell Neurosci*. 2020;14:599717.
28. Langer-Gould A, Wu J, Lucas R, Smith J, Gonzales E, Amezcua L, et al. Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and multiple sclerosis susceptibility: A multiethnic study. *Neurology*. 2017;89(13):1330–7.
29. Correale J, Gaitán MI. Multiple sclerosis and environmental factors: the role of vitamin D, parasites, and Epstein-Barr virus infection. *Acta Neurol Scand*. 2015;132(199):46–55.
30. Kappos L, Kuhle J, Multanen J, Kremenichutzky M, Verdun di Cantogno E, Cornelisse P, et al. Factors influencing long-term outcomes in relapsing-remitting multiple sclerosis: PRISMS-15. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2015;86(11):1202–7.
31. Lalive PH, Neuhaus O, Benkhoucha M, Burger D, Hohlfeld R, Zamvil SS, et al. Glatiramer acetate in the treatment of multiple sclerosis: emerging concepts regarding its mechanism of action: Emerging concepts regarding its mechanism of action. *CNS Drugs*. 2011;25(5):401–14.
32. Aktas O, Kieseier B, Hartung H-P. Neuroprotection, regeneration, and immunomodulation: broadening the therapeutic repertoire in multiple sclerosis. *Trends Neurosci*. 2010;33(3):140–52.
33. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue E-W, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2006;354(9):911–23.
34. Polman CH, O’Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2006;354(9):899–910.
35. Butzkueven H, Kappos L, Wiendl H, Trojano M, Spelman T, Chang I, et al. Long-term safety, and effectiveness of natalizumab treatment in clinical practice: 10 years of real-

world data from the Tysabri Observational Program (TOP). *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2020;91(6):660–8.

36. Ho P-R, Koendgen H, Campbell N, Haddock B, Richman S, Chang I. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis: a retrospective analysis of data from four clinical studies. *Lancet Neurol.* 2017;16(11):925–33.
37. Calabresi PA, Radue E-W, Goodin D, Jeffery D, Rammohan KW, Reder AT, et al. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2014;13(6):545–56.
38. Kappos L, Cohen J, Collins W, de Vera A, Zhang-Auberson L, Ritter S, et al. Fingolimod in relapsing multiple sclerosis: An integrated analysis of safety findings. *Mult Scler Relat Disord.* 2014;3(4):494–504.
39. Kappos L, Radue E-W, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010;362(5):387–401.
40. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung H-P, Khatri BO, Montalban X, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010;362(5):402–15.
41. Comi G, Kappos L, Selmaj KW, Bar-Or A, Arnold DL, Steinman L, et al. Safety and efficacy of ozanimod versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis (SUNBEAM): a multicentre, randomised, minimum 12-month, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2019;18(11):1009–20.
42. Diaz M, Hupperts G, Fraussen R, Somers J. Dimethyl fumarate treatment in multiple sclerosis: Recent advances in clinical and immunological studies. *Autoimmun Rev.* 2018 Dec 17;12:1240–50.
43. Kappos L, Bar-Or A, Cree BAC, Fox RJ, Giovannoni G, Gold R, et al. Siponimod versus placebo in secondary progressive multiple sclerosis (EXPAND): a double-blind, randomised, phase 3 study. *Lancet.* 2018;391(10127):1263–73.
44. Montalban X, Hauser SL, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Comi G, et al. Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2017;376(3):209–20.
45. Araki M, Yamamura T. Neuromyelitis optica spectrum disorders: Emerging therapies. *Clin Exp Neuroimmunol.* 2017;8(2):107–16.
46. Weinshenker BG, Wingerchuk DM. Neuromyelitis Spectrum Disorders. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(4):663–79.
47. Toosy AT, Mason DF, Miller DH. Optic neuritis. *Lancet Neurol.* 2014;13(1):83–99.
48. dos Passos GR, Oliveira LM, da Costa BK, Apostolos-Pereira SL, Callegaro D, Fujihara K, et al. MOG-IgG-associated optic neuritis, encephalitis, and myelitis: Lessons learned from neuromyelitis optica spectrum disorder. *Front Neurol.* 2018; 9:1–10.
49. Long Y, Liang J, Wu L, Lin S, Gao C, Chen X, et al. Different phenotypes at onset in neuromyelitis optica spectrum disorder patients with aquaporin-4 autoimmunity. *Front Neurol.* 2017; 8:62.
50. Krishnan C, Kaplin AI, Deshpande DM, Pardo CA, Kerr DA. Transverse Myelitis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Front Biosci.* 2004;9(1–3):1483–99.

51. Huda S, Whittam D, Bhojak M, Chamberlain J, Noonan C, Jacob A. Neuromyelitis optica spectrum disorders Case vignette. *Clinical Medicine*. 2019;19(2):169–76.
52. Houzen H, Kondo K, Niino M, Horiuchi K, Takahashi T, Nakashima I, et al. Prevalence and clinical features of neuromyelitis optica spectrum disorders in northern Japan. *Neurology*. 2017;89(19):1995–2001.
53. Aboul-Enein F, Seifert-Held T, Mader S, Kuenz B, Lutterotti A, Rauschka H, et al. Neuromyelitis optica in Austria in 2011: to bridge the gap between neuroepidemiological research and practice in a study population of 8.4 million people. *PLoS One*. 2013;8(11):e79649.
54. Sepúlveda M, Aldea M, Escudero D, Llufrí S, Arrambide G, Otero-Romero S, et al. Epidemiology of NMOSD in Catalonia: Influence of the new 2015 criteria in incidence and prevalence estimates. *Mult Scler*. 2018;24(14):1843–51.
55. Kim SH, Mealy MA, Levy M, Schmidt F, Ruprecht K, Paul F, et al. Racial differences in neuromyelitis optica spectrum disorder. *Neurology*. 2018;91(22): E2089–99.
56. Carnero Contentti E, Correale J. Neuromyelitis optica spectrum disorders: from pathophysiology to therapeutic strategies. *J Neuroinflammation*. 2021;18(1).
57. Mader S, Brimberg L. Aquaporin-4 Water Channel in the Brain and Its Implication for Health and Disease. *Cells*. 2019;8(2):90.
58. Paul S, Mondal GP, Bhattacharyya R, Ghosh KC, Bhat IA. Neuromyelitis optica spectrum disorders. *J Neurol Sci*. 2021;420(117225):117225.
59. Saadoun S, Waters P, Bell BA, Vincent A, Verkman AS, Papadopoulos MC. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain*. 2010; 133(2):349–61.
60. Giglhuber K, Berthele A. Eculizumab in the treatment of neuromyelitis optica spectrum disorder. *Immunotherapy*. 2020; 12(14):1053–66.
61. Boyter E. Idiopathic intracranial hypertension. *JAAPA*. 2019;32(5):30–5.
62. Biousse V. Idiopathic intracranial hypertension: Diagnosis, monitoring and treatment. *Rev Neurol (Paris)*. 2012;168(10):673–83.
63. Bruce BB, Kedar S, Van Stavern GP, Monaghan D, Acierno MD, Braswell RA, et al. Idiopathic intracranial hypertension in men. *Neurology*. 2009;72(4):304–9.
64. Spennato P, Ruggiero C, Parlato RS, Buonocore MC, Varone A, Cianciulli E, et al. Pseudotumor cerebri. *Childs Nerv Syst*. 2011;27(2):215–35.
65. Brazis PW. Pseudotumor cerebri. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2004;4(2):111–6.
66. Dandy WE. Intracranial pressure without brain tumor: Diagnosis and treatment. *Ann Surg*. 1937;106(4):492–513.
67. Raoof N, Hoffmann J. Diagnosis, and treatment of idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia*. 2021;41(4):472–8.
68. Friedman DI, Liu GT, Digre KB. Revised diagnostic criteria for the pseudotumor cerebri syndrome in adults and children. *Neurology*. 2013;81(13):1159–65.
69. Toscano S, Lo Fermo S, Reggio E, Chisari CG, Patti F, Zappia M. An update on idiopathic intracranial hypertension in adults: a look at pathophysiology, diagnostic approach and management. *J Neurol*. 2021;268(9):3249–68.

70. Szewka AJ, Bruce BB, Newman NJ, Biousse V. Idiopathic intracranial hypertension: relation between obesity and visual outcomes. *J Neuroophthalmol.* 2013;33(1):4–8.
71. Daniels AB, Liu GT, Volpe NJ, Galetta SL, Moster ML, Newman NJ, et al. Profiles of obesity, weight gain, and quality of life in idiopathic intracranial hypertension (pseudotumor cerebri). *Am J Ophthalmol.* 2007;143(4):635–41.
72. Manfield JH, Yu KK-H, Efthimiou E, Darzi A, Athanasiou T, Ashrafian H. Bariatric surgery or non-surgical weight loss for idiopathic intracranial hypertension? A systematic review and comparison of meta-analyses. *Obes Surg.* 2017;27(2):513–21.
73. Kesler A, Kliper E, Shenkerman G, Stern N. Idiopathic intracranial hypertension is associated with lower body adiposity. *Ophthalmology.* 2010;117(1):169–74.
74. Kesler A, Kliper E, Assayag EB, Zwang E, Deutsch V, Martinowitz U, et al. Thrombophilic factors in idiopathic intracranial hypertension: a report of 51 patients and a meta-analysis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2010;21(4):328–33.
75. Sinclair AJ, Markey KA, Uldall M, Cato L, Miah M, Botfield H, et al. Idiopathic intracranial hypertension, hormones, and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *J Pain Res.* 2016; 9:223–32.
76. Julayanont P, Karukote A, Ruthirago D, Panikkath D, Panikkath R. Idiopathic intracranial hypertension: ongoing clinical challenges and future prospects. *J Pain Res.* 2016; 9:87–99.
77. Kanagalingam S, Subramanian PS. Cerebral venous sinus stenting for pseudotumor cerebri: A review. *Saudi J Ophthalmol.* 2015;29(1):3–8.
78. Umenishi F, Schrier RW. Induction of human aquaporin-1 gene by retinoic acid in human erythroleukemia HEL cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;293(3):913–7.
79. Mahaman YAR, Huang F, Kessete Afewerky H, Maibouge TMS, Ghose B, Wang X. Involvement of calpain in the neuropathogenesis of Alzheimer's disease. *Med Res Rev.* 2019;39(2):608–30.
80. Ono Y, Sorimachi H. Calpains - An elaborate proteolytic system. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.* 2012; 1824:224–36.
81. Hosseini M, Najmabadi H, Kahrizi K. Calpains: Diverse functions but enigmatic. *Arch Iran Med.* 2018;21(4):170–9.
82. Sorimachi H, Mamitsuka H, Ono Y. Understanding the substrate specificity of conventional calpains. *Biol Chem.* 2012;393(9):853–71.
83. Wang Y, Bi X, Baudry M. Calpain-2 as a therapeutic target for acute neuronal injury. *Expert Opin Ther Targets.* 2018;22(1):19–29.
84. Baudry M. Calpain-1 and calpain-2 in the brain: Dr. Jekyll and Mr Hyde? *Curr Neuropharmacol.* 2019;17(9):823–9.
85. W. Smith A, K. Ray S, Das A, Nozaki K, Rohrer B, L. Banik N. Calpain inhibition as a possible new therapeutic target in multiple sclerosis. *AIMS Mol Sci.* 2017;4(4):446–62.
86. Baraban M, Koudelka S, Lyons DA. Ca²⁺ activity signatures of myelin sheath formation and growth in vivo. *Nat Neurosci.* 2018;21(1):19–23.
87. Yamashima T. Can “calpain-cathepsin hypothesis” explain Alzheimer neuronal death? *Ageing Res Rev.* 2016; 32:169–79.

88. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell*. 2007;131(6):1047–58.
89. Kovalchuk Y, Eilers J, Lisman J, Konnerth A. NMDA Receptor-Mediated Subthreshold Ca²⁺ Signals in Spines of Hippocampal Neurons. *J. Neurosci*. 2000;20(5):1791–9.
90. Grienberger C, Konnerth A. Imaging calcium in neurons. *Neuron*. 2012;73(5):862–85.
91. Vierra NC, Kirmiz M, van der List D, Santana LF, Trimmer JS. Kv2.1 mediates spatial and functional coupling of L-type calcium channels and ryanodine receptors in mammalian neurons. *Elife*. 2019; 8: e49953.
92. Brini M, Carafoli E. Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev*. 2009;89(4):1341–78.
93. Metwally E, Zhao G, Zhang YQ. The calcium-dependent protease calpain in neuronal remodeling and neurodegeneration. *Trends Neurosci*. 2021;44(9):741–52.
94. Nie Q, Zhu L, Zhang L, Leng B, Wang H. Astragaloside IV protects against hyperglycemia-induced vascular endothelial dysfunction by inhibiting oxidative stress and Calpain-1 activation. *Life Sci*. 2019; 232:116662.
95. Ding Z-J, Chen X, Tang X-X, Wang X, Song Y-L, Chen X-D, et al. Apoptosis-inducing factor and calpain upregulation in glutamate-induced injury of rat spiral ganglion neurons. *Mol Med Rep*. 2015;12(2):1685–92.
96. Siuda D, Randriamboavonjy V, Fleming I. Regulation of calpain 2 expression by miR-223 and miR-145. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2019;1862(10):194438.
97. Kumar V, Ahmad A. Targeting calpains: A novel immunomodulatory approach for microbial infections. *Eur J Pharmacol*. 2017; 814:28–44.
98. Chen Y, Su Z, Liu F. Effects of functionally diverse calpain system on immune cells. *Immunol Res*. 2021;69(1):8–17.
99. Clement CC, Santambrogio L. The lymph self-antigen repertoire. *Front Immunol*. 2013; 4:424.
100. Sorrentino R, Terlizzi M, Di Crescenzo VG, Popolo A, Pecoraro M, Perillo G, et al. Human lung cancer-derived immunosuppressive plasmacytoid dendritic cells release IL-1 α in an AIM2 inflammasome-dependent manner. *Am J Pathol*. 2015;185(11):3115–24.
101. Khan H, Garg N, Singh TG, Kaur A, Thapa K. Calpain inhibitors as potential therapeutic modulators in neurodegenerative diseases. *Neurochem Res*. 2022;47(5):1125–49.
102. Haque A, Samantaray S, Knaryan VH, Capone M, Hossain A, Matzelle D, et al. Calpain mediated expansion of CD4⁺ cytotoxic T cells in rodent models of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2020;330(113315).
103. Yamashita T, Hideyama T, Hachiga K, Teramoto S, Takano J, Iwata N, et al. A role for calpain-dependent cleavage of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis pathology. *Nat Commun*. 2012;3(1):1307.
104. Wang Y, Liu Y, Yahya E, Quach D, Bi X, Baudry M. Calpain-2 activation in mouse hippocampus plays a critical role in seizure-induced neuropathology. *Neurobiol Dis*. 2021;147(105149).
105. Poerwoatmodjo A, Schenk GJ, Geurts JGG, Luchicchi A. Cysteine proteases and mitochondrial instability: A possible vicious cycle in MS myelin? *Front Cell Neurosci*. 2020; 14:612383.

106. Guyton MK, Wingrave JM, Yallapragada AV, Wilford GG, Sribnick EA, Matzelle DD, et al. Upregulation of calpain correlates with increased neurodegeneration in acute experimental auto-immune encephalomyelitis. *J Neurosci Res.* 2005;81(1):53–61.
107. Das A, Guyton MK, Smith A, Wallace 4th G, McDowell ML, Matzelle DD, et al. Calpain inhibitor attenuated optic nerve damage in acute optic neuritis in rats. *J Neurochem.* 2013;124(1):133–46.
108. Zhao H, Chang R, Che H, Wang J, Yang L, Fang W, et al. Hyperphosphorylation of tau protein by calpain regulation in retina of Alzheimer's disease transgenic mouse. *Neurosci Lett.* 2013;551:12–6.
109. Fà M, Zhang H, Staniszewski A, Saeed F, Shen LW, Schiefer IT, et al. Novel selective calpain 1 inhibitors as potential therapeutics in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2016;49(3):707–21.
110. Zaman V, Shields DC, Shams R, Drasites KP, Matzelle D, Haque A, et al. Cellular and molecular pathophysiology in the progression of Parkinson's disease. *Metab Brain Dis.* 2021;36(5):815–27.
111. Samantaray S, Knaryan VH, Shields DC, Cox AA, Haque A, Banik NL. Inhibition of Calpain Activation Protects MPTP-Induced Nigral and Spinal Cord Neurodegeneration, Reduces Inflammation, and Improves Gait Dynamics in Mice. *Mol. Neurobiol.* 2015;52:1054–66.
112. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, Corr EM, Logroscino G, Robberecht W, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3(1):17071.
113. Rao MV, Campbell J, Palaniappan A, Kumar A, Nixon RA. Calpastatin inhibits motor neuron death and increases survival of hSOD1(G93A) mice. *J Neurochem.* 2016;137(2):253–65.
114. Chandran R, Capone M, Matzelle D, Polcyn R, Kau E, Haque A, et al. Distinct cytokine, and chemokine expression in plasma and calpeptin-treated PBMCs of a relapsing-remitting multiple sclerosis patient: A case report. *Neurochem Res.* 2018;43(12):2224–31.
115. Polcyn R, Capone M, Matzelle D, Lueking B, Walker A, Kau E, et al. Cytokine/chemokine dysregulation in progressive MS patient is apparent and can be modulated by calpain inhibition. *Metab Brain Dis.* 2020;35(2):255–61.
116. Guyton MK, Das A, Samantaray S, Wallace 4th GC, Butler JT, Ray SK, et al. Calpeptin attenuated inflammation, cell death, and axonal damage in animal model of multiple sclerosis. *J Neurosci Res.* 2010;88(11):2398–408.
117. Smith AW, Rohrer B, Wheless L, Samantaray S, Ray SK, Inoue J, et al. Calpain inhibition reduces structural and functional impairment of retinal ganglion cells in experimental optic neuritis. *J Neurochem.* 2016;139(2):270–84.
118. Hassen GW, Kesner L, Stracher A, Shulman A. Calpain inhibition: A potential therapeutic target for neurodegenerative and neuromuscular disorders. In: *Frontiers in CNS Drug Discovery Volume 3.* UAE: Bentham Science Publishers Ltd.; 2017. p. 33–71.
119. Sternberg Z, Sternberg D, Chichelli T, Drake A, Patel N, Kolb C, et al. High-mobility group box 1 in multiple sclerosis. *Immunol Res.* 2016;64(2):385–91.
120. Stros M. HMGB proteins: interactions with DNA and chromatin. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1799(1–2):101–13.
121. Sun Y, Chen H, Dai J, Wan Z, Xiong P, Xu Y, et al. Glycyrrhizin protects mice against experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting high-mobility group box 1

- (HMGB1) expression and neuronal HMGB1 release. *Front Immunol.* 2018;9:1518.
122. Martinotti S, Ranzato E. Emerging roles for HMGB1 protein in immunity, inflammation, and cancer. *Immunotargets Ther.* 2015;101–9.
 123. Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(4):195–202.
 124. Uluc F, Bozat BG, Karabork S, Aydın-Turkoglu S. The Functional Role of HMGB1/TLR4/NF- κ B Signalling Pathway in Multiple Sclerosis. In: Taskin E, Guven C, Kaya ST editors. *HMGB1: Functions, Inhibitors and Clinical Significance.* Nova Science Publishers, Inc.; 2022. p. 219–239.
 125. Fang P, Schachner M, Shen Y-Q. HMGB1 in development and diseases of the central nervous system. *Mol Neurobiol.* 2012;45(3):499–506.
 126. Guazzi S, Strangio A, Franzi AT, Bianchi ME. HMGB1, an architectural chromatin protein and extracellular signalling factor, has a spatially and temporally restricted expression pattern in mouse brain. *Gene Expr Patterns.* 2003;3(1):29–33.
 127. Kwak MS, Kim HS, Lee B, Kim YH, Son M, Shin J-S. Immunological significance of HMGB1 post-translational modification and redox biology. *Front Immunol.* 2020;11:1189.
 128. Dumitriu IE, Baruah P, Valentinis B, Voll RE, Herrmann M, Nawroth PP, et al. Release of high mobility group box 1 by dendritic cells controls T cell activation via the receptor for advanced glycation end products. *J Immunol.* 2005;174(12):7506–15.
 129. Sundberg E, Fasth AER, Palmblad K, Harris HE, Andersson U. High mobility group box chromosomal protein 1 acts as a proliferation signal for activated T lymphocytes. *Immunobiology.* 2009;214(4):303–9.
 130. Chen M, Zhu L, Xue M, Zhu R, Jing L, Wang H, et al. HMGB1, anti-HMGB1 antibodies, and ratio of HMGB1/anti-HMGB1 antibodies as diagnosis indicator in fever of unknown origin. *Sci Rep.* 2021;11(1):5059.
 131. Aragón CC, Llanos J, Posso-Osorio I, Nieto-Aristizábal I, Perea-Cardona N. The role of high mobility proteins (HMGB1) in systemic lupus erythematosus. *Rev. Colomb. de Reumatol.* 2020;7(1):37–45.
 132. Paudel YN, Angelopoulou E, Piperi C, Othman I, Shaikh MF. HMGB1-mediated neuroinflammatory responses in brain injuries: Potential mechanisms and therapeutic opportunities. *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4609.
 133. Fu L, Liu K, Wake H, Teshigawara K, Yoshino T, Takahashi H, et al. Therapeutic effects of anti-HMGB1 monoclonal antibody on pilocarpine-induced status epilepticus in mice. *Sci Rep.* 2017;7(1).
 134. Fujita K, Motoki K, Tagawa K, Chen X, Hama H, Nakajima K, et al. HMGB1, a pathogenic molecule that induces neurite degeneration via TLR4-MARCKS, is a potential therapeutic target for Alzheimer's disease. *Sci Rep.* 2016;6(1).
 135. Lo Coco D, Veglianesi P, Allievi E, Bendotti C. Distribution, and cellular localization of high mobility group box protein 1 (HMGB1) in the spinal cord of a transgenic mouse model of ALS. *Neurosci Lett.* 2007;412(1):73–7.
 136. Paudel YN, Angelopoulou E, Piperi C, Othman I, Shaikh MF. Implication of HMGB1 signaling pathways in Amyotrophic lateral sclerosis (ALS): From molecular mechanisms to pre-clinical results. *Pharmacol Res.* 2020;156(104792):104792.
 137. Sasaki T, Liu K, Agari T, Yasuhara T, Morimoto J, Okazaki M, et al. Anti-high mobility

- group box 1 antibody exerts neuroprotection in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2016;275 Pt 1:220–31.
138. Zhen C, Wang Y, Li D, Zhang W, Zhang H, Yu X, et al. Relationship of High-mobility group box 1 levels and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord*. 2019; 31:87–92.
 139. Wang K-C, Tsai C-P, Lee C-L, Chen S-Y, Chin L-T, Chen S-J. Elevated plasma high-mobility group box 1 protein is a potential marker for neuromyelitis optica. *Neuroscience*. 2012; 226:510–6.
 140. Malhotra S, Fissolo N, Tintoré M, Wing AC, Castelló J, Vidal-Jordana A. Role of high mobility group box protein 1 (HMGB1) in peripheral blood from patients with multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2015;1–5.
 141. Andersson A, Covacu R, Sunnemark D, Danilov AI, Dal Bianco A, Khademi M, et al. Pivotal advance: HMGB1 expression in active lesions of human and experimental multiple sclerosis. *J Leukoc Biol*. 2008;84(5):1248–55.
 142. Bucova M, Majernikova B, Durmanova V, Cudrakova D, Gmitterova K, Lisa I, et al. HMGB1 as a potential new marker of disease activity in patients with multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2020;41(3):599–604.
 143. Andersson U, Yang H, Harris H. Extracellular HMGB1 as a therapeutic target in inflammatory diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2018;22(3):263–77.
 144. Medzhitov R, Janeway CA. Innate Immunity: The Virtues of a Nonclonal System of Recognition. *Cell*. 1997; 91:295–8.
 145. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol*. 2014; 5:461.
 146. Lee BL, Moon JE, Shu JH, Yuan L, Newman ZR, Schekman R, et al. UNC93B1 mediates differential trafficking of endosomal TLRs. *Elife*. 2013;2(2):1–22.
 147. Bsibsi M, Ravid R, Gveric D, van Noort JM. Broad expression of Toll-like receptors in the human central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2002;61(11):1013–21.
 148. Bowman CC, Rasley A, Tranguch SL, Marriott I. Cultured astrocytes express toll-like receptors for bacterial products. *Glia*. 2003;43(3):281–91.
 149. Olson JK, Miller SD. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs. *J Immunol*. 2004;173(6):3916–24.
 150. Wadachi R, Hargreaves KM. Trigeminal nociceptors express TLR-4 and CD14: a mechanism for pain due to infection. *J Dent Res*. 2006;85(1):49–53.
 151. Sun Z, Nyanzu M, Yang S, Zhu X, Wang K, Ru J. VX765 Attenuates Pyroptosis and HMGB1/TLR4/NF- κ B Pathways to Improve Functional Outcomes in TBI Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;
 152. Frank MG, Weber MD, Watkins LR, Maier SF. Stress sounds the alarmin: The role of the danger-associated molecular pattern HMGB1 in stress-induced neuroinflammatory priming. *Brain Behav Immun*. 2015; 48:1–7.
 153. Liu A-H, Wu Y-T, Wang Y-P. MicroRNA-129-5p inhibits the development of autoimmune encephalomyelitis-related epilepsy by targeting HMGB1 through the TLR4/NF-kB signaling pathway. *Brain Res Bull*. 2017; 132:139–49.
 154. Ding J, Cui X, Liu Q. Emerging role of HMGB1 in lung diseases: friend or foe. *J Cell Mol Med*. 2017; 21:1046–57.

155. Zheng C, Chen J, Chu F, Zhu J, Jin T. Inflammatory role of TLR-MyD88 signaling in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci*. 2019; 12:314.
156. Branco-Madeira F, Lambrecht BN. High mobility group box-1 recognition: the beginning of a RAGEless era?: High mobility group box-1 recognition. *EMBO Mol Med*. 2010;2(6):193–5.
157. Trotta T, Porro C, Calvello R, Panaro MA. Biological role of Toll-like receptor-4 in the brain. *J Neuroimmunol*. 2014;268(1–2):1–12.
158. Li J, Shi J, Sun Y, Zheng F. Glycyrrhizin, a potential drug for autoimmune encephalomyelitis by inhibiting high-mobility group box 1. *DNA Cell Biol*. 2018;37(12):941–6.
159. Marta M, Meier UC, Lobell A. Regulation of autoimmune encephalomyelitis by toll-like receptors. *Autoimmun Rev*. 2009;8(6):506–9.
160. Kerfoot SM, Long EM, Hickey MJ, Andonegui G, Lapointe BM, Zanardo RCO, et al. TLR4 contributes to disease-inducing mechanisms resulting in central nervous system autoimmune disease. *J Immunol*. 2004;173(11):7070–7.
161. Marta M, Andersson A, Isaksson M, Kämpe O, Lobell A. Unexpected regulatory roles of TLR4 and TLR9 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol*. 2008;38(2):565–75.
162. Olson JK, Girvin AM, Miller SD. Direct activation of innate and antigen-presenting functions of microglia following infection with Theiler's virus. *J Virol*. 2001;75(20):9780–9.
163. Lehnardt S, Massillon L, Follett P, Jensen FE, Ratan R, Rosenberg PA, et al. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(14):8514–9.
164. Lehnardt S, Lachance C, Patrizi S, Lefebvre S, Follett PL, Jensen FE, et al. The toll-like receptor TLR4 is necessary for lipopolysaccharide-induced oligodendrocyte injury in the CNS. *J Neurosci*. 2002;22(7):2478–86.
165. Pang Y, Cai Z, Rhodes PG. Disturbance of oligodendrocyte development, hypomyelination and white matter injury in the neonatal rat brain after intracerebral injection of lipopolysaccharide. *Brain Res Dev Brain Res*. 2003;140(2):205–14.
166. Oeckinghaus A, Hayden MS, Ghosh S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways. *Nat Immunol*. 2011;12(8):695–708.
167. Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer*. 2013;12(1):86.
168. Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: A blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell*. 2017;168(1–2):37–57.
169. Zhou Y, Cui C, Ma X, Luo W, Zheng SG, Qiu W. Nuclear Factor κ B (NF- κ B)- Mediated Inflammation in Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2020; 11:391.
170. Verstrepen L, Beyaert R. Receptor proximal kinases in NF- κ B signaling as potential therapeutic targets in cancer and inflammation. *Biochem Pharmacol*. 2014;92(4):519–29.
171. Sun S-C. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(9):545–58.
172. Cildir G, Low KC, Tergaonkar V. Noncanonical NF- κ B signaling in health and disease.

Trends Mol Med. 2016;22(5):414–29.

173. Park MH, Hong JT. Roles of NF- κ B in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches. *Cells*. 2016;5(2):15.
174. Yan J, Winterford CM, Catts VS, Pat BK, Pender MP, McCombe PA, et al. Increased constitutive activation of NF- κ B p65 (RelA) in peripheral blood cells of patients with progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2018; 320:111–6.
175. Yi H, Bai Y, Zhu X, Zhao L. IL-17A Induces MIP-1 α Expression in Primary Astrocytes via Src / MAPK / PI3K / NF- κ B Pathways: Implications for Multiple Sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014; 9:629–41.
176. Paudel YN, Angelopoulou E, C BK, Piperi C, Othman I. High mobility group box 1 (HMGB1) protein in Multiple Sclerosis (MS): Mechanisms and therapeutic potential. *Life Sci*. 2019; 238:116924.
177. Fakhoury M. Role of immunity and inflammation in the pathophysiology of neurodegenerative diseases. *Neurodegener Dis*. 2015;15(2):63–9.
178. Kuwabara T, Ishikawa F, Kondo M, Kakiuchi T. The role of IL-17 and related cytokines in inflammatory autoimmune diseases. *Mediators Inflamm*. 2017; 2017:3908061.
179. Chen J, Liu X, Zhong Y. Interleukin-17A: The key cytokine in neurodegenerative diseases. *Front Aging Neurosci*. 2020; 12:566922.
180. Kostic M, Dzopalic T, Zivanovic S, Zivkovic N, Cvetanovic A, Stojanovic I, et al. IL-17 and Glutamate Excitotoxicity in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *Scand J Immunol*. 2014;79(3):181–6.
181. Tzartos JS, Friese MA, Craner MJ, Palace J, Newcombe J, Esiri MM, et al. Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. *Am J Pathol*. 2008;172(1):146–55.
182. Lock C, Hermans G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garren H, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med*. 2002;8(5):500-8.
183. Kostic M, Zivkovic N, Cvetanovic A, Stojanovic I, Colic M. IL-17 signalling in astrocytes promotes glutamate excitotoxicity: Indications for the link between inflammatory and neurodegenerative events in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2017; 11:12–7.
184. Das Sarma J, Ciric B, Marek R, Sadhukhan S, Caruso ML, Shafagh J. Functional interleukin-17 receptor A is expressed in central nervous system glia and upregulated in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroinflammation*. 2009; 28:6-14.
185. Liu G, Guo J, Liu J, Wang Z, Liang D. Toll-like receptor signaling directly increases functional IL-17RA expression in neuroglial cells. *Clinical Immunology*. 2014;154(2):127–40.
186. Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S. IL-17 Plays an Important Role in the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Immunol*. 2006;177(1):566–73.
187. Xu W-D, Zhao Y, Liu Y. Insights into IL-37, the role in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2015;14(12):1170–5.
188. Su Z, Tao X. Current Understanding of IL-37 in Human Health and Disease. *Front Immunol*. 2021; 12:1–18.

189. Nold MF, Nold-Petry CA, Zepp JA, Palmer BE, Bufler P, Dinarello CA. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity. *Nat Immunol.* 2010;11(11):1014–22.
190. Wang X, Xu K, Chen S, Li Y, Li M. Role of Interleukin-37 in Inflammatory and Autoimmune Diseases. *Iran. J. Immunol.* 2018; 15(3):165–74.
191. Kouchaki E, Reza Tamtaji O, Dadgostar E, Karami M, Nikoueinejad H, Akbari H, et al. Correlation of Serum Levels of IL-33, IL-37, Soluble Form of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2), and Circulatory Frequency of VEGFR2-expressing Cells with Multiple Sclerosis Severity. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2017; 16(4):329–337
192. Angelo D, Reale C, Costantini M, Di Nicola E, Porfilio M, De Andrés I. Profiling of canonical and non-traditional cytokine levels in interferon- β -treated relapsing-remitting-multiple sclerosis patients. *Front Immunol.* 2018;9.
193. Giacoppo S, Thangavelu SR, Diomede F, Bramanti P, Conti P, Trubiani O. Anti-inflammatory effects of hypoxia-preconditioned human periodontal ligament cell secretome in an experimental model of multiple sclerosis: a key role of IL-37. *FASEB Journal.* 2017;31(12):5592–608.
194. Farrokhi M, Rezaei A, Amani-Beni A, Etemadifar M, Kouchaki E, Zahedi A. Increased serum level of IL-37 in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Acta Neurol Belg.* 2015;115(4):609–14.
195. Wingerchuk, Dean M., et al. International Consensus Diagnostic Criteria for Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders. *Neurology*, vol. 85, no. 2, 2015, pp. 177–189.
196. Friedman DI, Jacobson DM. Diagnostic criteria for idiopathic intracranial hypertension. *Neurology.* 2002;59(10):1492–5.
197. Micu I, Plemel JR, Caprariello AV, Nave K-A, Stys PK. Axo-myelinic neurotransmission: a novel mode of cell signalling in the central nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 2018;19(1):49–58.
198. Wang Y, Liu Y, Bi X, Baudry M. Calpain-1 and Calpain-2 in the Brain: New Evidence for a Critical Role of Calpain-2 in Neuronal Death. *Cells.* 2020;9(12).
199. Baudry M, Bi X. Calpain-1 and calpain-2: The yin and yang of synaptic plasticity and neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 2016;39(4):235–45.
200. Baudry M, Chou MM, Bi X. Targeting calpain in synaptic plasticity. *Expert Opin Ther Targets.* 2013;17(5):579–92.
201. Gan-Or Z, Rouleau GA. Calpain 1 in neurodegeneration: a therapeutic target? *Lancet Neurol.* 2016;15(11):1118.
202. Stifanese R, Aversa M, De Tullio R, Pedrazzi M, Milanese M, Bonifacino T, et al. Role of calpain-1 in the early phase of experimental ALS. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Nov 15; 562:1–8.
203. Cerghet M, Skoff RP, Bessert D, Zhang Z, Mullins C, Ghandour MS. Proliferation and death of oligodendrocytes and myelin proteins are differentially regulated in male and female rodents. *J Neurosci.* 2006;26(5):1439–47.
204. Chakrabarti AK, Banik NL, Lobo DC, Terry EC, Hogan EL. Calcium-activated neutral proteinase (calpain) in rat brain during development: compartmentation and role in myelination. *Brain Res Dev Brain Res.* 1993;71(1):107–13.

205. Li Z, Banik NL. The localization of calpain in myelin: immunocytochemical evidence in different areas of rat brain and nerves. *Brain Res.* 1995;697(1–2):112–21.
206. Disterhoft JF, Moyer JR Jr, Thompson LT. The calcium rationale in aging and Alzheimer's disease: Evidence from an animal model of normal aging. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;747(1):382–406.
207. Sen S. Neurostatus and EDSS calculation with cases. *Noro Psikiyatr Ars.* 2018;55: (Supplement 1): S80–S83.
208. Wang H, Wang K, Wang C, Xu F, Zhong X, Qiu W, et al. Cerebrospinal fluid high-mobility group box protein 1 in neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation.* 2013;20(2):113–8.
209. Kelton JG, Warkentin TE, Hayward CP, Murphy WG, Moore JC. Calpain activity in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura is associated with platelet microparticles. *Blood.* 1992;80(9):2246–51.
210. Altıokka-Uzun G, Tüzün E, Ekizoğlu E, Ulusoy C, Yentür S, Kürtüncü M, et al. Oligoclonal bands and increased cytokine levels in idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia.* 2015;35(13):1153–61.
211. Walker LE, Griffiths MJ, McGill F, Lewthwaite P, Sills GJ, Jorgensen A, et al. A comparison of HMGB1 concentrations between cerebrospinal fluid and blood in patients with neurological disease. *Biomarkers.* 2016;1–8.
212. Lebrun C, Cohen M, Pignolet B, Seitz-Polski B, Bucciarelli F, Benzaken S, et al. Interleukin 17 alone is not a discriminant biomarker in early demyelinating spectrum disorders. *J Neurol Sci.* 2016;368:334–6.
213. Edwards LJ, Sharrack B, Ismail A, Tench CR, Gran B, Dhungana S, et al. Increased levels of interleukins 2 and 17 in the cerebrospinal fluid of patients with idiopathic intracranial hypertension. *Am J Clin Exp Immunol.* 2013;2(3):234–44.
214. Farrokhi M, Rezaei A, Amani-Beni A, Etemadifar M, Kouchaki E, Zahedi A. Increased serum level of IL-37 in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Acta Neurol Belg.* 2015;115(4):609–14.
215. Li C, Zhao P, Sun X, Che Y, Jiang Y. Elevated levels of cerebrospinal fluid and plasma interleukin-37 in patients with Guillain-Barré Syndrome. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:1–9.

8. EKLER

EK 1. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu İzin Belgesi



BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAşTIRMALAR ETİK KURULU ONAYI
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY CLINICAL RESEARCHES ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Sayı : 9

18.1.2022

Konu: Kararlar

BAşVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAşTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Multipl Skleroz Hastalarında Kalpain İle HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolağı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi.
	ARAşTIRMANIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Investigation of the Relationship Between Calpain and HMGB1/TLR4/NF-κB Signaling Pathway in Multiple Sclerosis Patients.
	SORUMLU ARAşTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Doç.Dr.Şule AYDIN TÜRKOğLU
	DİğER ARAşTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Doktora Öğrencisi Firdevs ULUÇ, Öğr. Gör. Dr. Şeyda KARABÖRK, Doktora Öğrencisi Bihter Gökçe BOZAT, Prof.Dr.Seyit Ali KAYIŞ
	ARAşTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakóltesi Nöroloji Anabilim Dalı

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2021/305	Tarih (Date) 04.01.2022
	Doç.Dr.Şule AYDIN TÜRKOğLU'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Mehmet Hayri ERKOL (Başkan)	Genel Cerrahi	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Doç.Dr. Erkan KILINÇ (Başkan Yardımcısı)	Fizyoloji	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Prof.Dr.Mehmet Hamid BOZTAŞ (Üye)	Ruh Sağlığı Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Doç. Dr. Akif Hakan KURT (Üye)	Farmakoloji	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Doç.Dr. Hamit YOLDAŞ (Üye)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Doç.Dr.Aslı ÇELEBİ TAYFUR (Üye)	Çocuk Sağlığı Hastalıkları /Nefroloji Bilim Dalı	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Doç.Dr.Tuba TASLAMACIOğLU DUMAN (Üye)	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Dr. Öğr. Üyesi Oya KALAYCIOğLU (Bildirimden Sorumlu Üye)	Biyoistatistik	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Doç. Dr. Makbule TOKUR KESGİN (Üye)	Hemşirelik	BAİBÜ Sağlık Bilimleri Fakóltesi	
Dr. Öğr.Üyesi Abdulgani KAYMAZ (Üye)	Göz Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakóltesi	
Dr.Öğr.Üyesi Kübra DEĞİRMENCİ (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakóltesi	
Dr.Öğr.Üyesi Tuğba KOCAAğA (Üye)	Antrenörlük Eğitimi	BAİBÜ Spor Bilimleri Fakóltesi	
Dr. Hatice Selen SÖYLEMEZ (Üye)	Farmakolog/Eczacı	Özel Eczane (BOLU)	
Av. Huri Hülya GÜNEŞ COŞKUN (Üye)	Avukat	Özel Hukuk Bürosu (BOLU)	
Ramazan KAYNARPINAR (Sivil-Üye)	Esnaf	Serbest Meslek (BOLU)	

EK 1. -Devamı



BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU ONAYI
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY CLINICAL RESEARCHES ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Sayı : 216
Konu: Etik Kurul Hk.

30.5.2022

Sayın Doç.Dr.Şule AYDIN TÜRKÖĞLU
BAİBÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Kurulumuzdan 04.01.2022 Tarihinde Etik onay alan 2021/305 nolu "Multipl Skleroz Hastalarında Kalpain İle HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" başlıklı çalışmanın Materyal ve Metot bölümünde ve Çalışma başlığının "Multipl Skleroz ve Diğer Demiyelinizan Hastalıklarda Kalpain İle HMGB1/TLR4/NF-κB Sinyal Yolu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi." olarak değiştirilmesi talebinizin etik olarak uygun olduğuna mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Mehmet Hayri ERKOL (Başkan)	Genel Cerrahi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr. Üyesi Erkan KILINÇ (Başkan Yardımcısı)	Fizyoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Mehmet Hamid BOZTAŞ (Üye)	Ruh Sağlığı Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Akif Hakan KURT (Üye)	Farmakoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr. Hamit YOLDAŞ (Üye)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Aslı ÇELEBİ TAYFUR (Üye)	Çocuk Sağlığı Hastalıkları /Nefroloji Bilim Dalı	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Tuba TASLAMACIOĞLU DUMAN (Üye)	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Oya KALAYCIOĞLU (Bildirimden Sorumlu Üye)	Biyoistatistik	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr. Makbule TOKUR KESGİN (Üye)	Hemşirelik	BAİBÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Doç.Dr. Abdulgani KAYMAZ (Üye)	Göz Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr. Kübra DEĞİRMENCI (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Tuğba KOCAAĞA (Üye)	Antrenörlük Eğitimi	BAİBÜ Spor Bilimleri Fakültesi	
Dr. Hatice Selen SÖYLEMEZ (Üye)	Farmakolog/Eczacı	Özel Eczane (BOLU)	
Av. Huri Hülya GÜNEŞ COŞKUN (Üye)	Avukat	Özel Hukuk Bürosu (BOLU)	
Ramazan KAYNARPINAR (Sivil-Üye)	Esnaf	Serbest Meslek (BOLU)	

EK 2. Bilgilendirilmiş Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Multipl Skleroz ve Diğer Demiyelinizan Hastalıklarda Kalpain ile HMGB1/TLR4/Nf-KB Sinyal Yolu Arasındaki İlişkinin İncelenmesi”dir. Bu araştırmanın amacı, Multipl skleroz ve diğer demiyelinizan hastalıklarda tanıda önemli parametreler olabileceği düşünülen Kalpain ve HMGB1/TLR4/Nf-KB sinyal yolu arasındaki ilişkinin incelenmesidir. Bu çalışmada size herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır. Sizden BOS örneği alınacaktır. Bu çalışmada yer almanız için öngörülen süre 30 dk’dır.

Bu çalışma sayesinde siz ve sizin gibi MS ve diğer demiyelinizan hastalık tanısıyla takipli hastalarda tanıda etkili olduğu düşünülen proteinler arasındaki ilişki incelenecektir. Bu inceleme tanı için önemli bilgiler sağlayacak ve belki de tedavi için de umut olacaktır.

Araştırmaya bağlı herhangi bir zarar söz konusu değildir, ortaya çıkan herhangi bir masraflar bulunmamaktadır. Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için araştırmacıya Dr. Şule AYDIN TÜRKÖĞLU’na başvurabilirsiniz.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size herhangi bir ulaşım gideri ödenmeyecektir; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (BAP) tarafından desteklenmektedir.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlanırsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün, Adı-Soyadı: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:	Görevi: Tarih ve İmza:
Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasisin, Adı-Soyadı: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:	Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının, Adı-Soyadı: Görevi: Adresi: Tel.-Faks: Tarih ve İmza:

* Bu örnek form araştırmacılar fikir vermek için formda bulunması gereken asgari bilgiler verilmektedir, gerektiğinde edisyonlar yapılmalıdır. İstediğinde Etik Kurul sekreterliğinden ya da Tıp Fakültesi web sayfasından temin edilerek ve üzerinde gerekli düzenlemeler yapılmak suretiyle kullanılabilir (örn. bu paragraf, metodoloji kısmı ve parantezler çıkarılmalı ve uygun şekilde düzenlenmelidir). Gönüllünün beyan ve imzası, bilgilendirme metninin devamı şeklinde olmalıdır; kesinlikle ayrı sayfalarda olmamalıdır.
Güncelleme tarihi 28.11.2013

EK 3. Beyin Omurilik Sıvısı Onam Formu

(BEYİN OMURİLİK SIVISI İNCELEMESİ) BİLGİLENDİRME FORMU

Hasta Adı-Soyadı:

Tarih

Protokol No:

Sayın Hastamız, Tıbbi durumunuz ve hastalığınızın tedavisi için size önerilen tıbbi tedavi ve tanıya yönelik tüm işlemler hakkında bilgi sahibi olmak en doğal hakkınızdır. Tıbbi tedavi ve cerrahi girişimlerin yararlarını ve olası olumsuzlukları öğrendikten sonra yapılacak işleme olur vermek ya da vermemek yine kendi kararınıza bağlıdır. Bu açıklamanın amacı sizi korkutmak ya da endişelendirmek değil, sağlığınız ile ilgili konularda sizi daha bilinçli bir biçimde karara ortak etmektir. İsterseniz sağlığınız ile ilgili tüm bilgi ve belgeler size veya uygun göreceğiniz bir yakınınıza verilebilir. Yasal ve tıbbi zorunluluk taşıyan durumlar dışında bilgilendirmeyi istemeyebilirsiniz. Hastalığınızın tanı/tedavisi için lomber ponksiyon gerekmektedir. Özel bir iğneyle bel kısmından girilip omuriliği kaplayan zarların geçilerek beyin-omurilik sıvısına ulaşılması işlemine lomber ponksiyon denir.

Lomber ponksiyon en sık olarak beyin-omurilik sıvısı örneği elde etmek için yapılır. Beyin-omurilik sıvısının incelenmesi ile menenjit gibi bazı enfeksiyon hastalıklarının tanısı konulabilmektedir. Ayrıca, bazı kanser türlerinde beyine, omuriliğe ve bunları kaplayan zarlara yayılma olup olmadığını anlamak için, bazı kafa içi basınç artımı hastalıklarında multiple skleroz ve de sinir iltihabı durumlarında lomber ponksiyon yapılması gerekir. Aynı zamanda izniniz olur ise beyin-omurilik sıvısı ve kan serum örneklerinizden birer adet daha sonra hastalığınızın tanı ve tedavisine katkıda bulunması amacıyla ve çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C saklanacaktır ve gerektiği zaman kullanılacaktır.

Lomber ponksiyon izlem ve tedavinin planlı bir bölümü olabilir. Günümüzde bu girişimin yerini tutacak ve aynı amaçlara hizmet edecek alternatif yöntem yoktur. Girişim öncesinde doktorunuz sizinle ve bilinci yerindeyse hastanızla görüşerek işlem hakkında bilgi verecektir, Hastanızın önemli tıbbi sorunları, kullandığı ilaçları, varsa kanama sorunları veya alerji durumlarını (ilaçlara, latekse, flastere vb) veya başka hastalıklarını girişimden önce doktorunuza mutlaka söylemelisiniz. Lomber ponksiyon girişimi genellikle hasta yan yatırılarak (nadiren hasta oturtulup öne eğik pozisyon verilerek) bel bölgesindeki omurların arasındaki boşluktan yapılır. Hastaya pozisyon verildikten ve hareketsiz durması sağlandıktan sonra girişimin yapılacağı yerin üzerindeki cilt antiseptik solüsyonla silinerek üzeri delikli mikroptan arındırılmış örtü ile örtülür. Lomber ponksiyon yapılabilmesi için cilt ve cilt altının özel iğne ile delinmesi gerekir. İşlem sırasında iğnenin batırıldığı yerde ciltte ve cilt altı dokularda hasta iğne batmasına bağlı acı duyar. Bunu en aza indirmek için cilt ve cilt altına yerel uyuşturucu verilerek uyuşturulabilir. Yapılacak incelemeler için gereken en az miktarda bel sıvısı mikroptan arındırılmış tüplere alınacaktır. Bütün bu işlemler yaklaşık 10-15 dakika sürecektir. Lomber ponksiyon girişimi tamamlandıktan sonra girişimin yapıldığı yerde cilt üzerine mikroptan arındırılmış gazlı bez ile 2-3 dakika bası uygulanır, kanama ve sızma kontrolü yapılır. Sonra bu yer mikroptan arındırılmış gazlı bez ile kapatılır ve flaster yapıştırılır. Lomber ponksiyon sonrasında hastanızın en az 30 dakika süreyle sırt üstü düz yatması gerekir. Eve veya odasına dönünce de izleyen 24 saatte mümkün olduğu kadar dinlenmesi gerekir. Girişim sonrasında 48 saat kadar süre ile spor gibi yorucu aktivitelerden kaçınılması gerekir.

İşleme ait Riskler: • Lomber ponksiyon sonrası hasta baş ağrısı hissedebilir. Baş ağrısı hafif olabileceği gibi bazen şiddetli de olabilir. Baş ağrısı durumunda hastanın sırt üstü düz yatırılması rahatlatıcı olacaktır, Rahatlamazsa ağzından parasetamol gibi ağrı kesici ilaç kullanılması gerekebilir. Böyle bir durumda doktorunuzla iletişime geçmeniz gerekir. Aspirin kanamaya eğilim yaratabileceğinden alınmamalıdır. Ayrıca bol sıvı alınması da baş ağrısını önler veya azaltır. Bazen de hastanın girişim yapılan yerde ağrısı olabilir, bu durum genellikle geçici olsa da ağrı kesici verilmesi gerekebilir. Yerel uyuşturma için kullanılan ilaca karşı nadiren alerjik tepki gelişebilir. Bu durumda doktorunuz size gerekli girişimi yapacaktır. Seyrek olarak girişim yapılan yerden uzayan kanama veya beyin-omurilik sıvısı sızması veya girişim yerinde kızarıklık, sıcaklık artışı ve ağrı ile kendini gösteren enfeksiyon görülebilir. Bunlar uygun şekilde tedavi edilebilecek durumlardır. Hastaneden ayrıldıktan sonra böyle durumlar dikkatinizi çekerse hemen doktorunuzu arayıp durumu bildirmelisiniz. Sorumlu doktor tarafından yapılacak olan bel sıvısı alma işlemi ve bu sırada doğacak olumsuzluklar (komplikasyonlar) ve işlem sırasında uymam gerekenler hakkında ayrıntılı bilgi aldım yukarıda yazılı olanları da okudum ve anladım. İşlem yapılmasını kabul etmediğim takdirde doğacak sonuçlarla ilgili sorumluluklar tarafıma aittir. Ortaya çıkabilecek olumsuzlukları bilerek bu işlemin yapılmasını kabul ediyorum/etmiyorum.

Adı Soyadı

İMZA

Şahit Adı Soyadı

İMZA

EK 4. MS Hasta Bilgi Formu

Hastanın yaşı:

Tarih:

Doktor:

MS semptomlarının başlangıç tarihi:

MS tanısının konduğu tarih:

Geçirilen toplam atak sayısı:

Son bir yıl içindeki atak sayısı:

Son atak üzerinden geçen süre:

MS klinik seyri:

Klinik İzole Sendrom ()

RRMS ()

PPMS ()

SPMS ()

FONKSİYONEL SİSTEM SKOR ÖZETİ:

1. GÖRSEL ()

2. BEYİN SAPI ()

3. PİRAMİDAL ()

4. SEREBELLAR ()

5. DUYSAL ()

6. BARSAK-MESANE ()

7. SEREBRAL ()

EDSS DEĞERİ

Sigara kullanıyor mu? Kullanıyorsa süresi ve miktarı:

Alkol kullanıyor mu? Kullanıyorsa süresi ve miktarı:

Kullandığı ilaçlar:

EK 5. NMOSD Hasta Bilgi Formu

Hastanın yaşı:

Tarih:

Doktor:

NMOSD semptomlarının başlangıç tarihi:

NMOSD tanısının konduğu tarih:

Geçirilen toplam atak sayısı:

Son bir yıl içindeki atak sayısı:

Son atak üzerinden geçen süre:

NMOSD klinik seyri:

- ☐ Optik Nörit
- ☐ Transvers Miyelit
- ☐ Area Postrema Sendromu
- ☐ Beyin Sapı Sendromu
- ☐ Diensefalik Sendrom
- ☐ Semptomatik Narkolepsi
- ☐ Semptomatik Serebral Sendrom

FONKSİYONEL SİSTEM SKOR ÖZETİ:

- | | |
|------------------|-----|
| 1. Görsel | () |
| 2. Beyin Sapı | () |
| 3. Piramidal | () |
| 4. Serebellar | () |
| 5. Duysal | () |
| 6. Barsak-Mesane | () |
| 7. Serebral | () |

EDSS DEĞERİ

Sigara kullanıyor mu? Kullanıyorsa süresi ve miktarı:

Alkol kullanıyor mu? Kullanıyorsa süresi ve miktarı:

Kullandığı ilaçlar:

EK 6. PTS Hasta Bilgi Formu

Hastanın yaşı:

Tarih:

Doktor:

PTS semptomlarının başlangıç tarihi:

PTS tanısının konduğu tarih:

Baş Ağrısı:

Kilo:

Boy:

Obezite:

Hipertansiyon:

Doğum Kontrol Hapı:

Sigara kullanıyor mu? Kullanıyorsa süresi ve miktarı:

Alkol kullanıyor mu? Kullanıyorsa süresi ve miktarı:

Kullandığı ilaçlar: