

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

MULTİPLE SKLEROZ İLE PARP-1 GENİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Büşra YILMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Güneş ÇAKMAK GENÇ

ZONGULDAK

2022

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

MULTİPLE SKLEROZ İLE PARP-1 GENİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Büşra YILMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Güneş ÇAKMAK GENÇ

ZONGULDAK

2022

ÖNSÖZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda geçirmiş olduğum çalışma süreci boyunca ve tezimin tamamlanmasındaki desteği ve bilgi birikimi ile her zaman yanımda olan danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Güneş Çakmak Genç'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve desteğini esirgemeyen, takıldığım her noktada bana yardımcı olan sevgili hocam Prof. Dr. Sevim Karakaş Çelik'e teşekkürlerimi sunarım. Eğitimim sürecindeki emeği ve tez çalışmam boyunca farklı bakış açıları ile bilim yolunda önümü aydınlatan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Dursun'a teşekkürlerimi sunarım. Tez süreci de dahil olmak üzere uzmanlık eğitimi sürecimin her anında yanımda olan sevgili çalışma arkadaşım Dr. Başak Kurucu İşsiz'e teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte çok şey paylaştığım ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Tuğba Paçayemez Aktaş'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Bülent Ecevit Üniversite Nöroloji Anabilim Dalı'ndan sayın hocam Doç. Dr. Bilge Piri Çınar'a teşekkürlerimi sunarım.

Büyük emek ve özverileri ile hayatımın her aşamasında yanımda olan, bu uzun süreçte her türlü destekleri ile varlığına minnettar olduğum sevgili annem, babam ve abilerime teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Zonguldak, 2022

Dr. Büşra YILMAZ

ÖZET

Büşra YILMAZ, Multiple Skleroz ile *PARP-1* Geni Arasındaki İlişkinin Araştırılması, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Zonguldak 2022.

Multiple skleroz (MS), genç yaşlardaki engelliliğin önemli bir nedenidir. Vakaların büyük kısmı relaps ve remisyonlarla (RRMS) seyreden formda başlamakla birlikte ilerleyen dönemde sekonder progresif (SPMS) forma dönüşebilmektedir. Ataklar için çeşitli farmakolojik tedavi seçenekleri mevcuttur; fakat progresyon sürecinde bu tedavilere yanıt oldukça kısıtlıdır. Progresyona geçişte santral sinir sistemi (SSS) inflamatuvar karakterinin de değiştiği gösterilmiş ve progresyon patogenizinin ataklardan farklı olduğu fikri öne sürülmüştür. Poli (ADP-riboz) polimeraz-1 (PARP-1); gen ekspresyonu, hücre ölümü ve DNA onarımı gibi hücresel süreçte görevli bir enzimdir ve otoimmün-otoinflamatuvar yolaklardaki etkinliği de birçok çalışma ile bildirilmiştir. Çalışmamızda inflamatuvar bir hastalık olan MS ile *PARP-1* geni ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışma grubu 123 MS hastası ve 168 sağlıklı kontrolden oluşturuldu. *PARP-1* genine ait, protein düzeyi ve fonksiyonu üzerine muhtemel etkisi olabilecek rs1136410 missense polimorfizmi, rs7527192 promotör bölge polimorfizmi ve rs8679 3'UTR polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile çalışıldı. Hasta ve kontrol grupları ve klinik alt gruplar arasında; genotip ve allel frekansı dağılımları, haplotip dağılımları, otozomal dominant (OD) ve otozomal resesif (OR) kalıtım modeline göre ilişkilendirme analizleri gerçekleştirildi. rs1136410 ve rs8679 ile MS arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. rs7527192 CC genotipinin SPMS hastalarında kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı. OD kalıtım modeline göre SPMS hastalarında CC genotipinin sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı. EDSS skoru >3-6 olanlarda CC genotipi ve C allel frekansının sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı. EDSS skoru >3-6 arasında olan grubun ≤ 3 ve ≥ 6 olanlara kıyasında C allel frekansının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı. *PARP-1* geni promotor bölge varyantı rs7527192, PARP-1 ekspresyonunu etkileyerek SPMS'de progresyon mekanizması üzerinde etkili olabilir. PARP-1'in inflamazom yolağı aktivitesini arttırarak, süreklilik kazanan bir doğal immün yanıtı neden olabileceği düşünülmüştür. Bu noktada PARP-1 inhibitörlerinin oldukça kısıtlı tedavi seçeneği bulunan SPMS'de umut vadeci bir tedavici seçeneği olabileceği göz önünde bulundurularak yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Multiple Skleroz, PARP-1, poly(ADP-ribozilas)yon, PCR-RFLP, polimorfizm.

ABSTRACT

Büşra YILMAZ, Investigating the Relationship Between Multiple Sclerosis and *PARP-1* Gene, Zonguldak Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Thesis, Zonguldak 2022.

Multiple Sclerosis (MS) is an important cause of disability in young adults. Most cases begin with relapsing remitting MS and can transition to secondary progressive MS over time. While there are various treatment options for relapses, the response to these treatments is very limited in to progressive group. It has been shown that the inflammatory status of the central nervous system also changes in progression. The pathogenesis of progression is thought to be different from that of attacks. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) is an enzyme involved in many cellular processes such as gene expression, cell death and DNA repair. In our study, we aimed to investigate the relationship between the MS and *PARP-1* gene, which has been shown to be associated with autoimmune and autoinflammatory pathways. 123 MS patients and 168 healthy controls were included in the study. *PARP-1* gene, rs1136410 missense polymorphism, rs7527192 promoter region polymorphism and rs8679 3'UTR polymorphism were studied by PCR-RFLP method. Genotype and allele frequency distributions were examined between the case-control groups and clinical subgroups. No significant relationship was found between rs1136410 and rs8679 and MS. rs7527192 polymorphism C genotype was found to be increased in SPMS patients compared to controls and it was statistically significant. It was determined that CC genotype increased in SPMS patients under the autosomal dominant genetic model. The CC genotype and C allele frequency were found to increase in EDSS score >3-6 group compared to healthy controls. The C allele frequency was increased in EDSS score >3-6 compared to those with ≤ 3 and ≥ 6 . In conclusion; rs7527192 may be effective in the progression process by affecting PARP-1 expression. PARP-1 may be effective in progression by increasing the activity of the inflammasome pathway and its inhibitors may be a promising treatment option in SPMS.

Keywords: Multiple Sclerosis, *PARP-1* gene, poly(ADP-ribosly)ation, PCR-RFLP, polymorphism.

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	Sayfa
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Multiple Skleroz Hastalığı	3
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. Etiyoloji	4
2.1.3. Patoloji	5
2.1.3.1. Otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklar	6
2.1.4. Klinik bulgular	8
2.1.5. Multiple skleroz klinik tipleri	8
2.1.6. Tanı	9
2.1.7. Klinik değerlendirme ve genişletilmiş özürlülük durum ölçeği (EDSS)	10
2.1.8. Tedavi	10
2.2. Poli Adenozin Difosfat-riboz Polimeraz (PARP) Ailesi ve PARP-1	11
2.2.1. PARP-1'in nörodejenaratif hastalıklardaki rolü	13
2.2.2. Multiple skleroz'da PARP-1 rolü ve hedefi	14
2.3. Polimorfizm	15
2.3.1. <i>PARP-1</i> gen polimorfizmleri	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Hasta Grubu	19
3.2. Kontrol Grubu	19
3.3. Metod	20

3.3.1. İn-slico analizler	20
3.3.1.1. Polimorfizm seçimi	20
3.3.1.2. Protein düzeyi ve fonksiyonu üzerine muhtemel etkisi olan polimorfizmlerin belirlenmesi	20
3.3.1.3. Primer tasarımı ve restriksiyon enzim seçimi	21
3.3.2. Periferik kandan DNA izolasyonu	22
3.3.3. PCR İle amplifikasyon	22
3.3.3.1. <i>PARP-1</i> geni rs1136410 (V762A) polimorfizmi	22
3.3.3.2. <i>PARP-1</i> geni rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	23
3.3.3.3. <i>PARP-1</i> geni rs8679 polimorfizmi	23
3.3.4. Jel hazırlanması ve jel elektroforezde görüntüleme	24
3.3.5. Değerlendirme	24
3.3.5.1. <i>PARP-1</i> geni rs1136410 (V762A) polimorfizmi	24
3.3.5.2. <i>PARP-1</i> geni rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	25
3.3.5.3. <i>PARP-1</i> geni rs8679 polimorfizmi	26
3.4. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. Hasta ve Kontrol Grubu Özellikleri	28
4.2. İn-Slico Analiz Verileri	29
4.3. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında <i>PARP-1</i> Geni Polimorfizmlerinin Frekans Dağılımı Karşılaştırması	30
4.3.1. <i>PARP-1</i> rs1136410 (V762A) polimorfizmi	30
4.3.2. <i>PARP-1</i> rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	31
4.3.3. <i>PARP-1</i> rs8679 polimorfizmi	31
4.4. Multiple Skleroz Klinik Alt Grupları ve Kontrol Grubu Arasında <i>PARP-1</i> Geni Polimorfizmlerinin Frekans Dağılımı Karşılaştırması	32
4.4.1. <i>PARP-1</i> rs1136410 (V762A) polimorfizmi	32
4.4.2. <i>PARP-1</i> rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	33
4.4.3. <i>PARP-1</i> rs8679 polimorfizmi	34

4.5. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında <i>PARP-1</i> Geni Polimorfizmlerinin Frekans Dağılımının Otozomal Dominant ve Otozomal Resesif Modele Göre Karşılaştırması	36
4.5.1. <i>PARP-1</i> rs1136410 (V762A) polimorfizmi	36
4.5.2. <i>PARP-1</i> rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	36
4.5.3. <i>PARP-1</i> rs8679 polimorfizmi	37
4.6. Multiple Skleroz Klinik Alt Grupları ve Kontrol Grubu Arasında <i>PARP-1</i> Geni Polimorfizmlerinin Otozomal Dominant ve Otozomal Resesif Modele göre Frekans Dağılımı Karşılaştırması	38
4.6.1. <i>PARP-1</i> rs1136410 (V762A) polimorfizmi	38
4.6.2. <i>PARP-1</i> rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	39
4.6.3. <i>PARP-1</i> rs8679 polimorfizmi	40
4.7. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında <i>PARP-1</i> Geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C)/rs1136410(T/C) Polimorfizmleri Haplotipleri Dağılımının Karşılaştırması	42
4.8. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında <i>PARP-1</i> Geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C) Polimorfizmleri Haplotipleri Dağılımının Karşılaştırması	43
4.9. EDSS Skoruna Göre <i>PARP-1</i> Gen Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Dağılımları	44
4.9.1. <i>PARP-1</i> rs1136410 (V762A) polimorfizmi	44
4.9.2. <i>PARP-1</i> rs7527192 (G1672A) polimorfizmi	44
4.9.3. <i>PARP-1</i> rs8679 polimorfizmi	45
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇLAR	52
7. KAYNAKLAR	56
8. EKLER	76
Ek 1: Etik Kurul Onayı	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simge/Kısaltma	Açıklamalar
AIF	Apoptoz indükleyici faktör
AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
BOS	Beyin omurilik sıvısı
DOE	Deneyisel otoimmün ensefalomyelit
EBV	Epstein–Barr virüs
EDSS	Genişletilmiş özürlülük durum ölçeği
GWAS	Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
MAF	Minör allel frekansı
MHC	Majör histokompatibilite kompleksi
miRNA	Mikro ribonükleik asit
missense	Yanlış anlamlı
MR	Manyetik rezonans
MS	Multiple skleroz
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid
NLR	NOD benzeri reseptör ailesi
NLRP3	Pyrin domaini ilişkili protein 3
NO	Nitrik oksit
NOD	Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı
OD	Otozomal dominant
OR	Otozomal resesif
PAR	Poli(ADP-riboz)
PARP	Poli(ADP-riboz) polimeraz
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

PCR-RFLP	Polimeraz zincir reaksiyonu- restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi
PPMS	Primer progresif multiple skleroz
PRMS	Progresif relapsing multiple skleroz
ROS	Reaktif oksijen radikalleri
RRMS	Relapsing remitting multiple skleroz
rsID	Polimorfizm erişim numaraları
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
SP-DOE	Sekonder progresif deneysel otoimmün ensefalomyelit
SPMS	Sekonder progresif multiple skleroz
SSS	Santral sinir sistemi
TF	Transkripsiyon faktör
TLR	Toll-like reseptör ailesi
UTR	Kodlanmayan bölge

TABLolar DİZİNİ

Tablonun Numarası	Tablonun Başlığı	Sayfa No
1	Multiple skleroz hastalığı tanısında kullanılan McDonald kriterleri	10
2	Hasta ve kontrol grubuna ait demografik veriler	28
3	İn-Slico analiz verileri	30
4	MS hastaları ve sağlıklı kontrollerde <i>PARP-1</i> geni polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansı dağılımları	32
5	<i>PARP-1</i> geni polimorfizmlerinin MS hastaları klinik grupları ve sağlıklı kontroller arasındaki genotip ve allel frekansı dağılımları karşılaştırması	35
6	<i>PARP-1</i> geni polimorfizmlerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının OD ve OR modele göre karşılaştırması	38
7	<i>PARP-1</i> geni polimorfizmlerinin MS klinik grupları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının OD ve OR modele göre karşılaştırması	41
8	<i>PARP-1</i> geni rs7527192(C/T)/ rs8679(T/C)/ rs1136410 (T/C) polimorfizmleri haplotiplerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının karşılaştırması	42
9	<i>PARP-1</i> geni rs7527192 (C/T) / rs8679 (T/C) polimorfizmleri haplotiplerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının karşılaştırması	43
10	<i>PARP-1</i> gen polimorfizmlerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasında EDSS skoruna göre (≤ 3 , 4-6, ≥ 6) genotip ve allel frekans dağılımları.	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Numarası	Şekil Başlığı	Sayfa No
1	MS patogenezinin basamakları	6
2	Relapsing remitting MS klinik seyri	9
3	Primer progresif MS klinik seyri	9
4	Sekonder progresif MS klinik seyri	9
5	Progresif relapsing MS klinik seyri	9
6	PARP-1'in DNA hasar birikimi sonucu aktive olması ile apoptoz ve inflamatuvar süreçlerdeki fonksiyonları.	13
7	<i>PARP-1</i> rs1136410 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü.	25
8	<i>PARP-1</i> rs7527192 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü.	26
9	<i>PARP-1</i> rs8679 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü.	27

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multiple skleroz (MS); 20-40 yaşları arasında başlangıç gösteren ve kadınlarda yaklaşık olarak 2 kat daha sık görülen, santral sinir sisteminin (SSS) kronik inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır. SSS'nin etkilenimine bağlı olarak gelişen heterojen bir kliniğe sahiptir ve bu nörolojik etkileri nedeniyle genç erişkinlerdeki travmaya bağlı olmayan engelliliğin en sık nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Prevalansı etnisiteye bağlı olarak 50-300/100,000 arasında değişkenlik göstermektedir. Türkiye'de yapılan prevalans çalışmaları yeterli değildir. Genetik ve çevresel etkenlerin hastalık etiyolojisinde birlikte rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (genome-wide association studies: GWAS) ile birçok genetik lokusun hastalık ile ilişkisi kurulmuştur. İkiz popülasyon çalışmalarında monozigotik ikizlerde dizigotiklere göre daha yüksek konkordans saptanmıştır. Aynı aile içindeki diğer bireylerde tekrar görülme riski %20 olarak bildirilmiş ve akrabalık derecesi ile de ilişkilendirilmiş bir temelde olduğu düşünülmüştür. Tüm bu bilgiler ise MS etiyolojisindeki genetik temelin önemini göstermektedir.

MS'in T hücre aracılı otoimmün bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Ataklarla seyreden ve progresyon gösteren farklı klinik alt grupları bulunur. Vakaların büyük kısmı atak ve iyileşme dönemlerinin görüldüğü relapsing remitting MS (RRMS) olarak başlarken, ilerleyen dönemde nörolojik kaybın geri dönüşümsüz olduğu sekonder progresif MS (SPMS) formuna dönüşebilmektedir. Adaptif immüniteyi hedefleyen ilaçlar başta olmak üzere atak sırasında kullanılan birçok tedavi seçeneği mevcuttur. SPMS'de bu tedavilere yanıtın oldukça kısıtlı olması ve progresyona geçiş sürecinde SSS inflamasyon karakterinin değişmesi, progresyonun altında yatan mekanizmanın ataklardan farklı olabileceği fikrini doğurmuştur. MS her ne kadar otoimmün bir hastalık olarak sınıflandırılmış olsa da; günümüzde, progresyonun altında yatan mekanizmanın kronikleşen otoinflamasyon nedeniyle olabileceği hipotezi üzerinde durulmaktadır. Sonuç olarak, tedavi basamağındaki yetersizlikler ve hastalık seyrini izlemde kullanılabilecek biyobelirteçlerin olmaması nedeniyle SPMS önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Genç yaşlarda engellilik ile

sonuçlanan bu hastalıkta mekanizmanın aydınlatılarak yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP); replikasyon, gen ekspresyonu, farklılaşma, hücre ölümü ve DNA onarımı gibi farklı hücresel süreçlerin yanı sıra inflamasyon ve immün cevaplarda da görev alan 17 üyeli bir enzim ailesidir. Bu enzimler, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) substratını kullanarak oluşturulan poli(ADP-riboz) (PAR) birimlerinin hedef proteinlere transferi ile post-translasyonel modifikasyon işlemi gerçekleştirirler. PARP-1 ise bu ailenin ilk tanımlanan prototip üyesidir ve hücresel PAR polimeri oluşumun %80-90'ından sorumludur. İlk olarak genom bütünlüğünü korumada görevli bir nükleer enzim olarak tanımlanmış olmasına rağmen transkripsiyon faktörlerinin (TF) düzenlenmesi görevleri ile inflamatuvar süreçleri de destekleyen bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Birçok otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklarla ilişkisi araştırılmıştır. Aynı zamanda SSS'deki inflamatuvar hücreleri aktive ederek MS patogenezinde etkinlik gösterdiği bilinen NF- κ B'nin aktivasyonu ve nükleer sinyalizasyonun uzaması üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir. Oksidatif stres ile aktiflendiği bilinen PARP-1'in nörodejenaratif hastalıklarla ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bunların yanı sıra, inflamazom yolağı aktivitesini arttırarak nöroprogresif hastalık mekanizmalarında da rol oynadığı gösterilmiştir. *PARP-1* geninin MS hastalığı ile ilişkisini araştırmayı amaçlayan bu çalışmada, protein düzeyi ve fonksiyonu üzerinde etkisi olabileceğini düşündüğümüz rs1136410 yanlış anlamlı (missense) polimorfizmi, rs7527192 promotor bölge polimorfizmi ve rs8679 3'UTR bölge polimorfizmleri çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multiple Skleroz Hastalığı

İlk olarak 1868 yılında Jean-Martin Charcot tarafından tanımlanan multiple skleroz (MS); inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize santral sinir sisteminin (SSS) kronik bir hastalığıdır (1-4). Çevresel ve genetik faktörlerin birlikte rol oynadığı heterojen bir etiyolojiye sahip olmakla birlikte, hastalığın temel patogenezi inflamasyon ve nörodejenerasyondur (3,5,6). Kadınlarda yaklaşık olarak 2 kat daha sık görülen ve 20-50 yaşlarında başlangıç gösteren MS, ciddi bir fonksiyon ve iş gücü kaybına neden olur. Bu nörolojik etkileri nedeni ile de genç erişkinlerdeki travmaya bağlı olmayan engelliliğin en önemli nedenlerinden biridir (7). Motor, duyuşsal, görsel ve otonom sinir sisteminin farklı tutulumları ile heterojen bir kliniğe sahiptir. Klinik olarak, atak ve iyileşme dönemleri ile seyreden ya da progresif seyirli olmak üzere farklı alt gruplara ayrılmıştır (3).

2.1.1. Epidemiyoloji

Etnisiteye bağlı olarak 50-300/100,000 arasında değişkenlik gösteren prevalansı ile birlikte MS'in, dünyada yaklaşık olarak 2,8 milyon insanı etkilediği düşünülmektedir. (7-9). Kanada, Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa gibi bölgeler, 100-140/100,000 arasında değişen prevalansı ile hastalık için yüksek riskli bölgeleri oluştururken; Türkiye'de yapılan prevalans çalışmaları ise yeterli düzeyde değildir (7,10-13). 2006 yılında İstanbul Maltepe bölgesinde yapılan bir çalışmada; kadınlardaki prevalansı 118,7/100,000, erkeklerdeki prevalansı ise 76,0/100,000 olarak bildirilmiştir (11).

Farklı coğrafi bölgeler ve etnik kökenlerle yapılan çalışmalar, hastalığın küresel dağılımında farklılıklar olduğunu göstermiştir. Genellikle ekvatorдан uzaklaştıkça hastalık prevalansı artış gösterir. Avrupa ırkında yüksek sıklıkta görülürken, Sahra Altı Afrika ve Doğu Asya'nın ise en düşük prevalansa sahip bölgeleri oluşturduğu görülmüştür (7-9). Aynı şekilde endüstrileşmiş ülkelerde de sıklığının arttığı tespit edilmiş ve bu nedenlere bağlı olarak Hijyen Teorisi, D vitamini ile ilişkisi gibi hipotezler kurulmuştur (14,15).

2.1.2. Etiyoloji

Multiple skleroz, etiyolojisinde çevresel ve genetik faktörlerin birlikte rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır (3). Güneş ışığı, D vitamini, beslenme, obezite, sigara kullanımı ve Epstein–Barr virüs (EBV) enfeksiyonu etkinliği bilinen en önemli çevresel faktörleri oluşturur. Bu faktörlerden düşük D vitamini seviyelerine sahip olmak ve sigara kullanımı gibi etkenlerin ise hastalık aktivitesini ve seyrini de değiştirebileceği bilinir (15,16). Ekvatordan uzaklaştıkça azalan güneş ışığına bağlı olarak düşen D vitamini seviyeleri ile hastalık riskinin arttığı ilişkisi kurulmuştur (16,17). Sigara içme süresi ve yoğunluğu ile hastalık riskinin arttığı görülmüş ve sigara ile MS arasında doz bağımlı bir ilişki kurulmuştur (18). Kanada ve Danimarka popülasyonlarında yapılan çalışmada, MS vakalarındaki artışın sigara kullanımı alışkanlığının artışı ile korelasyon gösterdiği ve sigara kullanımının MS riskini yaklaşık olarak %50 oranında arttırdığı bildirilmiştir (19). EBV enfeksiyonu geçirmemiş bireylerin, MS için rölatif riskinin çok düşük olduğu bildirilmiş ve antikor seviyelerinin hastalık riski ile ilişkili olduğu görülmüştür. Anti- EBV antikor titresi yüksek kişilerde düşük olanlara kıyasla MS riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (20,21).

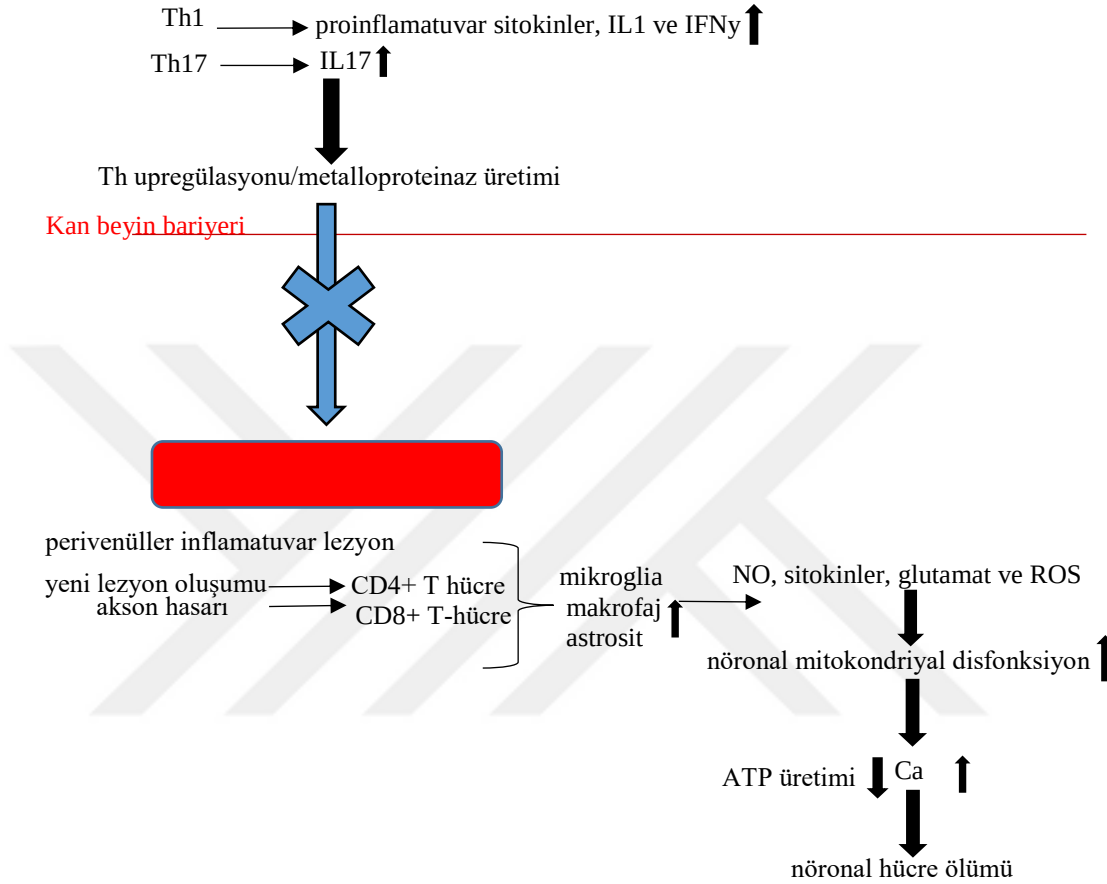
Multiple skleroz etiyolojisindeki genetik faktörlerin rolüne bakıldığında ise yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (genome-wide association studies: GWAS) ile birçok genetik lokusun MS’de rolü olduğu bildirilmiştir. MS ile en güçlü ilişkisi olduğu bilinen *Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC)*, 1970’lerde ilk bildirilen gen bölgesidir (22). Daha sonraki yıllarda, DR15 ve DQ6 ile DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0102 ve DQB2*0602 haplotipleri ile ilişkisi eklenmiştir (23). GWAS ve meta-analiz çalışmaları ile *MHC* dışında; *IL2RA*, *IL7RA*, *CD58*, *TYK2*, *STAT3* ve *TNFRSF1A* gibi gen bölgeleri ile de ilişkilendirilmiş durumdadır (24,25). Aynı aile içindeki diğer bireylerde tekrar görülme riski %20 olarak bildirilmiş ve akrabalık derecesi ile de ilişkilendirilmiş bir temelde olduğu düşünülmüştür (3). Kanada ve Birleşik Krallık’ta yapılan ikiz popülasyon çalışmalarında, monozigotik (%25) ikizlerde dizogitiklere (%5) göre daha yüksek konkordans saptanmış ve tüm bu bilgiler MS’deki ailesel kümelenme ve genetik yatkınlığın rolüne kanıt olarak sunulmuştur (26,27).

2.1.3. Patoloji

Multiple skleroz, nedeni henüz tam olarak aydınlatılamamış kompleks bir hastalıktır. Patogenezinde otoimmüitenin önemli bir yere sahip olduğu bilinse de yapılan çalışmalarda MS'in tek başına inflamatuvar kaynaklı olmadığı, aynı zamanda nörodejenerasyonun da hastalık temelinde etkili olduğu görülmüştür (2,28). İlk olarak Charcot tarafından periventriküler alan, pons ve spinal kordu da etkileyen bölgelerde meydana gelen 'skleroze plak' olarak tanımlanan MS, Th1 ve Th17 hücre aracılı bir hastalıktır. Antijenle ilk temas sonrası Th1 hücreleri tarafından proinflamatuvar sitokinler, interlökin (IL)-1 ve interferon (IFN) γ salınımı; Th17 hücreleri tarafından ise IL-17 salınımı gerçekleşir. Bu sitokinlerin salınımı, Th hücre upregülasyonu ve metalloproteinaz üretimi ile kan-beyin bariyerinin bozulmasına ve Th hücrelerin SSS'ne girişine yardımcı olur (28,29). Oligodendrosit hasarı ve demiyelinizasyon, bu inflamasyonun bir sonucu olarak ortaya çıkar ve hastalık evresi ilerledikçe artan geri dönüşsüz bir aksonal hasar meydana gelir (2).

Multiple skleroz immünopatogenezi, genetik veya çevresel tetikleyici faktörler sonucu aktive olan oto-reaktif T hücrelerinin başlattığı bir seri reaksiyon ile açıklanır. Karakteristik özelliği demiyelinizan plaklara yol açan perivenüler inflamatuvar lezyonlardır (30). Adaptif immünite, yabancı antijenlere karşı yanıt oluşturmak için T lenfositleri kullanır. Bu lenfositlerin SSS'e girişi sitokin ve kemokinlerin salınmasına yol açan inflamatuvar bir kaskadı tetikler (31,32). Yeni lezyon oluşumunun CD4⁺ T hücreleri tarafından başlatıldığı ancak akson hasarına CD8⁺ T hücrelerinin aracılık ettiği tahmin edilmektedir (28). SSS'de meydana gelen bu ilk doku hasarı; mikrogliya, makrofajlar ve astrositlerin aktivasyonu ile sonuçlanır. Aktive makrofajların tetiklediği nitrik oksit (NO), glutamat ve reaktif oksijen radikalleri (ROS) nöronal mitokondriyal disfonksiyona neden olur. Bozulmuş mitokondriyal aktivite ise azalan adenozin trifosfat (ATP) üretimi ve artan kalsiyum seviyeleri sonucu ile nöronal hücre ölümüne yol açar. Sonuç olarak bu oksidatif stres artışı; demiyelinizasyon, oligodendrositlerin apoptozu ve akson hasarına neden olarak MS patogenezine katkıda bulunur (33-35) (Şekil 1). Akut aktif lezyonlarda meydana gelen hasarlanmış miyelinlerin yıkım ürünleri makrofajlar tarafından infiltre edilirken; kronik lezyonlar, oligodendrosit kaybı nedeniyle inflamatuvar mediatörlere karşı savunmasız kalan

demiyelinize aksonlardan oluşur. Zamanla mikroglial hücreler azalırken, demiyelinizan hücreler astrositler tarafından doldurulmaya çalışılır ve bunun sonucu olarak Charcot'un tanımladığı glial skar oluşur (34).



Şekil 1: MS patogenezinin basamakları

2.1.3.1. Otoimmün ve otoinflamatuar hastalıklar

Otoimmün ve otoinflamatuar hastalıklar; yakın tarihlere kadar, bir uçta saf otoimmün diğer uçta ise saf otoinflamatuar hastalık grubu olarak birbirinden ayrılmasına rağmen son yıllarda klinik ve immünopatogenezi iç içe geçmiş geniş bir heterojen grup olarak kabul görmeye başlamıştır. Tetikleyici mekanizma tam olarak açıklanamamış olmakla beraber, iki hastalık grubu arasında değişken derecelerde benzerlik ve etkileşim mevcuttur (36-38).

Otoinflamatuar hastalıklar, doğal immünitenin doğrudan doku inflamasyonuna neden olduğu tekrarlayıcı atak ve remisyonlarla seyreder (39). Temel patogenezi,

patojen veya hasarlı hücreleri tanıyarak bunlara karşı hızlı ve uygun düzeyde savunma yanıtı oluşumundan sorumlu bir multiprotein kompleksi olan inflamazomların direkt veya indirekt aktivasyonudur. Bu protein kompleksine ait birimlerden; nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptör ailesi (NLR) hücre içinde, *Toll-like* reseptör ailesi (TLR) ise hücre yüzeyinde bulunan patojen tanıyıcı reseptörleri oluşturur (40-42). NLR'ler, proinflamatuvarlar tarafından aktive edildiğinde inflamasyon ve doğal immünitenin anahtar molekülü olan caspas-1 aktivasyonu ile IL-1 β ve IL-18'in aktif formlarına dönmesini tetikleyerek inflamatuvar hücre ölümüne yol açar (43).

Otoimmün hastalıklar ise doğal immünitenin adaptif immüniteyi tetiklemesi ile aktiflenen inflamatuvar süreç ve immün sistemin kendi dokularına karşı toleransının kaybıyla sonuçlanır. Otoimmün hastalıklar her ne kadar adaptif immünitenin aracılık ettiği hastalık grubu olarak kabul görse de, doğal immünite ve inflamazomların da hastalık mekanizmasında rol oynadığına dair giderek artan bir fikir birliği mevcuttur (36-38).

Yakın tarihlere kadar otoimmün hastalık grubunda sınıflandırılmış bir hastalık olan MS için de benzer şekilde, son yıllarda otoinflamatuvar süreçlerin etkinliğini gösteren kanıtlar sunulmaya başlamıştır (44). Atak ve remisyonlarla karakterize bir kliniğe sahip olan hastalığın akut evresindeki lezyonların gelişiminde immün sistemin rolü belirgindir. Progresyon sürecinde ise inflamatuvar lezyonlar olmaksızın klinik bulguların devam etmesi ve SSS'deki inflamasyon karakterinin değişimi, progresyon sürecinde etkin olan inflamatuvar mekanizmanın ataklardakinden farklı olduğu fikrini doğurmuştur (45,46). Sağlıklı kontroller ve ataklarla seyreden gruba kıyasla progresyon gösteren grupta IL-12, IL-18 ve CD80 ekspresyonun daha fazla olduğu ve Th1 aktivasyonunun daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca atak sırasında kullanılan adaptif immünite hedefli tedavilere progresyon sürecinde yanıt alınamaması, bu fikre kanıt olarak sunulmuştur (46,47). Bu bilgilere dayanarak progresyona neden olan mekanizmanın; ataklardan farklı olarak, kronikleşen bir doğal immünite yanıtı ile meydana geldiği öne sürülmektedir (45).

2.1.4. Klinik bulgular

Multiple skleroz kliniği, SSS hasarına bağlı olarak ortaya çıkan oldukça değişken bulgulardan oluşabilir. Hastaların büyük bir kısmında bu belirtiler atak ve iyileşme dönemleri ile seyreder. En sık görülen semptom tek taraflı duyuşal bozukluklardır ve vakaların çoğunda ilk klinik bulgu tek taraflı vizüel değişiklikler olabilir. Güçsüzlük, yorgunluk, duyuşal kayıplar, mesane problemleri, ataksi, diplopi, dizatri ve kognitif belirtiler de sık görülen bulgularıdır. Bunların dışında; daha az sıklıkta görülen nöbet, baş ağrısı, hareket bozuklukları, işitme kaybı, bilişsel ve ruh hali değişiklikleri de eşlik edebilen bulgular arasındadır (3,48).

2.1.5. Multiple skleroz klinik tipleri

Multiple skleroz, ABD Ulusal Multiple Skleroz Derneği tarafından ilk olarak 1996 yılında klinik bulgularına göre sınıflandırılmıştır. Bu klinik sınıflama; *relapsing remitting* MS (RRMS), primer progresif MS (PPMS), sekonder progresif MS (SPMS) ve progresif relapsing MS (PRMS) olmak üzere dört alt grupta toplanmıştır (48).

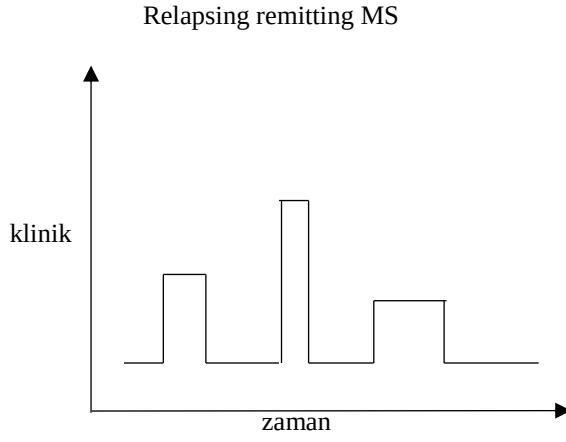
a) *Relapsing remitting* multiple skleroz (RRMS): Ataklar ve atakları izleyen iyileşme dönemlerinde hastalığın ilerlemediği epizotlardan oluşan klinik tipidir. En sık görülen formudur ve vakaların %70-80'lik gibi büyük bir kısmı RRMS formunda başlangıç gösterir (48).

b) *Primer progresif* multiple skleroz (PPMS): Hastalığın başlangıcından itibaren atak ve iyileşme dönemleri olmaksızın kötüleşme ile giden klinik tablodur. Giderek artan bir engellilik gözlenir. Vakaların yaklaşık olarak %15'i bu grubu oluşturur (48).

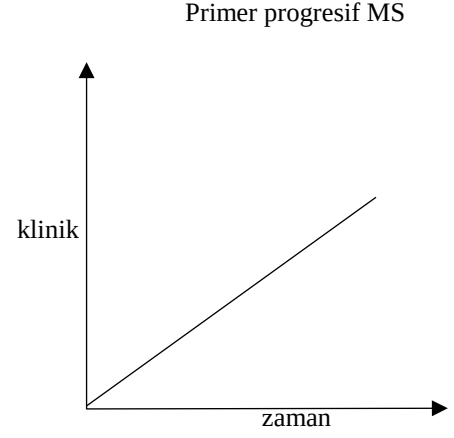
c) *Sekonder progresif* multiple skleroz (SPMS): Atak ve iyileşme epizotları ile başlayan klinik tablonun iyileşme dönemlerinin görülmediği ilerleyici nörolojik hasarla giden forma dönüştüğü grubu oluşturur (48).

d) *Progresif relapsing* multiple skleroz (PRMS): Başlangıçtan itibaren ilerleyici bir nörolojik hasar ve sonrasında buna eklenen akut atakların görüldüğü klinik gruptur. MS'in en nadir görülen formudur (48).

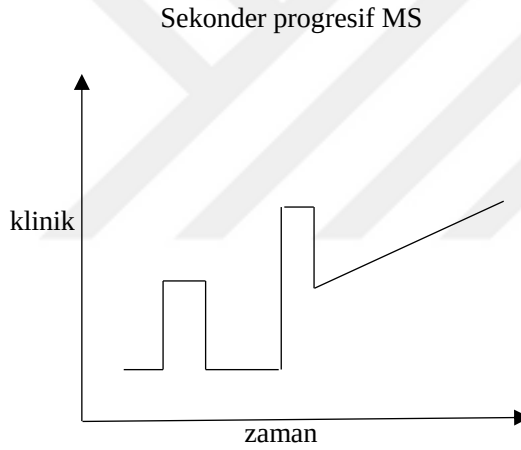
Multiple skleroz alt tiplerinin klinik seyri Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4 ve Şekil 5’ te gösterilmiştir.



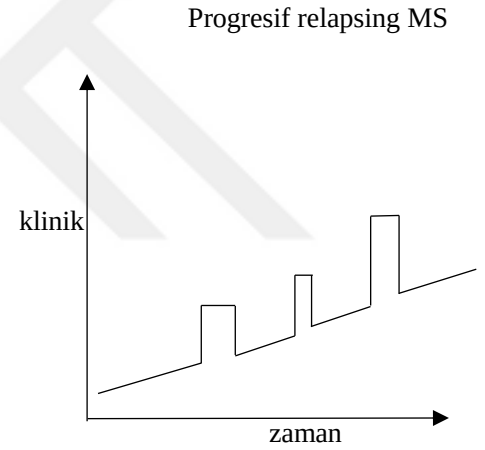
Şekil 2: Relapsing remitting MS klinik seyri.



Şekil 3: Primer progresif MS klinik seyri.



Şekil 4: Sekonder progresif MS klinik seyri.



Şekil 5: Progresif relapsing MS klinik seyri.

2.1.6. Tanı

Multiple skleroz tanısında; öykü, fizik muayene, manyetik rezonans (MR), beyin omurilik sıvısı (BOS) ve kandan yapılan tetkiklerden yararlanılır. Klinik belirtilerin sebebi olan ve MR’da görülen lezyonların, zaman (*Dissemination In Time*, DIT) ve alanda (*Dissemination In Space*, DIS) yayılımının gösterilmesi ve bu kliniğe sebep olabilecek diğer hastalıkların dışlanması ile tanı konulur (49). Tanıda, 2017 yılında revize edilmiş olan ve ağırlıklı olarak MR incelemesinin esas alındığı McDonald Kriterleri (Tablo 1) kullanılır (50).

Tablo 1: Multiple skleroz hastalığı tanısında kullanılan McDonald kriterleri (50).

Klinik Atak	Klinik Kanıtı Olan Lezyon Sayısı	Tanı İçin Gerekli Ek Veri
≥ 2 atak	≥ 2 lezyon	Ek veriye ihtiyaç yok
≥ 2 atak	1 lezyon ve başka bir yerleşimde daha önceki atağı düşündüren bulgu	Ek veriye ihtiyaç yok
≥ 2 atak	1 lezyon	MR'da lezyonların belirgin alanda yayılımı
1 atak	≥ 2 lezyon	MR'da lezyonların zamanda yayılımı veya BOS'ta spesifik oligoklonal bant varlığı
1 atak	1 lezyonun klinik kanıtı	MR'da lezyonların belirgin alanda yayılımı ve MR'da lezyonların zamanda yayılımı veya BOS'ta spesifik oligoklonal bant varlığı

2.1.7. Klinik değerlendirme ve genişletilmiş özürlülük durum ölçeği (EDSS)

Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği (Expanded Disability Status Scale: EDSS); piramidal sistem, serebral, serebellar, duyuşsal, vizüel, mental, bağırsak ve mesane sistemlerini içeren 8 fonksiyonel sistemin değerlendirildiği ve hastalık seyrinde ortaya çıkan nörolojik değişimi en iyi yansıtan ölçektir. 0 ile 10 arasında, puan arttıkça engellilik derecesinin arttığı bir puanlama sisteminden oluşur (51). 0-3 arasında skorum engelliliğin olmadığı veya minimal olduğunu gösterir ve yürümede engel yoktur. >3-6 arasında orta derece engellilik mevcuttur ancak hasta yardımsız yürüyebilir. 6'nın üzerinde ise hastanın 100 metrelik mesafeyi yürüyebilmesi için aralıklı veya tek taraflı sürekli desteğe ihtiyacı vardır (52).

2.1.8. Tedavi

Multiple skleroz tedavisi; ilaç tedavisi, kök hücre tedavisi, fizik tedavi olmak üzere multidisipliner bir yaklaşımdan oluşur. Hastalığın en sık başlangıç formu ataklarla seyreden RRMS olması nedeniyle; atak tedavisi, tedavi basamağının önemli bir kısmını oluşturur. Bu noktada ana hedef, semptomları kontrol altına alarak oluşacak sekeli önlemektir ve ön planda adaptif immüniteyi hedefleyen tedavi seçenekleri kullanılır (53). Atak tedavisinde daha fazla ilerleme kaydedilmesine rağmen, nörolojik

hasarın ilerleyici ve geri dönüşsüz olduğu hastalığın progresyon evresinde (SPMS) bu mevcut tedavilere yanıt oldukça kısıtlıdır. Çünkü progresyonun altında yatan mekanizma tam olarak açıklanabilmiş değildir (54). Zamanla artan kalıcı nörodejenerasyona bağlı olarak tedavi ihtiyacı ve mali yükün de artışı hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir (55). Bu noktada; etkin, yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç devam etmektedir.

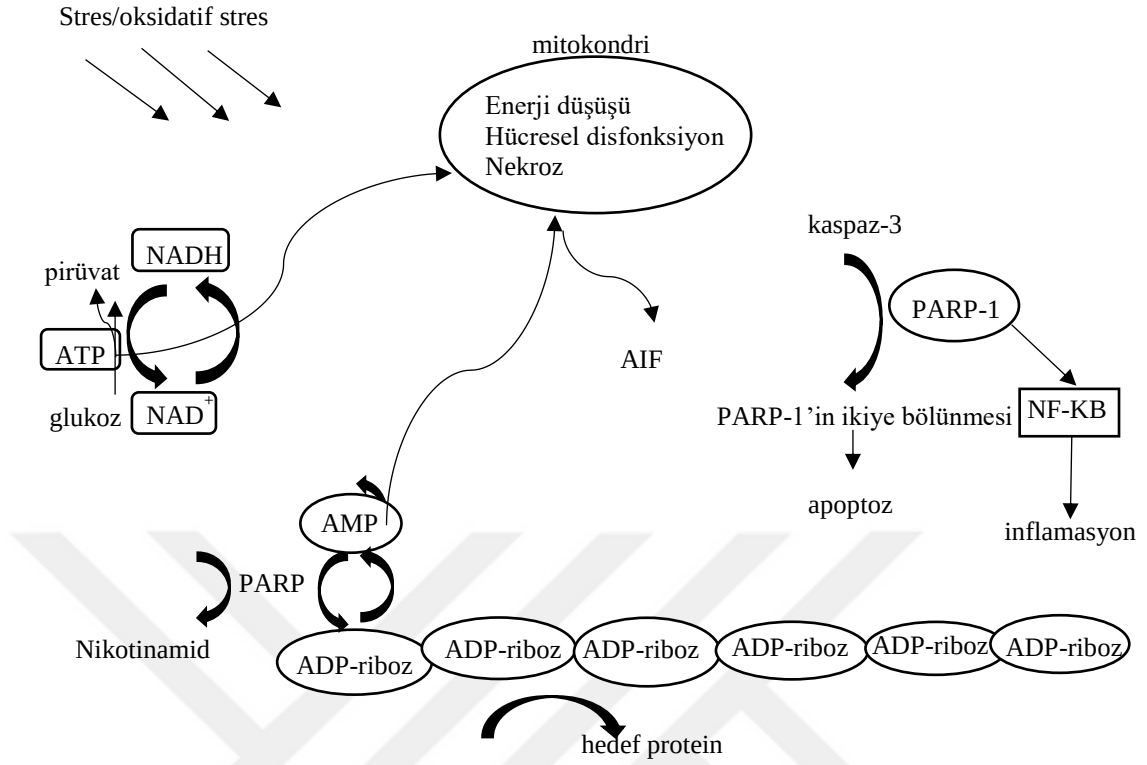
2.2. Poli Adenozin Difosfat-riboz Polimeraz (PARP) Ailesi ve PARP-1

Poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP); replikasyon, gen ekspresyonu, farklılaşma, hücre ölümü ve DNA onarımı gibi farklı hücresel süreçlerin yanı sıra inflamasyon ve immün cevaplarda da görev alan 17 üyeli bir enzim ailesidir (56). Bu enzimler; nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) substratından nikotin amid parçası koparıldıktan sonra kalan ADP-riboz birimlerinin uç uca eklenmesi ile oluşturulan poli(ADP-riboz) (PAR) polimerlerini, hedef proteinlere transfer ederek translasyon sonrası bir modifikasyon işlemi gerçekleştirir (57).

İlk tanımlanan ve ailenin prototip üyesi olan PARP-1, hücre PAR oluşumunun %80-90'ından sorumludur. PARP-1, serbest DNA uçları ile karşılaştığında katalitik olarak aktive olur ve DNA onarım enzimlerinin göçü için iskelet oluşturarak DNA hasar sensörü işlevi görür. Aktive olan PARP-1, kendi aktivitesini de otomatik olarak indükleyen büyük miktarlarda PAR üretir (56-58). Metabolik, oksidatif veya genotoksik stresleri takiben PAR üretimi ve yıkımı son derece hızlı süreçlerdir (59,60). PARP-1, düşük miktarlardaki hasar durumunda DNA onarım enzimi kaskadı ile etkileşime girerek hayatta kalmayı desteklerken, orta düzeylerdeki hasar durumunda kaspazlar tarafından iki parçaya bölünür ve onarılamayan hücreler apoptotik hücre ölümüne yönlendirilir. Bu noktada PARP-1, genom bütünlüğünün korunmasında anahtar bir faktör olmasına rağmen paradoks olarak hücre ölümünde de aktif olarak rol oynar. Onarılamayacak miktarlardaki DNA hasarı, büyük miktarda PAR üretimine neden olur ve bunun sonucunda enerji yetersizliğine bağlı nekroz veya apoptoz indükleyici faktöre (AIF) bağlı apoptoz yoluyla hücre ölümü gerçekleşir (58). PARP-1 aşırı aktivitesi, substratı olan hücresel NAD^+ havuzlarının tüketilmesine ve ATP sentezinin bozulmasına neden olur (61-63). Sonuç olarak, PARP-1 aşırı aktivitesi

hücre içi NAD⁺ ve ATP havuzlarını önemli ölçüde azaltarak enerji yetersizliğine bağlı hücre nekrozunu tetikler (64). Bunun yanı sıra; yüksek miktarlarda üretilen PAR, hidroliz ürünü olan adenozin monofosfat'ın (AMP) da artışına neden olur. AMP artışı, mitokondriyal depolarizasyonun bozulmasına neden olur ve mitokondriyal AIF salınımını tetikleyerek apoptozu indükler (65,66). İn-vivo astrosit hücreleri ile yapılan çalışmada; mitokondriyal membran geçirgenliği inhibisyonun, PARP-1 ile indüklenen AIF salınımını baskılayarak nöronal hücre ölümüne karşı direnç oluşturduğu gösterilmiştir (67).

Patojenler, hasarlı hücreler ve diğer stres faktörlerine karşı verilen ilk yanıt inflamasyondur. İnflamasyon sonucu çeşitli yolakların aktivasyonu ile adaptif immünite aktiflenir. Akut inflamasyon, başlangıçtaki hasar veren neden ve ölü hücrelerin ortadan kaldırılması ile sonuçlanan, doku iyileşmesinin gerçekleştiği koruyucu bir süreçtir. Başlatıcı faktör ortadan kaldırılamadığında rezolüsyonun gerçekleşmemesi inflamasyon ve hasar birikimi ile sonuçlanır. Bu uzun süreli, düşük seviyeli kronik inflamasyon; kanser, artrit, kolit, diyabet, ateroskleroz ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogenezi ve/veya klinik kötüleşmesi ile ilişkilendirilmiştir. Bu noktada PARP-1, NF-κB ve çeşitli transkripsiyon faktörleri'ni (TF) düzenleyerek inflamatuvar süreçlerde rol oynar (56). PARP-1 susturulmuş farelerde septik şoka direnç geliştiği keşfedilmiş ve PARP-1'in, NF-κB aktivasyonu ve nükleer sinyalizasyonunun uzaması üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. DNA onarımındaki görevi de düşünüldüğünde PARP-1, DNA onarım mekanizmaları ve inflamatuvar süreçleri birbirine bağlayan önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (68,69). Aynı şekilde PARP-1, oksidatif stres kaynaklı kronik inflamasyonun neden olduğu hasarda da aktiflenir ve bu mekanizma; iskemi reperfüzyon hasarı, felç, miyokard enfarktüsü ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli patolojik süreçlerin temelinde yer alır (70). Sonuç olarak PARP-1, inflamasyon-DNA hasar birikimi- hücre nekrozunun arttığı bu dejeneratif döngüde önemli bir yere sahiptir (56).



Şekil 6: PARP-1'in DNA hasar birikimi sonucu aktive olması ile apoptoz ve inflamatuvar süreçlerdeki fonksiyonları.

2.2.1. PARP-1'in nörodejenaratif hastalıklardaki rolü

Beyin, oksidatif strese oldukça duyarlı bir organdır ve oksidatif stres kaynaklı nörodejenaratif patolojilerin PARP-1 ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Literatürde bu ilişkinin araştırıldığı birçok çalışma mevcut olmakla birlikte PARP-1 rolünün gösterildiği ilk hastalıklardan biri inmedir (71-73). İnme nedeniyle ölen insanların beyinlerinde, peri-infarktüs alanları başta olmak üzere PARP-1 immünreaktivitesi gözlenmiş ve nükleer PARP-1 seviyelerinin nekroz derecesi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (74). Literatürde yapılan çalışmalarda, PARP-1 her ne kadar inme hastalığı ile ilişkilendirilse de in-vitro ve in-vivo birçok çalışma oksidatif-nitrozatif streste de rol oynadığını göstermiştir. Deneysel iskemi/reperfüzyon hasarı modellerinde, glutamatın PARP-1 aktivitesinde artış yaptığı gösterilmiş ve NO ile inkübe edilmiş rat beyinde doza bağlı şekilde artan PARP-1 aktivitesi tespit edilmiştir. PARP-1 inhibitörlerinin ise glutamat ve NO bileşiklerinin neden olduğu

beyin hasarına karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir (75,76). Aynı şekilde; travmatik beyin hasarı sonrası nöronal dokuda, nekroz çevresinde peroksinitrit üretimi ile birlikte PARP aktivitesinin arttığı ve bu aktivitenin travmadan sonra 30 dakika içinde başlayarak 3 güne kadar devam ettiği görülmüştür (77). Deneysel rat modellerinde ise PARP-1 inhibisyonunun, travmatik beyin hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (78,79).

Nörodejeneratif hastalıklarla ilişkisine bakıldığında; Alzheimer hastalığı, amiotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalarının ölüm sonrası beyin örneklerinde PARP-1 aktivasyonu gösterilmiştir (79-81). Parkinson hayvan modelinde, PARP-1 inhibisyonunun dopaminerjik nörodejenerasyonu engellediği ve klinik bulguları azalttığı gösterilmiştir (82,83). Bu bilgiler ışığında PARP-1, nörolojik hastalıklarda meydana gelen hasara karşı umut verici bir hedef olarak karşımıza çıkmaktadır (79,84-86).

2.2.2. Multiple skleroz’da PARP-1 rolü ve hedefi

Çeşitli nükleer süreçlerde etkili olduğu bilinen PARP-1’in, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde de rol oynadığı gösterilmiştir. PARP-1 tarafından düzenlendiği gösterilen genlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır ve bunların başında immün-modülatör proteinleri kodlayan genler gelmektedir (87). SSS’de T hücreler başta olmak üzere; mikroglia/makrofaj, astrosit ve oligodentrosit gibi birçok hücrenin aktivasyonuna neden olarak MS patogenezinde önemli bir rol oynayan *NF-kB* de bunlardan biridir (88). *NF-kB* aktive edici alt birimi p65 ile transkripsiyonel koaktivatörü arasındaki etkileşimin PARP-1 tarafından teşvikinin, mikrogliyal aktivasyon için gerekli olduğu gösterilmiştir (89). MS patogenezinde görevli immün hücrelerin aktivasyonunda *NF-kB*’nin oynadığı kilit rol düşünüldüğünde ise PARP aktivitesinin nöroimmün aktivasyondaki önemi daha iyi anlaşılabilir (87,90).

Aynı şekilde PARP-1’in; indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), kemokinler, sitokinler ve integrinler gibi temel nöroinflamatuvar araçların ekspresyonunu da düzenlediği gösterilmiştir (91). NO’nun süperoksit anyonu ile kendiliğinden birleşimi ile reaktif nitrojen ürünü peroksinitrit oluşur. Nörotoksik olan peroksinitrit, aynı zamanda PARP aktivatörü bir bileşiktir. MS’in deneysel hayvan modelinde (deneysel

otoimmün ensefalomyelit: DOE), spinal kordda artan peroksinitrit üretiminin PARP aktivasyonu ile nöroinflamasyona neden olduğu bilinir (87,92-95). Scott ve ark., PAR sentaz inhibitörlerinin DOE'de iNOS ve inflamatuvar infiltrasyonu azaltarak başlangıcı geciktirdiğini; aynı zamanda spesifik PARP inhibitörünün ise CD4+ T hücrelerini azaltarak spinal kordda lezyon gelişimi ve nörolojik skoru iyileştirdiğini göstermişlerdir (93,96). DOE ile yapılan başka bir çalışmada, lenf nodlarındaki T ve B hücre alanlarında önemli PAR aktivasyonunun olduğu gözlenirken; PARP-1 inhibitörlerinin ise DOE'li farelerin lenfosit kültürlerinde ve spinal kordda IL-2, IFN γ ve TNF α gibi Th1 sitokinlerinin transkripsiyonunu azaltarak semptomları iyileştirdiği gösterilmiştir (97). Farez ve ark. ise progresif DOE modelinde, PARP-1 inhibisyonunun immünizasyondan 20 gün sonra başlansa bile terapötik etkinliğe sahip olduğunu ve demiyelinizasyon ile akson hasarını azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada, hem SPMS hastalarının monositlerinde hem de sekonder progresif-DOE (SP-DOE) modelinde PARP-1 aktivasyonu artışı görülmüş ve PARP-1 aktivasyonunun progresyondan sorumlu olduğu fikri öne sürülmüştür (45). Monoklonal antikor olan natalizumab tedavisi alan ve hiç tedavi almamış MS hastalarını sağlıklı gönüllülerle karşılaştıran bir çalışmada, tedavi almamış hastaların; CD4+ T, CD8+ T ve B hücrelerinde PARP-1 ekspresyonunun arttığı görülmüş. Bu tedaviyi kısa süreli alanların ise T hücrelerinde PARP-1 ekspresyonunun azaldığı görülmüştür (98). Bu çalışma, MS'de PARP-1 ekspresyonunun önemini göstermiştir. Ayrıca Multiple Sklerozda Tedavi ve Araştırmaları Avrupa ve Amerika Komiteleri, bu çalışmaya dayanarak PARP-1 inhibitörlerinin MS'de yeni bir tedavi seçeneği olabileceğini öne sürmüştür (99).

2.3. Polimorfizm

Genomun, yaklaşık %99,9'u kişiler arası aynı iken sadece %0,1'lik kısım farklılık gösterir. Bu farklılık varyasyon olarak adlandırılır ve kişiler arası genetik çeşitliliğin temel nedenidir. Bir lokusun, iki veya daha fazla allel içermesi ve yaygın allelin %99 veya daha az sıklıkta olması polimorfizmin tanımıdır (100-102). Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ise DNA dizisinde tek baz çiftinin varyasyonunu içeren polimorfizmlerdir ve her 1000 bazdan birinde meydana gelirler. SNP'ler, en sık

genetik varyasyonu oluştururlar ve kişiler arası genetik çeşitliliğin de en basit temelidirler (100). SNP'nin genomdaki yerine bağlı olarak fenotip üzerinde farklı sonuçları olabilir. Birçoğu, genomun kodlanmayan bölgelerinde bulunur ve bu grup varyasyonların yakın tarihlere kadar fenotip üzerinde doğrudan bir etkisi olmadığı dşnlmştr. Kodlama bölgelerinde bulunan SNP'ler ise proteinlerin yapısını veya işlevini değiştirerek monogenik hastalıkların nedeni olabilirler ve hastalık yatkınlığı oluşturanlar, risk değerlendirilmesinde kullanılabilirler. Ayrıca ilaç metabolizmasında yer alan bir proteinin primer yapısını değiştirmesi durumunda farmakogenetik analizler için de hedef oluşturabilirler (103). Genom boyunca bulunan SNP'lerin; hastalar ve normal bireyler arasındaki basit bir karşılaştırması, hastalığa yatkınlıktan sorumlu lokusların belirlenmesi için bir yöntem sağlayabilir. Böylece SNP'lerin, genetik hastalıkların bağlantı ve ilişki çalışmalarında kullanılması ile hastalığa yatkınlık yaratan genler belirlenebilir ve ilgili proteinlerden yeni terapötik hedefler elde edilebilir (104,105).

SNP'ler; genom boyunca intronik, ekzonik, 3' veya 5' kodlanmayan bölgelerde (UTR) ya da promotor bölgelerde bulunabilirler. İntronlar kodlamayan nükleotid sekanslarıdır. Geçmiş alışmalar her ne kadar genomun kodlanan bölgelerine yoğunlaşmış olsa da günümüzde kodlanmayan bölgelerin de farklı yollarla ekspresyon üzerinde değişiklik yapabileceği bilinmektedir (106). 3'UTR'ler, mikro ribonükleik asit (miRNA) bağlanma bölgeleridir. Bu bölgelere bağlanan miRNA'lar, protein-mRNA etkileşimi ile gen ekspresyonunu susturabilir veya poliadenilasyon yolu ile ekspresyon düzeyi üzerinde değişiklik meydana getirebilirler. 3'UTR bölgelerinde meydana gelen polimorfizmler, miRNA bağlanma bölgesi oluşturarak veya var olan bağlanma bölgesini yok ederek ekspresyon düzeyini etkileyebilirler (107,108). Bir diğer kodlanmayan bölge olan 5'UTR'ler ise mRNA stabilitesini sağlayarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynarlar. Bu bölgelerde meydana gelen polimorfizmler de TF bağlanma bölgesi değişikliği ile transkripsiyonel düzenlenmeyi etkileyerek ekspresyonu değiştirebilirler (108-111).

Genetik analizlerde kullanılan birçok farklı yöntem mevcuttur. Popüler olarak kullanılan yöntemlerden biri polimeraz zincir reaksiyonu- restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizm (PCR-RFLP) metodudur (112). Bu metod, SNP'lerin saptanmasında kullanılan hassasiyeti yüksek bir yöntemdir (112,113). Yöntemin ilk

adımı olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) basamağı, varyasyonu içeren bir fragmanın amplifikasyonudur ve bu basamakta DNA in-vitro olarak çoğaltılır. Bunu, amplifiye edilmiş parçanın uygun bir restriksiyon enzimi ile işleme tabi tutulması izler. Yöntem, restriksiyon endonükleazların çift iplikli DNA'yı özel tanıma bölgelerinden kesmesi esasına dayanmaktadır (112).

Varyasyonu içeren bölge dizisine spesifik şekilde karşılık gelen, 16-28 baz dizisi uzunluğunda oligonükleotidden oluşan primerlerin sınırladığı DNA bölgesi çoğaltılarak başlanır. İlk aşama, çift zincirli hedef DNA'nın 95-98°C'de denatürasyonudur. İkinci aşama, sentetik oligonükleotidlerden oluşan primerlerin şablon DNA'ya bağlanmasıdır (annealing). Üçüncü aşama, serbest 3' uçlarını kullanarak şablon zincirin tamamlayıcı kopyasını sentezleyen ve DNA polimeraz tarafından gerçekleştirilen uzama aşamasıdır. Bu aşamada hedef DNA iki katına çıkarılır ve her döngüde katlanarak arttırılır. 20-25 siklustan sonra hedef DNA bir milyon katına çıkar (114). Sonraki aşama; çift sarmallı DNA'yı yalnızca tanıma bölgelerinden kesen, diziye özgü restriksiyon endonükleazlar ile gerçekleştirilen enzim kesiminden oluşur. Nükleotid değişimini içeren ve içermeyen alleller, enzim kesimi sonrasında farklı uzunluklarda DNA fragmanları oluşturur ve elektroforetik tekniklerle ayrılabilirler. Etidyum bromür gibi işaretleyiciler, DNA'nın negatif bağları arasına girerek floresan etkisi ile UV altında DNA'nın görselleştirilmesini sağlar. Jel elektroforezde negatiften pozitif kutba gerçekleşen akım ile DNA fragmanları, bant boyu büyüklüğüne göre ayrılarak genotipleme yapılır (115).

2.3.1. *PARP-1* gen polimorfizmleri

PARP-1 geni, 1q42.12 kromozom bölgesinde bulunur (116). 23 ekzondan oluşur ve 1014 amino asitten oluşan, 116 kDa'luk bir protein sentezler (117). DNA hasarı ve otoimmün yolaklarla ilişkisi olduğu bilinen bir nükleer enzim olması nedeniyle; özellikle kanser çalışmalarında, hastalık patogenezi ile ilişkisi sıkça araştırılmıştır (118).

Kromozom 1: 226367601 bölgesinde bulunan rs1136410 (Val762Ala), *PARP-1* geninin en çok araştırılan SNP'lerinden biridir. 762. kodonda, T nükleotidinin C nükleotidine değişimi ile valin amino asidinin alanin amino asidine dönüşümü sonucu,

protein fonksiyonunu değiştiren yanlış anlamlı (missense) bir varyanttır. 17. ekzonda bulunan bu değişim, Cottet ve ark. tarafından tanımlanmıştır (119). 762. kodon; PARP-1 proteinin katalitik alanında bulunur ve yapılan çalışmalarda V762A dnüşümünün, PARP-1 enzimatik aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (120-122). Bu varyantın; prostat kanseri, tiroid karsinomu, sistemik lupus eritematozus ve Alzheimer dahil olmak üzere, çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (120,123-125).

rs7527192 (G1672A), Kromozom 1: 226408378 bölgesinde bulunur. *PARP-1*'in, 5'UTR ucunda bulunan promotör bölge varyantlarından biridir. C nükleotidinin T nükleotidine dnüşümü ile oluşur. *PARP-1* promotör bölgesi, CCAAT/TATA kutusu ve ETS1 gibi birçok TF bağlanma bölgesi içerir (126,127). ETS1 aktivasyonunun, PARP-1 ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir (128). SPI, AP-1 gibi TF bağlanma bölgelerinin kaybının ise aktiviteyi azalttığı görölmüştür (129). Ayrıca bu bölge, polimorfik tekrar dizilerinden oluşur ve varyasyonlarının PARP-1 aktivitesini değiştirebileceği gösterilmiştir (127,130,131) Infante ve ark. yaptıkları çalışmada bu varyantın, Parkinson'da geç başlangıç yaşı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (132).

Kromozom 1: 226360853 bölgesinde bulunan rs8679 ise T nükleotidinin C nükleotidine dnüşümü sonucu oluşur ve miRNA bağlanma bölgesini içeren 3'UTR polimorfizmidir. miRNA'lar, mRNA transkriptleri ile komplementer oluşturarak protein ekspresyonunu negatif yönde regüle ederler. Bu bölgede meydana gelecek varyasyonların, bir miRNA bağlanma alanı yaratabilmesi ya da bu alanı tahrip edebilmesi nedeniyle PARP-1 ekspresyon seviyesini değiştirebileceği düşünölmüştür (133-135). miRNA bağlanma alanı polimorfizmlerinin, bu mekanizma nedeniyle hastalık patogenezi ile ilişkili olabileceği ve prognostik faktör olarak kullanılabileceği öne sürölmüştür (134).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

Çalışmaya, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji A.D. tarafından tanısı konulan ve takip edilen, 38 erkek ve 85 kadın olmak üzere 123 MS hastası dahil edildi. MS tanısı, 2017 yılında revize edilmiş McDonald kriterlerine göre Nöroloji A.D. tarafından konuldu. Başka herhangi bir nörodejeneratif hastalık öyküsü, iskemik hasar veya otoimmün hastalık öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Vakaların; yaş, cinsiyet, klinik grup bilgileri ve EDSS skoru kaydedildi. Tüm hastalar araştırma ile ilgili bilgilendirildi ve onam formu imzalatıldı. Çalışmaya katılmayı kabul edenlerden rutin kontrolleri sırasında kan alınarak *PARP-1* geni rs1136410, rs7527192 ve rs8679 polimorfizmlerinin belirlenmesinde kullanıldı. Çalışmalar, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.'da gerçekleştirildi.

3.2. Kontrol Grubu

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hastanesi'ne rutin kontrolleri için başvuran, herhangi bir otoimmün ve nörodejenaratif hastalığı olmayan, 71 erkek ve 97 kadından oluşan 168 sağlıklı birey kontrol grubuna dahil edildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden bireylerden alınan kan örnekleri; *PARP-1* geni rs1136410, rs7527192 ve rs8679 polimorfizmleri belirlenmesinde kullanıldı. Çalışmalar, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.'da gerçekleştirildi.

3.3. Metod

3.3.1. İn-slico analizler

3.3.1.1. Polimorfizm seçimi

PARP-1 genine ait polimorfizmler, NCBI-dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) ve Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>) veri tabanları kullanılarak elde edildi. Bu polimorfizmlerden; ekzonik ve UTR bölge varyantları, minör allel frekansı (MAF) $>0,14$ olacak şekilde filtrelenerek ileri analizler için seçildi. *PAPR-1* geninin kodladığı protein dizisi ve polimorfizm erişim numaraları (rsID) da aynı şekilde NCBI-dbSNP ve Ensembl veri tabanlarından elde edildi.

3.3.1.2. Protein düzeyi ve fonksiyonu üzerine muhtemel etkisi olan polimorfizmlerin belirlenmesi

Hasar verici SNP'lerin belirlenmesinde, çevrimiçi hizmet veren, SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*) (https://sift.bii.a-star.edu.sg/www/SIFT_dbSNP.html) ve PolyPhen-2 (*Polymorphism Phenotyping v2*) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) yazılım programları kullanıldı.

SIFT, dizi homolojisi ve amino asit fiziksel özelliklerine dayanarak amino asit değişiminin protein fonksiyonunu etkileyip etkilemediğini tahmin etmek için tasarlanmış bir çevrimiçi veri tabanıdır. Bu programdaki cutoff değeri $\geq 0,05$ tolerans indeksidir (136). Amino asit değişiminin $<0,05$ değere sahip olması hasar verici/toleranssız olarak öngörülürken, $>0,05$ değere sahip olması ise tolere edilebilir şeklinde öngörülmektedir (137,138).

PolyPhen-2 ise dizi karakterizasyonuna bağlı karşılaştırmalar kullanarak, amino asit değişiminin protein yapısı ve işlevi üzerindeki olası etkisini tahmin etmektedir. Bu program, üç boyutlu yapısı bilinen protein ile amino asit değişim bölgesinin özelliğini temel alarak, skor hesaplaması yapar. PolyPhen skoru (PSIC skoru), her bir bölgedeki değişim ve bunlar arasındaki farklılık için hesaplanmaktadır. Bu değişimler arasındaki skor farklılığının yüksek olması, amino asit değişiminin fonksiyonel

etkisinin daha yüksek olabileceği anlamını taşımaktadır (138). Sonuçlar, hasar verici ya da tehlikesiz şeklinde değerlendirilir (138,139).

Bunlar dışında miRSNP db (<https://ccb-compute.cs.uni-saarland.de/mirsnps>) ise miRNA-mRNA bağlanma bölge etkinliğini tahmin etmekte kullanılan çevrimiçi veri tabanıdır. 3'UTR bölge polimorfizmlerinin rsID'leri kullanılarak tarama yapılır. Bu polimorfizmlerin, bir miRNA bağlanma bölgesi yaratma/tahrip etme ya da miRNA bağlanma etkisini arttırıp/azaltmasını öngörmeye kullanılır (140).

rSNPBase 3.0' (<http://rsnp3.psych.ac.cn/datacontent.do>) ise gen düzenleyici bölgeleri ile hedef genler arasındaki ilişkileri tahmin etmekte kullanılan bir çevrimiçi veri tabanıdır. Aynı şekilde, rsID numaraları kullanılarak tarama yapılır. Bilinen polimorfizmlerle etkileşimi olabilecek TF'leri hakkında veri elde edilmesinde kullanılır (141).

Bu çevrimiçi databazlardan elde edilen veri sonuçları ile rs1136410 missense polimorfizmi, rs7527192 promotör bölge polimorfizmi ve rs8679 3'UTR polimorfizmi seçildi.

3.3.1.3. Primer tasarımı ve restriksiyon enzim seçimi

Seçilen her polimorfizm için NCBI-dbSNP veri tabanında rsID numarası ile tarama yapılarak dizi bilgisi elde edildi. Elde edilen dizi bilgilerinden; varyantları içeren hedef bölgelerin amplifikasyonu için kullanılacak primerler, Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) ve PerlPrimer gibi uygulamalar kullanılarak tasarlandı. Komplementer baz eşleşmesi içermeyen, Tm ve %GC oranı uygun olacak şekilde bölgeye spesifik primerler seçildi. Tasarlanan primerler online hesaplayıcı OligoCalc (Oligonucleotide Properties Calculator-<http://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html>) ile kontrol edildi. İn-slico PCR ile (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>) amplifikasyonun spesifikliği kontrol edildi. Yöntemin ikinci basamağı olan restriksiyon enzim kesimi için kullanılacak olan enzimlerin seçimi, NEB Cutter (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2>) aracılığıyla gerçekleştirildi.

3.3.2. Periferik kandan DNA izolasyonu

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden alınan kan örneklerinden E.Z.N.A® Blood DNA İzolasyon Kiti kullanılarak genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. 1,5 ml'lik tüplere konan 200 µl kan üzerine 25 µl proteinaz K eklenerek 15 sn vortekslendikten sonra 70°C'ye ayarlanan ısıtıcı blokta 20 dk inkübe edildi. Süre sonunda inkübatörden çıkarılan tüpler üzerine 210 µl absolute etanol alkol eklenerek 55 sn vortekslendi ve sonrasında 2 ml'lik spin kolona aktarıldı. 11.000 RPM'de 1 dk boyunca santrifüj edildi, alttaki tüp atılarak yeni tüp kondu ve spin kolon üzerine 500 µl Wash Buffer eklendi. Santrifüj tekrarlandıktan sonra 600 µl Wash Buffer'la yıkama aşaması tekrarlandı. Spin kolon altında kalan kısım dökülerek santrifüj tekrarlandı ve 70°C'de önceden inkübe edilmiş Elution Buffer'dan 150 µl eklenerek son santrifüj yapıldı. Spin kolon atıldıktan sonra altta kalan DNA yeni tüpe aktarıldı. Yaklaşık olarak 40-60 ng/µl konsantrasyonda 200 µl DNA elde edildi.

3.3.3. PCR İle amplifikasyon

3.3.3.1. *PARP-1* geni rs1136410 (V762A) polimorfizmi

Hasta ve kontrol grubunda Kromozom 1: 226367601 bölgesinde T nükleotidinin C nükleotidine değişimi sonucu oluşan rs1136410 polimorfizmi çalışıldı. İn-slico analizlerle tasarlanan 5'-GTACGAGAGGAAAGACAGTTCT-3' (F) ve 5'-CCTGACCCTGTTACCTTAATGT-3' (R) primer çifti kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirildi (Sentebiolab Biyoteknoloji). Her bir örnek için; 20-100 ng DNA, 100µM dNTP, 20 pmol primerler, 3µl 10x Taq Buffer, 1 µL MgCl₂ (1,0 mmol/L, Thermo S.) ve 2 unit Taq DNA Polimeraz (Atlas Biyoteknoloji) ile 25 µl toplam hacimde PCR miksi oluşturularak "the MWG primus thermal cycler-Primus 96 PCR system" cihazı ile 95°C'de 3 dk'lık ilk denatürasyonu takiben 35 döngü halinde; 95°C'de 1 dk denatürasyon, 55°C'de 1 dk bağlanma ve 72°C'de 70 sn uzama ve döngüden sonra 72°C'de 10 dk uzama sağlandı; 388 bp'lik PCR ürünü elde edildi. Amplifiye edilen ürünler, %2'lik agaroz jelde koşturularak bant boyları görüntülendi.

3.3.3.2. *PARP-1* geni rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

Kromozom 1: 226408378 bölgesinde bulunan C nükleotidinin T nükleotidine değişimi ile oluşan rs7527192 polimorfizmi, hasta ve kontrol grubunda çalışıldı. İn-slico analizlerle tasarlanan 5'-AGTAGCTCTTTGGAGGACCC-3' (F) ve 5'-ACTATATTCCCGAGGCGGGG-3' (R) primer çifti kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirildi (Sentebiolab Biyoteknoloji). Her bir örnek için; 20-100 ng DNA, 100uM dNTP, 20 pmol primerler, 3µl 10x Taq Buffer, 1,5 µL MgCl₂ (1,0 mmol/L, Thermo S.), 1 µL DMSO ve 2 unit Taq DNA Polimeraz (Atlas Biyoteknoloji) ile 25 µl toplam hacimde PCR miksi oluşturularak “the MWG primus thermal cycler-Primus 96 PCR system” cihazı ile 95°C’de 3 dk’lık ilk denatürasyonu takiben 30 döngü halinde; 95°C’de 1 dk denatürasyon, 62°C’de 1 dk bağlanma ve 72°C’de 70 sn uzama ve döngüden sonra 72°C’de 10 dk uzama sağlandı; 457 bp’lik PCR ürünü elde edildi. Amplifiye edilen ürünler, %2’lik agaroz jelde koşturularak bant boyları görüntülendi.

3.3.3.3. *PARP-1* geni rs8679 polimorfizmi

Kromozom 1: 226360853 bölgesinde bulunan T nükleotidinin C nükleotidine değişimi ile oluşan rs8679 polimorfizmi, hasta ve kontrol grubunda çalışıldı. İn-slico analizlerle tasarlanan 5'-GAGCTTTCCTTCTCCAGGTA-3' (F) ve 5'-TATTTGCTGCCTGGCACGTT-3' (R) primer çifti kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirildi (Sentebiolab Biyoteknoloji). Her bir örnek için; 20-100 ng DNA, 100uM dNTP, 20 pmol primerler, 3µl 10x Taq Buffer, 2 µL MgCl₂ (1,0 mmol/L, Thermo S.), 1 µL DMSO ve 2 unit Taq DNA Polimeraz (Atlas Biyoteknoloji) ile 25 µl toplam hacimde PCR miksi oluşturularak “the MWG primus thermal cycler-Primus 96 PCR system” cihazı ile 95°C’de 3 dk’lık ilk denatürasyonu takiben 35 döngü halinde; 95°C’de 1 dk denatürasyon, 62°C’de 1 dk bağlanma ve 72°C’de 1 dk uzama ve döngüden sonra 72°C’de 10 dk uzama sağlandı; 318 bp’lik PCR ürünü elde edildi. Amplifiye edilen ürünler, %2’lik agaroz jelde koşturularak bant boyları görüntülendi.

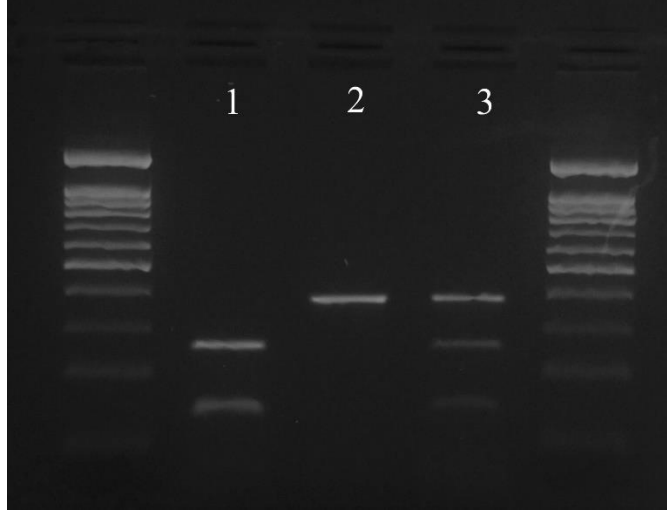
3.3.4. Jel hazırlanması ve jel elektroforezde görüntüleme

Tampon çözelti hazırlamak için 10X Tris-Borat-EDTA (TBE) (Hibrogen) stok solüsyonundan 100 ml'si, 900 ml distile suyla seyreltilerek 1X TBE elde edildi. PCR ürünlerinin görüntülenmesinde %2'lik, enzim kesimi sonrası ürünlerin görüntülenmesinde %3'lük konsantrasyonda olacak şekilde tampon çözeltiye agar eklenerek mikrodalga fırında 80°C'de ısıtıldı. Karışımın 60°C'ye kadar soğuması beklenerek % 7'lik konsantrasyonda olacak şekilde etidyum bromid (SNP Biyoteknoloji, lot: 2102S3) eklendi. Jel kabına aktarılarak taraklar yerleştirildi ve oda ısısında donması sağlandı. Jel donduktan sonra taraklar çıkarıldı. PCR sonrası ürünlerin görüntülenmesinde her örnekten 5 µL alındı ve daha önceden 5 kat distile su ile sulandırılarak 1X olarak hazırlanmış jel yükleme solüsyonundan (SNP Biyoteknoloji, lot: 2103S1) 5 µL ile karıştırıldı. Enzim kesimi sonrası için ise her örnek 15 µL jel yükleme solüsyonu ile karıştırılarak kuyucuklara yükleme yapıldı. Jel tankında (Blue marine serva 200) 120 mV güç kaynağı ile 40 dakika yürütülen örnekler, jel görüntüleme cihazı ile (SYNGENE, GeneGenius Bio Imaging System) görüntülendi.

3.3.5. Değerlendirme

3.3.5.1. *PARP-1* geni rs1136410 (V762A) polimorfizmi

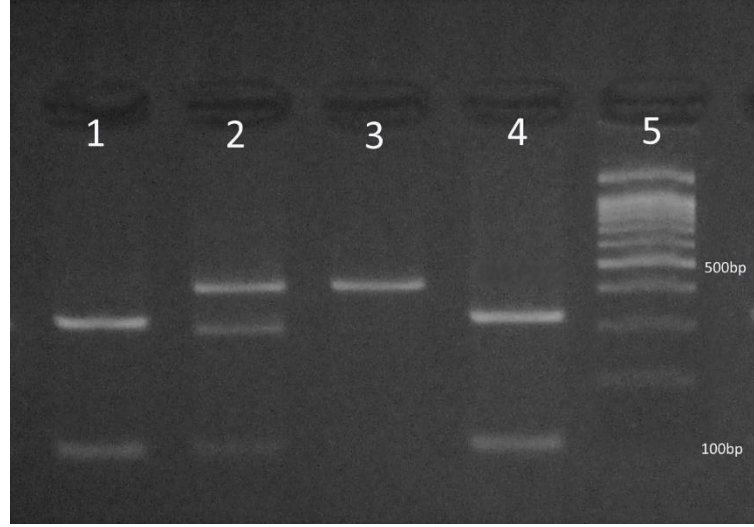
PCR sonrası elde edilen 388 bp uzunluğundaki amplifikasyon ürünü, %2'lik jel elektroforezi ile görüntülendi. Elde edilen PCR ürünü, in-slico analizlerle belirlenen 4 ünite SsiI (AciI) (Thermo Scientific) restriksiyon enzimi ile 37°C' lik kuru etüvde 16 saat inkübe edildi. Enzim kesimi sonrası %3'lük agaroz jelde 120 mV güç ile yaklaşık 1 saat yürütülerek T alleli için 388, C alleli için 253 ve 135 bp boylarında bantlar elde edildi (Şekil 7).



Şekil 7: *PARP-1* rs1136410 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 100 bp'lik DNA belirtecinin yanındaki 1.no'lu örnek CC, 2 no'lu örnek TT, 3 no'lu örnek TC genotipindedir.

3.3.5.2. *PARP-1* geni rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

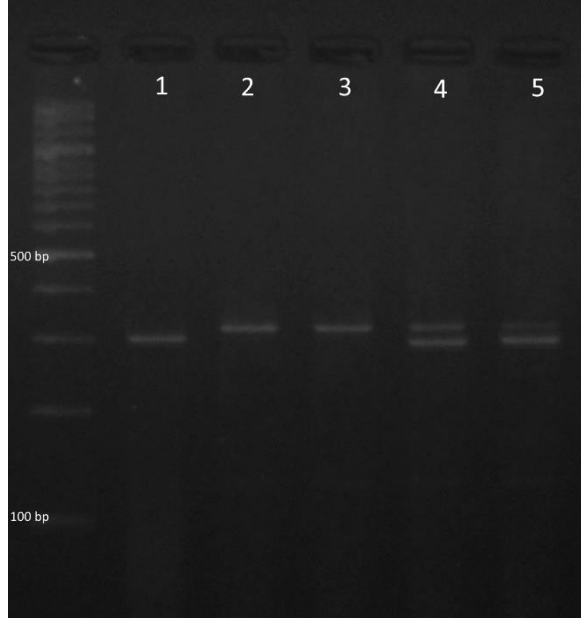
PCR sonrası elde edilen 457 bp uzunluğundaki amplifikasyon ürünü, %2'lik jel elektroforezi ile görüntülendi. Elde edilen PCR ürünü, in-silico analizlerle belirlenen 4 ünite Bsh1236I (BstUI) (Thermo Scientific) restriksiyon enzimi ile 37°C' lik kuru etüvde 16 saat inkübe edildi. Enzim kesimi sonrası %3'lük agaroz jelde 120 mV güç ile yaklaşık 1 saat yürütülerek T alleli için 457, C alleli için 332 ve 127 bp boylarında bantlar elde edildi (Şekil 8).



Şekil 8: *PARP-1* rs7527192 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 5. kuyucuktaki 100 bp’lik DNA belirtecinin solunda bulunan 1 ve 4 no’lu örnek CC, 2 no’lu örnek CT, 3 no’lu örnek TT genotipindedir.

3.3.5.3. *PARP-1* geni rs8679 polimorfizmi

PCR sonrası elde edilen 318 bp uzunluğundaki amplifikasyon ürünü, %2’lik jel elektroforezi ile görüntülendi. Elde edilen PCR ürünü, in-slico analizlerle belirlenen 4 ünite Bst1107I (BstZ17I) (Thermo Scientific) restriksiyon enzimi ile 37°C’ lik kuru etüvde 16 saat inkübe edildi. Enzim kesimi sonrası %3’lük agaroz jelde 120 mV güç ile yaklaşık 1 saat yürütülerek T alleli için 298 ve 20 bp, C alleli için 318 bp boylarında bantlar elde edildi (Şekil 9).



Şekil 9: PARP-1 rs8679 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 100 bp'lik DNA belirtecinin yanındaki 1no'lu örnek TT, 2 ve 3 no'lu örnek CC, 4 ve 5 no'lu örnek TC genotipindedir.

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin (yaş) normal dağılıma uygunlukları ShapiroWilk testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortanca, kategorik yapıdaki veriler (cinsiyet, EDSS skoru, genotip ve allel frekansları) için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Sayısal değişkenler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Polimorfizmlerin, vaka-kontrol arasındaki frekans dağılımları χ^2 (kikare) testi kullanılarak karşılaştırıldı. Analizler dominant ve resesif kalıtım modelleri kullanılarak ayrı ayrı yapılmıştır. Dominant etki minör allele göre tanımlanmıştır. Dominant kalıtım modeline göre karşılaştırmada, yabancı allele açısından homozigot bireyler minör allel taşıyıcıları ile karşılaştırıldı. Resesif kalıtım modeline göre ise minör allel açısından homozigot bireyler yabancı allele taşıyıcıları ile karşılaştırıldı. Risk faktörlerinin belirlenmesi için Lojistik Regresyon analizi yapıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Grubu Özellikleri

Çalışmaya, yaş ortalaması $40,21 \pm 11,504$ olarak saptanan 38 (30,9%) erkek ve 85 (69,1%) kadından oluşan, 123 MS hastası dahil edildi. Kontrol grubu ise yaş ortalaması $38,65 \pm 11,015$ olarak saptanan 71 (42,2%) erkek ve 97 (57,8%) kadından oluşan, 168 sağlıklı bireyden oluşturuldu. İki grup arasında cinsiyet ve yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$; Tablo2). Tüm polimorfizmlerin Hardy-Weinberg eşitliğine uygunluğu tespit edildi ($p > 0,05$).

Hasta grubu klinik alt gruplarına bakıldığında 96'sının RRMS grubunda, 20'sinin SPMS grubunda, 7'sinin ise PPMS grubunda olduğu saptandı.

EDSS skoru; ≤ 3 : engelliliğin olmadığı, $>3-6$: engelliliğin olduğu ancak yardımsız yürümenin mümkün olduğu ve ≥ 6 yürümede yardıma ihtiyaç olması nedeniyle üç grup altında incelendi. Hastalar EDSS skoruna göre ≤ 3 , $>3-6$, ≥ 6 olacak şekilde 3 grupta sınıflandırıldı. Çalışma grubunun 98'inin EDSS skoru ≤ 3 , 10'unun EDSS skoru $>3-6$ ve 15'inin EDSS skoru ≥ 6 olduğu tespit edildi.

Tablo 2: Hasta ve kontrol grubuna ait demografik veriler

Demografik Bilgiler		
Yaş ortalaması	Ortalama (standart sapma)	p-değeri
MS Hastaları	40,21 ±11,504	(p>0,05)
Sağlıklı Kontroller	38,65 ±11,015	
N		
Cinsiyet		
MS Hastaları	123	(p>0,05)
(Kadın/Erkek)	(85/38)	
Sağlıklı Kontroller	168	
(Kadın/Erkek)	(97/71)	
MS Klinik Grupları		
RRMS	96	
SPMS	20	
PPMS	7	
EDSS		
≤ 3	98	
> 3-6	10	
≥ 6	15	

4.2. İn-Slico Analiz Verileri

NCBI-dbSNP veri tabanı tarandığında *PARP-1* geninde toplamda 18,875 SNP bulunduğu tespit edildi. Ensembl veri tabanında ise toplamda 15,421 SNP tespit edildi. NCBI-dbSNP'te MAF 0,14-0,4 olacak şekilde filtreleme yapıldıktan sonra kalan 248 SNP değerlendirildi. Bunlardan 23'ünün missense varyant olduğu görüldü. Farklı rsID'ler ile sıralanan aynı polimorfizmler dışandıktan sonra 3 SNP elde edildi. SIFT veri tabanında bu polimorfizmlerin hepsinin tolere edilebilir olduğu görüldü. PolyPhen-2 veri tabanında yapılan taramada ise muhtemel hasar verici olduğu tespit edilen rs1136410 polimorfizmi çalışma için seçildi.

Bu SNP'lerden, UTR bölge varyantları değerlendirildiğinde 6'sının promotör bölgede olduğu tespit edildi. Elde edilen bu 6 adet ptomotör bölge varyantları, rSNPBase 3.0' veri tabanı kullanılarak değerlendirildiğinde, 5'inin TF bağlanma bölgesi içerdiği görüldü. Literatür taraması yapıldığında ise Türk popülasyonunda yapılan çalışmada otoimmün bir hastalık olan Hashimoto tiroiditi ile ilişkili bulunmuş ve meme kanserinde yapılan bir çalışmada *PARP-1* ekspresyonu ile ilişkisi gösterilmiş olan rs7527192 promotör bölge varyantı çalışma için seçildi.

Aynı şekilde Ensembl veri tabanında da MAF 0,14-0,4 olacak şekilde filtreleme yapıldı. 3'UTR varyantları incelendiğinde sadece 1 SNP tespit edildi. miRSNP db veri tabanında bu SNP için tarama yapıldığında ise miR-7 bağlanmasını artırırken, miR-124a/miR-223 bağlanmasını azalttığı görüldü ve bu varyant çalışma için seçildi.

Tablo 3: İn-slico analiz verileri

Missense SNP'ler	MAF	Değişim	SIFT	PolPhen	
rs1136410	0,20	T>C	Tolere edilebilir	Muhtemel hasar verici	
rs1805404	0,22	G>A/C	Tolere edilebilir	PolyPhen bilgisi yok	
rs1805415	0,21	T>A/C/G	Tolere edilebilir	PolyPhen bilgisi yok	
Promotör SNP'leri	Bölge	MAF	Değişim	TF Bağlanma Bölgesi	Literatür Taraması
rs7527192		0,26	C>T	Bağlanma bölgesi içeriyor	Hashimoto tiroiditi ile ilişkili/ PARP-1 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiş (131,142)
rs7531668		0,26	A>C/T	Bağlanma bölgesi içeriyor	Meme kanseri ile ilişkilendirilmiş (143)
rs2077197		0,26	C>G/T	Bağlanma bölgesi içeriyor	Düzye artış/azalışı ile ilişkilendirilmiş (142)
rs2793379		0,21	T>A/C	Bağlanma bölgesi içeriyor	Çalışma yok
rs59672299		0,26	T>C	Bağlanma bölgesi içermiyor	Çalışma yok
rs907187		0,20	C>G/T	Bağlanma bölgesi içeriyor	Parkinson'da ilişkisiz bulunmuş (144)
3'UTR SNP'leri	Bölge	MAF	Değişim	miRNA Bağlanma Bölgesi	Literatür Taraması
rs8679		0,14	T>C	miR-7 miR-124a miR-223	İskemik inme ve birçok kanserle ilişkilendirilmiş (145-148)

4.3. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında *PARP-1* Geni Polimorfizmlerinin Frekans Dağılımı Karşılaştırması

4.3.1. *PARP-1* rs1136410 (V762A) polimorfizmi

Multiple skleroz hastaları ve kontrol grubu rs1136410 (V762A) gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrol grubunun 119'unun (70,8%) TT, 44'ünün (26,2%) TC, 5'inin (3,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 80'inin (65,0%) TT, 39'unun (31,7%) TC, 4'ünün (3,3%) CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0,572$) (Tablo 4).

Hasta ve kontrol grubu rs1136410 (V762A) gen polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırıldığında ise kontrol grubunda 336 allelin 282'si (83,9%) T alleli, 54'ü (16,1%) C alleli olarak saptanırken; hasta grubunda 246 allelin 199'u (80,9%) T alleli, 47'si (19,1%) C alleli olarak saptandı. Allel frekansları açısından hasta ve

kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0,340$; $OR= 1,233$; $CI= 0,801-1,898$) (Tablo 4).

4.3.2. *PARP-1* rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

Multiple skleroz hastaları ve kontrol grubu rs7527192 (G1672A) gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrol grubunun 114'ünün (67,9%) CC, 52'sinin (31,0%) CT, 2'sinin (1,2%) TT genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 88'inin (71,5%) CC, 31'inin (25,2%) CT, 4'ünün (3,3%) TT genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0,298$) (Tablo 4).

Hasta ve kontrol grubu rs7527192 (G1672A) gen polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırıldığında ise kontrol grubunda 336 allelin 280'i (83,3%) C alleli, 56'sı (16,7%) T alleli olarak saptanırken; hasta grubunda 246 allelin 207'si (84,1%) C alleli, 39'u (15,9%) T alleli olarak saptandı. Allel frekansları açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0,793$; $OR= 0,942$; $CI= 0,603-1,472$) (Tablo 4).

4.3.3. *PARP-1* rs8679 polimorfizmi

Multiple skleroz hastaları ve kontrol grubu rs8679 gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrol grubunun 87'sinin (51,8%) TT, 69'unun (41,1%) TC, 12'sinin (7,1%) CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 64'ünün (52,0%) TT, 43'ünün (35,0%) TC, 16'sının (13,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0,202$) (Tablo 4).

Hasta ve kontrol grubu rs8679 gen polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırıldığında ise kontrol grubunda 336 allelin 243'ü (72,3%) T alleli, 93'ü (27,7%) C alleli olarak saptanırken; hasta grubunda 246 allelin 171'i (69,5%) T alleli, 75'i (30,5%) C alleli olarak saptandı. Allel frekansları açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p= 0,460$; $OR= 1,146$; $CI= 0,798-1,645$) (Tablo 4).

Tablo 4: MS hastaları ve sağlıklı kontrollerde *PARP-1* geni polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansı dağılımları

SNP		Sağlıklı Kontroller (n:168%)	MS Hastaları (n:123/%)	p-değeri	OR (95 % CI)
rs1136410 (V762A)	Genotip Frekansı				
	TT	119 (70,8%)	80 (65,0%)	0,572	Referans
	TC	44 (26,2%)	39 (31,7%)		1,318 (0,787-2,209)
	CC	5 (3,0%)	4 (3,3%)		1,190 (0,310-4,567)
	Allel Frekansı				
	T	282 (83,9%)	199 (80,9%)	0,340	Referans
	C	54 (16,1%)	47 (19,1%)		1,233 (0,801-1,898)
rs7527192 (G1672A)	Genotip Frekansı				
	CC	114 (67,9%)	88 (71,5%)	0,298	Referans
	CT	52 (31,0%)	31 (25,2%)		0,772 (0,457-1,305)
	TT	2 (1,2%)	4 (3,3%)		2,591 (0,464-14,469)
	Allel Frekansı				
	C	280 (83,3%)	207 (84,1%)	0,793	Referans
	T	56 (16,7%)	39 (15,9%)		0,942 (0,603-1,472)
rs8679	Genotip Frekansı				
	TT	87 (51,8%)	64 (52,0%)	0,202	Referans
	TC	69 (41,1%)	43 (35,0%)		0,847 (0,514-1,396)
	CC	12 (7,1%)	16 (13,0%)		1,812 (0,802-4,095)
	Allel Frekansı				
	T	243 (72,3%)	171 (69,5%)	0,460	Referans
	C	93 (27,7%)	75 (30,5%)		1,146 (0,798-1,645)

4.4. Multiple Skleroz Klinik Alt Grupları ve Kontrol Grubu Arasında *PARP-1* Geni Polimorfizmlerinin Frekans Dağılımı Karşılaştırması

4.4.1. *PARP-1* rs1136410 (V762A) polimorfizmi

rs1136410 polimorfizminin MS hastaları klinik alt grupları arasındaki genotip dağılımlarına bakıldığında RRMS grubunu oluşturan hastaların 60'ının (62,5%) TT, 33'ünün (34,4%) TC, 3'ünün (3,1%) CC genotipinde olduğu saptandı. RRMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,366$; Tablo 5). SPMS grubundaki hastaların 17'sinin (85,0%) TT, 2'sinin (10,0%) TC, 1'inin (5,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. SPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,214$; Tablo 5). PPMS grubunu

oluşturan hastaların ise 3'nün (42,9%) TT, 4'ünün (57,1%) TC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda CC genotipi saptanamadı. PPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,214$; Tablo 5). Üç klinik grubun birbiri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,097$; Tablo 5).

Multiple skleroz klinik alt gruplarındaki rs1136410 polimorfizmi için allel frekans dağılımlarına bakıldığında RRMS grubunda 192 allelin 153'ü (79,7%) T, 39'u (20,3%) C alleli olarak saptandı. RRMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,218$; Tablo 5). SPMS grubunda 40 allelin 36'sı (90,0%) T, 4'ü (10,0%) C alleli olarak saptandı. SPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,291$; Tablo 5). PPMS grubunda ise 14 allelin 10'u (71,4%) T, 4'ü (28,6%) C alleli olarak saptandı. PPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,252$; Tablo 5). Üç klinik grubun birbiri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,182$; Tablo 5).

4.4.2. *PARP-1* rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

rs7527192 polimorfizminin MS hastaları klinik alt grupları arasındaki genotip dağılımlarına bakıldığında RRMS grubunu oluşturan hastaların 66'sının (68,8%) CC, 27'sinin (28,1%) CT, 3'ünün (3,1%) TT genotipinde olduğu saptandı. RRMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,517$; Tablo 5). SPMS grubundaki hastaların 18'inin (90,0%) CC, 1'inin (5,0%) CT, 1'inin (5,0%) TT genotipinde olduğu saptandı. CC genotopinin SPMS hastalarında kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptandı ($p= 0,014$; Tablo 5). PPMS grubunu oluşturan hastaların ise 4'ünün (57,1%) CC, 3'ünün (42,9%) CT genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda TT genotipi saptanamadı. PPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,757$; Tablo 5). Üç klinik grubun birbiri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,103$; Tablo 5).

Multiple skleroz klinik alt gruplarındaki rs7527192 polimorfizmi için allel frekans dağılımlarına bakıldığında RRMS grubunda 192 allelin 159'u (82,8%) C, 33'ü

(17,2%) T alleli olarak saptandı. RRMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,878$; Tablo 5). SPMS grubunda 40 allelin 37'si (92,5%) C, 3'ü (7,5%) T alleli olarak saptandı. SPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,102$; Tablo 5). PPMS grubunda ise 14 allelin 11'i (78,6%) C, 3'ü (21,4%) T alleli olarak saptandı. PPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,651$; Tablo 5). Üç klinik grubun birbiri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,216$; Tablo 5).

4.4.3. *PARP-1* rs8679 polimorfizmi

rs8679 polimorfizminin MS hastaları klinik alt grupları arasındaki genotip dağılımlarına bakıldığında RRMS grubunu oluşturan hastaların 49'unun (51,0%) TT, 33'ünün (34,4%) TC, 14'ü (14,6%) CC genotipinde saptandı. RRMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,135$; Tablo 5). SPMS grubundaki hastaların 12'sinin (60,0%) TT, 6'sının (30,0%) TC, 2'sinin (10,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. SPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,608$; Tablo 5). PPMS grubunu oluşturan hastaların ise 3'nün (42,9%) TT, 4'ünün (57,1%) TC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda CC genotipi saptanamadı. PPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,481$; Tablo 5). Üç klinik grubun birbiri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,478$; Tablo 5).

Multiple skleroz klinik alt gruplarındaki rs8679 polimorfizmi için allel frekans dağılımlarına bakıldığında RRMS grubunda 192 allelin 131'i (68,2%) T, 61'i (31,8%) C alleli olarak saptandı. RRMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,320$; Tablo 5). SPMS grubunda 40 allelin 30'u (75,0%) T, 10'u (25,0%) C alleli olarak saptandı. SPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,717$; Tablo 5). PPMS grubunda ise 14 allelin 10'u (71,4%) T, 4'ü (28,6%) C alleli olarak saptandı. PPMS ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,942$; Tablo

5). Üç klinik grubun birbiri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,683; Tablo 5).

Tablo 5: *PARP-1* geni polimorfizmlerinin MS hastaları klinik grupları ve sağlıklı kontroller arasındaki genotip ve allel frekansı dağılımları karşılaştırması.

SNP	Genotip	Kontrol	RRMS	SPMS	PPMS	p-değeri
	Allel	(n:168%)	(n:96%)	(n:20%)	(n:7%)	
rs1136410 (V762A)	TT	119 (70,8%)	60 (62,5%)	17 (85,0%)	3 (42,9%)	0,097*
	TC	44 (26,2%)	33 (34,4%)	2 (10,0%)	4 (57,1%)	0,366**
	CC	5 (3,0%)	3 (3,1%)	1(5,0%)	-	0,214***
						0,214****
	T	282 (83,9%)	153 (79,7%)	36 (90,0%)	10 (71,4%)	0,182*
	C	54 (16,1%)	39 (20,3%)	4 (10,0%)	4 (28,6%)	0,218**
rs7527192 (G1672A)	CC	114 (67,9%)	66 (68,8%)	18 (90,0%)	4 (57,1%)	0,103*
	CT	52 (31,0%)	27 (28,1%)	1 (5,0%)	3 (42,9%)	0,517**
	TT	2 (1,2%)	3 (3,1%)	1 (5,0%)	-	0,014***
						0,757****
	C	280 (83,3%)	159 (82,8%)	37 (92,5%)	11 (78,6%)	0,216*
	T	56 (16,7%)	33 (17,2%)	3(7,5%)	3 (21,4%)	0,878**
rs8679	TT	87 (51,8%)	49 (51,0%)	12 (60,0%)	3 (42,9%)	0,478*
	TC	69 (41,1%)	33 (34,4%)	6 (30,0%)	4 (57,1%)	0,135**
	CC	12 (7,1%)	14 (14,6%)	2 (10,0%)	-	0,608***
						0,481****
	T	243 (72,3%)	131 (68,2%)	30 (75,0%)	10 (71,4%)	0,683*
	C	93 (27,7%)	61 (31,8%)	10 (25,0%)	4 (28,6%)	0,320**
						0,717***
						0,942****

* : 3 klinik grubun karşılaştırmasının p değeri

** : RRMS grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

*** : SPMS grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

**** : PPMS grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

4.5. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında *PARP-1* Geni Polimorfizmlerinin Frekans Dağılımının Otozomal Dominant ve Otozomal Resesif Modele Göre Karşılaştırması

4.5.1. *PARP-1* rs1136410 (V762A) polimorfizmi

Otozomal dominant kalıtım (OD) modeline göre TC ve CC genotipleri, yabanıl TT genotipi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun 119'unun (70,8%) TT genotipinde, 49'unun (29,2%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 80'inin (65,0%) TT genotipinde, 43'ünün (35,0%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarının, OD modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,294$; OR= 1,305; CI= 0,793-2,148; Tablo 6).

Otozomal resesif (OR) kalıtım modeline göre TT ve TC genotipleri, polimorfik CC genotipi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun 163'ünün (97,0%) TT+TC genotipinde, 5'inin (3,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 119'unun (96,7%) TT+TC genotipinde, 4'ünün (3,3%) CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarının, OR modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,893$; OR= 1,096; CI= 0,288-4,168; Tablo 6).

4.5.2. *PARP-1* rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

Otozomal dominant kalıtım modeline göre CT ve TT genotipleri, yabanıl CC genotipi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun 114'ünün (67,9%) CC genotipinde, 54'ünün (32,1%) CT+TT genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 88'inin (71,5%) CC genotipinde, 35'inin (28,5%) CT+TT genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarının, OD modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,500$; OR= 0,840; CI= 0,505-1,369; Tablo 6).

Otozomal resesif kalıtım modeline göre CC ve CT genotipleri, polimorfik TT genotipi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun 166'sının (98,8%) CT+CC genotipinde,

2'sinin (1,2%) TT genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 119'unun (96,7%) CT+CC genotipinde, 4'ünün (3,3%) CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarının, OR modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,224$; OR= 2,790; CI= 0,503-15,481; Tablo 6).

4.5.3. *PARP-1* rs8679 polimorfizmi

Otozomal dominant kalıtım modeline göre TC ve CC genotipleri, yabanıl TT genotipi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun 87'sinin (51,8%) TT genotipinde, 81'inin (48,2%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 64'ünün (52,0%) TT genotipinde, 59'unun (48,0%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarının, OD modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,967$; OR= 0,990; CI= 0,622-1,577; Tablo 6).

Otozomal resesif kalıtım modeline göre TT ve TC genotipleri, polimorfik CC genotipi ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunun 156'sının (92,9%) TT+TC genotipinde, 12'sinin (7,1%) CC genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 107'sinin (87,0%) TT+TC genotipinde, 16'sının (13,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarının, OR modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,096$; OR= 1,944; CI= 0,884-4,274; Tablo 6).

Tablo 6: *PARP-1* geni polimorfizmlerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının OD ve OR modele göre karşılaştırması.

SNP	OD model	Sağlıklı Kontroller (n:168%)	MS Hastaları (n=123/%)	p-değeri	OR (95 % CI)
rs1136410 (V762A)	TT	119 (70,8%)	80 (65,0%)	0,294	Referans
	TC +CC	49 (29,2%)	43 (35,0%)		1,305 (0,793-2,148)
rs7527192 (G1672A)	CC	114 (67,9%)	88 (71,5%)	0,500	Referans
	CT + TT	54 (32,1%)	35 (28,5%)		0,840 (0,505-1,396)
rs8679	TT	87 (51,8%)	64 (52,0%)	0,967	Referans
	TC +CC	81 (48,2%)	59 (48,0%)		0,990 (0,622-1,577)
SNP	OR model	Sağlıklı Kontroller (n:168%)	MS Hastaları (n=123/%)	p-değeri	OR (95 % CI)
rs1136410 (V762A)	TT + TC	163 (97,0%)	119 (96,7%)	0,893	Referans
	CC	5 (3,0%)	4 (3,3%)		1,096 (0,288-4,168)
rs7527192 (G1672A)	CC + CT	166 (98,8%)	119 (96,7%)	0,224	Referans
	TT	2 (1,2%)	4 (3,3%)		2,790 (0,503-15,481)
rs8679	TT + TC	156 (92,9%)	107 (87,0%)	0,096	Referans
	CC	12 (7,1%)	16 (13,0%)		1,944 (0,884-4,274)

4.6. Multiple Skleroz Klinik Alt Grupları ve Kontrol Grubu Arasında *PARP-1* Geni Polimorfizmlerinin Otozomal Dominant ve Otozomal Resesif Modele göre Frekans Dağılımı Karşılaştırması

4.6.1. *PARP-1* rs1136410 (V762A) polimorfizmi

Multiple skleroz klinik grupları arasında rs1136410 polimorfizmi TC ve CC genotipleri, yabancı TT genotipi ile OD kalıtım modeline göre karşılaştırıldı. RRMS grubunda 60'ının (62,5%) TT genotipinde, 36'sının (37,5%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. SPMS grubunda ise 17'sinin (85,0%) TT genotipinde, 3'ünün (15,0%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda 3'ünün (42,9%) TT genotipinde, 4'ünün (57,1%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. Klinik gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,057$; Tablo 7). Klinik grupların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,163$; $p=0,157$; $p=0,133$; Tablo 7).

Klinik gruplar arasında OR kalıtım modeline göre TT ve TC genotipleri, polimorfik CC genotipi ile karşılaştırıldı. RRMS grubunda 93'ünün (96,9%) TT+TC genotipinde, 3'ünün (3,1%) CC genotipinde olduğu saptandı. SPMS grubunda

19'unun (95,0%) TT+TC genotipinde, 1'inin (5,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda 7'sinin (100,0%) TT+TC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda CC genotipi saptanmadı. Klinik gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,728$; Tablo 7). Klinik grupların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,946$; $p= 0,649$; $p= 0,520$; Tablo 7).

4.6.2. *PARP-1* rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

Multiple skleroz klinik grupları arasında rs7527192 polimorfizmi CT ve TT genotipleri, yabancı CC genotipi ile OD kalıtım modeline göre karşılaştırıldı. RRMS grubunda 66'sının (68,8%) CC genotipinde, 30'unun (31,3%) CT+TT genotipinde olduğu saptandı. SPMS grubunda ise 18'inin (90,0%) CC genotipinde, 2'sinin (10,0%) CT+TT genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda 4'ünün (57,1%) CC genotipinde, 3'ünün (42,9%) CT+TT genotipinde olduğu saptandı. Klinik gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,078$; Tablo 7). RRMS ve PPMS gruplarının sağlıklı kontrol grubu ile OD modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,881$; $p= 0,562$; Tablo 7). OD modele göre karşılaştırmada SPMS hastalarında CC genotipinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi ($p= 0,025$; Tablo 7).

Klinik gruplar arasında OR kalıtım modeline göre CC ve CT genotipleri, polimorfik TT genotipi ile karşılaştırıldı. RRMS grubunda 93'ünün (96,9%) CT+CC genotipinde, 3'ünün (3,1%) TT genotipinde olduğu saptandı. SPMS grubunda 19'unun (95,0%) CT+CC genotipinde, 1'inin (5,0%) TT genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda 7'sinin (100,0%) CT+CC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda CC genotipi saptanmadı. Klinik gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,728$; Tablo 7). Klinik grupların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,290$; $p= 0,286$; $p= 0,685$; Tablo 7).

4.6.3. *PARP-1* rs8679 polimorfizmi

Multiple skleroz klinik grupları arasında rs8679 polimorfizmi TC ve CC genotipleri, yabancı TT genotipi ile OD kalıtım modeline göre karşılaştırıldı. RRMS grubunda 49'unun (51,0%) TT genotipinde, 47'sinin (49,0%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. SPMS grubunda 12'sinin (60,0%) TT genotipinde, 8'inin (40,0%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda 3'ünün (42,9%) TT genotipinde, 4'ünün (57,1%) TC+CC genotipinde olduğu saptandı. Klinik gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,675$; Tablo 7). Klinik grupların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,907$; $p=0,485$; $p=0,643$; Tablo 7).

Klinik gruplar arasında OR kalıtım modeline göre TT ve TC genotipleri, polimorfik CC genotipi ile karşılaştırıldı. RRMS grubunda 82'sinin (85,4%) TT+TC genotipinde, 14'ünün (14,6%) CC genotipinde olduğu saptandı. SPMS grubunda 18'inin (90,0%) TT+TC genotipinde, 2'sinin (10,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda 7'sinin (100,0%) TT+TC genotipinde olduğu saptandı. PPMS grubunda CC genotipi saptanmadı. Klinik gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,312$; Tablo 7). Klinik grupların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,056$; $p=0,659$; $p=0,314$; Tablo 7).

Tablo 7: *PARP-1* geni polimorfizmlerinin MS klinik grupları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının OD ve OR modele göre karşılaştırması.

SNP	OD model	Sağlıklı Kontroller (n:168%)	RRMS (n:96%)	SPMS (n:20%)	PPMS (n:7%)	p-değeri
rs1136410 (V762A)	TT	119 (70,8%)	60 (62,5%)	17 (85,0%)	3 (42,9%)	0,057*
	TC + CC	49 (29,2%)	36 (37,5%)	3 (15,0%)	4 (57,1%)	0,163**
						0,157***
						0,133****
rs7527192 (G1672A)	CC	114 (67,9%)	66 (68,8%)	18 (90,0%)	4 (57,1%)	0,078*
	CT + TT	54 (32,1%)	30 (31,3%)	2 (10,0%)	3 (42,9%)	0,881**
						0,025***
						0,562****
rs8679	TT	87 (51,8%)	49 (51,0%)	12 (60,0%)	3 (42,9%)	0,675*
	TC + CC	81 (48,2%)	47 (49,0%)	8 (40,0%)	4 (57,1%)	0,907**
						0,485***
						0,643****
SNP	OR model	Sağlıklı Kontroller (n:168%)	RRMS (n:96%)	SPMS (n:20%)	PPMS (n:7%)	p-değeri
rs1136410 (V762A)	TT + TC	163 (97,0%)	93 (96,9%)	19 (95,0%)	7 (100,0%)	0,728*
	CC	5 (3,0%)	3 (3,1%)	1 (5,0%)	-	0,946**
						0,649***
						0,520****
rs7527192 (G1672A)	CT + CC	166 (98,8%)	93 (96,9%)	19 (95,0%)	7 (100,0%)	0,728*
	TT	2 (1,2%)	3 (3,1%)	1 (5,0%)	-	0,290**
						0,286***
						0,685****
rs8679	TT + TC	156 (92,9%)	82 (85,4%)	18 (90,0%)	7 (100,0%)	0,312*
	CC	12 (7,1%)	14 (14,6%)	2 (10,0%)	-	0,056**
						0,659***
						0,314****

* : 3 klinik grubun karşılaştırmasının p değeri

** : RRMS grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

*** : SPMS grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

**** : PPMS grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

4.7. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında *PARP-1* Geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C)/rs1136410(T/C) Polimorfizmleri Haplotipleri Dağılımının Karşılaştırması

PARP-1 geni rs7527192 (C/T), rs8679 (T/C) ve rs1136410 (T/C) polimorfizmlerinin üçlü haplotiplerinin, MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki frekans dağılımları incelendi. Kontrol grubunun 149'unun (44,3%) CTT haplotipinde, 78'inin (23,2%) CTC haplotipinde, 38'inin (11,3%) CCT haplotipinde, 55'inin (16,4%) TTT haplotipinde, 15'inin (4,5%) CCC haplotipinde, 1'inin (0,3%) TCT haplotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 94'ünün (38,2%) CTT haplotipinde, 66'sının (26,8%) CTC haplotipinde, 38'inin (15,4%) CCT haplotipinde, 39'unun (15,9%) TTT haplotipinde, 9'unun (3,7%) CCC haplotipinde olduğu saptanırken, TCT haplotipi saptanamadı. Hasta ve kontrol grubu *PARP-1* geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C)/rs1136410(T/C) polimorfizmlerinin haplotip dağılımları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,389$; Tablo 8).

Tablo 8: *PARP-1* geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C)/rs1136410(T/C) polimorfizmleri haplotiplerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının karşılaştırması.

Haplotip	Sağlıklı Kontroller (n:168%)	MS Hastaları (n:123%)	p-değeri
rs7527192 (C/T)/ rs8679 (T/C)/ rs1136410 (T/C)			
CTT	149 (44,3%)	94 (38,2%)	0,389
CTC	78 (23,2%)	66 (26,8%)	
CCT	38 (11,3%)	38 (15,4%)	
TTT	55 (16,4%)	39 (15,9%)	
CCC	15 (4,5%)	9 (3,7%)	
TCT	1 (0,3%)	-	

4.8. Hasta ve Kontrol Grubu Arasında *PARP-1* Geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C) Polimorfizmleri Haplotipleri Dağılımının Karşılaştırması

PARP-1 geni promotör bölge polimorfizmi olan rs7527192 (C/T)'nin TF bağlanma bölgesi içermesi ve 3'UTR polimorfizmi olan rs8679 (T/C)'nin, miRNA bağlanma bölgesi içermesi nedeniyle; bu bölgelerin, protein düzeyi üzerine muhtemel etkisini araştırmak amacıyla haplotiplerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımları incelendi. Kontrol grubunun 187'sinin (55,7%) CT haplotipinde, 93'ünün (27,7%) CC haplotipinde, 56'sının (16,7%) TT haplotipinde olduğu saptanırken, TC haplotipi saptanamadı. Hasta grubunun 132'sinin (53,7%) CT haplotipinde, 75'inin (30,5%) CC haplotipinde, 39'unun (15,9%) TT haplotipinde olduğu saptanırken, TC haplotipi saptanamadı. Hasta ve kontrol grubu, *PARP-1* geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C) polimorfizmlerinin haplotip dağılımları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,760$; Tablo 9).

Tablo 9: *PARP-1* geni rs7527192(C/T)/rs8679(T/C) polimorfizmleri haplotiplerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki dağılımlarının karşılaştırması.

Haplotip	Sağlıklı Kontroller (n:168%)	MS Hastaları (n:123%)	p-değeri
rs7527192 (C/T)/ rs8679 (T/C)			
CT	187 (55,7%)	132 (53,7%)	0,760
CC	93 (27,7%)	75 (30,5%)	
TT	56 (16,7%)	39 (15,9%)	
TC	-	-	

4.9. EDSS Skoruna Göre PARP-1 Gen Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Dağılımları

4.9.1. PARP-1 rs1136410 (V762A) polimorfizmi

rs1136410 gen polimorfizminin EDSS skoru ile ilişkisine bakıldığında EDSS skoru ≤ 3 olanların 60'ının (61,2%) TT, 35'inin (35,7%) TC, 3'ünün (3,1%) CC genotipinde olduğu saptandı. EDSS skoru $>3-6$ arasında olanların 8'inin (80,0%) TT, 1'nin (10,0%) TC, 1'inin (10,0%) CC genotipinde olduğu saptandı. EDSS skoru ≥ 6 olanların 12'sinin (80,0%) TT, 3'ünün (20,0%) TC genotipinde olduğu saptanırken, CC genotipi saptanamadı. Üç grup arasında rs1136410 polimorfizminin genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,187$; Tablo 10). Bu grupların sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,258$; $p=0,318$; $p=0,540$; Tablo 10).

rs1136410 gen polimorfizmi allel frekansı dağılımlarının EDSS skoru ile ilişkisine bakıldığında EDSS skoru ≤ 3 olanlarda 196 allelden 155'i (79,1%) T, 41'i (20,9%) C alleli olarak saptandı. EDSS skoru $>3-6$ olanlarda 20 allelden 17'si (85,0%) T, 3'ü (15,0%) C alleli olarak saptandı. EDSS skoru ≥ 6 olanlarda 30 allelden 27'si (90,0%) T, 3'ü (10,0%) C alleli olarak saptandı. Üç grup arasında rs1136410 polimorfizminin allel frekansı dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,284$; Tablo 10). Bu grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,159$; $p=0,898$; $p=0,355$; Tablo 10).

4.9.2. PARP-1 rs7527192 (G1672A) polimorfizmi

rs7527192 gen polimorfizminin EDSS skoru ile ilişkisine bakıldığında EDSS skoru ≤ 3 olanların 67'sinin (68,4%) CC, 28'inin (28,6%) CT, 3'nün (3,1%) TT genotipinde olduğu saptandı. EDSS skoru $>3-6$ arasında olanların 10'unun (100,0%) CC genotipinde olduğu saptanırken CT ve TT genotipi saptanamadı. EDSS skoru ≥ 6 olanların 11'inin (73,3%) CC, 3'nün (20,0%) CT, 1'inin (6,7%) TT genotipinde olduğu saptandı. Üç grup arasında rs7527192 polimorfizminin genotip dağılımları

açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,097$; Tablo 9). ≤ 3 ve ≥ 6 olan grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,544$; $p= 0,332$; Tablo 10). EDSS skoru $>3-6$ olanların ise kontrol grubu ile karşılaştırılmasında CC genotipinin, kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p= 0,024$; Tablo 10).

rs7527192 gen polimorfizmi allel frekansı dağılımlarının EDSS skoru ile ilişkisine bakıldığında EDSS skoru ≤ 3 olanlarda 196 allelden 162'si (82,7%) C, 34'ü (17,3%) T alleli olarak saptandı. EDSS skoru $>3-6$ olanlarda 20 allelden hepsi (100,0%) C olarak saptandı. EDSS skoru ≥ 6 olanlarda 30 allelden 25'i (83,3%) C, 5'i (16,7%) T alleli olarak saptandı. Üç grup arasında rs7527192 polimorfizminin allel frekansı dağılımları karşılaştırıldığında EDSS skoru $>3-6$ olan grupta C allelinin, istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p=0,027$; Tablo 10). Bu grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında; EDSS skoru ≤ 3 ve ≥ 6 olan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,840$; $p= 1,000$; Tablo 10). EDSS skoru $>3-6$ arasında olan hastalarda C allel frekansının, sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı olarak arttığı saptandı ($p= 0,008$; Tablo 10).

4.9.3. PARP-1 rs8679 polimorfizmi

rs8679 gen polimorfizminin EDSS skoru ile ilişkisine bakıldığında EDSS skoru ≤ 3 olanların 50'sinin (51,0%) TT, 34'ünün (34,7%) TC, 14'ünün (14,3%) CC genotipinde olduğu saptandı. EDSS skoru $>3-6$ arasında olanların 5'inin (50,0%) TT, 5'nin (50,0%) TC genotipinde olduğu saptandı. EDSS skoru ≥ 6 olanların 9'unun (60,0%) TT, 4'ünün (26,7%) TC, 2'sinin (13,3%) CC genotipinde olduğu saptandı. Üç grup arasında rs8679 polimorfizminin genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,431$; Tablo 10). Bu grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,152$; $p= 0,457$; $p= 0,461$; Tablo 10).

rs8679 gen polimorfizmi allel frekansı dağılımlarının EDSS skoru ile ilişkisine bakıldığında EDSS skoru ≤ 3 olanlarda 196 allelden 134'ü (68,4%) T, 62'si (31,6%) C alleli olarak saptandı. EDSS skoru $>3-6$ olanlarda 20 allelden 15'i (75,0%) T, 5'i (25,0%) C alleli olarak saptandı. EDSS skoru ≥ 6 olanlarda 30 allelden 22'si (73,3%)

T, 8'i (26,7%) C alleli olarak saptandı. Üç grup arasında rs8679 polimorfizminin allel frekansı dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,731$; Tablo 10). Bu grupların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,333$; $p=0,793$; $p=0,905$; Tablo 10).

Tablo 10: *PARP-1* gen polimorfizmlerinin MS hastaları ve sağlıklı kontroller arasında EDSS skoruna göre (≤ 3 , $>3-6$, ≥ 6) genotip ve allel frekans dağılımları.

SNP	Genotip		EDSS Skoru			p-değeri
	Allel	Sağlıklı Kontroller (n=168%)	≤ 3 (n=98%)	$>3-6$ (n=10%)	≥ 6 (n=15%)	
rs1136410 (V762A)	TT	119 (70,8%)	60 (61,2%)	8 (80,0%)	12 (80,0%)	0,187*
	TC	44 (26,2%)	35 (35,7%)	1 (10,0%)	3 (20,0%)	0,258**
	CC	5 (3,0%)	3 (3,1%)	1 (10,0%)	-	0,318***
						0,540****
	T	282 (83,9%)	155 (79,1%)	17 (85,0%)	27 (90,0%)	0,284*
rs7527192 (G1672A)	C	54 (16,1%)	41 (20,9%)	3 (15,0%)	3 (10,0%)	0,159**
						0,898***
						0,355****
	CC	114 (67,9%)	67 (68,4%)	10 (100,0%)	11 (73,3%)	0,097*
	CT	52 (31,0%)	28 (28,6%)	-	3 (20,0%)	0,544**
rs8679	TT	2 (1,2%)	3 (3,1%)	-	1 (6,7%)	0,024***
						0,332****
	C	280 (83,3%)	162 (82,7%)	20 (100,0%)	25 (83,3%)	0,027*
	T	56 (16,7%)	34 (17,3%)	-	5 (16,7%)	0,840**
						0,008***
rs8679						1,000****
	TT	87 (51,8%)	50 (51,0%)	5 (50,0%)	9 (60,0%)	0,431*
	TC	69 (41,1%)	34 (34,7%)	5 (50,0%)	4 (26,7%)	0,152**
	CC	12 (7,1%)	14 (14,3%)	-	2 (13,3%)	0,457***
						0,461****
rs8679	T	243 (72,3%)	134 (68,4%)	15 (75,0%)	22 (73,3%)	0,731*
	C	93 (27,7%)	62 (31,6%)	5 (25,0%)	8 (26,7%)	0,333**
						0,793***
						0,905****

* : 3 grubun karşılaştırmasının p değeri

** : ≤ 3 grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

*** : $>3-6$ grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

**** : ≥ 6 grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasının p değeri

5. TARTIŞMA

Multiple skleroz; demiyelinizasyon ve akson hasarı ile sonuçlanan, SSS'nin kronik inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır. Vakaların büyük kısmı atak ve iyileşme dönemleriyle seyreden RRMS formunda başlarken, ilerleyen dönemde nörolojik hasarın geri dönüşümsüz olduğu SPMS formuna dönüşebilmektedir. Bu noktada MS, genç erişkinlerdeki travmaya bağlı olmayan engelliliğin en sık nedeni olarak karşımıza çıkan önemli bir sağlık sorunudur. SPMS'deki kısıtlı tedavi seçenekleri ve hastalık seyrini izlemde kullanılabilecek biyobelirteçlerin olmaması, progresyonun altında yatan ve nedeni net olarak bilinemeyen mekanizmaların aydınlatılması ihtiyacını doğurmaktadır. Bu çalışmada; daha önce otoimmün ve otoinflamatuvar yolaklarda rolü gösterilmiş olan *PARP-1* genine ait polimorfizmlerin, MS hastalığı ve klinik alt grupları ile ilişkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Yapılan in-silico analizlerle, *PARP-1* genindeki polimorfizmler arasından protein fonksiyonu veya düzeyi üzerinde etkisi olabilecek varyantlar seçilerek hedef polimorfizmler belirlenmiştir. Belirlenen rs1136410 missense varyantı, rs7527192 promotör bölge varyantı ve rs8679 3'UTR bölge varyantının; hasta ve kontrol grupları ve klinik alt gruplar arasındaki genotip ve allel frekansı dağılımlarını, haplotip dağılımlarını, OD ve OR kalıtım modeline göre ilişkilendirme analizlerini gerçekleştirdik.

PARP-1 geni promotor bölge varyantı olan rs7527192 polimorfizminin, hasta ve sağlıklı kontroller arasındaki genotip ve allel frekansı dağılımlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. MS klinik gruplarının sağlıklı kontroller ile karşılaştırmasında ise CC genotopinin, SPMS hastalarında istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptandı ($p=0,014$). Bu klinik grupların sağlıklı kontroller ile OD modele göre karşılaştırmasında ise aynı şekilde, SPMS hastalarında CC genotipinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p=0,025$; $OR=0,235$; $CI=0,053-1,047$). CC genotipinin ve C allel frekansının, EDSS skoru $>3-6$ arasında olan hastalarda sağlı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p=0,024$; $p=0,008$; $OR=0,936$; $CI=0,910-0,964$). Ayrıca C allelinin, EDSS skoru ≤ 3 ve ≥ 6 olan hastalara kıyasla $>3-6$ arasında olan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p=0,027$). Literatürde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında; Infante ve ark., Parkinson hastaları ile yaptıkları çalışmada heterozigot (CT) genotipin geç başlangıç yaşı ile ilişkili

olduğunu bulmuşlardır. Bu bölgedeki heterozigotluğun PARP-1 transkripsiyonunu etkileyerek düzeyini düşürmüş olabileceğini öne sürmüşlerdir (132). Otoimmün bir hastalık olan Hashimoto trioditi ile Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada, rs7527192 heterozigot (CT) genotipi koruyucu olarak bulunmuştur (131). Yine Türk popülasyonunda yapılan başka bir çalışmada, otoimmün bir tiroidit olan Graves hastalığında C alleli hastalıkla ilişkili bulunmuş ve CC genotipinin hastalık riskini 2,4 kat arttırdığı tespit edilmiştir (149). Bu grubun daha önceki çalışmasında ise rs7527192 heterozigot genotipinin, Türk popülasyonunda alerjik rinite duyarlılıkla ilişkili olduğu bulunmuştur (150). Meme kanseri ile yapılan bir çalışmada ise üçlü-negatif (östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin negatif olduğu) meme kanserinde hem sitoplazmik hem de nükleer PARP-1 artışı gösterilmiştir. *PARP-1* geni promotör bölgesinin hedeflendiği bu çalışmada, promotör bölge varyasyonlarının PARP-1 ekspresyon düzeyi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (142). *PARP-1* promotör bölgesi, CCAAT/TATA kutusu ve ETS1 gibi birçok TF bağlanma bölgesi içerir (126). ETS1 aktivasyonunun PARP-1 ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir (128). TF bağlanma bölgelerinin kaybının ise aktiviteyi azalttığı görülmüştür (129). Ayrıca bu bölge, polimorfik tekrar dizilerinden oluşur ve varyasyonlarının PARP-1 aktivitesini değiştirdiği gösterilmiştir (129-131).

MS’de progresyonun patogenezi net olarak bilinmemekle birlikte; SPMS’in, yeni inflamatuvar lezyonlar oluşmadan ilerleyici bir hastalık tablosu göstermesi nedeniyle, mekanizmasının relapslardan farklı olduğu düşünülmektedir. RRMS’deki adaptif immüniteyi hedefleyen ilaçlarla tedavi edilememesi ve SSS’deki inflamasyon karakterinin değişimi de buna kanıt olarak gösterilmiştir (45). Son yıllarda ise progresyonun, kronikleşen doğal immünite yanıtı mekanizması ile meydana geldiği hipotezi kurulmuştur (151). Doğal immünitinin temel taşı olan inflamazom sinyal yolağının, MS patogenezi ve progresyonunda önemli rol oynadığına dair çok sayıda kanıt vardır (152-154). İnflamazomlardan bu güne kadar en iyi tanımlanmış olanları NLR ve *pyrin domaini* ilişkili protein 3 (NLRP3)’tür. TLR agonisteleri tarafından NLRP3 aktivasyonu, IL-1 β ve IL-18 gibi NF-kB aracılı inflamatuvar bileşenlerin artışına neden olur (155). *NLRP3* gibi inflamazom düzenleyici genlerdeki değişikliklerin, MS ve MS’in hayvan modeli olan DOE ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (154). PARP-1’in; kaspaz-3 tarafından parçalanması hücreyi apoptoza yönlendirirken, kaspaz-7 aracılığıyla

parçalanmasının ise kaspaz-1 üstünden NLRP3 ve inflamazom aktivasyonunu gerçekleştirdiği gösterilmiştir (156,157). Kronikleşen NLRP3 aktivasyonu ile ROS ve NF-kB artışı, nöroprogresif hastalıklardaki muhtemel patogeneze mekanizmalarından biridir (158). Chiu ve ark. yaptıkları çalışmada; ATP ve ROS ile aktive olan nükleer PARP-1'in, sitozole çıkarak NLRP3 parilasyonu üzerinden inflamazom aktivasyonu yaptığını öne sürmüşlerdir (159). Fare ve ark. ise SPMS fare modeli ile yaptıkları çalışmada; progresyonun, doğal immünite temelinde olduğunu ve mikrogial PARP-1'in TLR-2 aracılığı ile aktive olduğunu göstermişlerdir (45).

Sonuçlarımız bu bilgilerle birlikte değerlendirildiğinde; MS'de nedeni net olarak açıklanamayan progresyonun, farklı bir mekanizma ile meydana geldiği fikrini desteklemektedir. Ataklardan farklı olarak; doğal immünite temelinde gelişen inflamazom yolağı aktivasyonunun süreklilik kazanması, progresyonun altında yatan muhtemel bir patogenetik nedendir. Bu noktada TF bağlanma bölgesi olan promotör bölge varyantı rs7527192'nin, PARP-1 ekspresyonu üzerinde etkinlik göstererek inflamazom yolağının aktivitesini arttırdığı ve SPMS patogenezinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

PARP-1 inhibitörü olaparib'in; kronik astım fare modelinde, NLRP3 ve IL-1 β seviyelerini değiştirerek inflamasyonu azalttığı görülmüştür (160). Huntington hastalığı fare modeli çalışmasında da olaparib'in, NLRP3 seviyesini azaltarak nöroprotektif etki gösterdiği tespit edilmiştir (161). Fare ve ark. ise SPMS hastalarında ve SP-DOE modelinde PARP-1 aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, SP-DOE hayvan modelinde PARP-1 inhibisyonunun aksonal kaybı ve engelliliği azaltarak progresyonu engellediği görülmüştür. Doğal immünite mekanizmalarının rol oynadığı bu progresyon sürecinde ise PARP-1 inhibitörlerinin önemli bir hedef olabileceği öne sürülmüştür (45).

Sonuçlarımız bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde; PARP-1'in, MS'de engelliliğin önemli bir nedeni olan ve tedavi seçenekleri oldukça kısıtlı olan progresyon basamağında etkili olabileceği düşünülmektedir. PARP-1 inhibitörleri, SPMS için umut vadeci bir tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkmakla birlikte, bu yolağın daha ileri fonksiyonel çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda, *PARP-1* geni missense varyantı rs1136410 ile MS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında; rs1136410 ve Alzheimer arasındaki ilişkinin araştırıldığı Tayvan popülasyonunda yapılan

bir çalışmada, genotip ve allel dağılımları açısından hasta ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (162). Kwiatkowski ve ark. tarafından yapılan başka bir Alzheimer çalışmasında ise rs1136410 polimorfizmi C allelinin hastalık riskini arttırdığı görülmüştür. Yapılan in-vitro deneylerle, rs1136410 T>C değişiminin PARP-1 enzimatik aktivitesini %40 azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada da PARP-1 enzimatik aktivitesinin immün yanıt regülasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüş ve bu değişimin, PARP-1'in onarım fonksiyonunu bozarak inflamatuvar sitokin salınımı ile hastalık oluşturabileceği hipotezi kurulmuştur (125). Geç başlangıçlı Alzheimer çalışmasında ise rs1136410 C allelinin, kortikal kalınlık ile ilişkili olduğu bulunmuştur. 5 farklı bağımsız çalışmadan oluşan meta analizde bu değişimin, hipokampal volüm kaybı ile ilişkili olduğu görülmüş ve tüm bu bulgular hızlı nörodejenarasyonla ilişkilendirilmiştir (163). Infante ve ark. tarafından yapılan çalışmada, rs1136410 polimorfizmi heterozigot genotipinin Parkinson için koruyucu olduğu bulunmuştur (132). Tekrarlayıcı depresyon hastalığı ile baz kesip çıkarma onarım (BER) genlerinin ilişkisinin araştırıldığı çalışmada ise rs1136410 ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (164). rs1136410 polimorfizmi birçok kanser türü ile ilişkilendirilmiş olmakla birlikte; bu değişimin, kanser çalışmalarında da benzer şekilde farklı sonuçları mevcuttur. Bu çelişkili sonuçların araştırıldığı, 23,996 vakanın incelendiği bir meta analizde; rs1336410 polimorfizmi ile kanser hastalıkları arasında sınırlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Kanser alt gruplarına bakıldığında ise rs1136410 polimorfizmi C allelinin; mide, tiroid ve serviks kanseri için yüksek risk oluşturduğu görülürken, beyin kanseri için düşük risk oluşturduğu saptanmıştır ve bu sonucun dokuya özgü ekspresyon ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda rs1136410 polimorfizminin tek başına yeterli olmadığı ve etkisinin başka faktörler tarafından değiştirilebileceği fikri öne sürülmüştür. Çalışmaya katılan popülasyonların büyük oranda Asyalıları içermesi nedeniyle de farklı popülasyonları içeren, ileri çalışmaların gerekliliği vurgulanmıştır (118).

Bizim popülasyonumuzda, rs1136410 değişimi ile MS arasında ilişki bulunamamıştır. Literatürdeki çalışma sonuçlarının çelişkili olması ve bu çalışmaların daha çok tek popülasyon üstüne kümelenmesinin yanı sıra MS'in multifaktöriyel ve multigenik bir hastalık olduğu da göz önüne alındığında; farklı popülasyonları da içeren daha geniş hasta gruplarıyla yapılan, ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada, *PARP-1* geni 3'UTR polimorfizmi rs8679 ile MS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı. İtalya'da yapılan bir çalışmada, rs1136410 ve rs8679'un da içinde bulunduğu *PARP-1* geni polimorfizmleri ile Parkinson arasında ilişki bulunamamıştır (144). Gu ve ark. yaptıkları bir çalışmada, rs8679 ile iskemik inme arasında negatif bir korelasyon bulmuşlar ve miR-124-5p'nin bu değişime bağlanarak *PARP-1* inhibisyonunu sağladığını göstermişlerdir (145). Literatürde, rs8679 ile *PARP-1* ekspresyonunun araştırıldığı çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu değişim, birçok kanser çalışmasında protein düzeyi ile ilişkilendirilmiş olmakla birlikte; Guillot ve ark.'nın yaptığı hücre kültürü çalışmasında olduğu gibi *PARP-1* düzeyi üzerindeki etkisi ile anlamlı bir ilişki bulamayan çalışmalar da mevcuttur (165,166).

rs8679 ile yapılan çalışma sonuçlarının çelişkili olması nedeniyle bu değişimin protein düzeyi üzerine etkisi henüz net olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Bu sonuçlarla birlikte bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler değerlendirildiğinde; rs8679 değişimi ile yapılacak daha fazla fonksiyonel çalışmalar ile etkisinin aydınlatılması gerektiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; *PARP-1* geni promotör bölge varyantı rs7527192, *PARP-1* ekspresyonunu etkileyerek MS'de progresyona neden olabilir. Mevcut tedavi seçeneklerine oldukça kısıtlı yanıtların alındığı ve genç erişkinlerdeki engelliliğin önemli bir nedeni olan progresif MS'de; progresyona geçişi gösterebilecek biyobelirteçlerin olmaması, erken tanı ve erken tedavi şansını da kısıtlamaktadır. Bu nedenle progresyon sürecinden önce bu klinik gidiş ile ilgili fikir verebilecek biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. *PARP-1* rs7527192 polimorfizmi progresyon sürecini izlemde kullanılabilir muhtemel bir biyobelirteç olabilir. *PARP-1* inhibitörleri ise SPMS'de umut vadeditici bir tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu noktanın, fonksiyonel deneylerle desteklenmesi ve farklı popülasyonları da içeren daha geniş hasta grupları ile yapılacak olan ileri çalışmalarla aydınlatılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Multiple skleroz, genç yaşlardaki travmaya bağlı olmayan engelliliğin en sık nedenidir. Hastalık sıklıkla atak ve remisyonlarla seyreden formda başlarken, ilerleyen dönemde nörolojik hasarın geri dönüşümsüz olduğu progresif forma ilerleyebilmektedir. Ataklarda kullanılan tedaviler, engelliliğin giderek arttığı SPMS’de kısıtlı kalmaktadır. Bu kısıtlılık ise MS’i, progresyonun altında yatan mekanizmaların aydınlatılması ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulan önemli bir sağlık sorunu haline getirmektedir.

Çalışmamızda; daha önce otoimmün ve otoinflamatuvar yolaklarda etkinliği gösterilen *PARP-1* geni polimorfizmlerinin, MS patogenezi ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Yapılan in-silico analizlerden elde edilen verilere göre protein aktivitesi ve/veya ekspresyon düzeyini etkileyebilecek olan; rs1136410 missense varyantı, rs7527192 promotor bölge varyantı ve rs8679 3’UTR bölge varyantları seçilerek MS hastaları ve sağlıklı kontrollerde çalışıldı.

Çalışma sonucunda; rs1136410 polimorfizmi genotip ($p=0,572$) ve allel frekansı ($p=0,340$) dağılımlarında, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS, SPMS ve PPMS klinik alt gruplarında, rs1136410 polimorfizmi genotip ($p=0,097$) ve allel frekansı ($p=0,182$) dağılımlarının karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu grupların sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmasında, rs1136410 polimorfizmi genotip (RRMS için $p=0,366$; SPMS için $p=0,214$; PPMS için $p=0,214$) ve allel frekanslarının (RRMS için $p=0,218$; SPMS için $p=0,291$; PPMS için $p=0,252$) dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Hasta ve kontrol grubu arasında, rs1136410 polimorfizmi dağılımının OD ($p=0,294$) ve OR ($p=0,893$) modele göre yapılan karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS, SPMS ve PPMS klinik grupları arasında, rs1136410 polimorfizmi dağılımlarının OD ($p=0,057$) ve OR ($p=0,728$) modele göre yapılan karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu grupların sağlıklı kontroller ile OD model göre karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (RRMS için $p=0,163$; SPMS için $p=0,157$; PPMS için $p=0,133$). Bu grupların sağlıklı kontroller ile OR modele göre karşılaştırmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

(RRMS için $p=0,946$; SPMS için $p=0,649$; PPMS için $p=0,520$). Hastalar, EDSS skoruna göre ≤ 3 , $>3-6$ ve ≥ 6 olacak şekilde gruplandırıldı. Bu grupların birbirleri ile karşılaştırılmasında, genotip ($p=0,187$) ve allel ($p=0,284$) frekansı dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu grupların, sağlıklı kontrollerle genotip bazında karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (≤ 3 için $p=0,258$; $>3-6$ için $p=0,318$; ≥ 6 için $p=0,540$). Bu grupların, sağlıklı kontrollerle allel bazında karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (≤ 3 için $p=0,159$; $>3-6$ için $p=0,898$; ≥ 6 için $p=0,355$).

rs7527192 polimorfizmi; genotip ($p=0,298$) ve allel ($p=0,793$) frekansı dağılımlarında, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS, SPMS ve PPMS klinik alt gruplarında, rs7527192 polimorfizmi genotip ($p=0,103$) ve allel frekansı ($p=0,216$) dağılımlarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS ve PPMS grubunun sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmasında, rs7527192 polimorfizmi genotip (RRMS için $p=0,517$; PPMS için $p=0,757$) ve allel frekansı (RRMS için $p=0,878$; PPMS için $p=0,651$) dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. SPMS grubunun sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmasında ise SPMS’de CC genotipinin, istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p=0,014$). Allel frekansı karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,102$). Hasta ve kontrol grubu arasında, rs7527192 polimorfizmi dağılımının OD ($p=0,500$) ve OR ($p=0,224$) modele göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS, SPMS ve PPMS klinik gruplar arasında, rs7527192 polimorfizmi dağılımının OD ($p=0,078$) ve OR ($p=0,728$) modele göre yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. OD modele göre yapılan karşılaştırmada; SPMS grubunda sağlıklı kontrollere kıyasla CC genotipinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edilirken ($p=0,025$), RRMS ve PPMS ile yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (RRMS için $p=0,881$; PPMS için $p=0,562$). Bu grupların, sağlıklı kontroller ile OR model göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (RRMS için $p=0,290$; SPMS için $p=0,286$; PPMS için $p=0,685$). Hastalar, EDSS skoruna göre ≤ 3 , $>3-6$ ve ≥ 6 olacak şekilde gruplandırıldı. Bu grupların birbirleri ile karşılaştırılmasında, genotip ($p=0,097$) frekansı dağılımında istatistiksel olarak anlamlı

bir farklılık saptanmadı. Bu grupların, sağlıklı kontroller ile genotip bazında karşılaştırılmasında ≤ 3 ($p=0,544$) ve ≥ 6 ($p=0,332$) olan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken; $>3-6$ grubunun sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmasında CC genotipinin istatistiksel olarak anlamlı olarak arttığı tespit edildi ($p=0,024$). ≤ 3 ve ≥ 6 olan grupların, sağlıklı kontrollerle allel bazında karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken (≤ 3 için $p=0,840$; ≥ 6 için $p=1,000$); $>3-6$ olan grupta, C allel frekansının diğer gruplara kıyasla ($p=0,027$) ve sağlıklı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p=0,008$).

rs8679 polimorfizmi genotip ($p=0,202$) ve allel ($p=0,460$) frekansı dağılımlarında, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS, SPMS ve PPMS klinik alt gruplarında, rs8679 polimorfizmi genotip ($p=0,478$) ve allel frekansı ($p=0,683$) dağılımlarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu grupların sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmasında, rs8679 polimorfizmi genotip (RRMS için $p=0,135$; SPMS için $p=0,608$; PPMS için $p=0,481$) ve allel frekanslarının (RRMS için $p=0,320$; SPMS için $p=0,717$; PPMS için $p=0,942$) dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Hasta ve kontrol grubu arasında, rs8679 polimorfizmi dağılımının OD ($p=0,967$) ve OR ($p=0,096$) modele göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. RRMS, SPMS ve PPMS klinik grupları arasında, rs8679 polimorfizmi dağılımlarının OD ($p=0,675$) ve OR ($p=0,312$) modele göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu grupların sağlıklı kontroller ile OD modele göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (RRMS için $p=0,907$; SPMS için $p=0,485$; PPMS için $p=0,643$). Bu grupların sağlıklı kontroller ile OR modele göre karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (RRMS için $p=0,056$; SPMS için $p=0,659$; PPMS için $p=0,314$). Hastalar, EDSS skoruna göre ≤ 3 , $>3-6$ ve ≥ 6 olacak şekilde gruplandırıldı. Bu grupların birbirleri ile karşılaştırılmasında, genotip ($p=0,431$) ve allel ($p=0,731$) frekansı dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu grupların, sağlıklı kontrollerle genotip bazında karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (≤ 3 için $p=0,152$; $>3-6$ için $p=0,457$; ≥ 6 için $p=0,461$). Bu grupların, sağlıklı kontrollerle allel bazında karşılaştırılmasında

da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (≤ 3 için $p=0,333$; $>3-6$ için $p=0,793$; ≥ 6 için $p=0,905$).

rs7527192(C/T)/rs8679(T/C)/rs1136410(T/C) polimorfizmleri haplotiplerinin, hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,389$). Düzey üzerine etkisi olabilecek promotor bölge ve 3'UTR bölgelerinin etkisi incelendi. rs7527192(C/T)/rs8679(T/C) haplotiplerinin, hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,760$).

Sonuçlar; *PARP-1* geni promotor bölge varyantı rs7527192'nin, PARP-1 düzeyine etki ederek SPMS'de progresyon mekanizması üzerinde etkili olabileceği şeklinde yorumlandı. PARP-1'in, inflamazom yolağı aktivitesini arttırarak süreklilik kazanan bir doğal immün yanıtı neden olabileceği düşünülmüştür. PARP-1 inhibitörlerinin, etkin tedavi seçeneği olmayan SPMS'de umut vadeci yeni bir terapötik hedef olabileceği düşünülmektedir. Bu noktanın, daha fazla fonksiyonel çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç vardır. Farklı popülasyonları da içeren, daha geniş hasta gruplarından oluşturulan ileri çalışmalar ile genç yaşlardaki engelliliğin önemli bir nedeni olan ve mevcut tedavilere yanıtın kısıtlı olduğu SPMS'de; kazanılacak yeni tedavi seçenekleri, bu durumun önüne geçmeyi mümkün kılacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Charcot, J. 1868. *Comptes rendus des séances et mémoires lus à la société de Biologie*
2. Trapp, B. D., Peterson, J., Ransohoff, R. M., Rudick, R., Mörk, S., & Bö, L. (1998). Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *The New England journal of medicine*, 338(5), 278–285. <https://doi.org/10.1056/NEJM199801293380502>
3. Compston, A., & Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *Lancet (London, England)*, 372(9648), 1502–1517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61620-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61620-7)
4. Nylander, A., & Hafler, D. A. (2012). Multiple sclerosis. *The Journal of clinical investigation*, 122(4), 1180–1188. <https://doi.org/10.1172/JCI58649>
5. Compston A. (1997). Genetic epidemiology of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 62(6), 553–561. <https://doi.org/10.1136/jnnp.62.6.553>
6. Weinshenker, B. G., Bass, B., Rice, G. P., Noseworthy, J., Carriere, W., Baskerville, J., & Ebers, G. C. (1989). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain : a journal of neurology*, 112 (Pt 1), 133–146. <https://doi.org/10.1093/brain/112.1.133>
7. <https://www.msif.org/wp-content/uploads/2020/10/Atlas-3rd-Edition-Epidemiology-report-EN-updated-30-9-20.pdf>
8. Thompson, A. J., Baranzini, S. E., Geurts, J., Hemmer, B., & Ciccarelli, O. (2018). Multiple sclerosis. *Lancet (London, England)*, 391(10130), 1622–1636. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30481-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30481-1)
9. Rosati G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurological sciences: official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 22(2), 117–139. <https://doi.org/10.1007/s100720170011>
10. Akdemir, N., Terzi, M., Arslan, N., & Onar, M. (2017). Prevalence of Multiple Sclerosis in the Middle Black Sea Region of Turkey and Demographic Characteristics of Patients. *Noro psikiyatri arsivi*, 54(1), 11–14. <https://doi.org/10.5152/npa.2016.12451>

11. Türk Börü, U., Alp, R., Sur, H., & Gül, L. (2006). Prevalence of multiple sclerosis door-to-door survey in Maltepe, Istanbul, Turkey. *Neuroepidemiology*, 27(1), 17–21. <https://doi.org/10.1159/000093895>
12. Börü, U. T., Taşdemir, M., Güler, N., Ayık, E. D., Kumaş, A., Yıldırım, S., Duman, A., Sur, H., & Kurtzke, J. F. (2011). Prevalence of multiple sclerosis: door-to-door survey in three rural areas of coastal Black Sea regions of Turkey. *Neuroepidemiology*, 37(3-4), 231–235. <https://doi.org/10.1159/000334316>
13. Alp, R., ilhan alp, s., planci, Y., Yapici, Z., & Turk Boru, U. (2012). The Prevalence of Multiple Sclerosis in the North Caucasus Region of Turkey: Door-to-Door Epidemiological Field Study. *Archives of Neuropsychiatry/Noropsikiatri Arsivi*, 49(4).
14. Hayes C. E. (2000). Vitamin D: a natural inhibitor of multiple sclerosis. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 59(4), 531–535. <https://doi.org/10.1017/s0029665100000768>
15. McKay, K. A., Jahanfar, S., Duggan, T., Tkachuk, S., & Tremlett, H. (2017). Factors associated with onset, relapses or progression in multiple sclerosis: A systematic review. *Neurotoxicology*, 61, 189–212. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.03.020>
16. Goldberg P. Multiple sclerosis: vitamin D and calcium as environmental determinants of prevalence (a viewpoint). Part 1: sunlight, dietary factors and epidemiology. *Intern J Environ Stud* 1974; 6: 19–27
17. Kampman, M. T., & Brustad, M. (2008). Vitamin D: a candidate for the environmental effect in multiple sclerosis- observations from Norway. *Neuroepidemiology*, 30(3), 140–146. <https://doi.org/10.1159/000122330>
18. Hernán, M. A., Olek, M. J., & Ascherio, A. (2001). Cigarette smoking and incidence of multiple sclerosis. *American journal of epidemiology*, 154(1), 69–74. <https://doi.org/10.1093/aje/154.1.69>
19. Palacios, N., Alonso, A., Brønnum-Hansen, H., & Ascherio, A. (2011). Smoking and increased risk of multiple sclerosis: parallel trends in the sex ratio reinforce the evidence. *Annals of epidemiology*, 21(7), 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2011.03.001>

20. Ascherio, A., & Munger, K. L. (2007). Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Annals of neurology*, 61(4), 288–299. <https://doi.org/10.1002/ana.21117>
21. Levin, L. I., Munger, K. L., Rubertone, M. V., Peck, C. A., Lennette, E. T., Spiegelman, D., & Ascherio, A. (2005). Temporal relationship between elevation of epstein-barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis. *JAMA*, 293(20), 2496–2500. <https://doi.org/10.1001/jama.293.20.2496>
22. Jersild, C., Fog, T., Hansen, G. S., Thomsen, M., Svejgaard, A., & Dupont, B. (1973). Histocompatibility determinants in multiple sclerosis, with special reference to clinical course. *Lancet (London, England)*, 2(7840), 1221–1225. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(73\)90970-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(73)90970-7)
23. Olerup, O., & Hillert, J. (1991). HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue antigens*, 38(1), 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1991.tb02029.x>
24. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler, D. A., Compston, A., Sawcer, S., Lander, E. S., Daly, M. J., De Jager, P. L., de Bakker, P. I., Gabriel, S. B., Mirel, D. B., Ivinson, A. J., Pericak-Vance, M. A., Gregory, S. G., Rioux, J. D., McCauley, J. L., Haines, J. L., Barcellos, L. F., Cree, B., Oksenberg, J. R., & Hauser, S. L. (2007). Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *The New England journal of medicine*, 357(9), 851–862. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa073493>
25. Sawcer, S., Franklin, R. J., & Ban, M. (2014). Multiple sclerosis genetics. *The Lancet. Neurology*, 13(7), 700–709. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70041-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70041-9)
26. Thorpe, J. W., Mumford, C. J., Compston, D. A., Kendall, B. E., MacManus, D. G., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (1994). British Isles survey of multiple sclerosis in twins: MRI. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 57(4), 491–496. <https://doi.org/10.1136/jnnp.57.4.491>
27. Willer, C. J., Dyment, D. A., Risch, N. J., Sadovnick, A. D., Ebers, G. C., & Canadian Collaborative Study Group (2003). Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(22), 12877–12882. <https://doi.org/10.1073/pnas.1932604100>

28. McFarland, H. F., & Martin, R. (2007). Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nature immunology*, 8(9), 913–919. <https://doi.org/10.1038/ni1507>
29. Sie, C., Korn, T., & Mitsdoerffer, M. (2014). Th17 cells in central nervous system autoimmunity. *Experimental neurology*, 262 Pt A, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.03.009>
30. Frohman, E. M., Racke, M. K., & Raine, C. S. (2006). Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *The New England journal of medicine*, 354(9), 942–955. <https://doi.org/10.1056/NEJMra052130>
31. Garg, N., & Smith, T. W. (2015). An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. *Brain and behavior*, 5(9), e00362. <https://doi.org/10.1002/brb3.362>
32. Negron, A., Robinson, R. R., Stüve, O., & Forsthuber, T. G. (2019). The role of B cells in multiple sclerosis: Current and future therapies. *Cellular immunology*, 339, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.10.006>
33. Fischer, M. T., Sharma, R., Lim, J. L., Haider, L., Frischer, J. M., Drexhage, J., Mahad, D., Bradl, M., van Horssen, J., & Lassmann, H. (2012). NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury. *Brain: a journal of neurology*, 135(Pt 3), 886–899. <https://doi.org/10.1093/brain/aws012>
34. Lassmann, H., van Horssen, J., & Mahad, D. (2012). Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nature reviews. Neurology*, 8(11), 647–656. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.168>
35. Trapp, B. D., & Stys, P. K. (2009). Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 8(3), 280–291. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70043-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70043-2)
36. El-Shebiny, E.M., Zahran, E.S., Shoeib, S.A. *et al.* Bridging autoinflammatory and autoimmune diseases. *Egypt J Intern Med* **33**, 11 (2021). <https://doi.org/10.1186/s43162-021-00040-5>
37. Theofilopoulos, A. N., Gonzalez-Quintial, R., Lawson, B. R., Koh, Y. T., Stern, M. E., Kono, D. H., Beutler, B., & Baccala, R. (2010). Sensors of the innate immune system: their link to rheumatic diseases. *Nature reviews. Rheumatology*, 6(3), 146–156. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2009.278>

38. Doria, A., Zen, M., Bettio, S., Gatto, M., Bassi, N., Nalotto, L., Ghirardello, A., Iaccarino, L., & Punzi, L. (2012). Autoinflammation and autoimmunity: bridging the divide. *Autoimmunity reviews*, 12(1), 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.07.018>
39. McGonagle, D., & McDermott, M. F. (2006). A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS medicine*, 3(8), e297. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030297>
40. Fritz, J. H., Ferrero, R. L., Philpott, D. J., & Girardin, S. E. (2006). Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease. *Nature immunology*, 7(12), 1250–1257. <https://doi.org/10.1038/ni1412>
41. Werts, Catherine & Girardin, S & Philpott, D. (2006). TIR, CARD and PYRIN: three domains for an antimicrobial triad. *Cell death and differentiation*. 13. 798-815. [10.1038/sj.cdd.4401890](https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401890).
42. Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6), 805–820. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>
43. Guo, H., Callaway, J. B., & Ting, J. P. (2015). Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature medicine*, 21(7), 677–687. <https://doi.org/10.1038/nm.3893>
44. Wootla, B., Eriguchi, M., & Rodriguez, M. (2012). Is multiple sclerosis an autoimmune disease?. *Autoimmune diseases*, 2012, 969657. <https://doi.org/10.1155/2012/969657>
45. Farez, M. F., Quintana, F. J., Gandhi, R., Izquierdo, G., Lucas, M., & Weiner, H. L. (2009). Toll-like receptor 2 and poly(ADP-ribose) polymerase 1 promote central nervous system neuroinflammation in progressive EAE. *Nature immunology*, 10(9), 958–964. <https://doi.org/10.1038/ni.1775>
46. Weiner H. L. (2008). A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 255 Suppl 1, 3–11. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-1002-8>
47. Loma, I., & Heyman, R. (2011). Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. *Current neuropharmacology*, 9(3), 409–416. <https://doi.org/10.2174/157015911796557911>

48. Lublin, F. D., & Reingold, S. C. (1996). Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*, 46(4), 907–911. <https://doi.org/10.1212/wnl.46.4.907>
49. Tafti, D., Ehsan, M., & Xixis, K. L. (2021). Multiple Sclerosis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
50. Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., Correale, J., Fazekas, F., Filippi, M., Freedman, M. S., Fujihara, K., Galetta, S. L., Hartung, H. P., Kappos, L., Lublin, F. D., Marrie, R. A., Miller, A. E., Miller, D. H., Montalban, X., Mowry, E. M., ... Cohen, J. A. (2018). Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet. Neurology*, 17(2), 162–173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)
51. Kurtzke J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 33(11), 1444–1452. <https://doi.org/10.1212/wnl.33.11.1444>
52. Goto, Y., Hino, A., & Hashimoto, N. (2021). A comparative analysis of the modified Rankin Scale, Karnofsky Performance Status and Kurtzke expanded disability status scale in the perioperative management of patients with brainstem cavernous malformations. *Clinical neurology and neurosurgery*, 207, 106785. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2021.106785>
53. Hauser, S. L., & Cree, B. (2020). Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *The American journal of medicine*, 133(12), 1380–1390.e2. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.05.049>
54. Bhatia, R., & Singh, N. (2019). Can We Treat Secondary Progressive Multiple Sclerosis Now?. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 22(2), 131–136. https://doi.org/10.4103/aian.AIAN_345_18
55. Ulucan-Karnak, Fulden. (2021). Multiple Skleroz Hastalığına Karşı Tedavi Yaklaşımları-Treatment Approaches Against Multiple Sclerosis. 7. 49-54.
56. Pazzaglia, S., & Pioli, C. (2019). Multifaceted Role of PARP-1 in DNA Repair and Inflammation: Pathological and Therapeutic Implications in Cancer and Non-Cancer Diseases. *Cells*, 9(1), 41. <https://doi.org/10.3390/cells9010041>

57. Hottiger, M. O., Hassa, P. O., Lüscher, B., Schüler, H., & Koch-Nolte, F. (2010). Toward a unified nomenclature for mammalian ADP-ribosyltransferases. *Trends in biochemical sciences*, 35(4), 208–219. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2009.12.003>
58. Berger N. A. (1985). Poly(ADP-ribose) in the cellular response to DNA damage. *Radiation research*, 101(1), 4–15.
59. Meyer-Ficca, M. L., Meyer, R. G., Coyle, D. L., Jacobson, E. L., & Jacobson, M. K. (2004). Human poly(ADP-ribose) glycohydrolase is expressed in alternative splice variants yielding isoforms that localize to different cell compartments. *Experimental cell research*, 297(2), 521–532. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.03.050>
60. Koh, D. W., Lawler, A. M., Poitras, M. F., Sasaki, M., Wattler, S., Nehls, M. C., Stöger, T., Poirier, G. G., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2004). Failure to degrade poly(ADP-ribose) causes increased sensitivity to cytotoxicity and early embryonic lethality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(51), 17699–17704. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406182101>
61. Chiarugi A. (2002). Poly(ADP-ribose) polymerase: killer or conspirator? The 'suicide hypothesis' revisited. *Trends in pharmacological sciences*, 23(3), 122–129. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(00\)01902-7](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01902-7)
62. Ying, W., Chen, Y., Alano, C. C., & Swanson, R. A. (2002). Tricarboxylic acid cycle substrates prevent PARP-mediated death of neurons and astrocytes. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 22(7), 774–779. <https://doi.org/10.1097/00004647-200207000-00002>
63. Zong, W. X., Ditsworth, D., Bauer, D. E., Wang, Z. Q., & Thompson, C. B. (2004). Alkylating DNA damage stimulates a regulated form of necrotic cell death. *Genes & development*, 18(11), 1272–1282. <https://doi.org/10.1101/gad.1199904>
64. D'Amours, D., Desnoyers, S., D'Silva, I., & Poirier, G. G. (1999). Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. *The Biochemical journal*, 342 (Pt 2)(Pt 2), 249–268.

65. Alano, C. C., Garnier, P., Ying, W., Higashi, Y., Kauppinen, T. M., & Swanson, R. A. (2010). NAD⁺ depletion is necessary and sufficient for poly(ADP-ribose) polymerase-1-mediated neuronal death. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(8), 2967–2978. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5552-09.2010>
66. Formentini, L., Macchiarulo, A., Cipriani, G., Camaioni, E., Rapizzi, E., Pellicciari, R., Moroni, F., & Chiarugi, A. (2009). Poly(ADP-ribose) catabolism triggers AMP-dependent mitochondrial energy failure. *The Journal of biological chemistry*, 284(26), 17668–17676. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.002931>
67. Alano, C. C., Ying, W., & Swanson, R. A. (2004). Poly(ADP-ribose) polymerase-1-mediated cell death in astrocytes requires NAD⁺ depletion and mitochondrial permeability transition. *The Journal of biological chemistry*, 279(18), 18895–18902. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313329200>
68. Hassa, P. O., Covic, M., Hasan, S., Imhof, R., & Hottiger, M. O. (2001). The enzymatic and DNA binding activity of PARP-1 are not required for NF-kappa B coactivator function. *The Journal of biological chemistry*, 276(49), 45588–45597. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106528200>
69. Oliver, F. J., Ménissier-de Murcia, J., Nacci, C., Decker, P., Andriantsitohaina, R., Muller, S., de la Rubia, G., Stoclet, J. C., & de Murcia, G. (1999). Resistance to endotoxic shock as a consequence of defective NF-kappaB activation in poly (ADP-ribose) polymerase-1 deficient mice. *The EMBO journal*, 18(16), 4446–4454. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.16.4446>
70. Pacher, P., & Szabo, C. (2008). Role of the peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in human disease. *The American journal of pathology*, 173(1), 2–13. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.080019>
71. Martire, S., Mosca, L., & d'Erme, M. (2015). PARP-1 involvement in neurodegeneration: A focus on Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Mechanisms of ageing and development*, 146-148, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2015.04.001>
72. Kauppinen, T. M., & Swanson, R. A. (2007). The role of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in CNS disease. *Neuroscience*, 145(4), 1267–1272. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.09.034>

73. Virág, L., & Szabó, C. (2002). The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacological reviews*, 54(3), 375–429. <https://doi.org/10.1124/pr.54.3.375>
74. Sairanen, T., Szepesi, R., Karjalainen-Lindsberg, M. L., Saksi, J., Paetau, A., & Lindsberg, P. J. (2009). Neuronal caspase-3 and PARP-1 correlate differentially with apoptosis and necrosis in ischemic human stroke. *Acta neuropathologica*, 118(4), 541–552. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0559-3>
75. Cosi, C., Suzuki, H., Milani, D., Facci, L., Menegazzi, M., Vantini, G., Kanai, Y., & Skaper, S. D. (1994). Poly(ADP-ribose) polymerase: early involvement in glutamate-induced neurotoxicity in cultured cerebellar granule cells. *Journal of neuroscience research*, 39(1), 38–46. <https://doi.org/10.1002/jnr.490390106>
76. Zhang, J., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Snyder, S. H. (1994). Nitric oxide activation of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science (New York, N.Y.)*, 263(5147), 687–689. <https://doi.org/10.1126/science.8080500>
77. Scott, G. S., Jakeman, L. B., Stokes, B. T., & Szabó, C. (1999). Peroxynitrite production and activation of poly (adenosine diphosphate-ribose) synthetase in spinal cord injury. *Annals of neurology*, 45(1), 120–124.
78. Besson, V. C., Croci, N., Boulu, R. G., Plotkine, M., & Marchand-Verrecchia, C. (2003). Deleterious poly(ADP-ribose)polymerase-1 pathway activation in traumatic brain injury in rat. *Brain research*, 989(1), 58–66. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)03362-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)03362-6)
79. Sriram, C. S., Jangra, A., Kasala, E. R., Bodduluru, L. N., & Bezbaruah, B. K. (2014). Targeting poly(ADP-ribose)polymerase1 in neurological diseases: A promising trope for new pharmacological interventions to enter clinical translation. *Neurochemistry international*, 76, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.07.001>
80. Kim, S. H., Engelhardt, J. I., Henkel, J. S., Siklós, L., Soós, J., Goodman, C., & Appel, S. H. (2004). Widespread increased expression of the DNA repair enzyme PARP in brain in ALS. *Neurology*, 62(2), 319–322. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000103291.04985.dc>

81. Soós, J., Engelhardt, J. I., Siklós, L., Havas, L., & Majtényi, K. (2004). The expression of PARP, NF-kappa B and parvalbumin is increased in Parkinson disease. *Neuroreport*, 15(11), 1715–1718. <https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000136175.51954.ce>
82. Kim, T. W., Cho, H. M., Choi, S. Y., Suguira, Y., Hayasaka, T., Setou, M., Koh, H. C., Hwang, E. M., Park, J. Y., Kang, S. J., Kim, H. S., Kim, H., & Sun, W. (2013). (ADP-ribose) polymerase 1 and AMP-activated protein kinase mediate progressive dopaminergic neuronal degeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Cell death & disease*, 4(11), e919. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.447>
83. Lee, Y., Karuppagounder, S. S., Shin, J. H., Lee, Y. I., Ko, H. S., Swing, D., Jiang, H., Kang, S. U., Lee, B. D., Kang, H. C., Kim, D., Tessarollo, L., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2013). Parthanatos mediates AIMP2-activated age-dependent dopaminergic neuronal loss. *Nature neuroscience*, 16(10), 1392–1400. <https://doi.org/10.1038/nn.3500>
84. Jangra, A., Datusalia, A. K., Khandwe, S., & Sharma, S. S. (2013). Amelioration of diabetes-induced neurobehavioral and neurochemical changes by melatonin and nicotinamide: implication of oxidative stress-PARP pathway. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 114-115, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.10.021>
85. Martire, S., Fusco, A., Rotili, D., Tempera, I., Giordano, C., De Zottis, I., Muzi, A., Vernole, P., Graziani, G., Lococo, E., Faraldi, M., Maras, B., Scarpa, S., Mosca, L., & d'Erme, M. (2013). PARP-1 modulates amyloid beta peptide-induced neuronal damage. *PloS one*, 8(9), e72169. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072169>
86. Rulten, S. L., Rotheray, A., Green, R. L., Grundy, G. J., Moore, D. A., Gómez-Herreros, F., Hafezparast, M., & Caldecott, K. W. (2014). PARP-1 dependent recruitment of the amyotrophic lateral sclerosis-associated protein FUS/TLS to sites of oxidative DNA damage. *Nucleic acids research*, 42(1), 307–314. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt835>
87. Cavone, L., & Chiarugi, A. (2012). Targeting poly(ADP-ribose) polymerase-1 as a promising approach for immunomodulation in multiple sclerosis?. *Trends in molecular medicine*, 18(2), 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2011.10.002>

88. Yue, Y., Stone, S., & Lin, W. (2018). Role of nuclear factor κ B in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neural regeneration research*, 13(9), 1507–1515. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.237109>
89. Chiarugi, A., & Moskowitz, M. A. (2003). Poly(ADP-ribose) polymerase-1 activity promotes NF-kappaB-driven transcription and microglial activation: implication for neurodegenerative disorders. *Journal of neurochemistry*, 85(2), 306–317. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01684.x>
90. Yan, J., & Greer, J. M. (2008). NF-kappa B, a potential therapeutic target for the treatment of multiple sclerosis. *CNS & neurological disorders drug targets*, 7(6), 536–557. <https://doi.org/10.2174/187152708787122941>
91. Ha, H. C., Hester, L. D., & Snyder, S. H. (2002). Poly(ADP-ribose) polymerase-1 dependence of stress-induced transcription factors and associated gene expression in glia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(5), 3270–3275. <https://doi.org/10.1073/pnas.052712399>
92. Pacher, P., & Szabo, C. (2008). Role of the peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in human disease. *The American journal of pathology*, 173(1), 2–13. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.080019>
93. Scott, G. S., Hake, P., Kean, R. B., Virág, L., Szabó, C., & Hooper, D. C. (2001). Role of poly(ADP-ribose) synthetase activation in the development of experimental allergic encephalomyelitis. *Journal of neuroimmunology*, 117(1-2), 78–86. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(01\)00329-0](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(01)00329-0)
94. Selvaraj, V., Soundarapandian, M. M., Chechneva, O., Williams, A. J., Sidorov, M. K., Soulika, A. M., Pleasure, D. E., & Deng, W. (2009). PARP-1 deficiency increases the severity of disease in a mouse model of multiple sclerosis. *The Journal of biological chemistry*, 284(38), 26070–26084. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.013474>
95. Kauppinen, T. M., Suh, S. W., Genain, C. P., & Swanson, R. A. (2005). Poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation in a primate model of multiple sclerosis. *Journal of neuroscience research*, 81(2), 190–198. <https://doi.org/10.1002/jnr.20525>

96. Scott, G. S., Kean, R. B., Mikheeva, T., Fabis, M. J., Mabley, J. G., Szabó, C., & Hooper, D. C. (2004). The therapeutic effects of PJ34 [N-(6-oxo-5,6-dihydrophenanthridin-2-yl)-N,N-dimethylacetamide.HCl], a selective inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase, in experimental allergic encephalomyelitis are associated with immunomodulation. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 310(3), 1053–1061. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.063214>
97. Chiarugi A. (2002). Inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase-1 suppress transcriptional activation in lymphocytes and ameliorate autoimmune encephalomyelitis in rats. *British journal of pharmacology*, 137(6), 761–770. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704934>
98. Meira, M., Sievers, C., Hoffmann, F., Bodmer, H., Derfuss, T., Kuhle, J., Haghighi, A., Kappos, L., & Lindberg, R. L. (2019). PARP-1 deregulation in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis journal - experimental, translational and clinical*, 5(4), 2055217319894604. <https://doi.org/10.1177/2055217319894604>
99. Díaz N. (2017). European and Americas Committees for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS/ACTRIMS) - 7th Joint Triennial Congress (October 25-28, 2017 - Paris, France). *Drugs of today (Barcelona, Spain : 1998)*, 53(10), 559–563. <https://doi.org/10.1358/dot.2017.53.10.2739609>
100. Al-Koofee, Dhafer & Mubarak, Shaden. (2020). Genetic Polymorphisms. 10.5772/intechopen.88063.
101. Singh, R.S. & Kulathinal, R.J. (2013). Polymorphism. 10.1016/B978-0-12-374984-0.01189-X.
102. Trent, R. J. (2012). DNA Genetic Testing. In *Molecular Medicine* (pp. 81–115). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-381451-7.00003-7>
103. Syvänen A. C. (2001). Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nature reviews. Genetics*, 2(12), 930–942. <https://doi.org/10.1038/35103535>
104. Weiss, K. M., & Terwilliger, J. D. (2000). How many diseases does it take to map a gene with SNPs?. *Nature genetics*, 26(2), 151–157. <https://doi.org/10.1038/79866>
105. Shastri B. S. (2007). SNPs in disease gene mapping, medicinal drug development and evolution. *Journal of human genetics*, 52(11), 871–880. <https://doi.org/10.1007/s10038-007-0200-z>

106. Salih, Maan & Al-Azzawie, Adnan & Al-Assie, Akeel. (2021). Intronic SNPs and Genetic Diseases: A Review. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*. 8. 267-274. 10.31033/ijrasb.8.2.36.
107. Schwerk, J., & Savan, R. (2015). Translating the Untranslated Region. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 195(7), 2963–2971. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500756>
108. Steri, M., Idda, M. L., Whalen, M. B., & Orrù, V. (2018). Genetic variants in mRNA untranslated regions. *Wiley interdisciplinary reviews. RNA*, 9(4), e1474. <https://doi.org/10.1002/wrna.1474>
109. Lim, Y., Arora, S., Schuster, S. L., Corey, L., Fitzgibbon, M., Wladyka, C. L., Wu, X., Coleman, I. M., Delrow, J. J., Corey, E., True, L. D., Nelson, P. S., Ha, G., & Hsieh, A. C. (2021). Multiplexed functional genomic analysis of 5' untranslated region mutations across the spectrum of prostate cancer. *Nature communications*, 12(1), 4217. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24445-6>
110. Chatterjee, Sangeeta & Berwal, Dr. Sunil & Pal, Jayanta. (2010). Pathological Mutations in 5' Untranslated Regions of Human Genes. 10.1002/9780470015902.a0022408.
111. Ju, Z., Zheng, X., Huang, J., Qi, C., Zhang, Y., Li, J., Zhong, J., & Wang, C. (2012). Functional characterization of genetic polymorphisms identified in the promoter region of the bovine PEPS gene. *DNA and cell biology*, 31(6), 1038–1045. <https://doi.org/10.1089/dna.2011.1555>
112. Rasmussen, Henrik. (2012). Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis - Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting. 10.5772/37724.
113. Ota, M., Fukushima, H., Kulski, J. K., & Inoko, H. (2007). Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Nature protocols*, 2(11), 2857–2864. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.407>
114. Giasuddin, A. S. M. (1995). Polymerase chain reaction technique : *Sciences-New York*, 29–32.
115. Mittal, Balraj & Chaturvedi, Pankaj & Tulsyan, Sonam. (2011). Restriction Fragment Length Polymorphism. *Encyclopedia Elsevier*. 10.1016/B978-0-12-374984-0.01314-0.

116. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PARP1>
117. Kraus, W. L., & Hottiger, M. O. (2013). PARP-1 and gene regulation: progress and puzzles. *Molecular aspects of medicine*, 34(6), 1109–1123. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2013.01.005>
118. Li, H., Zha, Y., Du, F., Liu, J., Li, X., & Zhao, X. (2020). Contributions of PARP-1 rs1136410 C>T polymorphism to the development of cancer. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(24), 14639–14644. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16027>
119. Cottet, F., Blanché, H., Verasdonck, P., Le Gall, I., Schächter, F., Bürkle, A., & Muir, M. L. (2000). New polymorphisms in the human poly(ADP-ribose) polymerase-1 coding sequence: lack of association with longevity or with increased cellular poly(ADP-ribosyl)ation capacity. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 78(8), 431–440. <https://doi.org/10.1007/s001090000132>
120. Lockett, K. L., Hall, M. C., Xu, J., Zheng, S. L., Berwick, M., Chuang, S. C., Clark, P. E., Cramer, S. D., Lohman, K., & Hu, J. J. (2004). The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function. *Cancer research*, 64(17), 6344–6348. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0338>
121. Wang, X. G., Wang, Z. Q., Tong, W. M., & Shen, Y. (2007). PARP1 Val762Ala polymorphism reduces enzymatic activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 354(1), 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.162>
122. Cheng, J., Zhuo, Z., Zhao, P., Zhu, J., Xin, Y., Zhang, J., Li, P., Gao, Y., He, J., & Zheng, B. (2019). PARP1 gene polymorphisms and neuroblastoma susceptibility in Chinese children. *Journal of Cancer*, 10(18), 4159–4164. <https://doi.org/10.7150/jca.34222>
123. Chiang, F. Y., Wu, C. W., Hsiao, P. J., Kuo, W. R., Lee, K. W., Lin, J. C., Liao, Y. C., & Juo, S. H. (2008). Association between polymorphisms in DNA base excision repair genes XRCC1, APE1, and ADPRT and differentiated thyroid carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 14(18), 5919–5924. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0906>
124. Hur, J. W., Sung, Y. K., Shin, H. D., Park, B. L., Cheong, H. S., & Bae, S. C. (2006). Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) polymorphisms associated with nephritis and arthritis in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford, England)*, 45(6), 711–717. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kei262>

125. Kwiatkowski, D., Czarny, P., Galecki, P., Bachurska, A., Talarowska, M., Orzechowska, A., Bobińska, K., Bielecka-Kowalska, A., Pietras, T., Szemraj, J., Maes, M., & Sliwinski, T. (2015). Variants of Base Excision Repair Genes MUTYH PARP1 and XRCC1 in Alzheimer's Disease Risk. *Neuropsychobiology*, 71(3), 176–186. <https://doi.org/10.1159/000381985>
126. Ogura, T., Nyunoya, H., Takahashi-Masutani, M., Miwa, M., Sugimura, T., & Esumi, H. (1990). Characterization of a putative promoter region of the human poly(ADP-ribose) polymerase gene: structural similarity to that of the DNA polymerase beta gene. *Biochemical and biophysical research communications*, 167(2), 701–710. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(90\)92082-b](https://doi.org/10.1016/0006-291x(90)92082-b)
127. Oei, S. L., Herzog, H., Hirsch-Kauffmann, M., Schneider, R., Auer, B., & Schweiger, M. (1994). Transcriptional regulation and autoregulation of the human gene for ADP-ribosyltransferase. *Molecular and cellular biochemistry*, 138(1-2), 99–104. <https://doi.org/10.1007/BF00928449>
128. Soldatenkov, V. A., Albor, A., Patel, B. K., Dreszer, R., Dritschilo, A., & Notario, V. (1999). Regulation of the human poly(ADP-ribose) polymerase promoter by the ETS transcription factor. *Oncogene*, 18(27), 3954–3962. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202778>
129. Schweiger, M., Oei, S. L., Herzog, H., Menardi, C., Schneider, R., Auer, B., & Hirsch-Kauffmann, M. (1995). Regulation of the human poly(ADP-ribosyl) transferase promoter via alternative DNA racket structures. *Biochimie*, 77(6), 480–485. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)88164-8](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)88164-8)
130. Kato, N., Morita, H., Sugiyama, T., Kurihara, H., Tsubaki, S., Nabika, T., Kitamura, K., Yamori, Y., & Yazaki, Y. (2000). Evaluation of the poly(ADP-ribose) polymerase gene in human stroke. *Atherosclerosis*, 148(2), 345–352. [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(99\)00284-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(99)00284-1)
131. Koc, A., Aydin Sayitoglu, M., Karakurt, F., Batar, B., Niyazoglu, M., Celik, O., Onaran, I., Tasan, E., & Sultuybek, G. K. (2014). Association of three SNPs in the PARP-1 gene with Hashimoto's thyroiditis. *Human genome variation*, 1, 14016. <https://doi.org/10.1038/hgv.2014.16>

132. Infante, J., Sánchez-Juan, P., Mateo, I., Rodríguez-Rodríguez, E., Sánchez-Quintana, C., Llorca, J., Fontalba, A., Terrazas, J., Oterino, A., Berciano, J., & Combarros, O. (2007). Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) genetic variants are protective against Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 256(1-2), 68–70. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.02.008>
133. Teo, M. T., Landi, D., Taylor, C. F., Elliott, F., Vaslin, L., Cox, D. G., Hall, J., Landi, S., Bishop, D. T., & Kiltie, A. E. (2012). The role of microRNA-binding site polymorphisms in DNA repair genes as risk factors for bladder cancer and breast cancer and their impact on radiotherapy outcomes. *Carcinogenesis*, 33(3), 581–586. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr300>
134. Schneiderova, M., Naccarati, A., Pardini, B., Rosa, F., Gaetano, C. D., Jiraskova, K., Opatova, A., Levy, M., Veskrna, K., Veskrnova, V., Buchler, T., Landi, S., Vodicka, P., & Vymetalkova, V. (2017). MicroRNA-binding site polymorphisms in genes involved in colorectal cancer etiopathogenesis and their impact on disease prognosis. *Mutagenesis*, 32(5), 533–542. <https://doi.org/10.1093/mutage/gex026>
135. Zhou, R. M., Li, Y., Wang, N., Niu, C. X., Huang, X., Cao, S. R., & Huo, X. R. (2020). PARP1 Gene Polymorphisms and the Prognosis of Esophageal Cancer Patients from Cixian High-Incidence Region in Northern China. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 21(10), 2987–2992. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.10.2987>
136. Mohamed Osman, Marwa & Khalifa, Ahmed & Ahmed, Ahmed & Altayb, Hisham & Hassan, Mohamed. (2016). In silico Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms (Snps) in Human FTO Gene. *JSM Bioinformatics, Genomics and Proteomics*. 1. 1003.
137. Ng, P. C., & Henikoff, S. (2006). Predicting the effects of amino acid substitutions on protein function. *Annual review of genomics and human genetics*, 7, 61–80. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.7.080505.115630>
138. Kaur, Tarnjeet & Thakur, Kshema & Singh, Jatinder & Kamboj, Sukhdev & Kaur, Manpreet. (2017). Identification of functional SNPs in human LGALS3 gene by in silico analyses. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 18. 10.1016/j.ejmhg.2017.02.001.

139. Adzhubei, I. A., Schmidt, S., Peshkin, L., Ramensky, V. E., Gerasimova, A., Bork, P., Kondrashov, A. S., & Sunyaev, S. R. (2010). A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature methods*, 7(4), 248–249. <https://doi.org/10.1038/nmeth0410-248>
140. Fehlmann, T., Sahay, S., Keller, A., & Backes, C. (2019). A review of databases predicting the effects of SNPs in miRNA genes or miRNA-binding sites. *Briefings in bioinformatics*, 20(3), 1011–1020. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx155>
141. Guo, L., & Wang, J. (2018). rSNPBase 3.0: an updated database of SNP-related regulatory elements, element-gene pairs and SNP-based gene regulatory networks. *Nucleic acids research*, 46(D1), D1111–D1116. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1101>
142. Zhai, L., Li, S., Li, H., Zheng, Y., Lang, R., Fan, Y., Gu, F., Guo, X., Zhang, X., & Fu, L. (2015). Polymorphisms in poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) promoter and 3' untranslated region and their association with PARP1 expression in breast cancer patients. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(6), 7059–7071.
143. Liao, Y., Liao, Y., Li, J., Xiong, J., & Fan, Y. (2020). Polymorphisms in PARP1 predict disease-free survival of triple-negative breast cancer patients treated with anthracycline/taxane based adjuvant chemotherapy. *Scientific reports*, 10(1), 7349. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64473-8>
144. Brighina, L., Riva, C., Bertola, F., Fermi, S., Saracchi, E., Piolti, R., Goldwurm, S., Pezzoli, G., & Ferrarese, C. (2011). Association analysis of PARP1 polymorphisms with Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 17(9), 701–704. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2011.06.022>
145. Gu, L., Xu, G., & Liu, D. (2021). Poly (Adenosine Diphosphate Ribose) Polymerase-1 Single Nucleotide Polymorphism in the 3'-Untranslated Region for Ischemic Stroke Risk Reduction. *Current neurovascular research*, 18(3), 302–306. <https://doi.org/10.2174/1567202618666210916122553>
146. Zhou, R., Li, Y., Wang, N., Niu, C., Huang, X., Cao, S., & Huo, X. (2021). PARP1 rs1136410 C/C genotype associated with an increased risk of esophageal cancer in smokers. *Molecular biology reports*, 48(2), 1485–1491. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06169-4>

147. Zhang, M., Zhao, Z., Chen, S., Liang, Z., Zhu, J., Zhao, M., Xu, C., He, J., Duan, P., & Zhang, A. (2021). The Association of Polymorphisms in Base Excision Repair Genes with Ovarian Cancer Susceptibility in Chinese Women: A Two-Center Case-Control Study. *Journal of Cancer*, 12(1), 264–269. <https://doi.org/10.7150/jca.49925>
148. Zhuo, Z., Zhou, C., Fang, Y., Zhu, J., Lu, H., Zhou, H., Wu, H., Wang, Y., & He, J. (2020). Correlation between the genetic variants of base excision repair (BER) pathway genes and neuroblastoma susceptibility in eastern Chinese children. *Cancer communications (London, England)*, 40(11), 641–646. <https://doi.org/10.1002/cac2.12088>
149. Niyazoglu, M., Baykara, O., Koc, A., Aydoğdu, P., Onaran, I., Dellal, F. D., Tasan, E., & Sultuybek, G. K. (2014). Association of PARP-1, NF-κB, NF-κBIA and IL-6, IL-1β and TNF-α with Graves Disease and Graves Ophthalmopathy. *Gene*, 547(2), 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.06.038>
150. Ozaydin, A., Akbas, F., Aksoy, F., Yildirim, Y. S., Demirhan, H., Karakurt, F., Koc, A., Onaran, I., & Kanigur Sultuybek, G. (2014). Investigation of poly (ADP-ribose) polymerase-1 genetic variants as a possible risk for allergic rhinitis. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 18(1), 57–61. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2013.0363>
151. Faissner, S., Plemel, J. R., Gold, R., & Yong, V. W. (2019). Progressive multiple sclerosis: from pathophysiology to therapeutic strategies. *Nature reviews. Drug discovery*, 18(12), 905–922. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0035-2>
152. Kadowaki, A., & Quintana, F. J. (2020). The NLRP3 inflammasome in progressive multiple sclerosis. *Brain: a journal of neurology*, 143(5), 1286–1288. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa135>
153. Lemprière S. (2020). NLRP3 inflammasome activity as biomarker for primary progressive multiple sclerosis. *Nature reviews. Neurology*, 16(7), 350. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0366-y>
154. Govindarajan, V., de Rivero Vaccari, J. P., & Keane, R. W. (2020). Role of inflammasomes in multiple sclerosis and their potential as therapeutic targets. *Journal of neuroinflammation*, 17(1), 260. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01944-9>

155. Ali A. Abdul-Sater, Dana J. Philpott, *Inflammasomes*, Editor(s): Michael J.H. Ratcliffe, *Encyclopedia of Immunobiology*, Academic Press, 2016, Pages 447-453, ISBN 9780080921525, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374279-7.10020-7>.
156. Malireddi, R. K., Ippagunta, S., Lamkanfi, M., & Kanneganti, T. D. (2010). Cutting edge: proteolytic inactivation of poly(ADP-ribose) polymerase 1 by the Nlrp3 and Nlrc4 inflammasomes. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 185(6), 3127–3130. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001512>
157. Erener, S., Pétrilli, V., Kassner, I., Minotti, R., Castillo, R., Santoro, R., Hassa, P. O., Tschopp, J., & Hottiger, M. O. (2012). Inflammasome-activated caspase 7 cleaves PARP1 to enhance the expression of a subset of NF- κ B target genes. *Molecular cell*, 46(2), 200–211. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.02.016>
158. Morris, G., Walker, A. J., Berk, M., Maes, M., & Puri, B. K. (2018). Cell Death Pathways: a Novel Therapeutic Approach for Neuroscientists. *Molecular neurobiology*, 55(7), 5767–5786. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0793-y>
159. Chiu, L. Y., Huang, D. Y., & Lin, W. W. (2022). PARP-1 regulates inflammasome activity by poly-ADP-ribosylation of NLRP3 and interaction with TXNIP in primary macrophages. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 79(2), 108. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04138-z>
160. Sethi, G. S., Sharma, S., & Naura, A. S. (2019). PARP inhibition by olaparib alleviates chronic asthma-associated remodeling features via modulating inflammasome signaling in mice. *IUBMB life*, 71(7), 1003–1013. <https://doi.org/10.1002/iub.2048>
161. Paldino, E., D'Angelo, V., Laurenti, D., Angeloni, C., Sancesario, G., & Fusco, F. R. (2020). Modulation of Inflammasome and Pyroptosis by Olaparib, a PARP-1 Inhibitor, in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease. *Cells*, 9(10), 2286. <https://doi.org/10.3390/cells9102286>
162. Liu, H. P., Lin, W. Y., Wu, B. T., Liu, S. H., Wang, W. F., Tsai, C. H., Lee, C. C., & Tsai, F. J. (2010). Evaluation of the poly(ADP-ribose) polymerase-1 gene variants in Alzheimer's disease. *Journal of clinical laboratory analysis*, 24(3), 182–186. <https://doi.org/10.1002/jcla.20379>

163. Nho, K., Corneveaux, J. J., Kim, S., Lin, H., Risacher, S. L., Shen, L., Swaminathan, S., Ramanan, V. K., Liu, Y., Foroud, T., Inlow, M. H., Siniard, A. L., Reiman, R. A., Aisen, P. S., Petersen, R. C., Green, R. C., Jack, C. R., Weiner, M. W., Baldwin, C. T., Lunetta, K., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) (2013). Whole-exome sequencing and imaging genetics identify functional variants for rate of change in hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Molecular psychiatry*, 18(7), 781–787. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.24>
164. Czarny, P., Kwiatkowski, D., Toma, M., Gałecki, P., Orzechowska, A., Bobińska, K., Bielecka-Kowalska, A., Szemraj, J., Berk, M., Anderson, G., & Śliwiński, T. (2016). Single-Nucleotide Polymorphisms of Genes Involved in Repair of Oxidative DNA Damage and the Risk of Recurrent Depressive Disorder. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 22, 4455–4474. <https://doi.org/10.12659/msm.898091>
165. Guillot, C., Favaudon, V., Herceg, Z., Sagne, C., Sauvaigo, S., Merle, P., Hall, J., & Chemin, I. (2014). PARP inhibition and the radiosensitizing effects of the PARP inhibitor ABT-888 in in vitro hepatocellular carcinoma models. *BMC cancer*, 14, 603. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-603>
166. Abdul Sater, Ali & Philpott, Dana. (2016). Inflammasomes. *Encyclopedia of Immunobiology*. 10.1016/B978-0-12-374279-7.10020-7.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanlığı

TOPLANTI TARİHİ : 16/09/2020
TOPLANTI NO : 2020/18

KARARLAR :

- 13- Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanlığı'nın "Multiple Skleroz ile PARP-1 Geni Arasındaki İlişkinin Araştırılması" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

Prof. Dr. Günnur ÖZBAKİŞ DENGİZ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı