



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**MYASTENİA GRAVİSLİ OLGULARDA T HÜCRE
SUBTİPLERİNDE TRAIL/TRAIL RESEPTÖRLERİNİN
EKSPRESYONU**

Dr. Ali DİNÇER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ayşe Filiz KOÇ

ADANA-2015

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Meltem Demirkıran'a, tezimin hazırlanmasında ve çalışma süresince desteğini ve katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Filiz Koç'a, eğitimime katkıda bulunan sayın Prof. Dr. Fatin Reel, Prof. Dr. Hacer Bozdemir, Prof. Dr. Şebnem Bıçakçı, Doç. Dr. Kezban Aslan, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Evlice, Uzm. Dr. Turgay Demir ve Mehmet Balal'a, çalışma arkadaşlarıma, ayrıca tezimde önemli katkıları bulunan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Atıl Bişgin'e ve de bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme teşekkür ederim.

Dr. Ali DİNÇER

Adana, 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET ve ANAHTAR KELİMELEER	VII
ABSTRACT and KEYWORDS	VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Myastenia Gravis	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	4
2.1.3. Klasifikasyon	4
2.1.4. Klinik Sınıflama.....	5
2.1.5. Patogenez	7
2.1.5.1. Anti-AChR Antikorlarının Etki Mekanizması	8
2.1.5.2. MG’de CD4+T Hücrelerinin Rolü	8
2.1.5.3. CD4+ T Hücre Subtiplerinin ve Sitokinlerin MG ve EAMG (Deneysel Otoimmün MG)’de Rolü.....	9
2.1.5.4. MG’deki Diğer Otoantijenler	9
2.2. Timus.....	10
2.2.1. Timus Anatomisi.....	10
2.2.2. T Lenfositleri.....	12
2.3. Ölümcül Ligand TRAIL ve Reseptörleri	12
2.3.1. TRAIL’in Otoimmün Hastalıklardaki Rolü.....	16
2.4. Klinik.....	18
2.5. Tanı Yöntemleri	20
2.5.1. Anamnez	20
2.5.2. Edrofonyum Testi	21
2.5.3. Buz Testi	21

2.5.4. Elektrofizyolojik Testler	22
2.5.5. Otoantikorlar	23
2.5.6. Radyolojik Görüntüleme	24
2.5.6.1. Timik Hiperplazi	26
2.5.6.2. Timoma	26
2.5.6.3. Timik Karsinom	28
2.5.6.4. Timolipoma	29
2.5.6.5. Timik Karsinoid Tümör	29
2.6. Klinik Gidiş	30
2.7. Myasthenia Gravis’de Medikal Tedavi	31
2.7.1. Antikolinesterazlar (AKE)	31
2.7.2. Kortikosteroidler	32
2.7.3. Azotiyoprin ve Diğer İmmünsüpresif İlaçlar	33
2.7.4. İntravenöz İmmünglobulin (IVIG) ve Plazmaferez	33
2.8. Cerrahi Tedavi	34
2.8.1. Timektomi	34
2.9. Myasthenia Gravis’de Acil Durumlar	35
3. MATERYAL ve METOD	39
3.1. Hastaların Seçimi	39
3.2. Kontrol Grubu Seçimi	39
3.3. Akış Sitometri Boyama Protokolü	40
3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar	40
3.3.2. İşlemler	40
3.4. Akış Sitometri Analiz Protokolü	41
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	41
4. BULGULAR	43
4.1. MG’li Hastaların Klinik Değerlendirmesi	43
4.2. Periferik Kan Örneklerinin Akış Sitometrisi İle Değerlendirilmesi	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	55
KAYNAKÇA	58
ÖZGEÇMİŞ	66

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1.	Osserman Sınıflaması	6
Tablo 2.	Osserman ve Genkins Sınıflandırması	6
Tablo 3.	Myasthenia Gravis Vakıflar Birliği Tarafından Modifiye Edilmiş Osserman ve Genkins Klasifikasyonu	7
Tablo 4.	Myasthenia Gravis Fonksiyonel Durum Sınıflaması	20
Tablo 5.	Myasthenia Gravis Şiddet Skalası	20
Tablo 6.	Miyastenik ve Kolinergik Krizin Nedenleri ve Özellikleri	30
Tablo 7.	Myasthenia Gravis’de Kullanılan İlaçların Dozları.....	32
Tablo 8.	Myasthenia Gravisli Hastalarda Kullanılmaması Gereken İlaçlar ^[112]	38
Tablo 9.	Sıklık Sırasına Göre Hastaların İlk Yakınmaları.....	43
Tablo 10.	Osserman Sınıflamasına Göre Hastaların Dağılımı	43
Tablo 11.	Antikorların Tiplerine Göre Dağılımı	44
Tablo 12.	Hastalara Göre Timüs Patolojisi	44
Tablo 13.	Hastaların Almakata Olduğu Tedavi Protokolleri.....	45
Tablo 14.	A-Hasta Grubunda CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ekspresyon Miktarları	47
Tablo 15.	CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ölüm Reseptörleri Ekspresyon Miktarları. a) Ölüm Reseptörlerine Ait Okuma Değerleri b) Yalancı Reseptörlere Ait Okuma Değerleri.....	52
Tablo 16.	Kontrol Grubuna Ait CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ölüm Reseptörleri Ekspresyon Miktarları. a) Ölüm Reseptörlerine Ait Okuma Değerleri b) Yalancı Reseptörlere Ait Okuma Değerleri	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Timusun genel anatomik görünümü	11
Şekil 2. TRAIL reseptörlerinin şematik görünümü	14
Şekil 3. TRAIL ölüm reseptörleri aracılığı ile hücre ölümü	15
Şekil 4. Edrophonium (Tensilon) testi	21
Şekil 5. MG'li bir hastada repetitif (tekrarlayan) sinir uyarımı ile elde edilen dekremental yanıt. İlk cevabın amplitüdü normal, 4. cevap en düşük.	22
Şekil 6. A: Normal hastada, B: MG'li hastada tek lif EMG-Jitter.....	23
Şekil 7. Kontrastlı BT: Anterior mediastende timik hiperplazi.	26
Şekil 8. BT incelemede iyi sınırlı solid görünümde kitle	27
Şekil 9. Anterior mediastende sınırı belirsiz kitle ve plevraya uzanımı.....	28
Şekil 10. İnvaziv timoma.....	28
Şekil 11. Toraks BT. Ön mediastenden köken alan yağ dansitesinde kitle lezyonu	29
Şekil 12. A, B, C, D, E: TRAIL ve reseptörlerinin yüzey ekspresyonları akış sitometri yöntemi ile gösterilebilmektedir.	46
Şekil 13. Kontrol grubu lenfositlerinde TRAIL ve reseptörlerinin yüzey ekspresyonlarının akış sitometri yöntemi ile görünümü.....	48
Şekil 14. A, B : CD3+ hücre popülasyonlarındaki TRAIL ekspresyonları.	50
Şekil 15. A, 14.B: CD3+ hücre popülasyonlarındaki DR4 ve DR5 ölüm reseptör ekspresyonları.	54
Şekil 16. C,15D: CD3+ hücre popülasyonlarındaki TRAIL R3 ve TRAIL R4 yalancı reseptör ekspresyonları	54

KISALTMALAR LİSTESİ

AKE	: Antikolinesteraz
AntiAChR	: Antiasetilkolin reseptör antikoru
DcR1	: Decoy Reseptörleri
DR4	: Death Reseptor-4
EAMG	: Deneysel otoimmün MG
EPP	: Son plak potansiyeli
HLA	: İnsan lökosit antijen
İVİG	: intravenöz immünoglobülin
LEMS	: Lambert Eaton myastenik sendromu
MG	: Myastenia Gravis
MGFA	: Myasthenia Gravis Vakıflar Birliği.
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksleri
MuSK	: Kas spesifik tirozin kinaz
NKT	: Natural Killer T hücre
NMK	: Nöromusküler Kavşak
OPG	: Osteoprotegrin
RA	: Romatoid artrit
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TRAIL	: TNF-ilişkili Apoptoz İndükleyici Ligand

ÖZET

Myastenia Gravisli Olgularda T Hücre Subtiplerinde TRAIL/TRAIL Reseptörlerinin Ekspresyonu

Giriş ve Amaç: Miyastenia gravis (MG), fluktuasyon gösteren farklı derecelerde bulber, ekstremiteler, oküler ve solunum kaslarının güçsüzlüğü ile karakterize, özelliği yorulmakla artan güçsüzlük olan antikorlar aracılığıyla oluşan otoimmün bir hastalıktır. Bu antikorlar arasında MG’de en sık görülen ve en iyi bilinen anti-AChR antikoru olup bu antikorlar B lenfositleri tarafından yapılır, ancak otoimmün cevabın oluşmasında yardımcı T lenfositleri de katkı sunar. MG’li hastaların yaklaşık % 10-15’inde timoma, % 70 kadarında timus hiperplazisi bulunması ve hastaların önemli bir kısmının timektomiden yararlanması dikkatleri timus üzerine çekmiştir. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozis merkezi ve periferik T hücrelerinin immün yanıt esnasında aktivitelerini düzenler. Bu noktadan çalışmada T hücreleri ile ilişkili TRAIL (TNF ili ilişkili apoptozisi aktivasyonunu sağlayan ligand) reseptör ve ligand kompozisyonlarının belirlenmesi, MG’li hastalarda TRAIL’in hastalığın gelişimi ve ilerlemesindeki rolünün saptanması, amaçlanmıştır. Bu sayede MG patofizyolojik mekanizmasında TRAIL ve reseptörlerinin T hücrelerin fonksiyonunu nasıl etkilediğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya nöroloji kliniğine başvuran klinik, elektrofizyolojik ve laboratuvar verileri ışığında kesin MG olarak tanınan 13 kadın ve 10 erkek toplam 25 hasta yanı sıra yaş, cinsiyet dağılımı bakımından benzerlik gösteren 16 sağlıklı gönüllü alınmıştır. Hastalardan alınan periferik kan örneklerinden CD3⁺ CD4⁺ ve CD3⁺ CD8⁺ T lenfositlerdeki TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon profilleri akım sitometri ile saptanmış ve bunlar hastaların klinik bulguları ve tedavi protokolleri ile ilişkisi Spearman Rho Analizi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: MG hasta grubunda TRAIL ve reseptörlerinin hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T hücrelerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek düzeyde eksprese olduğu saptanmıştır. Death Reseptör-4 (DR4) ve decoy reseptörleri DcR1 ve DcR2, CD8⁺ T hücrelerde hastalar ile pozitif olarak korole iken CD4⁺ T hücrelerinde bu korelasyon görülmemiştir.

Sonuç: MG’li olgularda T hücre subtiplerinde TRAIL/TRAIL reseptör ekspresyon profili değerlendirildiği çalışmada TNF ve TRAIL/TRAIL reseptör sisteminin MG’de de etkin olarak rol oynadığını göstermiş olup elde edilen verilerin MG mice modellerinde yeni gen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sunacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: MG, timus, TRAIL, apoptoz, CD4⁺, CD8⁺.

ABSTRACT

Expression of TRAIL/TRAIL Receptors in T-Cell Subtypes in the Clinical Presentations of Myasthenia Gravis

Introduction and Objective: Myasthenia gravis (MG) is an autoimmune disease caused through antibodies, which displays fluctuations and which is characterized by weakness of bulbar, extremity, ocular and respiratory muscles in varying extents with specific property manifested by increasing weakness as getting tired. Among these antibodies, anti-AChR is the most frequently seen and most known antibody in MG. These antibodies are made by B-lymphocytes; however adjuvant T-lymphocytes put contribution to generation of autoimmune response. Thymus has been attracting great attention on account of the fact that approximately 10-15% of the patients with MG have thymoma and 70% of them have thymus hyperplasia, and that significant part of these patients take advantage of thymectomy. Being also known as programmed cell death, apoptosis regulates the activities of central and peripheral T-cell during immune response. In this respect, this study aims to determine T-cell related TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) receptor and ligand compositions, and to identify the role of TRAIL in progression of the disease in the patients with MG. In this way, it is also aimed to determine how TRAIL and its receptors affect the functioning of T-cells in pathophysiological mechanism of MG.

Material and Method: This study covered 25 patients (13 female and 10 male patients) who applied to Neurology department and for whom the definitive diagnosis of MG was established in the light of electrophysiological and laboratory data as well as 16 healthy volunteers who bear resemblance to the former group in terms of age and gender distribution. On the basis of peripheral blood samples taken from the patients, expression profiles of TRAIL and its receptors in CD3⁺ CD4⁺ ve CD3⁺ CD8⁺ T-lymphocytes by way of flow cytometry; and associations of such determinations with clinical findings and treatment protocols of the patients were evaluated by using Spearman Rho Analysis.

Findings: It was determined that in MG patient group TRAIL and its receptors were expressed at a higher level in both CD4⁺ and CD8⁺ T cells as compared to control group. Death Receptor-4 (DR4) and decoy receptors DcR1 and DcR2 were identified to have been positively correlated with the patients in CD8⁺ T cells, whereas such a correlation was not observed in CD4⁺ T cells.

Conclusion: This study, which is aimed at evaluating the expression profile of TRAIL/TRAIL receptors in T-cell subtypes in the clinical presentations of MG, indicates that TNF and TRAIL/TRAIL receptor system also plays an active role in MG; and we are of the opinion that the findings obtained by this study would contribute to development of new gene therapy methods in MG mice models.

Keywords: MG, thymus, TRAIL, apoptosis, CD4⁺, CD8⁺

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Myasthenia gravis (MG), karakteristik özelliği yorulmakla artan güçsüzlük olan otoimmün bir hastalıktır. MG, okülobulber kasları ve ekstremitte kaslarını tutar (jeneralize MG). Sıklıkla oküler kaslarla ilişkili belirtilerle başlayan MG nadir olarak bu kaslara sınırlı kalır; 2 yıl içinde oküler dışı belirti eklenmezse hastalığın muhtemelen oküler kalacağı düşünülür (oküler MG). Kırk veya 50 yaş üzerinde başlayan hastalık erken başlangıçlı, daha sonra başlayan ise geç başlangıçlı olarak adlandırılır. Okülobulber belirtilerde gün içi fluktuasyonların olması, remisyonların varlığı ve antikolinesterazlara (AKE'lar) iyi yanıt MG tanısı koymak için yeterli olabilir. Ancak tanıyı laboratuvar incelemeleriyle desteklemek önemlidir. ^[1,2,3]

Uygun kliniği olan hastalarda MG ile ilişkili antikorların tanımlanması tanının kesinleşmesini sağlar. Jeneralize MG'li hastaların % 85'inde antiAChR reseptör (antiAChR) antikoru, geri kalanların yarısı kadarında antikas spesifik kinaz (antiMuSK) antikoru bulunur; diğer yarısında ise klasik metodlarla antikor bulunamaz (seronegatif MG). Oküler MG'li hastaların yarısında antiAChR antikoru bulunur, geri kalanında antikor saptanamaz, antiMuSK antikoru ise çok nadir olarak saptanır. MG tanısında değerli laboratuvar testleri olan ardışık sinir uyarımı ve tek lif EMG, özellikle antikor bulunmayan seronegatif hastalarda tanıyı desteklemek bakımından büyük önem kazanır. ^[4,5]

Hastaların %10-15'inde timoma bulunur. Çoğu selim olan bu tümör nadiren habis olur ve çevreye yayılır, ancak uzağa metastaz çok nadiren görülür. Timomalı hastaların hemen hepsinde antiAChR antikoru pozitifdir. Otoreaktif T hücrelerinin delesyonunda rol oynayan timus dokusunun nadir bir tümörü olan timoma MG'li olguların % 10'unda mevcuttur. Kas dokusu dışında yüzeylerinde AChR ekspresyonu yapan tek hücre tipi timik miyoid hücrelerdir.

Tümör nekrozis faktör ilişkili Apoptozisi indükleyen ligand (TRAIL/APO2L) TNF sitokin ailesinin bir üyesi olan tip II transmembran proteinidir. Tümör hücrelerinde reseptör ile etkileşerek apoptotik hücre ölümünü tetikler. Proapoptotik TRAIL proteinin bilinen beş reseptörü vardır. TRAIL Reseptör1 (TRAILR1/DR4), TRAIL Reseptör2 (TRAILR2/DR5), TRAIL Reseptör3 (TRAILR3/DcR1), TRAIL Reseptör4 (TRAILR4/DcR2), ve osteoprotegrin (OPG). CD95 (APO1/ Fas) TNF sitokin ailesinin

diğer bir üyesidir. Fas hücre yüzeyinde eksprese olan tip 1 transmembran reseptörüdür. Fas ligand ile etkileşerek yine kaspaz yolağı üzerinden apoptozu etkiler. Görünen odur ki, FasL, TNF ve TRAIL/TRAIL reseptör sistemi T hücrelerinin aktivasyon ve/veya delesyonuna neden olur. Apopitozda TRAIL'in rolü kanser hücrelerinde ve otoimmun bazı hastalıklarda gösterilmiştir.

Bu çalışmada MG'li olgularda flow sitometri ile T hücre subtiplerinde TRAIL/TRAIL reseptör ekspresyon profili değerlendirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilecek veriler ışığında MG mice modellerinde yeni gen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlayabileceğı amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Myastenia Gravis

2.1.1. Tarihçe

Myastenia Gravis (MG), sıklıkla göz, yüz, çiğneme ve yutma kasları yanı sıra omuz ve kalça kasları gibi istemli kas gruplarının fluktasyon gösteren güçsüzlüğü ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. İlk bildirilen olgunun 1664 yılında ölen Kızılderili Şef Opechancanough olması muhtemeldir. Virginia tarihçileri onun durumunu “*o kadar yorgundu ki, tendonları elastikiyetini ve tonusunu kaybetmişti, kasları güçsüzdü, yürüyemiyordu, göz kapakları düşüktü, o ancak göz kapakları görevlileri tarafından kaldırıldığında görebiliyordu*” şeklinde tanımlamışlardı.^[1] İngiliz hekim Willis (1672), oküler ve bulber kaslarında yorgunlukla tetiklenen güçsüzlüğü olan bir olguda hastalığı “yalancı felç” olarak adlandırmıştır. Wilks (1877), fatal gidişli bulber paralizi genç bir kadında patolojik inceleme sonucu ölümcül herhangi bir hastalık bulamamıştır.^[2] Wilhelm Erb (Heidelberg, Germany-1879), bilateral pitoz, diplopi, disfaji, fasyal ve boyun kaslarında güçsüzlüğe dikkat çeken ilk makalede MG’li üç olgu tanımlamıştır.^[1,3] Samuel Goldflam (Warsaw, Poland-1893) MG’i tam olarak tanımlamış ve hastalığın değişken özellikleri, klinik ciddiyeti ve prognozunu da analize etmiştir. Wilhelm Erb ve daha sonra Samuel Goldflam’ın hastalıkla ilgili yapmış oldukları anlamlı katkılar nedeniyle hastalık kısaca “Erb’s hastalığı” daha sonra da kısa bir süre için “Erb-Goldflam sendromu” olarak adlandırılmıştır.^[1]

Jolly (1895), Berlin toplum meetinginde “*myasthenia gravis yalancı felç*” başlığı altında iki olgu tanımlamıştır.^[4] Bu sendromun ilk iki kelimesi zaman içinde hastalığın normal adı olarak kabul edilmiştir. Daha sonraki yıllarda “Mary Walker etkisi” olarak adlandırılan bir fenomen tarih etmiştir. Bu fenomen “yorgunluk olan bir kas grubunu stimüle ederseniz, kaslarda güçsüzlük ortaya çıkar bu da nöromüsüler güçsüzlüğe dolaşımda bulunan bir maddenin neden olduğunun kanıtıdır” olarak raporlanmıştır.^[1,5,6]

Mary Walker (1934), MG semptomlarının kürar zehirlenmesine benzediğinin ve fizostigmin gibi bir antikolinesteraz inhibitörü ile tedavi edilebileceğinin farkına vardı. O fizostigmin ile myastenik semptomların hemen düzeldiğini gösterdi. Blalock (1937), timektomi sonrası myastenik hastalarda düzelme olduğunu rapor etmiştir. Bu

saptamaları takiben kolinesteraz inhibitörleri ve timektomi MG'in tedavisinde standart ve kabul edilen tedavi yöntemleri haline gelmiştir. ^[7]

Nastuk ve ark. ve Simpson (1959-1960) MG'in otoimmün etyolojiye sahip olduğunu öne sürmüşlerdir. ^[8,9] Patrick ve Lindstrom (1973) kasdakine benzer asetilkolin reseptör (AchR) immunizasyonu kullanarak tavşan modelinde deneysel otoimmün MG (EAMG) kliniği oluşturmuşlardır. ^[10] Otoimmün etyolojinin desteklendiği MG'de akut dönemde plazma değişimi yanı sıra tedavide prednizon ve azatioprin kullanılabileceği bildirildi. ^[11]

2.1.2. Epidemiyoloji

Hastalığın yıllık insidansı 1-2/100.000, prevalansı 20-50/100.000'dir. Yaş ve cins dağılımına bakıldığında 40 yaş altında kadın erkek oranı 3:2 olup 40-50 yaş ve puberte döneminde her iki cinsten yaklaşık eşit olarak görülür. Hastalık iki dekada pik yapar. Bunlardan birinci pik 2. ve 3. dekada olup hastalık kadınlarda daha sık görülür. Elli yaşından sonra erkeklerde sık görülür. ^[12] İkinci pik 6.-7. dekada ve erkeklerde daha sıktır. Çocukluk çağı MG Avrupa ve Kuzey Amerika'da ender olup MG'li olguların %10-%15'ini oluşturur. Asya ülkelerinde olguların %50'sinde klinik bulgular 15 yaşın altında, pür oküler bulgular ile başlar. ^[13] Ender olarak famiyal olabilir.

2.1.3. Klasifikasyon

MG'in alt tipleri ^[14]

1. Erken başlangıçlı MG: başlangıç yaşı <50 yaş. Timik hiperplazi, genellikle kadınlar.

2. Geç başlangıçlı MG: başlangıç yaşı >50 yaş. Timik atrofi, başlıca erkekler.

3. Timomanın eşlik ettiği MG (%10-%15)

4. anti-MUSK (kasa spesifik tirozin kinaz) otoantikorlarının eşlik ettiği MG

5. Oküler MG: Semptomlar yalnızca etkilenen ekstraoküler kaslarda

6. AchR ve MuSK antikorlarının olmadığı MG

Timomalı MG olgularının hemen hepsinin serumunda AChR antikorları saptanabilir. Timoma ilişkili MG'de ayrıca anti voltaj kapılı K⁺ ve Ca⁺⁺ kanal antikorları, anti-Hu, antidihidropirimidinaz-ilişkili protein 5, ve anti-glutamik asit dekarboksilaz gibi paraneoplazi ilişkili antikorlar da olabilir. ^[15,16]

Jeneralize MG'li olguların yaklaşık %15'inde şu an için kullanılan laboratuvar yöntemleri ile anti-AChR antikoru negatifdir. Bu subgrubun %40'ında anti-MuSK ve diğer postsinaptik nöromusküler kavşak proteini bulunur. Bu subgruplar seçici yüz, bulber, boyun veya solunum kaslarında güçsüzlük, kas atrofisi, görece göz kaslarının korunduğu atipik klinik özelliklere sahiptir. Solunum güçlüğü paraspinal ve üst ösefagial kaslar gibi kas gruplarının tutulduğu olgularda daha sık görülür. Bu grupta asetilkolinesterazlara cevapsızlık hatta klinik kötüleşme bildirilmiştir. Kadın hakimiyeti olan bu grupta hastalık başlangıcı erken ve timus patolojisi yoktur.^[17] Hem anti-AchR hem de anti-MuSK antikoru negatif olan seronegatif MG'li olgularda klinik pür oküler, hafif jeneralize veya ağır jeneralize heterojen bir spektrum içerir. Bazı olgularda mevcut laboratuvar teknikleri ile saptanamayan düşük-affiniteli anti-AChR antikoru bulunabilir. Bu olgular anti-AchR antikoru pozitif olan olgulardan klinik özellikler, farmakolojik tedaviye yanıt hatta timus patolojileri açısından ayırt edilemezler.^[18,19]

Timomalar genellikle otoimmünite ile ilişkilidir. Timomadaki neoplastik epitelyal hücreler, AchR, titin ve ryanodine reseptörlerine benzer epitoplara içeren antijenler salgılar.^[16,20] Bu antijenlere karşı oluşan antikoru kas titin ve ryanidin reseptörleri üzerindeki epitoplara ile reaksiyona girer. Bu olgularda genellikle timoma saptanır ve MG klinik tablosu geç başlangıçlı ve ağırdır. Bu striatal antikoru MG'li olguların yalnızca serumlarında bulunur ve AchR antikoru negatif olan MG'li olgularda oldukça enderdir. Striatal antikoru sıklığı timoma ilişkili MG'de yüksektir. Anti-titin antikoru timik ilişkili MG'in %49–%95'inde, antiryanodine reseptör antikoru %70–%80 ve anti-KV1.4 (VGKC) ise %40–%70'inde bulunur.^[21] Bu antikoru pozitif olduğu olgularda MG klinik tablosu ağır olduğu için prognostik faktör olarak da kullanılabilirler.^[22,23]

2.1.4. Klinik Sınıflama

MG'de hastalığın klinik bulguları Osserman tarafından geliştirilen bir sınıflama ile derecelendirilebilir. Bu sınıflama daha sonra kalsifiye edilmiş, Osserman ve Genkins sınıflandırması olarak adlandırılmıştır (Tablo 1 ve Tablo 2).

Tablo 1. Osserman Sınıflaması

0. Asemptomatik
I. Oküler Myasteni
II. Jeneralize miyasteni.
Yavaş gidişli hafif jeneralize myasteni, krizler yok, ilaca yanıt var.
Orta derecede jeneralize myasteni, iskelet ve bulber kaslarda tutuluş. Krizler yok, ilaca yanıt daha yetersiz.
III. Akut fulminan myasteni: Klinik bulgular hızlı ilerler, solunum yetmezliği krizleri, ilaca cevap daha az, timoma ve ölüm oranı yüksek.
IV. Geç ve ciddi myasteni: 1 ve 2. gurubun iki yıl içinde akut fulminan myasteni gibi progresif seyretmesi, kriz var, mortalite yüksek.

Tablo 2. Osserman ve Genkins Sınıflandırması

A- Grup I. Oküler MG (%15-20)	-Sadece oküler kaslar ile sınırlı -%40 hastada jeneralize gruba geçiş -Periferik kas gruplarında EMG sonuçlarının (+) olabildiği
B- Grup IIa. Hafif jeneralize (%30)	-Kranial, ekstremit ve gövde kaslarını tutan -Solunum kaslarının korunduğu -Antikolinesteraz tedaviye iyi yanıt alınan -Düşük mortalite
C- Grup IIb. Orta derecede ciddi jeneralize M.G. (%20)	-Belirgin diplopi ve ptozis -Bulbar kas tutulumu olan; disartri, disfaji, beslenme zorluğu -Ekstremitelerde zayıflık -Egzersiz intoleransı
D- Grup III. Akut fulminan M.G. (%11)	-Hastalığın aniden ortaya çıkması -En ciddi semptomların 6 ay içinde görülmesi -Erken dönemde solunum kasları tutulumu -Bulbar, ekstremit ve gövde kaslarında ciddi zayıflık -Antikolinesteraz tedaviye düşük yanıt -Sık tekrarlayan krizler -Yüksek mortalite -Diğer gruplardan daha sık timoma görülme insidansı
E- Grup IV. Geç ciddi hastalık (%9)	-Hafif hastalıktan ciddi tabloya 2 yıl içinde geçiş -Yüksek timoma insidansı -Rölatif olarak kötü prognoz

Son yıllarda Amerika MG Vakıflar Birliği, Osserman ve Genkins klasifikasyonunu da modifiye etmişlerdir (Tablo 3).^[24]

Tablo 3. Myasthenia Gravis Vakıflar Birliği Tarafından Modifiye Edilmiş Osserman ve Genkins Klasifikasyonu

GRUP	KLİNİK FORM	BULGULAR
I/MGFA I	Oküler form	Pitozis ve diplopi
II a/MGFA II	Hafif jeneralize form	Hafif jeneralize güçsüzlük
II b/MGFA IIb	Fasiofaringeal form	IIa ve bulber güçsüzlük
III	Ciddi akut jeneralize form	Akut ve ciddi jeneralize güçsüzlük ve bulber semptomlar ve solunum yetmezliği
MGFA III	Orta derecede ciddi jeneralize form	Ekstremit ve gövde kaslarının tutulumu ile giden orta derecede jeneralize güçsüzlük
MGFA IIIa		Ekstremit ve gövde kaslarındaki güçsüzlük fasyofaringeal kaslardan daha fazla
MGFA IIIb		Fasiofaringeal ve solunum kaslarındaki güçsüzlük ekstremit ve gövde kaslarına göre daha fazla
IV	Ciddi kronik jeneralize form	Ciddi, sıklıkla progresif jeneralize güçsüzlük
MGFA IV	Ciddi jeneralize form	
MGFA IVa		Ekstremit ve gövde kaslarındaki güçsüzlük fasyofaringeal kaslardan daha fazla
MGFA IVb		Fasyofaringeal ve solunum kaslarındaki güçsüzlük ekstremit ve gövde kaslarına göre daha fazla
V	Ciddi kalıcı defisitlerle giden MG	Kas atrofileri ile giden ciddi kronik form
MGFA V	Entübasyon gerektiren ciddi MG	

*MGFA = Myasthenia Gravis Vakıflar Birliği.

2.1.5. Patogenez

İskelet kaslarının nöromusküler kavşaklarını (NMK) innerve eden sinir uçları, beyin sapının ve spinal kordun ön boyunuzunum alfa motor nöronlarının uç dallanmalarından köken alır. NMK bir sinaptik yarık ve asetilkolinesteraz (AChE) ile diğer destek protein/proteoglikanları içeren 20 nm'lik kalın bir boşluktan oluşur. NMK postsinaptik membranında derin katlantılarla bu katlantıların üzerinde sıkıca paketlenmiş asetilkolin reseptörleri (AChR) bulunmaktadır

Sinir aksiyon potansiyeli akson ucuna ulaştığında, depolarizasyon presinaptik membrandaki voltaj kapılı kalsiyum kanalını açar ve ACh'nin sinaptik yarığa salınımını tetikler. ACh postsinaptik membran reseptörlerine ulaşmak için sinaptik yarığa yayılır, burada son-plak potansiyelini (EPP) tetikler ve sinaptik yarıktaki AChE tarafından hidrolize uğrar.

Bir postsinaptik transmembran proteini olan MuSK (kas spesifik tirozin kinaz), agrin reseptörünün bir kısmını oluşturan, sinaptik bazal laminada bulunan bir proteindir. Agrin/MuSK etkileşimi AChR ve diğer postsinaptik proteinlerin rapsyn-bağımlı kümelenmesini tetikler ve devam ettirir. [25,26] Postsinaptik membrandaki bir periferik membran proteini olan Rapsyn, AChR kümelenmesi için gereklidir. Agrin veya

MuSK'a sahip olmayan fareler NMK oluşturmaz ve ağır kas güçsüzlüğü nedeniyle doğumda ölürlür. [27,28]

Kas güçsüzlüğüne ve MG'ye yatkınlığı gösteren NMK bulguları: Normal NMK'da üretilen EPP, postsinaptik aksiyon potansiyeli oluşturmak için gereken eşik değerinden birkaç kat fazladır. Nöromusküler iletim "güvenlik faktörü" MG hastalarında azalmıştır. NMK'deki AchR moleküllerinin sayıca veya etkinlik olarak azalması EPP'yi düşürür, bu dinlenme sırasında yeterli olabilir, fakat ACh'nin kuantal salınımı tekrarlayan aktivite sonrası azaldığında, EPP aksiyon potansiyelini tetiklemek için gereken eşğin altına düşebilir. Bu kendini klinik kas güçsüzlüğü olarak gösterir ve EPP dinlenme sırasında devamlı olarak aksiyon potansiyel eşğinin altındaysa bu sürekli güçsüzlüğe yol açar.

2.1.5.1. Anti-AChR Antikorlarının Etki Mekanizması

Anti-AChR antikorları en az 3 mekanizma aracılığıyla nöromusküler iletimi etkiler [27]:

- i. Nöromusküler kavşakta kompleman bağlanma ve aktivasyonu
- ii. Antijenlik modülasyon (antikorların bağlandığı moleküllerin hızlandırılmış AChR endositozu)
- iii. Fonksiyonel AChR bloğu- normal ACh'nin AChR'ya bağlanmasını ve etki göstermesini önler.

2.1.5.2. MG'de CD4+T Hücrelerinin Rolü

Patojenik anti-AchR antikorları yüksek affiniteli IgGlerdir ve sentezleri aktive CD4+ hücrelerin B hücrelerle etkileşip stimüle etmesini gerektirir. Bu yüzden timektomi, AChR spesifik CD4+ T hücrelerin tamamen çıkarılmasını sağlayarak MG hastalarında semptomların hafiflemesine yardımcı olur. [30] Benzer şekilde anti-CD4+ antikor tedavisinin de terapötik etkisi olduğu gösterilmiştir. CD4+ T hücrelerinde azalma olan AIDS hastalarının myastenik semptomlarının iyiye gittiği gözlenmiştir.

2.1.5.3. CD4+ T Hücre Subtiplerinin ve Sitokinlerin MG ve EAMG (Deneysel Otoimmün MG)’de Rolü

CD4+ T hücreler iki ana subtipte sınıflandırılmıştır: Th1 ve Th2 hücreler. Th1 hücreler, hücrel immün yanıt için önemli olan IL-2, IFN- γ , ve TNF- α gibi proinflamatuar sitokinleri salgılar. Th2 hücreler humoral immün yetmezliğin önemli indükleyicileri olan IL-4, IL-6 ve IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinleri salgılar. IL-4 daha sonra immunsupresif mekanizmalarda rol oynayan TGF- β ’yi salgılayan Th3 hücrelerin diferansiyasyonunu stimüle eder. [29]

Anti-AchR Th2 hücrelerinin EAMG patogeneğinde karmaşık bir rolü bulunmaktadır. Koruyucu olabilmektedirler, fakat sitokinleri IL-5, IL-6 ve IL-10 EAMG gelişimine yol açabilmektedir. [2] CD25 markerı ve transkripsiyon faktörü Foxp3’ü eksprese eden CD4+ T hücreler “Tregler”* olarak adlandırılır ve kendine toleransı sağlamada önemlidirler. MG hastalarındaki Treg fonksiyonu bozulmuş olabilir ve timektomiden sonra semptomların düzelmesiyle birlikte arttığı gösterilmiştir. Natural killer (NK) ve Natural Killer T (NKT) hücrelerin MG ve EAMG’deki rolü: Natural Killer T(NKT) hücreler, Treglerle birlikte ant-AChR yanıtın düzenlenmesine yardım ederler. Fare modellerinde NKT hücrelerinin stimülasyonundan sonra EAMG gelişiminin inhibe olduğu gösterilmiştir. [34] Antijen sunan hücrelerden salgılanan IL-18, NK hücrelerinden Th1 hücrelerin EAMG’yi indüklemesini sağlayan ve güçlendiren IFN-G üretimini stimüle eder, ve IL-18’in farmakolojik olarak bloklanması EAMG’yi baskılar. MG hastalarında klinik düzelmeye birlikte azalma eğiliminde olan artmış IL-18 serum seviyeleri gösterilmiştir. [30,31]

2.1.5.4. MG’deki Diğer Otoantijenler

Seronegatif MG hastalarında (Anti-AchR antikoru olmayan) anti-MuSK antikoru bulunabilir (bu alt grupta %40’a kadar bulunabilir*). Diğer etnik gruplar veya yerlerde (örn. Çinli ve Norveçlilerde), seronegatif MG hastalarında anti-MuSK G antikoru daha düşük sıklıkta bulunmaktadır. Anti-MuSK antikoru olan MG hastalarında, bildirilmiş bir grup Japon hasta dışında Anti-AchR antikoru yoktur. [29]

Agrin/MuSK sinyal yolağı yetişkin kas hücresindeki postsinaptik NMJ aygıtının fonksiyonel ve yapısal bütünlüğünü sağlar. Anti-MuSK antikoru NMJ’de agrin-bağımlı AchR kümelenmesini düzenler, AchR sayısının azalmasına yol açar.

Kompleman aracılı hasar da NMK'de AchR sayısının Anti-MuSK antikorlar tarafından hedeflenip azalmasından sorumlu olabilir*. Bazı insan kas hücre kültürü çalışmalarında Anti-MuSK pozitif MG hastalarının serumuna maruziyette hücre siklus arresti, AchR'nın rapsinli subunitinin down regülasyonu ve diğer kas proteini ekspresyonu gösterilmiştir. Diğer antikas hücre protein antikorlarının da(ör. Antitin ve antiryanodin reseptör antikorları) daha önce bahsedildiği gibi MG'de patojenik rolleri olduğu kabul edilmektedir. [29]

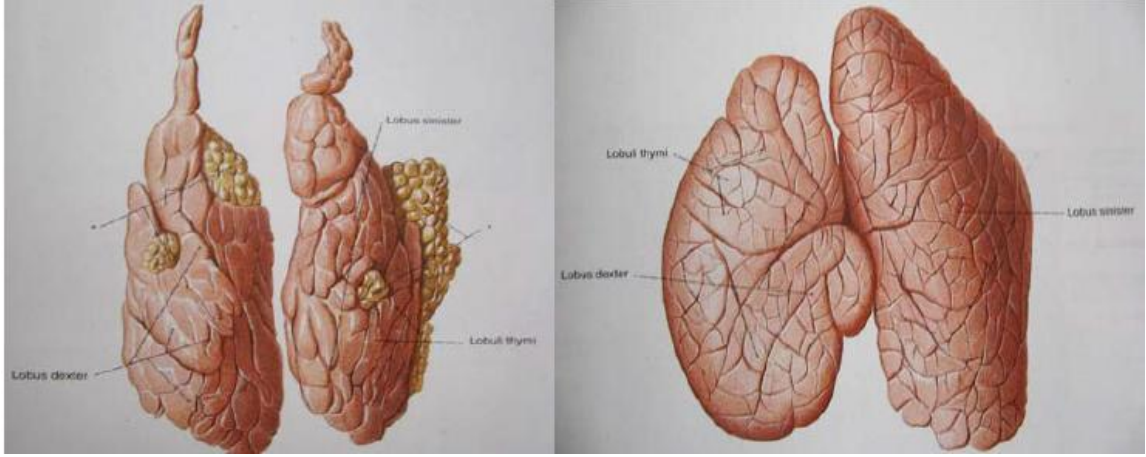
2.2. Timus

2.2.1. Timus Anatomisi

Yetişkinde timus üst mediastende yerleşir. Genellikle puberte sonrası regresyona uğradığı için timusun biloblu yapısını ayırt etmek mümkün olmaz, bunun yerine pembe veya kahverengi, yağlı irregüler alanlar gözlenir.

Anteriorda yüzeyelden derine; sternumun manibrium ve gövde kısmı, sternohyoid ve sternothyroid köşesi, pretrakeal fasya, anterolateralde kostal kartilajlar ve mediastinal plevra kenarı, lateralde mediastinal plevra, frenik sinir, posteriorda süperiordan inferiora trakea, arkus aorta dalları, sol brakiosefalik ven, fibroz perikardın arkus aorta komşuluğu bulunmaktadır.

Timus klasik olarak sağ ve sol lobtan oluşmaktadır. Lobuller genel olarak asimetriktir. Gros olarak bez H şeklinde bir konfigürasyona sahiptir (Şekil 1). Üst polü boyun tabanına ve tirotimik ligament ile tiroide uzanır. Alt polü ise perikarda kadar uzanır. Buna ek olarak; boyut varyasyonları ve timus bezinin konfigürasyonları değişen boyutlarda gros yada mikroskopik, loblar dışında boyundan diafragma kadar gözlenebilir. Timik doku %44,4 oranında anterior mediastinal yağlı dokuda, %7.4 oranında retrokarinal yağlı dokuda saptanır. Preaortik yağlı dokuda gözlenmez.



Şekil 1. Timusun genel anatomik görünümü

Timusun arterial beslenmesi inferior tiroid ve internal torasik arter ile venöz drenaj inferior tiroid venler, internal torasik venler ve sol brakiosefalik ven ile sağlanmaktadır. Timus lenfatik drenajında afferent sistem bulunmamakta, efferentler ise parasternal lenf nodları, trakeobronşial lenf nodlarına olmaktadır.

Bez dışı timik dokunun yerleşim varyasyonları Jaretzki ve Wolft tarafından yayımlanmıştır. Timik dokunun lokalizasyonundaki servikal ve mediastinal varyasyonlar şematik olarak gösterilmiştir.

Timik doku normal servikal gelişmesi dışında; insanların %36' sında boyunda bulunur. Mediastende tüm bireylerde klasik mediastinal loblar dışında timik doku bulunur. Kapsülü olmayan timik doku ayrıca frenik sinir bölgesinde, innominat ven arkasında, aortikopulmuner pencerede, aortakaval köşede, önde ve kardiofrenik yağlı dokuda gözlenir. Bu lokalizasyonlarda timik dokunun varlığı epitelial timik tümör ve gerçek timik kist gelişimini açıklar. Yetişkinde bezin üst bölümü sol innominat ven üzerine uzanır. Bazı durumlarda bir ya da her iki lob venin üzerinde değilde arkasında uzanmaktadır. Yetişkinde alt sınır sternokostal seviyeye ve bazende kardiofrenik yağlı dokuya kadar uzanır.

MG'in patogenezinde timusun rolü tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte hastaların % 75'inde timus anormallikleri (olguların % 85'inde timus hiperplazisi, % 15'inde timoma) görülür. Otoimmün olayı başlatan uyarının ne olduğu tam olarak saptanamamıştır. Timomalı hastaların büyük bir bölümünde titin ve ryanodine reseptör antikoru pozitifdir. Ayrıca timomasız yaşlı hastaların bir kısmında da bu reseptör

antikorları pozitif olabilir. MG'de insan lökosit antijen (HLA) ilişkili genetik bir predispozisyon söz konusudur ve timomasız gençlerde A_1 , B_8 , DRw_3 pozitif iken timomasız yaşlılarda A_3 , B_7 , DRw_2 pozitifdir. Etnik gruplar arasında MG ile HLA ilişkisi farklılıklar göstermekte olup Afrika, Amerika ve Kafkas ırkından olanlarda HLA B8 sık görülür. Çinlilerde jeneralize MG, HLA Bw46, oküler MG ise DRw_9 ile ilişkilidir.

2.2.2. T Lenfositleri

T hücrelerini diğer lenfositlerden ayıran en önemli özelliği, olgunlaşma süreçlerini timusta tamamlamalarıdır. ^[30] Kazanılmış (adaptif) bağışıklık sisteminin doğal bir üyesi olan T hücreleri, patojenlere karşı vücut savunmasının en önemli elemanlarından. Kemik iliğinde progenitör hücrelerden köken alarak timusta gelişen T hücreleri; reseptör tiplerine göre $\alpha\beta$ ve $\gamma\delta$ T hücreleri şeklinde gelişimlerini sürdürürler. Dolaşımdaki T hücrelerinin yaklaşık %95 $\alpha\beta$ T hücreleri oluştururken, bunlar hücre yüzeyinde CD3 proteini eksprese ederler ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde farklı roller oynayan alt grupları kapsarlar. Bu gruplar, hücre yüzeyinde CD8 proteini sentezleyen CD3+CD8+ sitotoksik T lenfositleri, CD4 proteini sentezleyen CD3+CD4+ yardımcı T hücreleri, CD56 proteini sentezleyen CD3+CD56+ NKT hücreleri ve düşük afiniteli IL-2 reseptörü CD25'i sentezleyen CD3+CD4+CD25+ regülatör T hücreleri (Treg)'dir.

$\alpha\beta$ T hücreleri Majör Histokompatibilite Kompleksleri (MHC) tarafından tanıtılan antijenleri tanıyarak aktive olur ve tepki gösterirler. ^[31] CD4+ yardımcı T hücreleri MHC-II sınıfı aracılı, CD8+ sitotoksik T lenfositleri ise MHC-I sınıfı aracılı olarak peptidleri tanırırlar. Klasik MHC moleküllerinin yanı sıra, klasik olmayan MHC proteinleri de hücrel bağışıklık sistemine antijen sunumunda görev alabilirler. ^[32]

2.3. Ölümcül Ligand TRAIL ve Reseptörleri

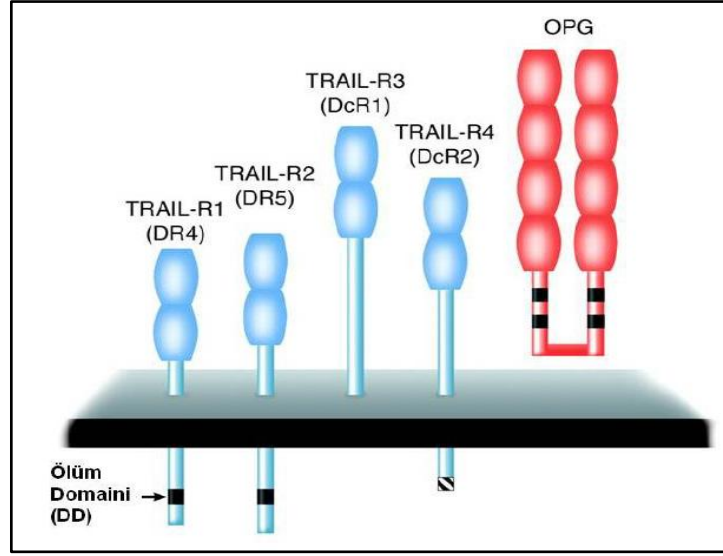
Tümör Nekroz Faktörü (TNF) ligand ailesi olarak da bilinen ölümcül ligandlar, vücut savunmasının önemli bir kısmını oluştururlar. TNF ligand ailesinin bilinen en önemli elemanları TNF α , lenfotoksin β (LT- β), FasL (CD95L), ve TRAIL (TNF-ilişkili Apoptoz İndükleyici Ligand)'dir.

TRAIL, TNF süper ailesine mensup bir tip II membran proteinidir. ^[25,26] TRAIL, 281 aminoasitlik bir protein olarak 3q26 kromozom bölgesindeki 20kb'lik TRAIL geni tarafından sentezlenir. ^[33,34]

En önemli ölümcül ligandlardan olan TRAIL'i tanıyan 5 farklı reseptör bulunmaktadır. Bunlardan; DR4 (TRAIL-R1, Apo-2) ve DR5 (TRAIL-R2) ölüm reseptörleri; DcR1 ve DcR2 hücre zarına bağlı yalancı reseptörler; osteoprotegrin (Opg) ise dolaşımda çözünür halde bulunan bir yalancı reseptördür (**Şekil 2**). ^[35,36] Bir hücrede birden fazla TRAIL reseptörünün olması, TRAIL'in hücre içinde pek çok işlev gördüğünü düşündürse de sağlıklı ve hasta insanlarda TRAIL'in birbirinden farklı olarak ne fonksiyon gördüğü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. DR4 ve DR5 ölüm reseptörü olarak fonksiyon görmelerine rağmen, DcR1 ve DcR2 ölümcül sinyal göndermemekte ve sadece dekoy (yalancı) reseptör olarak işlev görürler (**Şekil 3**). ^[37,38]

TRAIL

TRAIL, TNF süper ailesine mensup bir tip II membran proteinidir. ^[35,36,37,38,39,40] TRAIL; TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), TRAIL-R3 (DcR1), TRAIL-R4 (DcR2) ve osteoprotegrin (OPG) olmak üzere beş değişik reseptöre bağlanabilme özelliğine sahiptir (**Şekil 2**). ^[35,36,41,42] Bir hücrede birden fazla TRAIL reseptörünün olması, TRAIL'in hücre içinde pek çok işlev gördüğünü düşündürse de sağlıklı ve hasta insanlarda TRAIL'in birbirinden farklı olarak ne fonksiyon gördüğü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. DR4 ve DR5 ölüm reseptörü olarak fonksiyon görmelerine rağmen, DcR1 ve DcR2 ölümcül sinyal göndermemekte ve sadece dekoy (yalancı) reseptör olarak işlev görürler (**Şekil 3**). ^[43,44,45]



Şekil 2. TRAIL reseptörlerinin şematik görünümü ^[40,42]

TRAIL'in 5 reseptöründen 3 tanesi yalancı reseptörler, ikisi ise ölüm reseptörleridir. DR4 ve DR5 ölüm reseptörleri sitoplazmik bölgelerinde bulunan ölüm bölgesi (DD) sayesinde hücre içi apoptotik sinyal yolağını uyarırlar. Yalancı TRAIL reseptörlerinden DcR2, güdük DD'i nedeniyle, DcR1 ise DD olmaması sebebiyle apoptotik sinyal oluşturmazlar. Bir diğer yalancı TRAIL reseptörü osteoprotegrin ise (OPG) çözünür halde bulunur.

inhibe edebildiği bildirilmiştir. ^[48] Fakat diğer taraftan, DR4 ve DR5 ölümcül reseptörlerinin TRAIL ile aktivasyonu sonucunda da NF- κ B sinyal yolu uyarılmaktadır. ^[49,50] Bu nedenle, bir hücrede anti-apoptotik sinyaller varken bu hücrede apoptozisin ne şekilde gerçekleşebildiği tam olarak anlaşılamamıştır. NF- κ B, aynı zamanda yalancı bir reseptör olan DcR1 sentezini, BCL-xL ve cIAP'lar gibi bazı apoptozis inhibitörlerinin sentezini de arttırarak, TRAIL aracılı apoptozisin engellenmesinde rol oynamaktadır. ^[51,52,53,54] Böylece, NF- κ B aktivasyonu, hücreleri TRAIL'e dört değişik yoldan dirençli kılar.

İkinci hipotez ise, apoptozis inhibisyonunun bu hücrelerde yer alan bazı inhibitör proteinlerden kaynaklandığını savunur. Böyle bir molekül olan FLICE inhibitör protein (cFLIP), bir kaspaz-8 homoloğu olup ölüm ligandları tarafından uyarılan apoptozisi inhibe eder. ^[55,56] Ayrıca, NF- κ B yolunu uyarın ajanların cFLIP sentezini de arttırdığı bildirilmiştir. ^[57] Nitekim adenovirus aracılı FasL transferi ile RA makrofajlarında, yüksek oranda olan FLIP sentezinden dolayı apoptozis bu yolla indüklenememektedir. ^[58,59] Grubumuz tarafından yapılan daha önceki çalışmalarda da, TRAIL geni taşıyan adenovirüslerin RA vakalarından izole edilmiş sinovyal hücreleri üzerinde, değişen TRAIL reseptör kompozisyonuna bağılı olarak RA tedavisinde yeni bir yöntem olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. ^[60]

2.3.1. TRAIL'in Otoimmün Hastalıklardaki Rolü

Ölümcül ligandlar, hem transmembran proteinler olarak, hem de çözünebilir yapıda etkinlik gösterebilirler. Hücre yüzeyinde eksprese olan TRAIL hem TRAIL-R1, hem de TRAIL-R2'yi etkin bir şekilde aktive edebilir. ^[61,62] Bu nedenle, çözümlü ligandlardan ziyade membran-bağılı ligandlar daha büyük önem arz etmektedir.

Çeşitli dokularındaki ölümcül ligand ve reseptör sentez profilleri ile içerisinde kanser ve otoimmün hastalıklarda barındıran birçok hastalık prognozu arasındaki bağlantı bilinmesine rağmen, bağışıklık sistem hücrelerinin ölümcül ligand ve reseptörlerinin sentez miktarının hastalık seyrindeki etkisi ve prognostik bir öneminin olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Hâlbuki ölümcül ligandların in vivo etkinliği, bu sitokinlerin en önemli kaynağı olan T lenfositlerine bağılıdır.

Sağılıklı insanlarda yapılan çalışmalarda CD3+/CD19- T lenfositlerinde DR4, DR5 ve DcR1 ekspresyonu gözlenmezken, DcR2 ekspresyonunun olduğu; CD3-

/CD19+ B lenfositlerinde de DR4'ün yüksek oranda ekspresyonuna rağmen DR5, DcR1 ve DcR2'nin orta düzeyde eksprese edilebildiği gösterilmiştir. Nötrofillere bakıldığında ise yüksek oranda DcR1 ekspresyonu ve çok düşük miktarda da DR5 ekspresyonu mevcuttur. Monositlerde ise sadece DR5 ekspresyonu gerçekleşir. Ayrıca, lenfositlerin alt tiplerine yönelik yapılan çalışmalarda da DcR2'nin CD8+ T lenfositlerinde eksprese edildiği, CD4+ T lenfositlerin ise DR4, DR5, DcR1 ve DcR2 eksprese etmedikleri, TRAIL'e dirençlilik gösterdikleri görülmüştür. Ayrıca CD56+/CD3+ NK T lenfositlerinden de aşırı miktarda DcR2 eksprese edilmektedir. CD56+/CD3- hücrelerden ise düşük miktarlarda DcR2 ekspresyonu saptanmıştır. İstirahat halindeki CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinde TRAIL reseptörlerinin ekspresyonu zayıf iken, uyarıldıkları takdirde ise CD8+ T lenfositlerde her iki dekok reseptör ekspresyonunun da arttığı ve bu sayede de TRAIL'e dirençli olabildikleri gösterilmiştir. [55,56,57]

Diğer TNF ailesi üyelerine kıyasla (FasL ve TNF'ye göre) TRAIL'in, apoptozisi indüklemeye daha farklı özellikleri mevcuttur. Örneğin otoimmün hastalıkları başlatıp daha da ilerlemesine neden olan TNF- α 'nın aksine TRAIL immün yanıtı baskılamaktadır. Bu nedenle, TRAIL'in lenfositlerin fonksiyonunu nasıl etkilediğini ortaya çıkarmak için BALB/c farelerden izole edilen splenositlerde çalışmalar yapılmıştır. [58] Aktive olmuş T hücreleri CD95L'nin etkisiyle apoptozise uğrarken, TRAIL bu hücrelerde yalnızca bölünmeyi durdurabilir. Ayrıca TRAIL, DNA sentezini de inhibe ederek hücrelerin G1'den S fazına geçmesini de önler. Bu durumda, TNF ve CD95L'nin aksine TRAIL lenfositlerde ölüme sebebiyet vermeden onların aktivasyonunu ve çoğalmalarını engellemektedir. Ayrıca, TRAIL geni sentez etmeyen (knock-out) farelerde aktive olmuş T hücre yanıtı bastırılamadığından dolayı bu farelerin kollajen indüklü artrite (KİA) daha duyarlı olması da, bu bulguları desteklemektedir. [59]

TRAIL'in otoimmün inflamasyon ve hücre siklusuyla ilgili henüz transformasyona uğramamış hücreler üzerindeki etkilerini araştıran çok az çalışma mevcuttur. Yeni izole edilen T hücreleri, ancak tip I interferon ve CD3 ile uyarılmalarından sonra TRAIL sentez edebilirler. [60,61,62,63] Ayrıca, IFN- γ ve IFN- α ile uyarılan periferik monositlerde, dendritik hücrelerde ve NK hücrelerinde TRAIL sentezi gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar TRAIL'in ancak bir stimülasyon sonrasında T hücrelerinde, monosit ve makrofajlarda sentezlendiğinin göstergesidir. [64,65] Bunun

yanında, dinlenme halindeki T hücrelerinin aksine IL-2 ile uyarılan T hücreleri, TRAIL aracılı apoptozise duyarlıdırlar. Bu durum, TRAIL'in periferik T hücresinin eliminasyonunda da görev alabileceğini düşündürmektedir. ^[66] Ayrıca, otolog CD4+ T hücreleri makrofajları kısmen de olsa TRAIL aracılığıyla apoptozise uğratabilmektedirler. ^[67,68] TRAIL sentezi olmayan farelerden izole edilen CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin, anti-CD3 antikor aracılı hücre ölümlerine dirençlilik göstermesi, TRAIL'in timusta T hücrelerinin negatif seleksiyonunda üstlenmiş olduğu önemli rolünden dolayıdır. ^[58]

Bütün bu nedenlerle T lenfositlerinin fonksiyonunun MG prognozu ile ilişkisinin, bu hücrelerin yüzeyindeki ölümcül ligand ve reseptörlerinin profillerinin araştırılması önemlidir. Bu nedenle biz de çalışmamızda TRAIL ve reseptörlerinin lenfosit hücre yüzeylerindeki ekspresyon profillerinin MG hastaları ve sağlıklı bireyler arasında farklılık gösterip göstermediğini belirlemeyi hedefledik.

2.4. Klinik

MG'in asıl özelliği tekrarlayan aktiviteler ile kötüleşen ve istirahat ile düzelen fluktuasyon gösteren güçsüzlük gün içinde değişkenlik gösterir. Hastanın yakınmaları sabah saatlerinde minimal ve/veya hiç yoktur. Günün ilerleyen saatlerinde ve fiziksel aktiviteyle yakınmalar artar. Güçsüzlük sıcağa maruziyet, enfeksiyon ve stres ile ağırlaşır. Fluktuasyon gösteren fluktuasyon varlığı hastalığı güçsüzlük yakınması ile prezente olan olası diğer hastalıklardan ayırır. Güçsüzlük iskelet kaslarına sınırlıdır ve klinik bulgular genellikle göz bulguları (% 50), güçsüzlük (%35), yorgunluk (%10) ve solunum güçlüğü ile prezente olur. Disfaji, azalmış öksürme gücü ve vital kapasitede azalmanın eşlik ettiği olguların %26'sında hafif, %36'sında orta, %39'unda ise ağırdır. ^[69]

Oküler kas güçsüzlüğü en sık rastlanan başlangıç yakınması olup olguların yaklaşık %85'inde görülür. Klinik bulgular fluktuasyon gösteren pitoz, diplopi ve bazen bulanık görme ile prezente olur. ^[69] Muayenede olgular 20-30 saniye laterale baktırıldığında, göz kaslarındaki yorulmaya bağlı olarak diplopinin ortaya çıkması sağlanabilir. Olguların %50'sinde bulgular iki yıl içinde jeneralize olur.

Pitoz tek taraflı veya bilateral olabilir. Yukarı bakış ve 30 sn veya daha fazla yukarı bakmakla belirgin hale gelebilir. Pitoz bilateral ve ciddi olduğunda görmeyi

tamamen engelleyebilir. En sık etkilenen ekstraoküler kas, M. rektus medialis'dir. Nörolojik muayenede pupilin korunduğu bir veya bir kaç ekstraoküler kas tutulumu saptanır. Güçsüzlük, belirli bir sinir veya kas tutulumunun herhangi bir paternine uymaz, bu nedenle vertikal bakış parezisi, oküломotor sinir felci veya internükleer oftalmopleji gibi tablolara yol açan hastalıklardan ayırt edilebilir. M. orbikularis okuli kasındaki güçsüzlük MG'de sabit bir bulgu olup remisyondaki hastalarda bile tek bulgu olabilir.

Bulber kas tutulumu hastalığının gidişatı sırasında olguların %60'ında görülür. Çiğneme güçlüğü, katı gıdaları çiğneyememe gibi bulgular ile prezente olur. Katı gıdaları yerken çene kapatmak çene açmaktan daha zordur. Bulber bulgular olguların %15'inde ağrısız disfaji ve dizartri ilk başlangıç bulgusu olabilir. [70,71] Bu olgularda oküler tutulumun olmaması hastanın yanlılıkla motor nöron hastalığı olarak tanınmasına neden olabilir.

Solunum kaslarında güçsüzlük ile başlangıç enderdir ve solunumsal yakınmalar genellikle başlangıcın ilk 2 yılı içinde ortaya çıkar. Solunum kaslarındaki güçsüzlük mekanik ventilatör ihtiyacı ve nasogastrik tüp vb. ile gastrik beslenmeyi gerektiren, hayatı tehdit eden, myastenik krize bağlı olabilir. Bu tablo enfeksiyon, aminoglikozid, tetramisin, nöromüsküler blokaja neden olan ilaçlar, magnezyum sülfat, beta blokörler ve florokinin gibi ilaç kullanımı ile ortaya çıkabilir veya var olan klinik tablo kötüleşebilir. [72]

MG'li olgularda ekstremitelerde güçsüzlük proksimal kas gruplarında hakim olup diğer miyopati ile giden hastalıklara benzer. Bununla birlikte MG'de güçsüzlük üst ekstremitelerde alt ekstremiteden daha belirgindir. Bazen distal kas güçsüzlüğü de görülebilir. [73,74]

Yüz kasları sıklıkla tutulur ve bilateral fasyal güçsüzlük, hastalarda ağzın horizontal yerine vertikal yönde kayması şeklinde tipik bir gülüşe neden olur ki buna myastenik 'snarl' adı verilir. Boyun ekstensör ve fleksörleri genellikle etkilenir. Başın ağırlığını taşıyamayan ekstensör kasların güçsüzlüğüne bağlı "düşük baş sendromu" ortaya çıkar. [72,73]

MG'de muayene bulguları motor alana sınırlıdır. Derin tendon refleksleri normaldir, hatta canlı olabilir. Duyu muayenesi ve diğer nörolojik sistem muayeneleri

normaldir. MG’li olguların medikal durumlarını değerlendirmek için değişik fonksiyonel durum skalaları da kullanılabilir (Tablo 4,5)

Tablo 4. Myastenia Graviste Fonksiyonel Durum Sınıflaması

I. Asemptomatik (orbikularis okuli kasındaki güçsüzlük hariç).
II. Tekrarlayan egzersizlerle hafif semptomlar.
III. Günlük aktiviteden fazla hareketlerde kısıtlılık ve semptomlarda artış.
IV. Günlük aktivitede kısıtlılık ve hasta istirahat halinde de semptomatik.
V. Yaşamı idame ettirmek için tamamen yoğun bakım desteğine ihtiyaç var

Tablo 5. Myasthenia Gravis Şiddet Skalası

Dispne Entübe İstirahatte dispne Fiziksel aktivite ile ortaya çıkan dispne Dispne yok.
Öksürme gücü Entübe Güçsüz Normal
Oküler kaslar İstirahatte güçsüzlük Yorulma ile ortaya çıkan güçsüzlük Yok
Bulber kaslar Bulber kaslarda istirahatte güçsüzlük Yorulma ile ortaya çıkan güçsüzlük Yok
Ekstremiteler Etkilenen ekstremitelere kas gücü 3/5 düzeyinde veya daha az Etkilenen ekstremitelerde kas gücü 4/5 düzeyinde veya yorulma ile ortaya çıkan güçsüzlük Saptanabilen güçsüzlük yok.

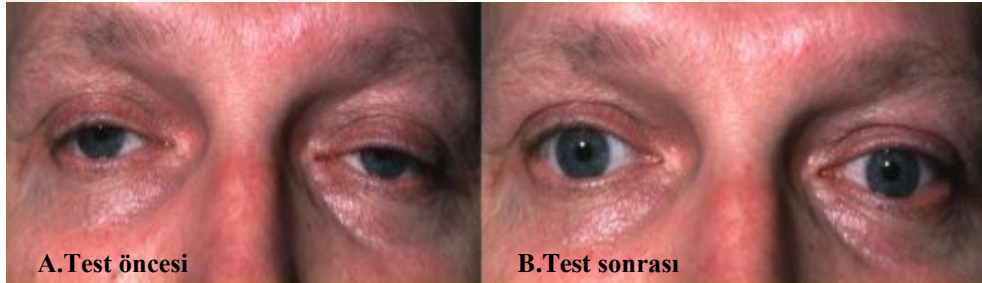
2.5. Tanı Yöntemleri

2.5.1. Anamnez

Tanıda anamnez çok önemlidir. Akşama doğru belirginleşen okulobulber bulguların varlığı MG’i düşündürmelidir. Okulobulber bulguları olan ve tipik myastenik yüzü olan (simetrik olmayan düşük göz kapakları, rölatif olarak hareketsiz olan köşeleri yere dönük olan dudaklar, çoğunlukla karmaşık bir gülümseme, elle kapatılan çene) hastada tanı çok kolaylıkla konur. Ancak sadece hastaların çok az kısmı bu safhada doktora başvurur.

2.5.2. Edrofonyum Testi

Hastaya antikolinesteraz ilaçlar verilerek tanı doğrulanabilir. Bu amaçla edrofonyum klorid (Tensilon) veya neostigmin bromid (Prostigmin) testi kullanılabilir. Edrophonium klorid'in etkisi birkaç saniyede başlar ve birkaç dakikada sona erer (Şekil 4). 10 mg'lık ampül formları olan edrophonium klorid'in önce 2 mg'ını intravenöz olarak verip 1 dakika beklemek, cevap alınamazsa gerisini vermek gerekir. Neostigmin bromid'in etkisi ise 20 dakika kadar sonra başlar ve 2 saat sürer. Bu testler motor nöron hastalığı ve poliomiyelit gibi bazı hastalıklarda hafif pozitif olabilir. Ama genellikle cevap myasthenia gravis de olduğu kadar net ve tekrarlanabilir değildir. Antikolinesteraz infüzyonu aritmi ve hipotansiyon riski oluşturabileceği için olgular kardiyak ve kan basıncı yönünden monitorize edilmelidir. Advers etkiye bağlı gelişebilecek bradikardi (kalp hızı 37'nin altında) riskine karşı atropin ampul hazır bulundurulmalıdır. Tükrük ve terlemede artış, bulantı, kusma, mide krampları ve kaslarda fasikülasyon edrophonium'un yan etkilerini oluşturur. Tensilon testi MG'in tanısında %71.5–%95 sensitiviteye sahiptir. ^[74,75].



Şekil 4. Edrophonium (Tensilon) testi

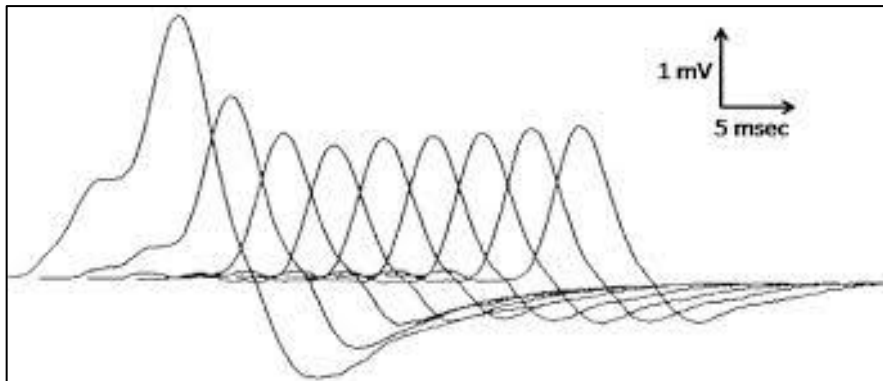
2.5.3. Buz Testi

Soğğun nöromüsküler kavşakta iletiyi düzeltmesi ilkesinden hareketle edrofonyumun kontraendike olduğu farmakolojik olmayan bir test olan buz testi düşünülebilir. Pitotik göz kapağına 2-5 dakika buz uygulanabilir. Pitotik göz kapağı 2 mm veya daha fazla açılıyorsa test pozitif olarak değerlendirilir. ^[76]

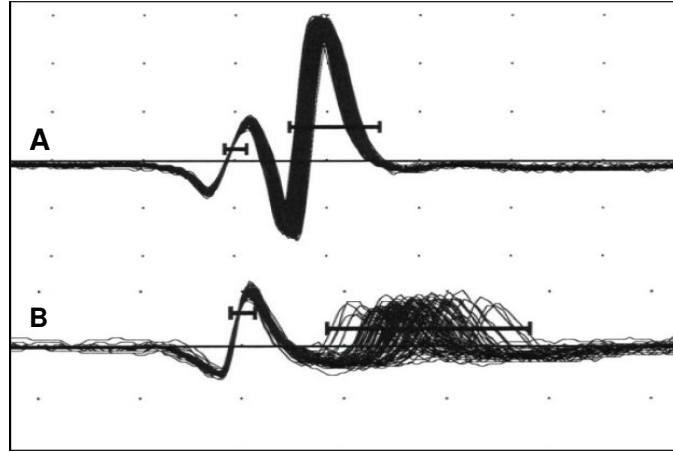
2.5.4. Elektrofizyolojik Testler

MG teşhisi için iki esas elektrofizyolojik test tekrarlayıcı sinir uyarım çalışması ve tek lif elektromyografidir. Tekrarlayıcı sinir uyarımı nöromusküler kavşağın değerlendirilmesinde yol gösterici olup ilgili sinirin supramaksimal olarak 2-3 Hz'de uyarılması ile değerlendirilir. Birinci ve beşinci uyarılmış kas aksiyon potansiyelleri arasında %10 dekremental yanıt MG için tanısaldır. (Şekil 5) Dekrement yanıt olmayanlarda egzersizle test edilen kas yorulduktan sonra dekrement yanıt kaydedilir. Test jeneralize tip MG'li hastaların yaklaşık %75'inde ve Oküler MG'li hastaların yaklaşık %50'sinde anormaldır. [77,78]

Tek lif elektromiyografi MG için en sensitif tanısal testtir. Bir özel iğneli elektrot kullanılmasıyla yapılan bu test tek bir kas lifinden aksiyon potansiyelini belirlemesine müsaade eder. Aynı motor akson tarafından innerve edilen iki kas lifinin aksiyon potansiyellerinin eş zamanlı kaydına müsaade eder. Birinciye ilişkin olarak ikinci aksiyon potansiyeli zamanında değişkenlikler 'jitter' olarak adlandırılır. (Şekil 6) MG'de nöromusküler kavşaktaki iletimin güvenlik faktörü azaldığından 'jitter' yanıtı artacak. Eğer uygun kaslar incelenirse Tek Lif EMG'si MG'li hastaların %90-95'inde anormal jitter yanıtı meydana çıkarır. [79,80] Yüksek sensitiviteye rağmen artmış jitter primer NMK hastalıkları için spesifik değildir. Motor nöron hastalığı, polimyozit, periferik nöropati, Lambert Eaton myastenik sendromu (LEMS) ve diğer nöromusküler bozukluklarda anormal jitter olabilir. Bunun yanı sıra standart iğneli EMG incelemesinde diğer anormallikler görülmezse bir nöromusküler iletimin bozukluğu için spesifiktir.



Şekil 5. MG'li bir hastada repetitif (tekrarlayan) sinir uyarımı ile elde edilen dekremental yanıt. İlk cevabın amplitüdü normal, 4. cevap en düşük.



Şekil 6. A: Normal hastada, B: MG'li hastada tek lif EMG-Jitter

2.5.5. Otoantikörler

MG'nin tanısı için en yaygın kullanılan immunolojik test MG için yüksek bir sensitiviteye sahip olan serum Anti-AChR antikor konsantrasyonunun ölçülmesidir. ^[79] Yanlış pozitiflik çok nadirdir ve LEMS olan hastalarında (%5), motor nöron hastalarında (%3-%5) ve polimiyozitte <1% oluşabilir.

Bu testin sensitivitesi jeneralize MG için yaklaşık olarak %85 ve Oküler MG için %50' dir (80,81) Anti-AChR antikor konsantrasyonları hastalığın şiddeti hakkında öngöründe bulunmak için kullanılamaz ve antikorların konsantrasyonu hastalık tablosu ile korele değildir. Seronegatiflik immunsuprese hastalarda ya da eğer hastalığın erken dönemlerinde bakılmışsa olabilir. ^[82,83] Yukarıda gösterildiği gibi, kas sitoplazmik proteinlerine karşı oluşan çizgili kas antikorları (titin, myosin, aktin, and ryanodine receptorleri) başlıca timomatoz MG'li hastalarda ve ayrıca MG olmayan timomalı hastalarda saptanır. ^[84] Erken başlangıçlı MG'li hastalarda bu antikorların varlığı bir timoma varlığı kuşkusunu artırır. Titin antikorları ve diğer çizgili kas antikorları geç başlangıçlı ve non-timomatöz MG olanların %50'si kadarında da bulunur ve 50 yaşın üzerindeki hastalarda timoma varlığının tahmin edilmesi olarak daha az yardımcıdırlar. ^[85] Anti-KCNA4 antikorları timomalı hastalı tanımlamak için bir yararlı markır olabilir ama myokardit ve myozit olgularında da görülebilir. ^[85] Anti-AChR yönünden negatif olan jeneralize MG hastalarında Anti-MuSK antikorları ölçülmelidir ve bu gruptaki hastaların yaklaşık %40'ında saptanır. Belirtildiği gibi kümelenmiş AChR'lerine

bağlanan düşük affiniteli Anti-AChR antikorları seronegatif jeneralize MG'li hastalarda gösterilmiştir. ^[86] Düşük affiniteli antikorlar oküler MG hastalarında mevcut olup olmadığı belirsizliğini sürdürüyor ama hücre tabanlı tahlil bu subgruplarda zamanla daha sensitif tanı testi sağlayabilir.

2.5.6. Radyolojik Görüntüleme

Mediastinal kitlelerin değerlendirilmesinde direkt grafi (DG)'lerden sonra yapılması gereken tetkik bilgisayarlı tomografi (BT)'dir. Günümüzde BT ile çok düzlemli görüntüler elde edebilmek mümkündür. Tetkikin yapılması sırasında incelenecek vücut bölgesinin hacimsel verileri elde edilir. Daha sonra bu veri seti kullanılarak istenilen düzlemlerde görüntüler multiplanar reformat yöntemi ile oluşturulur. Gerekli görülmesi halinde üç boyutlu hacimsel modellemeler ve içi boş organlar için (trakea ve hava yolları gibi) sanal endoskopik görüntüler elde edilebilir. Tetkik sırasında İntravenöz kontrast madde kullanılarak torakal vasküler yapıların anjiyografik görüntüleri oluşturulabilir. Kontrast madde kinetiği değerlendirilerek incelenen patolojilerin kontrastlanma paternlerine göre karakterizasyonu yapılabilir. ^[87,88]

Ön mediasten anterior sınırını sternum posteriyor kenarı, posterior sınırını ise perikard anteriyorunun oluşturduğu bu boşluğu yağ dokusu ve timüse ait doku ile doldurulmuş bir anatomik yapıdır. Timus yaşamın ilk yıllarında belirgin bir hacme sahipken zamanla involüsyona uğrayarak hacimce küçülür. Yaşamın ileri safhalarında immün sistemi stimüle edebilecek stres durumlarında bazen timüste “rebound hiperplazi” adı verilen boyut artışı meydana gelebilir. ^[88]

Bu durumun timus kaynaklı diğer kitlesel lezyonlardan ayırılması gerekir. Timus epitelinden kaynaklanan tümörler benign timoma, malign timoma ve timik karsinom olarak sınıflandırılır. Timus kaynaklı en sık rastlanan kitle timomadır. Ön mediastende yerleşen bu tümör genellikle iyi sınırlıdır. Sınır özelliklerinin korunması kapsüllü olmasının bir işaretidir. ^[88]

Paraneoplastik sendromlara neden olabilir. Myastenia gravis nedeniyle tetkik edilen olgularda %10 oranında timomaya rastlanır. Benign ve malign timomalar timik epitelin neoplastik proliferasyonu sonucu gelişirler. İnvaziv timomalar benign sitopatolojik özellik göstermelerine rağmen invazyon ve metastaz yapmaları nedeniyle

malign olarak kabul edilirler. Timik karsinom olarak isimlendirilen diğer bir grup ise sitopatolojik ve tümör davranışı açısından malign özellik göstermektedir. [89,90]

Timus görüntülediği anda aynı kişide değişik zamanlarda farklı form, şekil ve boyutta görünen timus bezi bu özelliği ve değişik fiziksel şartlarda değişen anatomisi ile kimi zaman patolojik fizyolojik ayrımının güçlükler taşıdığı bir organdır. Timik rebound hiperplazi oluşumu yanlışlıkla kemoterapi, biyopsi, radyoterapi hatta timektomi gibi yanlış prosedürlere yol açabilir. [89,90] Timus'un bu dinamik anatomisi, embriyolojisi ve dinamik fizyolojisinin iyi bilinmesi gereksiz görüntüleme ve invazif işlemlerin önlenmesini sağlar. Radyolog normal timik varyantlar, ektopik timik doku, nonneoplastik değişiklikler ve timik hiperplazilerin neoplastik değişikliklerden ayrımında çok önemli bir görev üstlenmektedir.

Timusun sistemik enfeksiyonlar, kemoterapi gibi çeşitli streslere karşı hızlı atrofiye oluşu sonrasında tekrar boyut kazanması, hatta daha geniş bir forma ulaşması olasıdır. Ektopik ve aksesuar timik dokuya, timofarengeal kanalın uzandığı bölgelerde (vena kava superior, aorta ve brakiosefalik venler komşuluğunda) rastlanabilir.

Ektopik timik doku bir boyun kitlesini taklit edebilir. Timofarengeal kanal atrofiye olduğunda timik remnant kistik form alır. Paratroid glandlar fetal hayatta 3. ve 4. farengeal poştan kaynaklandığı için, ektopik paratroid patolojileri ile timus patolojileri arasında ayırıcı tanı yapılmalıdır. [89,90]

Anterior mediastende yer alan timus, üstte tiroid alt polü, altta ise diafragma dek uzanabilir. Timus tiroide tirotimik ligament ile tutunur. Myastenia Gravisli olgularda yapılan çalışmalarda %32 olguda boyunda klasik lokalizasyonunun dışında, %98'inde ise mediastende normal yerleşiminin dışında timik doku saptanmıştır.

Timik morfoloji yetişkin ve çocukta farklılık gösterir; genç erişkinde bilobüle V şeklinde izlenirken tek loblu, üç loblu, ters V şeklinde de görülebilir. 5 ile 50 gram arasında değişen ağırlıktadır. Total beden kitlesine oranı en fazla doğumda iken mevcuttur.

Timusun radyolojik görünümü yaşla birlikte belirgin olarak değişim gösterir. Konvansiyonel radyografilerde görünüm üzerinde çok durulmuş ve belirtiler tanımlanmıştır. Timus, pediatrik grupta toraks BT'de konveks konturları olan, kas dokusuyla eş veya daha yüksek dansitede görülür. [89,90]

2.5.6.1. Timik Hiperplazi

Gerçek ve foliküler hiperplazi olmak üzere iki ana başlıkta sınıflandırılabilir. Gerçek hiperplazilerde hiçbir neden olmayabilir, pnömoni, radyoterapi, kortizon kullanımı gibi nedenler olabilir ya da sarkoid, hipertiroidi veya kan hastalıkları gibi nedenler bulunabilir. Stres durumunda timus %40 oranında küçülebilir. Stres ortadan kalkınca 9 ay içinde geriye döner. Eski volümünün %50 üstüne çıkabilir ki buna rebound hiperplazi ismi verilir. ^[89,90,91,92] (Şekil 7). Kemoterapi hastalarında %10-25 oranında rebound hiperplazi izlenebilir. Bu genellikle kemoterapi başlangıcından 2 sene sonraya denk düşer. Timik rebound hiperplazi radyolojisi MRG veya BT’de difüz genişleme, yumuşak konturlar yağ veya lenfoid doku içeriği olarak izlenir. Timik tümörlerde bu nodüler kontur, nekrotik alan ve kalsifikasyon olarak izlenebilir. Timik lenfoid hiperplazi, timik genişleme olmadan da gelişebilir. Genellikle myastenia, tirotoksikoz gibi otoimmün hastalıklarda rastlanır. Radyolojisi sıklıkla normal olarak karşımıza çıkar.



Şekil 7. Kontrastlı BT: Anterior mediastende timik hiperplazi.

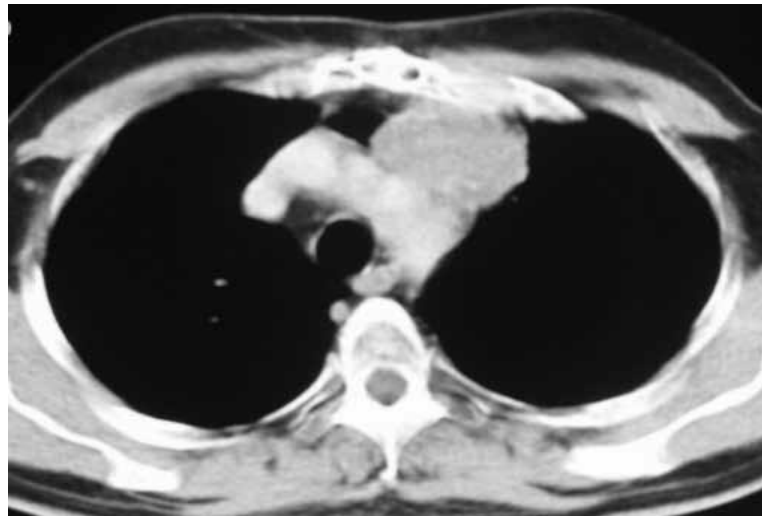
2.5.6.2. Timoma

Timik epitelden çıkan benign veya düşük dereceli neoplazik tümörlerdir. İmmatür nonneoplastik T hücreleri içerirler. ^[89,90,91,92] Timus epitelinde kaynaklanan tümörler benign timoma, malign timoma ve timik karsinom olarak sınıflandırılır. Timüs

kaynaklı en sık rastlanan kitle timomadır. Ön mediastende yerleşen bu tümör genellikle iyi sınırlıdır. Sınır özelliklerinin korunması kapsüllü olmasının bir işaretidir. Erişkinlerde tüm mediasten tümörlerinin %20'sini oluştururlar. Beşinci ve 6. dekatta pik yaparlar.

Paraneoplastik sendromlara neden olabilir. Myastenia gravis nedeniyle tetkik edilen olgularda %10 oranında timomaya rastlanır. ^[89,90] Benign ve malign timomalar timik epitelin neoplastik proliferasyonu sonucu gelişirler. İnvaziv timomalar benign sitopatolojik özellik göstermelerine rağmen invazyon ve metastaz yapmaları nedeniyle malign olarak kabul edilirler. ^[89,90]

Hastaların %25'inde basıya bağlı semptomlar bulunabilir. Olguların yarısında Myastenia Gravis gelişebilir. Konektif doku hastalıkları, otoimmün hastalıklarla beraber izlenebilir. Direkt grafide keskin sınırlı lobüle konturlu retrosternal kitle olarak izlenir. Kalp gölgesini perdeler. Bilgisayarlı tomografide (BT) yumuşak doku dansitesinde iyi sınırlı solid kitle olarak izlenir (Şekil 8). Oval yuvarlak lobüle olarak izlenip timüs formuna uyum göstermez. Çok genişlerse kistik veya nekrotik alanlar izlenebilir. Kapsül veya içinde kalsifikasyon saptanabilir (Şekil 9). İnvazyon yapabileceği dokuları BT ile ayırmak mümkündür (Şekil 10). Magnetik rezonans görüntüleme (MRG) çalışmasında T1 ağırlıklı sekanslarda düşük, T2 ağırlıklı sekanslarda yüksek sinyal intensiteli homojen veya heterojen formda izlenirler.

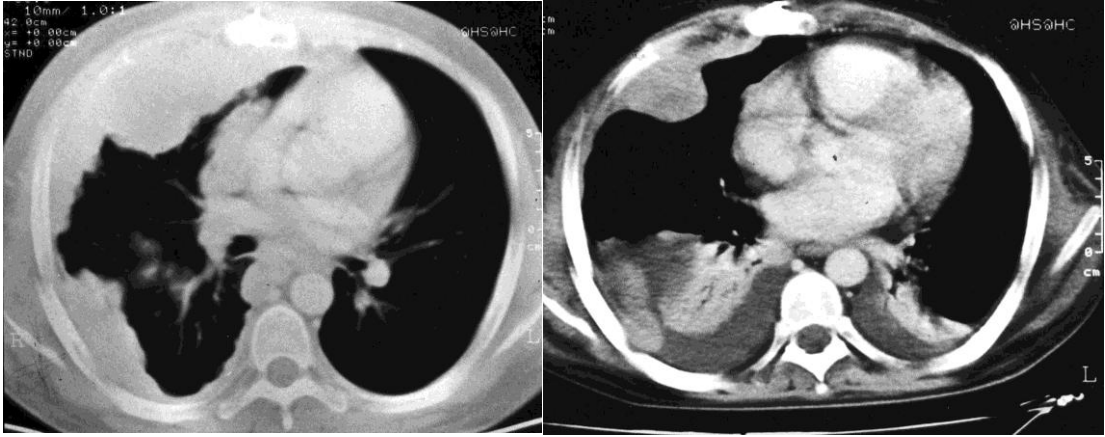


Şekil 8. BT incelemede iyi sınırlı solid görünümde kitle ^[36]



Şekil 9. Anterior mediastende sınırı belirsiz kitle ve plevraya uzanımı [36]

MG'li bütün olgularda timomayı dışlamak için mediasten BT/MRG yapılmalıdır. İyotlu kontrast maddeler myastenik güçsüzlüğü ağırlaştırır için dikkatli kullanılmalıdır. [91,92] Chemical shift MR görüntüleme çalışması timomaları hiperplazilerden ayırmaya yardımcı olabilir. [90]



Şekil 10. İnvaziv timoma

2.5.6.3. Timik Karsinom

İnvazif timomadan daha agresif davranıp uzak metastaz yapma olasılığı yüksektir. Morfolojik olarak belirgin kapsülleri mevcut değildir. Daha çok 50 yaş

civarında görülür ve bası semptomları verir. Seyrek olarak paraneoplastik sendromlara yol açar. Daha geniş multilobüle kitleler olarak karşımıza çıkarlar. Uzak metastaz, mediastinal lenf nodları ve hem T1 hem T2 ağırlıklı sekanslarda yüksek sinyal intansitesi MR özelliklerini oluşturur. [89,90]

2.5.6.4. Timolipoma

Timolipomlar ön mediastenden köken alan, nadir görülen benign tümörlerdir. Yağ, epitel ve timusun lenfoid dokularından oluşurlar. İlk kez Hall (1948) tarafından tanımlanan timolipomlar, tüm timik tümörlerin %2-9'unu oluştururlar. Benign iyi kapsüle tümörlerdir. Çok geniş boyutlara ulaşabilir (Şekil 11). [92,94]

Tümör 2-69 arasında her yaşta görülebilmekle beraber %80'i ilk 4 dekada saptanır. Erkeklerde prevalansın biraz daha yüksek olduğu bildirilmiştir. BT'de düşük yağ dansitesi alanları fibroz septalar izlenir. T1 ve T2 de yüksek sinyal, septalar ise düşük sinyal özelliğindedir. [89,90]



Şekil 11. Toraks BT. Ön mediastenden köken alan yağ dansitesinde kitle lezyonu [40]

2.5.6.5. Timik Karsinoid Tümör

İyi diferansiye nöroendokrin tümörlerdir. Cushing, MEN I ve MEN II grubuyla beraber izlenebilir. Düşük gradlı tümörler olup rezeksiyon sonrası rekürrens sıktır. Kistik değişiklik ve fibrozis alanları yerine hemoraji ve nekroz daha sık izlenir. Timomalardan daha agresif seyrederek vena kava tutulumu daha fazladır. [89]

2.6. Klinik Gidiş

Klinik bulgular hastalığın başlangıcını takip eden birkaç yıl içinde kötüleşme gösterebilir. Nitekim ABD’de 1976 MG’li olgunun değerlendirildiği bir çalışmada hastaların %82’sinde ilk yakınma(lar)’dan iki yıl sonra klinik bulgulara maksimum kötüleşmenin geliştiği bildirilmiştir. ^[95,96]

MG’nin en çok korkulan klinik bulgusu Miyastenik krizdir. Miyastenik kriz hayatı tehdit eden bir tablo olup, genellikle hastalığın başlangıcından ilk birkaç yıl sonra hastalığın en aktif olduğu fazda izlenir. MG’li olguların %10-20 gibi yüksek bir oranında en az bir kez miyastenik kriz tablosu gözlenir. Solunum yetmezliğine yol açması ve sıkça görülmesi nedeni ile en çok kolinerjik kriz ile karışabilir. Her iki tabloyu birbirinden ayırmak önemlidir. Zira biri kolinerjik aktivite yetersizliği, diğeri ise artışına bağlı olarak ortaya çıkar. Dolayısıyla tedavi protokolleri tamamen farklıdır. Kolinerjik kriz ve Miyastenik kriz nedenleri ve ayırıcı bulguları Tablo 6’da detaylı olarak verilmiştir. ^[96]

Tablo 6. Miyastenik ve Kolinerjik Krizin Nedenleri ve Özellikleri

Miyastenik Kriz İlacın ve/veya ilaçların yetersiz dozda verilmesi Araya giren enfeksiyonlar Klinik Bulgular Pupiller geniş ya da orta derecede genişlemiş Solunum yetmezliği Parmaklarda siyanoz Deri soğuk ve soluk Taşikardi Tensilon testi pozitif Miyastenik kriz tedavisi Solunum desteklenir	Kolinerjik Kriz Aşırı doz ilaç verilmesi Kolinesteraz inhibitörlerinin (neostigmin, piridostigmin, fizostigmin vb.) fazla dozda alımı ki ortaya çıkan klinik tablo organofosfat zehirlenmesine benzer. İlaçlar Klinik Bulgular Myozis SLUDGE sendromu [salivasyon, lakrimasyon, idrar yapmada güçlük, diyare, gastrointestinal sistemde hipermotilite ve kusma] Solunum yetmezliği, Deri hiperemik, sıcak Siyanoz Bradikardi Antikolinesterazlar azaltılır veya duruma göre kesilir, IV atropin verilebilir. Solunum desteklenir
---	--

2.7. Myasthenia Gravis’de Medikal Tedavi

MG’de tedavi yaklaşımı hastanın yaşına, hastalığın şiddetine ve solunum yada bulber kasların tutulumuna göre şekillendirilir. ^[97] Dört temel tedavi yöntemi vardır:

1. Semptomatik tedavi (antikolinesteraz ajanlar),
2. Kronik immunmodülatör tedavi (glukokortikoidler ve diğer immünsupresanlar),
3. Hızlı immünmodulatör tedavi (plazmaferez ve intravenöz immunglobulin),
4. Cerrahi tedavi (timektomi).

2.7.1. Antikolinesterazlar (AKE)

AKE asetilkolinin yıkılmasını engelleyerek sinaptik aralıkta daha uzun süre kalmasını sağlamaktadır. Tedavide en sık kullanılan ajan piridostigmin bromid’in (mestinon) 60 mg’lık oral formudur. Etkisi 15-30 dakikada başlar, 1-2 saatte maksimuma erişmekte ve 3-4 saat sürmektedir. Ayrıca neostigmin bromid (prostigmin) ve ambenonium klorid (mytelase) kullanılabilecek ajanlardır. AKE’ı belirtiler ortaya çıkmaya başladığı zaman almak gerekir. Beklenen ilacı aldıktan 1-2 saat sonra belirtilerin azalması veya kaybolmasıdır. Hastalığın şiddetine göre günde 1-8 draje arası almak çoğu zaman yeterlidir. Ağır hastalarda 2-3 saatte bir 2 drajeye kadar (12x120 mg) çıkmak gerekebilmektedir. Hastalığın ağır dönemlerinde AKE’ı olabildiğince 24 saat içine eşit aralıklarla yaymak gerekir.

Pediyatrik yaş grubunda 0.5- 1 mg/kg 4-6 saatte bir kullanılabilir. Piridostigmin bromid’e karşı hipersensitivitesi olan olguların yanı sıra, gastrointestinal ve genitoüriner obstrüksiyonu, aritmi ve ciddi bradikardi ve reaktif solunum yolu hastalığı olan olgularda kullanılmaz. Kullanımı sırasında muskarinik ve nikotinik etkilere bağlı abdominal kramplar, diyare, salya ve bronşiyal sekresyon artışı, bulantı, terleme, bradikardi, fasikülasyon ve kas krampları görülebilir.

Timik tümörü olmayan hafif vakalarda, timektomi sonrası parsiyel remisyon gösteren hastalarda ve saf oküler myastenide antikolinesteraz ilaç kullanımı belkide tedavinin tek formudur. İmmünsüpresif başlanmışsa amaç, immünsüpresif ajan etkisini gösterdikçe AKE dozunu azaltmak ve hasta remisyona girdiğinde AKE’ı kesmektir (Tablo 7). ^[98,99,100,101,102]

Tablo 7. Myasthenia Gravis’de Kullanılan İlaçların Dozları

Doz	İlaç etkisinin başlama süresi		Maksimum etki süresi
Piridostigmin (mestinon)	60 mg (oral)	40 dakika	1 saat
Neostigmin oral (prostigmin)	15 mg	1 saat	1.5 saat
Neostigmin IM	1.5 mg	30 dakika	1 saat
Neostigmin IV	0.5 mg	hemen	20 dakika

2.7.2. Kortikosteroidler

Orta ile ciddi jeneralize güçsüzlüğü olan, antikolinesteraz ilaçlara yetersiz yanıt gösteren myastenik hastalarda uzun dönem kortikosteroid tedavisi Pascuzzi ve arkadaşları tarafından en dengeli ve efektif tedavi şekli olarak büyük serili hasta çalışmalarında tanımlanmıştır. [96,97,98,99]

Kortikosteroidler hastaların büyük çoğunluğunu tamamen düzeltmekte ve düzelme 4-6 hafta içinde görülebilmektedir. Ancak düzelme süreci daha da uzayabilmektedir. Genellikle kullanılan kortikosteroid tedavi formu prednizon veya eş değer dozda prednizolondur. 15-20 mg/gün dozu ile başlar, başarılı klinik cevap elde edilene veya günlük doz 50-60 mg’a ulaşana kadar doz derece derece artırılır. [100,101,102,103]

Prednizolon başlandıktan sonra hastada belirgin bir iyileşme elde edilince ilaç dozu düşürülmeye başlanır. İlaç gūnaşırı 10-20 mg gibi bir idame dozunda sürekli olarak tutulur. İlaç dozu düşürülürken ya da kesildikten sonra alevlenme olursa yeniden yüksekçe bir doza çıkarak vermek ve yeni bir immünsüpresif eklemeyi düşünmek gerekir. Orta ya da yüksek doz glukokortikoid kullanımı hastaların %30’unda remisyon sağlarken %50’sinde belirgin iyileşme sağlar. Genellikle etkinliğı tedavi başladıktan 2 ya da 3 hafta sonra ortaya çıkar. Ancak yüksek doz glukokortikoid başlandıktan sonra hastaların %50’sinde 5 ile 10 gün arasında 5-6 gün süren bir klinik kötüleşme olur. Bu yüzden bu hastalara hospitalize edildikten sonra tedavi verilmelidir. Prednizolon başlandıktan sonra hastada belirgin bir iyileşme elde edilince ilaç dozu düşürülmeye başlanır. İlaç gūnaşırı 10-20 mg gibi bir idame dozunda sürekli olarak tutulur. İlaç dozu düşürülürken ya da kesildikten sonra alevlenme olursa, yeniden yüksekçe bir doza çıkarak vermek ve yeni bir immünsüpresif eklemeyi düşünmek gerekir. Aktif ve tedavi edilmemiş tüberkülozlu olgularda kullanımı kontrendikedir. Ayrıca kontrolsüz diyabet ve hipertansiyonu olan olgularda görece kontrendikedir, fakat kesin kontrendike

değildir. Kronik steroid kullanan olgularda 1500 mg/gün kalsiyum, 600 IU/gün D vitamini alımı önerilir.

2.7.3. Azotiyoprin ve Diğer İmmünsüpresif İlaçlar

Azotiyoprin, kortikosteroid alamayan hastalarda, kortikosteroid dozu düşürülürken alevlenme olduğunda, kortikosteroid dozu hızlıca düşürülmek istendiğinde tedaviye eklenebilir. Tedavi 50 mg (1 tablet) birkaç gün, günde 2 kez olarak başlanır. Eğer tolere edilirse doz 2-3 mg/kg/gün (150-250 mg/gün)'e çıkartılır. Buna rağmen azotiyoprin ile ilerleme daha yavaş gözlenir ve belirgin yanıt aylar ile yıllar içinde oluşur. ^[104] Siklosporin başlangıç dozu 5–6 mg/kg (günde 2 kez) olup bir ay sonra serum siklosporin düzeyi ölçülür, siklosporin konsantrasyonu 75–150 mg/mL arasında tutulur. Profilaktik doz 3–4 mg/kg/gün'dür. Anormal böbrek fonksiyon bozukluklarında, kontrolsüz hipertansiyon ve malignite varlığında kullanımı kontrendikedir. Siklosporin, ACE inhibitörleri, anjiotensin II reseptör blokörleri, fenitoin, proton pompa inhibitörleri, atorvastatin, kolşisin, vankomisin, aminoglikozid, kalsiyum kanal blokerleri, karbamazepin ve bazı non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar ile etkileşir.

Mikofenolat mofetil 1000-2000 mg/gün (günde iki kez) kullanılmakla birlikte doz 3000 mg/gün'e çıkarılabilir. Siklofosfamid başlangıç dozu 3–5 mg/kg/gün olup intravenöz (IV) olarak uygulanır. İdame doz 2–3 mg/kg/gündür. Refrakter olgularda 500 mg/m² 4-12 haftada bir IV yüksek doz puls tedavi veya 50 mg/kg/gün IV (ayda dört gün) şeklinde verilebilir. Rituksimab, başlangıç dozu 375 mg/m² IV/hafta (4 hafta), idame doz genellikle aylık 375 mg/m² IV'dir. Methotreksat 7,5-15 mg/hafta dozunda kullanılır. ^[104,105] Karaciğer ve lökositler üzerine toksik etki gözlenebildiğinden karaciğer fonksiyon testleri ve kan sayımı ile izlem gerekir.

2.7.4. İntravenöz İmmünglobulin (IVIG) ve Plazmaferez

Hızlı immünmodülatör tedavide kullanılan intravenöz immünoglobülin ve plazmaferez hızlı etki göstermelerine karşın etkinlikleri kısa sürelidir. Bu yüzden, bu tedavi yöntemi genellikle miyastenik krizde, cerrahi operasyon veya timektomi öncesi, yavaş etkili immünsüpresan tedavi ile birlikte veya immünsüpresan tedaviden yeteri kadar fayda görmeyen olgularda remisyonu sürdürmek için kullanılır. IVIG binlerce

donörden toplanmakta olup myasthenia graviste ki etkinlik mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Etkinliği bir haftadan kısa bir sürede başlamakta olup yaklaşık 3 hafta kadar sürmektedir. Dirençli miyastenide, timektomi ve yavaş etkili immunsupresan tedavi öncesinde etkili bir tedavi yöntemidir. Genellikle 2-5 günde toplam 2g/kg uygulanır. Ancak özellikle kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği olanlarda ve yaşlılarda mümkün olduğunca dozu yaymak gerekmektedir. IVIG yan etkileri sıklıkla orta şiddette olup infüzyon hızı ile ilişkilendirilmiştir. Sıklıkla baş ağrısı, baş dönmesi, üşüme ve ödem görülür. Daha nadir olarak aseptik menenjit, trombotik olaylar (miyokard enfarktüsü, pulmoner emboli ve stroke), akut böbrek yetmezliği ve anafaksi görülür. Akut böbrek yetmezliği daha çok sakkaroz oranı yüksek preparatlar kullanıldığında görülmektedir. Anafaksi ise IgA yetmezliğinde görülür. Plazmaferez; respiratuar tutulumu olan daha akut hastaları stabilize etmek için kullanılır. Goti ve arkadaşları pridostigminin etkisi olmazken, plazmaferezin 1. dakika zorlu ekspirasyon volümünü (FEV₁) arttırdığını, fonksiyonel residüel kapasiteyi azalttığını (FRC) göstermişlerdir. ^[102] Plazmaferez (4-8 değişim) MG'li olguların %45'inde remisyona sağlar ve etkisi 1-2 hafta devam eder. ^[103] Plazmaferez vital kapasitesi 2 litrenin altında olan myastenik olgulara önerilmiştir. Ayrıca plazmaferezin kullanımı postoperatif dönemde yoğun bakım ünitesinde mekanik ventilasyon süresini kısalttığı gösterilmiştir. ^[104,105,106,107]

2.8. Cerrahi Tedavi

2.8.1. Timektomi

MG'li olgularda timektomi yapılmasının başlıca nedenleri; timusun hastalığın patogenezinde rol alması ve anti-AchR antikör pozitif olguların 60-70'inde timus hiperplazisi, %10-15 in de ise timoma varlığıdır. Timektomi, randomize çalışmalar olmaması nedeni ile halen tartışma konusu olmakla birlikte timektomi yapılan olgularda hastalığın remisyona girdiği veya myastenik semptomların gerilediğini gösteren pek çok çalışma vardır. Mantegazza R, ve ark. 756 MG'li olgudan oluşan çalışmalarında timektomi yapılan ve timüs dokusunun histolojik olarak timik hiperplazi olarak değerlendirildiği hastaların tam remisyona girdiğini bildirilmişlerdir. ^[108] Ayrıca Riggs KR ve ark. MG olarak tanısı alan ikizlerden birine timektomi yaparak ek tedavi vermemiş, diğerine ise timektomi yapmayarak immunsupresif sağaltım uygulamışlardır. Onbir yıllık takip periyodunda timektomi uygulanan olgunun klinik olarak remisyonda

olduğu diğerrinin ise immunsupresif tedaviye rağmen bulber bulgular yanı sıra ekstremite kaslarında güçsüzlük olduğunu rapor etmişlerdir. ^[109]

2.9. Myastenia Gravis'de Acil Durumlar

MG'de acil durumlardan biri myastenik/kolinerjik krizlerdir. Bu olgularda solunumsal yönetim önemlidir. Her ne kadar myastenik/kolinerjik kriz ayırımı Tablo-6'de özetlenmiş ise de solunum güçlüğü içinde olan bir hastada hasta miyastenik mi yoksa kolinerjik krizde mi ayırt etmek yine de zor olabilir. Miyastenik krizin, kolinerjik krizden daha sık olduğunu bilmek önemlidir. Diğer bir önemli nokta krizde bir kasın myastenik, diğerrinin kolinerjik krizde olabileceğini göz önünde tutmaktır. Karar verirken solunum kaslarının hangi tip krizde olduğuna dikkat edilmeli ve tedavi buna göre yönlendirilmelidir. Bu iki tablonun birbirinden ayırt edilmesi çok önemlidir (Tablo 6).

Miyastenik kriz acil tedavi gerektiren ciddi bir durum olup MG'li olguların yaklaşık %5-25'inde görülür. Hastalığın ilk yıllarında daha fazla ortaya çıkar ve solunum desteği gerektiren bir tablodur. Miyastenik krizdeki bir hastada çok ani apne (solunum arresti) gelişebilir. Bu hastalar çok yakından takip edilmelidir. Solunum yetmezliğine ait bulgular ortaya çıktığında solunum fonksiyon testleri, pulse oksimetri ve kan gazları değerleri saptanmalıdır. Hastanın solunum fonksiyonları mekanik ventilatöre ihtiyaç duyup duymadığı hızlı bir şekilde gözden geçirilmelidir. Olguların %30-40'ında ise myastenik krizin nedeni tespit edilememektedir. Miyastenik krizde; antikolinesteraz ilaçlar (Neostigmin, pridostigmine (Mestinon 60 mg/drj) klinik tabloya göre, 60 mg her 4 saatte bir verilir. Her 2 saatte 120 mg'dan daha fazla verilmez. kolinerjik krize yol açabilir. Günaşırı aferez ve 0.4mg/kg/gün pazolojide intravenöz immunglobulin verilebilir.

Myastenik kriz sırasında ortaya çıkan akut solunum yetmezliği, solunum kas gücü azalmasına bağlı olarak akciğer ekspansiyonunun dolayısıyla alveolar ventilasyonun bozulması ve orofarengeal kasların tutulumuna bağlı öksürük refleksinin kaybolması, havayolunun temizlenememesi ve aspirasyon pnömonileridir. Myastenik kriz sırasında önce tidal volüm ve vital kapasitede düşme geç dönemde hipoksemi ve hiperkapni ortaya çıkar. Bu nedenle mekanik ventilasyon kararı için arter kan gazlarının bozulmasını beklememek ve arter kan gazı normal olsa bile, spirometrik ölçümde vital

kapasite 15 mL/kg veya tidal volüm 5 mL/kg'ın altında ise mekanik ventilasyon uygulanmalıdır. Acil servise başvuran miyastenik bir hasta stabil gibi görünse de bir süre yakın gözlem altında tutulmalıdır.

Kolinerjik kriz, nikotinik ve muskarinik reseptörlerde asetilkolinin artışına bağlı olarak ortaya çıkar. Genellikle antikolinesteraz ilaçların fazla kullanımı ile ilişkilidir. Kolinesteraz inhibitörü ve immunsupresif tedavinin birlikte görüldüğü durumlarda daha sık görülür. Kolinerjik krizde, nikotinik aşırı stimülasyon, istemsiz hareketler, fasikülasyon ve güçsüzlüğe (bazen solunum arrestine neden olur) yol açar. Güçsüzlük, kas kontraksiyonu ve relaksasyonunu koordine edememekten kaynaklanır. Muskarinik etkiler belirgin olduğunda tanı kolaylaşır. Antimuskarinikler ve solunum desteği gereklidir. Rezidüel nöromusküler blokajı geri döndürmek için antimuskariniklerle asetilkolinesteraz inhibisyonu da uygulanmışsa muskarinik semptomlar olmadan güçsüzlük ve fasikülasyon başlıca bulgu olabilir. ^[110]

Kolinerjik krizi miyastenik krizden ayırt etmek için edrofonyum (Tensilon) testi yapılabilir. 1 cc'lik 10 mg'lık ampulleri olan edrofonyum intravenöz olarak yavaş bir şekilde (30 sn) verilir. Etkisi 30-60 sn'de başlar ve 4-5 dakika devam eder. Edrofonyum bulunamadığı durumlarda Neostigmin intramusküler olarak yapılır. Neostigmin bromid'in etkisi ise 20 dakika sonra başlar ve 2 saat sürer. Ayrıca miyastenik krizde pupillalar dilate olacaktır. Muskarinik semptomların yokluğunda mekanik solunum desteği yaparak hastanın klinik olarak düzelmesine izin vermek güvenilir ve pratik bir yaklaşımdır. Bu nedenle birçok klinisyen kas gevşeticilerini kullanmaktan kaçınır ya da kullanmışlarsa nöromusküler bloğun spontan düzelmesine izin vermek için hemen postoperatif dönemde antikolinesteraz kullanmaz.

Hasta ister miyastenik kriz isterse kolinerjik kriz tablosunda olsun solunum ve yutma güçlüğü için ortak uygulamalar yapmak gerekmektedir.

MG'li bir hastada istirahatte nefes darlığı, hava açlığı, düz yatamama, anksiyete, husursuzluk (hareketsiz duramama), yorgunluk gibi semptomlar bize hastanın ciddi solunum güçlüğü içinde olduğunu gösteren bulgulardır. Solunum güçlüğüne değerlendirirken;

- Hava yolunun açık olup olmadığı
- Öksürüğün gücü
- Solunum sayısı ve eforu

- Kardiak (deri ve tırnakların rengi ve ısısı) ve
- Bilinç muayenesi yapılmalıdır. Fizik muayenede deri ve tırnaklardaki renk değişimi (solukluk – siyanoz gibi), soğuk ve nemli cilt, öksürememe, kalp atışında ve kan basıncında artış, hızlı veya yüzeysel solunum, bilinç bulanıklığı, uykuya meyil görülebilir.

Böyle bir hastada;

- Hava yolu açık tutulmalı,
- Sekresyonlar aspire edilmeli,
- Baş ve omuzlar yükseltilmeli,
- Hasta rahat ve sakin bir ortamda tutulmalı,
- Gerekğinde solunum desteklenmeli,
- Oksijen desteği yapılmalı ve pulse oksimetri ile değerler takip edilmeli,
- Gerekğinde endotrakeal entübasyon tüpü ile solunum desteklenmelidir.

Hastalarda ciddi yutma güçlüğü görülebilir. Ciddi yutma güçlüğü telkin eden subjektif bulgular ilaç ve gıdaları yutmakta güçlük, anksiyete ve husursuzluktur. Hastalar solunum güçlüğü yakınması ile gelen hastalara benzer şekilde değerlendirilmeli ve

- Hava yolu açık tutulmalı,
- Hasta şoktaysa ağız açılmalı, herhangi bir gıda artığı var mı bakılmalı,
- Hava yolunun herhangi bir yabancı madde ile tıkanıp düşünülüyorsa (yiyecek veya diğer maddeler) Heimlich Manevrası yapılmalı,
- Gerekğinde oral sekresyonlar aspire edilmeli,
- Hasta sessiz-sakin bir ortamda tutulmalıdır.

MG’li hastalarda araya giren enfeksiyonlar, ateş, menstruasyon, cerrahi girişimler, tiroid bezine ait hastalıklar, emosyonel stres, gebelik ve nöromusküler kavşağı etkileyen ilaç kullanımı, düzensiz veya yetersiz ilaç kullanımı hastalığın alevlenmesine ve hastanın klinik tablosunun bozulmasına neden olabilir. Bunun en sık nedeni akciğer enfeksiyonlarıdır. MG’li hastada enfeksiyon varsa kan, idrar, boğaz kültürleri alınmalı, antibiyograma göre kas sinir kavşağındaki nörotransmisyonu bozmayan antibiyotikler tercih edilmelidir. Antipiretik (ateş düşürücü) ajanlarla ateş düşürülmelidir. Miyastenik hastaya acilde herhangi bir nedenle girişim yapılırken MG’de kullanılması sakıncalı ilaçlar akılda bulundurulmalıdır (Tablo 8).

Tablo 8. Myastenia Gravisli Hastalarda Kullanılmaması Gereken İlaçlar ^[112]

I. Antibiyotikler Aminoglikozid antibiyotikler; özellikle gentamisin, kanamisin, neomisin ve streptomisin Makrolidler Fluroquinolonlar Tetrasiklinler Sülfonamidler Penisilin (yüksek doz) II. Antiaritmik Ajanlar Beta-blokörler (pindolol, propranolol, timolol) Kalsiyum kanal blokörleri (verapamil, diltiazem, nifedipin) Kinidin Lidokain Prokainamid Trimetafan	III. Diğerleri Bazı antiepileptikler (Difenilhidantoin) Lityum Morfin ve diğer narkotik analjezikler Trankilazanlar ve barbitüratlar Bazı antidepresanlar (trisiklikler) Kas gevşeticileri Levotiroksin Adrenokortikotropik hormon (ACTH) Magnezyum tuzları İyotlu kontrast maddeler Süksinilkolin, D-tuboküarin veya diğer nöromusküler bloke edici ajanlar D-Penisilamin (asla kullanılmamalıdır) Östrojen içeren preparatlar Kalsiyum kanal blokörleri
---	--

İlaç ilişkili MG'de klinik bulgular hızlı başlar, ilaç kesilmesi ile hızla düzelir. Muhtemelen altta yatan subklinik nöromusküler patolojiye bağlı gelişir. Bu hastaların serumlarında Ach reseptör antikoru yoktur.

3. MATERİYAL ve METOD

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD'ya başvuran ve klinik, elektrofizyolojik ve laboratuvar verileri ışığında kesin MG olarak tanınan 25 olgu çalışmaya alınmıştır. Olguların ayrıntılı nörolojik muayeneleri yapılmış, MG ilişkili otoantikor düzeyleri, mediasten BT/MRG, elektrofizyolojik olarak motor son plak işlevleri, almakta oldukları medikal tedavi, timektomi mevcudiyeti eğer var ise timus spesmeninin histopatolojik değerlendirilme sonucu retrospektif ve prospektif olarak gözden geçirilmiştir. Detaylı nörolojik muayene yapıp Osserman kalsifikasyonuna göre klinik evreleme yapıldıktan sonra eş zamanlı olarak alınan periferik kan örneklerinde T hücre ilişkili TRAIL ligand ve reseptör profillerini belirleyebilmek için akış sitometrisi yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca kontrol grubu olarak da benzer yaş ve cinsiyet dağılımı gösteren 16 sağlıklı bireyin periferik kan örneklerinde T hücre ilişkili TRAIL ligand ve reseptör profilleri yine akış sitometrisi yöntemi ile belirlenmiştir.

3.1. Hastaların Seçimi

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran 25 hastadan oluşmaktadır. Tüm hastalar başlangıçta uzman bir doktor tarafından değerlendirilmiş, medikal öyküleri alınmış ve fizik muayeneleri yapılmıştır. Çalışmaya ilk tanılı ve/veya MG olarak tanınan ve hali hazırda Kas hastalıkları poliklinik takibinde olan 25 olgu dahil edilmiştir. Çalışma için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınmış (etik kurul onay no), çalışmaya dahil edilen tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verilmiş, onam alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır.

3.2. Kontrol Grubu Seçimi

Çalışmaya dahil edilen kontrol grubu olacak bireyler, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Polikliniği'ne müracaat eden, uzman doktor tarafından yapılan muayene ve incelemelerinde herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan, ciddi hayatı tehdit edici sağlık problemi (kronik kalp, akciğer ve karaciğer hastalığı tespit edilmeyen) saptanmayan ve aydınlatılmış onam formu alınan gönüllülerden oluşmuştur. Kontrol grubunun seçiminde ayrıca, çalışmaya alınan hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyet dağılımı göstermelerine dikkat edilmiştir.

3.3. Akış Sitometri Boyama Protokolü

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğine başvuran sağlıklı kontrol ve MG'li olgulardan alınan periferik kan örneklerinde akış sitometrisi yöntemiyle T hücre alt grupları saptanarak, bunlardaki TRAIL ligand ve reseptör ekspresyon profilleri belirlendi.

Akış sitometrisi ile yapılacak analizler için tam kan yöntemi kullanılmıştır. Çalışmalar 1 lazerli 4 renkli Beckton Dickonson Facs Calibur akım sitometri cihazı, Beckton Dickonson ticari solusyonları ve eBioscience markırları kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada, kullanılan akım sitometri cihazının okuyabildiği dalga boylarına göre FITC, PE, PerCP ve APC florokromları kullanılmıştır.

Akım sitometri çalışmasında tam kan lizis ve yıkama prosedürü kullanılmıştır. Kullanılmış olan markırlar oda sıcaklığına getirilerek ve temin edilen firmanın belirttiği miktarlarda çalışma tüpüne yarı karanlık ortamda aktarılmıştır.

3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar

İsoton II azide-free balanced electrolyte solution (Beckman Coulter, 8448022) PBS (1000 ml'sinde 8 g. NaCl, 1,15 g. Na₂HPO₄, 0,2 g. KCl ve 0,2 g. KH₂PO₄ içerecek şekilde hazırlandı.)

Reagent I (Fixation, IntraPrep, Beckman Coulter, A07803)

Reagent II (Permeabilization, IntraPrep, Beckman Coulter, A07803)

3.3.2. İşlemler

1. Her hastadan ve kontrol bireyden K3EDT'li tüplere 8-10 cc periferik kan örnekleri alındı.

2. Kan örnekleri, vericilerden alınmalarını takiben en geç 30 dakikalık süre içerisinde laboratuvara ulaştırıldı.

3. 2'er µl kan örneği, 25'er µl PBS ile test tüpünde sulandırıldı.

4. Üzerine 3'er µl monoklonal yüzeyel antikorlar eklendi. Çalışmada CD3 FITC (eBioscience), CD8 PerCP (eBioscience), CD4 APC (eBioscience), CD253 PE (eBioscience) (TRAIL), CD261 PE (eBioscience) (DR4), CD263 PE (eBioscience) (TRAIL R3), CD262 PE (eBioscience) (DR5), CD264 PE (eBioscience) (TRAIL R4) markırları kullanılmıştır. Her bir hasta için 5 tüp hazırlanmıştır.

1. Tüpte CD3 FITC, CD8 PerCP, CD4 APC, CD253 PE (TRAIL);
2. Tüpte CD3 FITC, CD8 PerCP, CD4 APC, CD261 PE (DR4);
3. Tüpte CD3 FITC, CD8 PerCP, CD4 APC, CD263 PE (TRAIL R3);
4. Tüpte CD3 FITC, CD8 PerCP, CD4 APC, CD262 PE (DR5);
5. tüpte CD3 FITC, CD8 PerCP, CD4 APC, CD264 PE (TRAIL R4)

markırları bulunmaktadır.

5. Her bir tüp vorteksle karıştırıldı.
6. 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi.
7. Üstte kalan süpernatant dökülerek atıldı.
8. Çalışma tüpündeki pellet halindeki hücreler oda sıcaklığındaki izotonik solüsyondan 0,5 – 1 mL eklenerek resüspanse edildi
9. Resüspanse edilmiş örnekler akım sitometri cihazında orta hızda okutuldu. Hedeflenen hücre sayısı en az 15.000 lenfosit olarak belirlenmiştir.

3.4. Akış Sitometri Analiz Protokolü

Yapılan akış sitometri çalışmalarında Beckman Coulter Kaluza analiz programı kullanılmıştır. Yapılan analizlerde FSC/SSC grafiğinde tüm lökositler üzerinden lenfositler kaplanarak lenfosit yüzdesi ve sayısı; T lenfosit hücreleri için lenfositler üzerinden CD3/SSC grafiğinden CD3+ hücreler seçilerek T lenfosit yüzde ve sayısı belirlenmiştir. T lenfositlere ait alt gruplar bu hücreler üzerinden seçilmiştir. T yardımcı lenfositler için (CD3+, CD4+) ve T sitotoksik lenfositler için (CD3+, CD8+) hücreler seçilip; bu hücre gruplarında CD253 (TRAIL), CD261 (DR4), CD263 (TRAIL R3), CD262 (DR5), CD264 (TRAIL R4) markırlarının her biri için analiz yapılmıştır.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların istatistiksel testleri Windows SPSS (The statistical package for social sciences) 13.0 versiyonu (SPSS Inc., Chicago, Ill) ve GraphPad Prism 5. Versiyonu (La Jolla, CA, USA) kullanılarak yapıldı. Ortalama değerlendirmeler için tanımlayıcı testler, normalite testleri için Shapiro-Wilk metodu, non-parametrik karşılaştırmalar için Mann Whitney-U testi ve korelasyonlar için Spearman's Rho korelasyon testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık derecesi $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Bazı grafiklerin

oluşturulması sırasında da SmartDraw Health Science Edition (San Diego, CA, USA) kullanıldı.



4. BULGULAR

Bu çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Kas Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran ve MG olarak tanınan 13 kadın, 12 erkek, toplam 25 olgu ve yaş-cinsiyet dağılımı yönünden benzerlik gösteren sağlıklı 8'i erkek, 8' kadın olmak üzere 16 birey dahil edilmiştir.

4.1. MG'li Hastaların Klinik Değerlendirmesi

Hasta grubunda yer alan olguların yaş ortalaması 48.9 ± 17 (20-74) yaş olup erkeklerin yaş ortalaması 50.08 ± 19.1 , kadınların yaş ortalaması 47.75 ± 15.4 ' idi. Sağlıklı gönüllü grupta kadınların yaş ortalaması 46.4 ± 12.8 , erkeklerin yaş ortalaması 49.8 ± 17.6 olup her iki grup arasında yaş açısından istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

Hastaların ilk yakınmaları sıklık sırasına göre göz kapağında düşme, çift görme, güçsüzlük ve solunumsal yakınmalar olarak belirlendi. (Tablo 9)

Tablo 9. Sıklık Sırasına Göre Hastaların İlk Yakınmaları

Yakınma	Hasta sayısı	%
Pitoz	10	40
Çift görme +pitoz	5	20
Güçsüzlük	4	16
Çift görme	3	12
Güçsüzlük+nefes darlığı	2	8
Ses kısıklığı + kollarda güçsüzlük	1	4

Osserman sınıflaması göz önüne alındığında olguların ağırlıklı olarak IIB grubunda yer aldığı dikkati çekmiştir (Tablo 10)

Tablo 10. Osserman Sınıflamasına Göre Hastaların Dağılımı

Osserman Sınıflaması	Hasta Sayısı	%
0 (Aseptomatik)	-	-
I. Oküler Myasteni	1	4
II. Jeneralize miyasteni		
IIA	7	28
IIB	13	52
III. Akut fulminan myasteni	4	16
IV. Geç ve ciddi myasteni	-	-

Hastalarda sıklık sırasına göre anti-ACh reseptör antikoru, anti-MUSK ve anti Titin antikorumları mevcut olup 2 olguda antikor saptanmamıştır (Tablo 11).

Tablo 11. Antikorların Tiplerine Göre Dağılımı

Antikor Tipi	Hasta Sayısı	%
Anti-Ach reseptör antikoru	18	72
Anti-MUSK	3	12
Anti-Titin	2	8
Antikor saptanamayan	2	8

Hastaların tümüne mediasten MRG veya Mediastinal BT incelemesi yapılmış olup görüntülemeye 6 olguda timoma saptanmıştır. Oküler MG olarak tanınan 1, anti-Musk antikoru pozitif olan 1, anti-titin antikoru pozitif olan 1, antikor saptanamayan 2 olgu yanı sıra 65 yaş üzeri 2 olguya timektomi yapılmamıştır. Timektomi yapılan hastaların spesmenlerinin histopatolojik incelemesinde sıklık sırasına göre timik hiperplazi, timoma, timik karsinom, timolipoma saptanmış, 3 olguda ise timusun involüsyonel olduğu belirlenmiştir (Tablo 12).

Tablo 12. Hastalara Göre Timüs Patolojisi

Timüs Patolojisi	Hasta Sayısı	%
Timoma	8	33,2
Timik hiperplazi	6	24
Timolipoma	1	4
Timik karsinom	1	4
İnvolüsyonel timüs dokusu	2	8

Hastalardan akış sitometrisi yöntemiyle T hücre alt grupları saptanarak, bunlardaki TRAIL ligand ve reseptör ekspresyon profilleri için periferik kan örnekleri alındığı andaki kullanmakta olduğu medikal tedaviler Tablo 13'te özetlenmiştir. Bununla birlikte hastalığın takibinde 8 hastaya myastenik kriz nedeniyle plazmaferez, 5 hastaya ise IVIG sağaltımı uygulandığı belirlenmiştir.

Tablo 13. Hastaların Almakata Olduğu Tedavi Protokolleri

Tedavi protokolü	Hasta Sayısı	%
Pridostigmin	4	16
Kortikosteroid	-	-
Piridostigmin + Kortikosteroid	11	44
Azotiyoprin	-	-
Azotiyoprin + Kortikosteroid	1	4
Pridostigmin + Azotiyoprin	2	8
Pridostigmin + Azotiyoprin + Kortikosteroid	4	16
Siklosporin	3	12
Aylık IVıg profilaksisi	-	-

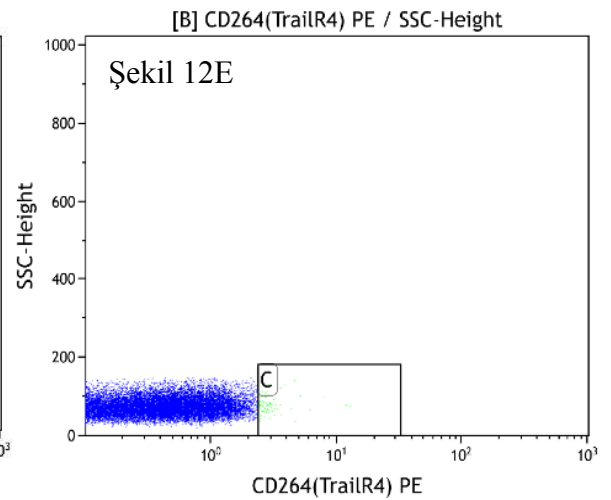
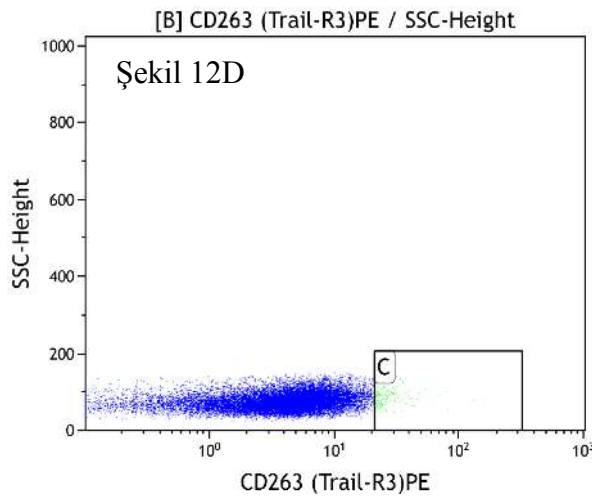
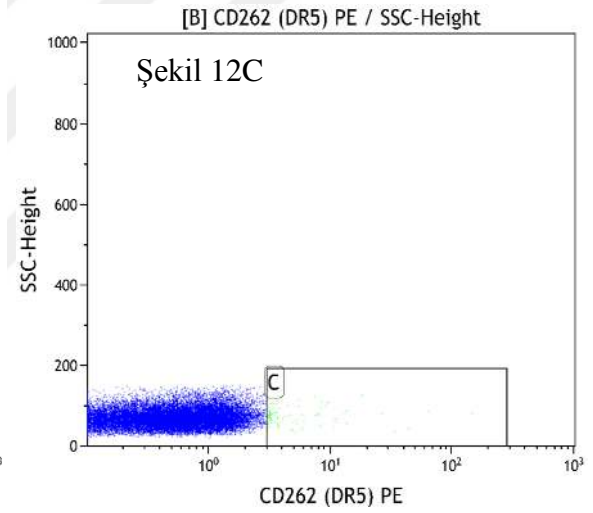
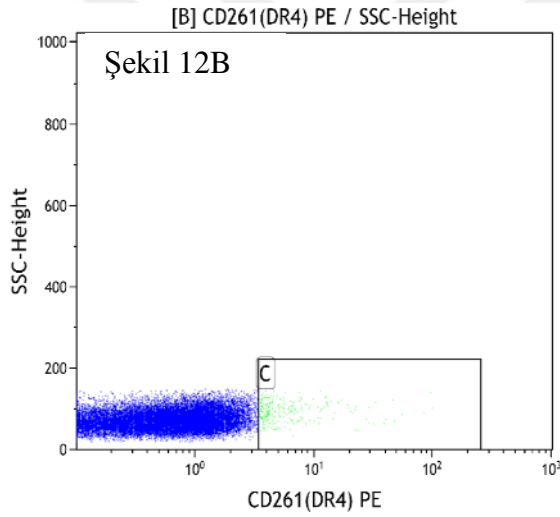
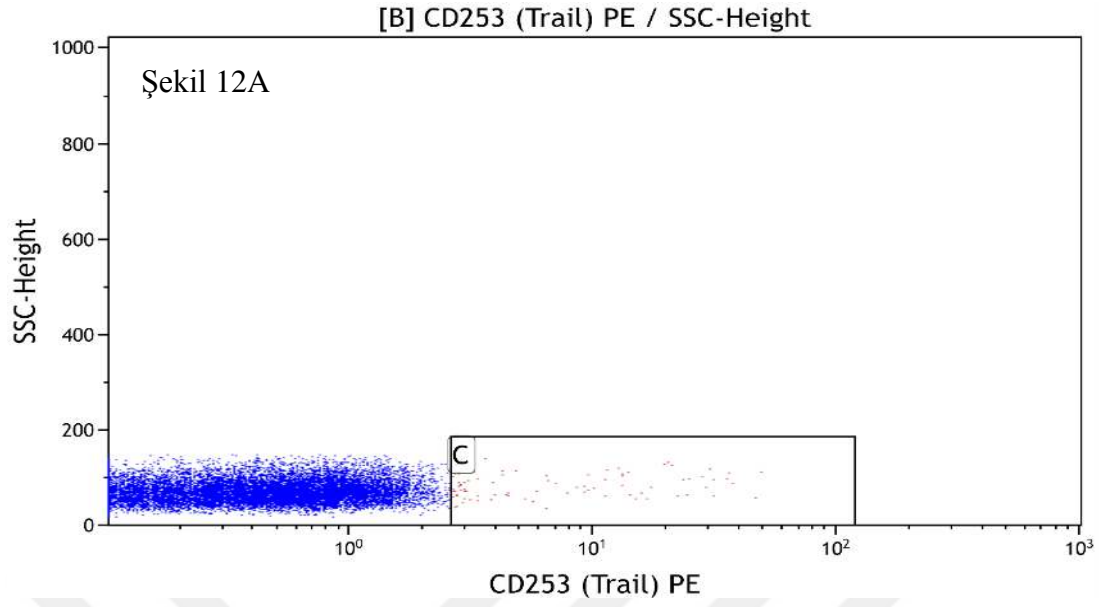
4.2. Periferik Kan Örneklerinin Akış Sitometrisi İle Değerlendirilmesi

MG tanılı olgularda periferik kan örneklerinde öncelikle T lenfosit alt tiplerinin oranları saptanmıştır. Burada yüzde olarak hücre oranlarının belirlenmesi ve sağlıklı bireylerle kıyaslanabilmesi için akış sitometrisi yöntemi kullanılmıştır. Çalışılan hasta örnekleri, sağlıklı kontrol bireylerden elde edilen sonuçlarla bağımsız gruplar için yapılan nonparametrik student t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Çalışılan 25 MG'li hasta ile kontrol grubu arasında ne CD4+ ($p=0,61$) ne de CD8+ T lenfositlerinin oranı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

• TRAIL ve reseptörlerinin lenfositler yüzeyindeki ekspresyonu akış sitometrisi ile gösterilebilmektedir.

MG hastaları ve sağlıklı bireylerin lenfosit popülasyonları arasında yüzey TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonları bakımından farklılık olabileceğine dair hipotezimizi akım sitometri yöntemi ile test ettik. Literatürde bulunan bilgiler, T lenfositlerinde TRAIL ekspresyonunun sitokin uyarımı sonrasında artış gösterdiği, fakat dinlenme konumundaki ekspresyonun akım sitometri yöntemi ile gösterilemeyecek kadar düşük olduğuna yöneliktir. ^[113,114]

Biz ise yaptığımız deneyler sonrasında sağlıklı bireylere ait lenfositlerin yüzeyinde TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonunun tam kan boyaması yapılması halinde akış sitometri ile gösterilebildiğini belirledik. TRAIL ve reseptörlerine ait antikörlerinden alınan sinyallerle, izotip kontroller kıyaslanarak verilerin kaydı yapıldı (Şekil 12).



Şekil 12. A, B, C, D, E: TRAIL ve reseptörlerinin yüzey ekspresyonları akış sitometri yöntemi ile gösterilebilmektedir.

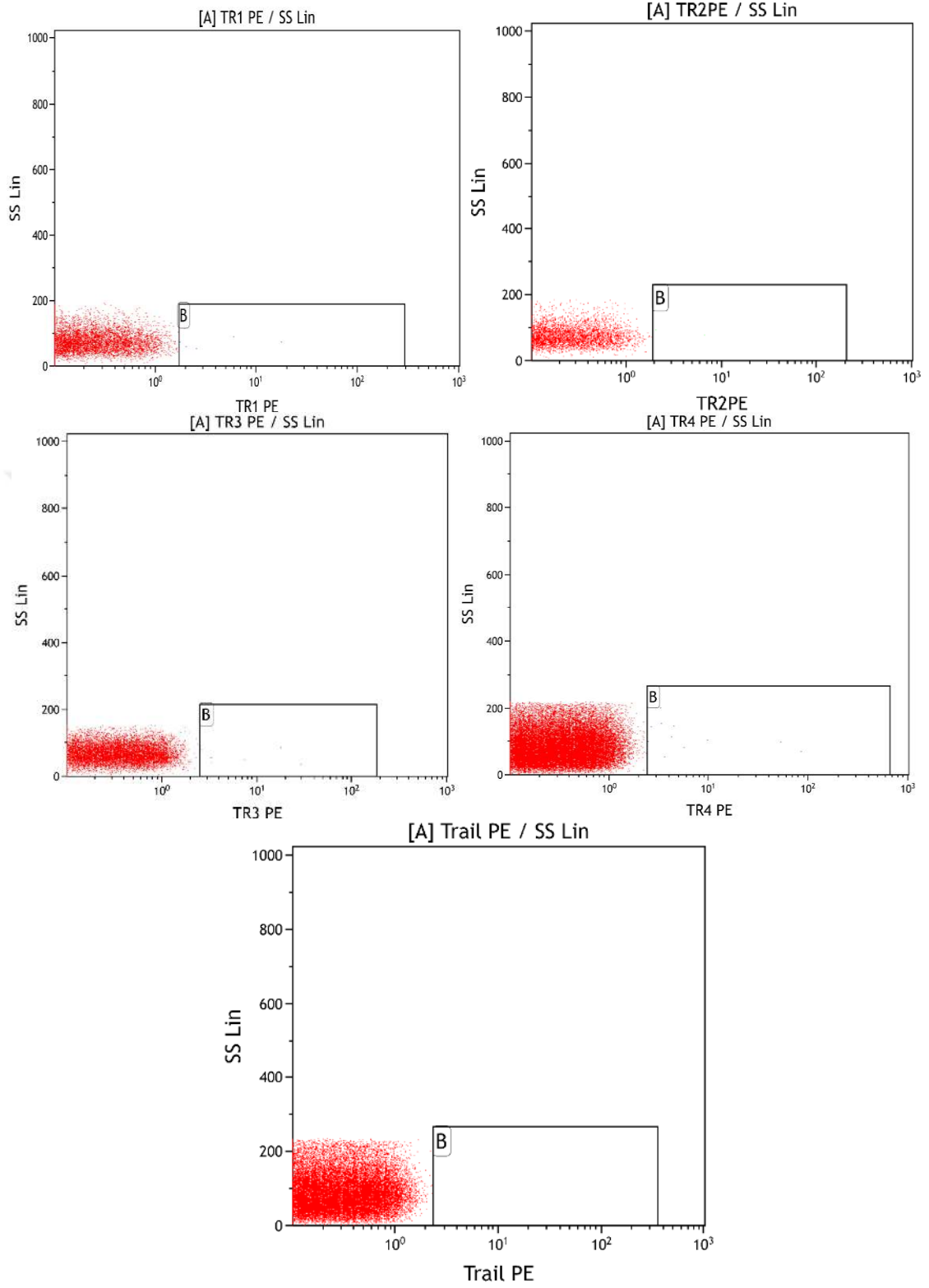
• **MG hastaları ve Sağlıklı Kontrollere Ait Lenfositlerdeki TRAIL Ekspresyon Profillerinin Değerlendirilmesi.**

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre hem MG hastalarına, hem de yaş/cinsiyet eşleştirmeli sağlıklı kontrollere ait lenfositlerinin yüzeyinde TRAIL proteini sentezlenmektedir. Öncelikli olarak akış sitometri analizi esnasında boyut/granülerite değerlerine bakılarak lenfosit kapısı açıldı. Bunun ardından CD3+ ve CD3- hücreler ayrı ayrı belirlendi. CD3+ hücre kapısından ise CD8+ ve CD4+ hücreler saptandı. Her bir hücre popülasyonunda TRAIL+ ve TRAIL- bütün hücrelerin verdiği ortalama floresan sinyal değerleri incelendi.

Bütün lenfositler, CD3+ T hücreleri, CD3+ CD8+ sitotoksik T hücreleri ve CD3+ CD4+ yardımcı T hücreleri ayrı ayrı gruplanarak değerlendirildi. Tüm hasta örneklerine ait okuma değerleri tablo halinde sunulmuştur. (Tablo 14)

Tablo 14.A- Hasta Grubunda CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ekspresyon Miktarları

Hasta No	Total T Hücrelerde TRAIL %	T Yardımcı Hücrelerde TRAIL %	T Sitotoksik Hücrelerde TRAIL %
1	0,73	0,17	0,56
2	0,74	0,17	0,57
3	0,90	0,46	0,44
4	0,53	0,22	0,31
5	1,13	0,71	0,42
6	0,59	0,35	0,24
7	0,60	0,26	0,34
8	1,12	0,52	0,60
9	1,20	0,41	0,79
10	0,88	0,19	0,69
11	1,64	0,72	0,92
12	0,70	0,28	0,42
13	1,07	0,41	0,66
14	0,22	0,18	0,04
15	0,57	0,24	0,33
16	0,63	0,32	0,31
17	0,70	0,37	0,33
18	1,77	0,95	0,82
19	2,18	1,06	1,12
20	2,10	1,19	0,91
21	0,51	0,29	0,22
22	0,92	0,37	0,55
23	2,44	1,40	1,04
24	1,91	0,92	0,99
25	1,06	0,55	0,51

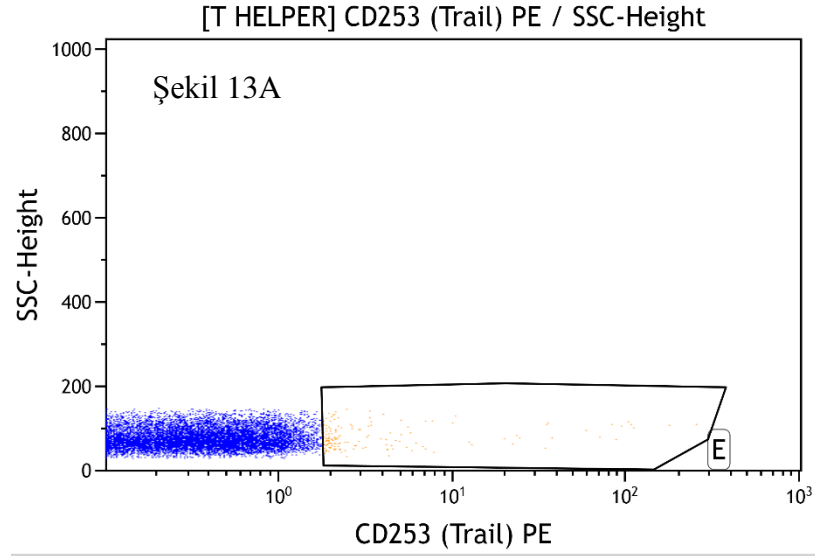


Şekil 13. Kontrol grubu lenfositlerinde TRAIL ve reseptörlerinin yüzey ekspresyonlarının akış sitometri yöntemi ile görünümü.

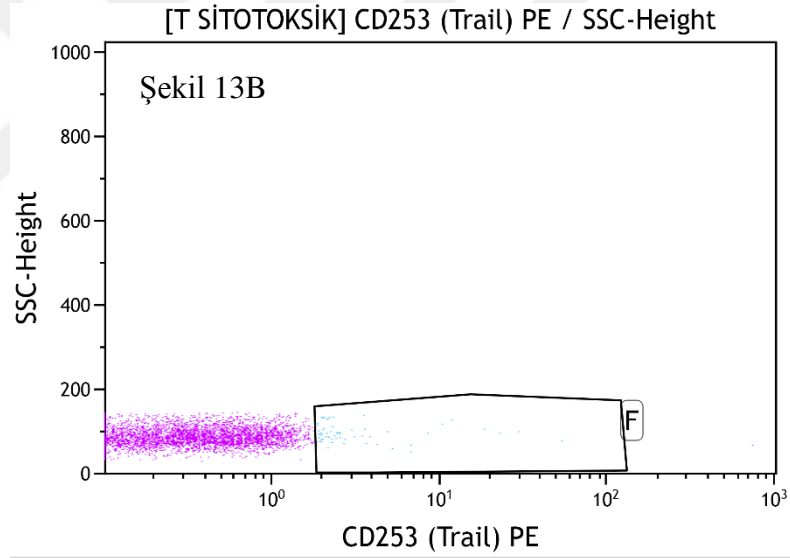
Şekil 13'te kontrol grubundan alınan periferik kan örneklemeğinde lenfositlerdeki TRAIL ekspresyonuna ait veriler gösterilmiştir. Tablo 14'te de kontrol grubunda T lenfositlerdeki TRAIL ekspresyon miktarları özetlenmiştir.

Tablo 14.B. Kontrol Grubunda CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ekspresyon Miktarları

Kontrol No	Total T Hücrelerde TRAIL %	T Yardımcı Hücrelerde TRAIL %	T Sitotoksik Hücrelerde TRAIL %
1	0,15	0,10	0,05
2	0,09	0,04	0,05
3	0,27	0,20	0,07
4	0,20	0,00	0,20
5	0,00	0,00	0,00
6	0,08	0,00	0,08
7	0,13	0,10	0,03
8	0,30	0,10	0,20
9	0,04	0,00	0,04
10	0,10	0,00	0,10
11	0,10	0,00	0,10
12	0,10	0,02	0,08
13	0,09	0,02	0,07
14	0,13	0,03	0,10
15	0,10	0,00	0,10
16	0,12	0,02	0,10



Gate Number	%Total	%Gated
All	14.474	7,73
E	154	0,08



Gate Number	%Total	%Gated
All	5.351	2,86
F	60	0,03

Şekil 14. A, B : CD3+ hücre popülasyonlarındaki TRAIL ekspresyonları.

CD3+ T hücre popülasyonları kendi içerisinde ayrılarak analizleri gerçekleştirilmiştir. Şekil. 13A T Helper hücrelerinde TRAIL ekspresyonunu, Şekil 13B T Sitotoksik hücrelerinde TRAIL ekspresyonunu göstermektedir.

- **MG Hastaları ve Sağlıklı Kontrollere Ait Lenfositlerdeki TRAIL Reseptörlerinin Ekspresyon Profillerinin Değerlendirilmesi**

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre hem MG hastalarına, hem de yaş/cinsiyet eşleştirmeli sağlıklı kontrollere ait lenfositlerinin yüzeyinde TRAIL reseptör proteinleri sentezlenmektedir. Hasta grubu ve kontrol grubu örneklerindeki TRAIL reseptörlerine ait sinyaller T hücre popülasyonları göz önüne alınarak analizleri gerçekleştirildi. Ölüm reseptörleri ve yalancı reseptörler ayrı gruplar olarak değerlendirildi. Tüm hasta örneklerine ait okuma değerleri ölüm ve yalancı reseptörler halinde gruplanarak tablo halinde sunulmuştur. (Tablo 15) Kontrol grubuna ait okuma değerleri ölüm ve yalancı reseptörler halind gruplanarak Tablo 16’da sunulmuştur.



Tablo 15. CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ölüm Reseptörleri Ekspresyon Miktarları. a) Ölüm Reseptörlerine Ait Okuma Değerleri b) Yalancı Reseptörlere Ait Okuma Değerleri

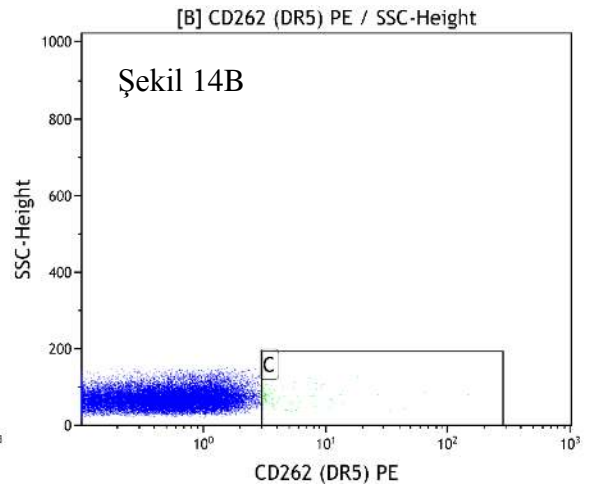
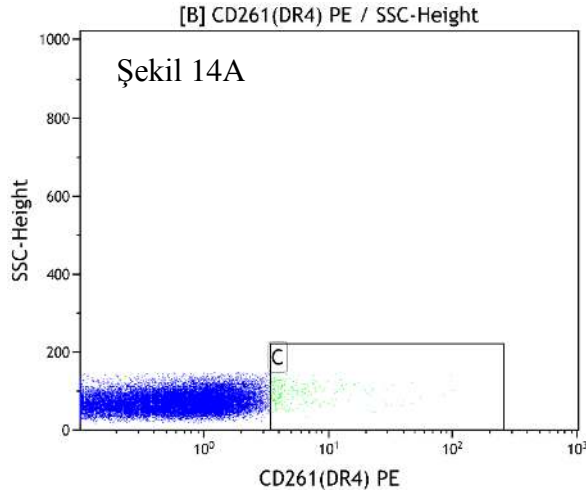
A						
Hasta No	Total T Hücrelerde DR4 %	T Yardımcı Hücrelerde DR4 %	T Sitotoksik Hücrelerde DR4 %	Total T Hücrelerde DR5 %	T Yardımcı Hücrelerde DR5 %	T Sitotoksik Hücrelerde DR5 %
1	1,06	0,19	0,87	1,22	0,22	1,00
2	1,04	0,44	0,60	0,80	0,28	0,52
3	0,58	0,38	0,20	0,36	0,18	0,18
4	0,49	0,18	0,31	0,38	0,20	0,18
5	0,94	0,50	0,44	1,38	0,52	0,86
6	0,88	0,67	0,21	0,48	0,30	0,18
7	1,37	0,82	0,55	0,83	0,48	0,35
8	2,78	1,29	1,49	1,01	0,44	0,57
9	0,71	0,33	0,38	0,52	0,23	0,29
10	1,21	0,47	0,74	0,59	0,27	0,32
11	1,70	0,88	0,82	0,20	0,10	0,10
12	1,39	0,61	0,78	0,48	0,15	0,33
13	0,47	0,19	0,28	0,40	0,19	0,21
14	0,44	0,26	0,18	0,48	0,18	0,30
15	0,64	0,33	0,31	0,17	0,08	0,09
16	0,39	0,20	0,19	1,02	0,76	0,26
17	1,52	0,63	0,89	0,98	0,55	0,43
18	2,34	1,20	1,14	0,34	0,20	0,14
19	0,77	0,34	0,43	1,27	0,39	0,88
20	1,15	0,39	0,76	1,10	0,74	0,36
21	1,19	0,50	0,69	0,49	0,21	0,28
22	0,75	0,29	0,46	0,91	0,39	0,52
23	3,39	1,53	1,86	5,59	1,82	3,77
24	0,33	0,20	0,13	0,43	0,16	0,27
25	1,32	0,73	0,59	0,76	0,34	0,42

B					
Total T Hücrelerde TRAIL R3 %	T Yardımcı Hücrelerde TRAIL R3 %	T Sitotoksik Hücrelerde TRAIL R3 %	Total T Hücrelerde TRAIL R4 %	T Yardımcı Hücrelerde TRAIL R4 %	T Sitotoksik Hücrelerde TRAIL R4 %
0,95	0,37	0,58	0,82	0,20	0,62
0,11	0,03	0,08	0,10	0,02	0,08
0,29	0,21	0,08	1,02	0,61	0,41
0,18	0,08	0,10	0,85	0,41	0,44
1,61	1,00	0,61	0,55	0,17	0,38
0,51	0,40	0,11	0,45	0,30	0,15
1,08	0,70	0,38	0,59	0,33	0,26
1,72	0,78	0,94	0,43	0,15	0,28
0,43	0,24	0,19	1,13	0,47	0,66
1,06	0,58	0,48	0,67	0,26	0,41
1,64	0,68	0,96	0,42	0,19	0,23
0,49	0,15	0,34	0,47	0,10	0,37
0,53	0,27	0,26	0,21	0,14	0,07
0,70	0,38	0,32	1,08	0,55	0,53
0,21	0,14	0,07	0,40	0,18	0,22
0,69	0,40	0,29	1,41	0,51	0,90
0,56	0,23	0,33	0,83	0,49	0,34
0,76	0,30	0,46	1,64	0,99	0,65
1,29	0,57	0,72	1,02	0,53	0,49
1,08	0,63	0,45	1,59	0,69	0,90
0,68	0,42	0,26	0,73	0,37	0,36
1,21	0,57	0,64	3,22	1,56	1,66
3,50	2,28	1,22	2,35	1,22	1,13
0,79	0,46	0,33	2,18	1,27	0,91
1,02	0,60	0,42	1,01	0,60	0,41

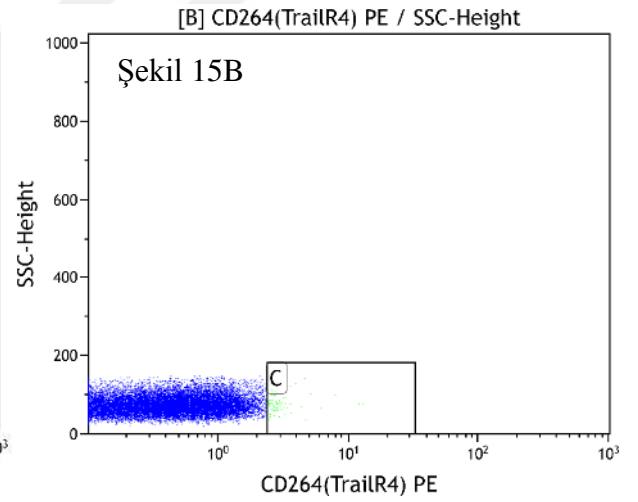
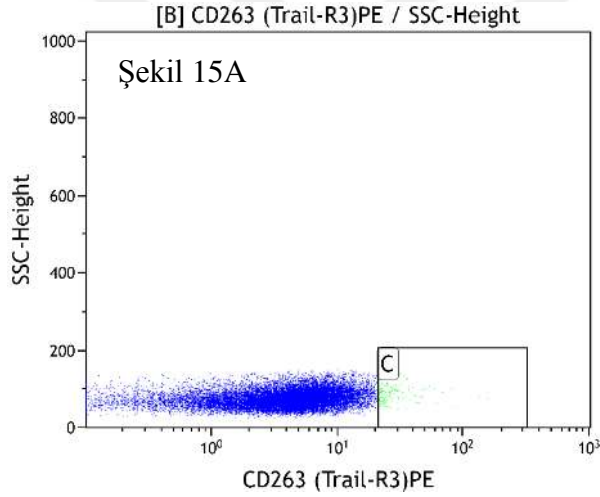
Tablo 16. Kontrol Grubuna Ait CD3+ Hücre Popülasyonlarındaki TRAIL Ölüm Reseptörleri Ekspresyon Miktarları. a) Ölüm Reseptörlerine Ait Okuma Değerleri b) Yalancı Reseptörlere Ait Okuma Değerleri

Kontrol No	A					
	Total T Hücrelerde DR4 %	T Yardımcı Hücrelerde DR4 %	T Sitotoksik Hücrelerde DR4 %	Total T Hücrelerde DR5 %	T Yardımcı Hücrelerde DR5 %	T Sitotoksik Hücrelerde DR5 %
1	0,25	0,20	0,05	0,13	0,10	0,03
2	0,20	0,10	0,10	0,16	0,10	0,06
3	0,00	0,00	0,00	0,19	0,10	0,09
4	0,08	0,00	0,08	0,20	0,00	0,20
5	0,40	0,10	0,30	0,00	0,00	0,00
6	0,15	0,10	0,05	0,10	0,00	0,10
7	0,30	0,10	0,20	0,14	0,10	0,04
8	0,10	0,00	0,10	0,30	0,10	0,20
9	0,03	0,00	0,03	0,02	0,00	0,02
10	0,03	0,00	0,03	0,20	0,10	0,10
11	0,10	0,10	0,00	0,06	0,00	0,06
12	0,25	0,20	0,05	0,10	0,10	0,00
13	0,14	0,10	0,04	0,04	0,00	0,04
14	0,10	0,00	0,10	0,15	0,05	0,10
15	0,20	0,20	0,00	0,15	0,05	0,10
16	0,11	0,10	0,01	0,06	0,00	0,06

Total T Hücrelerde TRAIL R3 %	B				
	T Yardımcı Hücrelerde TRAIL R3 %	T Sitotoksik Hücrelerde TRAIL R3 %	Total T Hücrelerde TRAIL R4 %	T Yardımcı Hücrelerde TRAIL R4 %	T Sitotoksik Hücrelerde TRAIL R4 %
0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,06
0,10	0,00	0,10	0,08	0,00	0,08
0,10	0,10	0,00	0,07	0,00	0,07
0,10	0,00	0,10	0,20	0,00	0,20
0,00	0,00	0,00	0,03	0,03	0,00
0,04	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
0,10	0,00	0,10	0,13	0,10	0,03
0,10	0,00	0,10	0,40	0,10	0,30
0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,05
0,00	0,00	0,00	0,14	0,10	0,04
0,10	0,10	0,00	0,02	0,02	0,00
0,10	0,00	0,10	0,07	0,00	0,07
0,10	0,00	0,10	0,05	0,02	0,03
0,01	0,00	0,01	0,20	0,10	0,10
0,10	0,00	0,10	0,10	0,00	0,10
0,10	0,00	0,10	0,02	0,02	0,00



Şekil 15.A, 14.B: CD3+ hücre popülasyonlarındaki DR4 ve DR5 ölüm reseptör ekspresyonları.



Şekil 16.C, 15D: CD3+ hücre popülasyonlarındaki TRAIL R3 ve TRAIL R4 yalancı reseptör ekspresyonları

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Ölümcul ligandların hücre apoptozuna yol açabilmesi için, hem ölüm reseptörlerinin eksprese olması hem de bu reseptörler tarafından tanınabilmesi, yani hücre yüzeyine çıkmış olması gereklidir. Bu nedenle, ligand ve bu liganda ait reseptörlerin profillenmesi, mRNA'ya da hücre içi protein ekspresyonuna göre değil, hücre yüzeyinde proteinlerin varlığına göre yapılmalıdır. Biz de çalışmamızda hem MG hastalarından hem de sağlıklı kontrollerden alınan periferel kan örneklerini herhangi bir uyarıya tabi tutmaksızın tamamen in vivo koşullara uygun biçimde akış sitometri yöntemiyle analiz ettik. Bugüne kadar genel kanı, periferel kandan alınan lenfositlerin yüzeyinde ölümcul ligand ekspresyonlarının akış sitometri ile belirlenmesi için öncelikle sitokin uyarımına maruz bırakılması gerektiği yönündeydi. ^[111,112] Bu nedenle literatürdeki mevcut yayınlarda hastaların bağışıklık sistemlerinin vücut içi aktivasyon oranından ziyade, aktive edilebilirlik kapasitesinin analiz edildiği söylenebilir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ise periferel kan alınır alınmaz akış sitometri boyaması yapıldığında hem ligand hemde reseptörlerinin sinyallerinin akış sitometri ile belirlenebildiğini göstermektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile çeşitli organ ve dokular ile ilişkili hastalıklarda TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyon profillerinin belirlenmesi hastalığın tanı, prognoz ve tedavisinin yönlendirilmesinde önem kazanmıştır. ^[113,114,115,116] Kansere karşı olan etkinliğine ilaveten TRAIL'in T hücreleri üzerinde de etkisinin olduğu gösterilmiştir. ^[113, 114]

TRAIL proteininin, otoreaktif T hücrelerinin timusta gerçekleşen negatif seleksiyonunda rol aldığı daha önceki çalışmalarda da gösterilmiş ^[117] ve diğer bazı immün sistem hastalıkları üzerine yapılan TRAIL'den yoksun fare modeli çalışmalarda da T hücrelerinin timik delesyonunun gerçekleşemediği bildirilmiştir. ^[67]

Periferel kan lenfositleri yüzeyindeki TRAIL ekspresyonunun lenfositler üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturması beklenebilir. ^[117] İmmün sistem hastalıklarının ötesinde, TRAIL/TRAIR reseptör etkileşimlerinin kanserde hastalık aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılabileceği daha önceki birçok çalışmada gösterilmişti. Örneğin prostat kanserli hastalarda DcR2 ekspresyonu kötü prognozu işaret ederken, invasiv duktal karsinomlu hastalarda ise yüksek DR4 ekspresyonu hastalığın evresi ve kötü

prognoz ile ilişkilendirilmiştir. ^[115, 118,119] Bunlara ek olarak, otoimmün bir hastalık olan tip 1 diyabet üzerine yapılan bazı çalışmalarda da yüksek miktardaki endojen TRAIL ekspresyonunun insan pankreas dokusunda oluşan hücre ölümü ile ilişkili olduğu ve otoimmün yanıtın başlamasında etkin bir role sahip olabileceği düşünülmüştü. ^[120,121] Romatoid artritte de otoreaktif T hücre klonlarının sağ kalımlarının TRAIL reseptör ekspresyon profilleri ile ilişkili olduğu ve bu durumunda hastalık aktivitesi ile direkt bağlantılı olduğu gösterilmiştir. ^[116] Hatta çalışmalar daha ileri düzeye götürülmüş ve gen tedavi alanında çalışmalar yapılmış, ölüm ligand ve reseptör profilleri ile ilişkili olarak bunların yeni tedavi protokollerinin oluşturulmasında etkili olabileceği gösterilmiştir. Bütün bu çalışmalara rağmen, bugüne kadar MG gelişimi ile TRAIL/TRAIL reseptör ilişkisini ortaya koyabilecek herhangi bir çalışma yapılmadığı dikkat çekmiştir. Çalışmamızda, toplam 25 MG'li hasta ve 16 sağlıklı bireydeki periferik T hücrelerinin yüzeyindeki TRAIL ve reseptör kompozisyonları akış sitometrisi ile belirlendi. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında RA'lı hastalarda, her iki T hücre alt tipinde de (CD4+ ve CD8+ lenfositler) TRAIL ve reseptörlerinin ekspresyonlarında artış olduğu gözlemlendi. Daha önceki çalışmalarda prostat kanserinde, prostat dokusundaki TRAIL ve reseptör ekspresyon düzeylerinin benign prostat hipertrofisi ile kanser ayırımında kullanılabileceği ve romatoid artritte de benzer artışın görüldüğü bildirilmişti. ^[113,116] Benzer bir durumu gözlemlediğimiz MG'de de hastalığın etyopatogenezinde periferik lenfositlerdeki TRAIL/TRAIL reseptörlerinin ekspresyonlarının önemli olabileceği düşünülmektedir. MG li hastalarda, kontrollere göre en belirgin farklılık, hem CD4+ hem de CD8+ T hücrelerinde artan yalancı reseptör ekspresyonudur. Daha önce buna benzer bir durum, başka gruplar tarafından Multiple skleroz (MS) hastalarında ve RA hastalarında da bildirilmişti. ^[116,122] MS hastalarında, DcR1 ekspresyon artışı gösteren antijen spesifik T hücre klonlarının, TRAIL aracılı apoptozise dirençli oldukları saptanmıştı. RA hastalarında da DcR2 ekspresyon artışının hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmişti. Bu bulgulardan yola çıkarak, T hücre klonlarının sağ kalımlarının yalancı reseptörlerin ekspresyonundaki artış ile gerçekleşiyor olabileceği sonucuna varılabilir. Sonuç olarak, MG'in patogenezinde en önemli rolü üstlenen hücre grubu olarak T hücrelerinin yüzeylerindeki TRAIL ligand ve reseptör kompozisyonunun hastalığın moleküler etyopatogenezinde önemli bir rol oynadığını düşünüyoruz. Dolayısıyla lenfositlerdeki

bu ligand ve reseptör ilişkisine dayanarak TRAIL aracılı gen tedavi metodlarına kadar gidebilecek yaklaşım ve araştırmaların, MG'e yönelik yapılacak çalışmalar için öncülük ededeğini düşünüyöruz.



KAYNAKÇA

1. Jayam Trouth A, Dabi A, Solieman N, Kurukumbi M, Kalyanam J. Myasthenia gravis: a review. *Autoimmune Dis.* 2012;2012:874680.
2. Wilks, Sir Samuel, Bart. In: Roll Munk's, editor. Reprinted by RCPs, 1955, 86.
3. Willis T. *Pathologiae Cerebri et Nervosi Generis Specimen*. Oxford, UK: Ja Allestry; 1667.
4. Jolly F. *Ueber Myasthenia Gravis Pseudoparalytica*. Vol. 32. Berlin, Germany: Klin Wochenschr; 1895.
5. Hughes T. The early history of myasthenia gravis. *Neuromuscul Disord.* 2005; 15:878-86.
6. Walker MB. Case showing the Effect of Prostigmin on Myasthenia Gravis. *Proc R Soc Med.* 1935; 28:759-61.
7. Pascuzzi RM. The history of myasthenia gravis. *Neurol Clin.* 1994; 12:231-42.
8. Nastuk WL, Strauss AJ, Osserman KE. Search for a neuromuscular blocking agent in the blood of patients with myasthenia gravis. *Am J Med.* 1959; 26:394-409.
9. Simpson JA. Myasthenia gravis, a new hypothesis. *Scott Medical.* 1960; 5:419-36.
10. Patrick J, Lindstrom J. Autoimmune response to acetylcholine receptor. *Science.* 1973; 180:871-2.
11. Sathasivam S. Steroids and immunosuppressant drugs in myasthenia gravis. *Nat Clin Pract Neurol.* 2008; 4:317-27.
12. Grob D, Brunner N, Namba T, Pagala M. Lifetime course of myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 2008; 37:141-9.
13. Zhang X, Yang M, Xu J, Zhang M, Lang B, Wang W, Vincent A. Clinical and serological study of myasthenia gravis in HuBei Province, China. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007; 78:386-90.
14. Gilhus NE, Owe JF, Hoff JM, Romi F, Skeie GO, Aarli JA. Myasthenia gravis: a review of available treatment approaches. *Autoimmune Dis.* 2011; 2011:847393.
15. Leite MI, Waters P, Vincent A. Diagnostic use of autoantibodies in myasthenia gravis. *A.Autoimmunity.* 2010; 43:371-9.
16. Meriggioli MN, Sanders DB. Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity. *Lancet Neurol.* 2009; 8:475-90.
17. Vernino S, Lennon VA. Autoantibody profiles and neurological correlations of thymoma. *Clin Cancer Res.* 2004; 10:7270-5.
18. Leite MI, Ströbel P, Jones M, Micklem K, Moritz R, Gold R, Niks EH, Berrih-Aknin S, Scaravilli F, Canelhas A, Marx A, Newsom-Davis J, Willcox N, Vincent A. Fewer thymic changes in MuSK antibody-positive than in MuSK antibody-negative MG. *Ann Neurol.* 2005; 57:444-8.
19. Vincent A, McConville J, Farrugia ME, Newsom-Davis J. Seronegative myasthenia gravis. *Semin Neurol.* 2004; 24:125-33.

20. **Morgenthaler TI, Brown LR, Colby TV, Harper CM Jr, Coles DT.** *Mayo Clin Proc.* **1993**; 68:1110-23.
21. **Romi F, Skeie GO, Gilhus NE, Aarli JA.** Striational antibodies in myasthenia gravis: reactivity and possible clinical significance. *Arch Neurol.* **2005**; 62:442-6.
22. **Romi F, Skeie GO, Aarli JA, Gilhus NE.** The severity of myasthenia gravis correlates with the serum concentration of titin and ryanodine receptor antibodies. *Arch Neurol.* **2000**; 57:1596-600.
23. Myasthenia gravis: recommendations for clinical research standards. Task Force of the Medical Scientific Advisory Board of the Myasthenia Gravis Foundation of America.
24. **Jaretzki A 3rd, Barohn RJ, Ernstoff RM, Kaminski HJ, Keesey JC, Penn AS, Sanders DB.** *Ann Thorac Surg.* **2000**; 70:327-34.
25. **Trouth AJ, Dabi A, Solieman N, Kurukumbi M, Kalyanam J.** *Myasthenia Gravis: A Review Autoimmune Dis.* **2012**; 2012: 874680.
26. **Hughes BW, Kusner LL, Kaminski HJ.** Molecular architecture of the neuromuscular junction. *Muscle and Nerve.* 2006;33:445–61.
27. **Conti-Fine BM, Milani M, Kaminski HJ.** Myasthenia gravis: past, present, and future. *Journal of Clinical Investigation.* **2006**;116:2843–54.
28. **Glass DJ, Bowen DC, Stitt TN, Radziejewski C, Bruno J, Ryan TE, Gies DR, Shah S, Mattsson K, Burden SJ, DiStefano PS, Valenzuela DM, DeChiara TM, Yancopoulos GD.** Agrin acts via a MuSK receptor complex. *Cell.* **1996**; 85:513–23.
29. **Christadoss P, Goluszko E.** Treatment of experimental autoimmune myasthenia gravis with recombinant human tumor necrosis factor receptor Fc protein. *Journal of Neuroimmunology.* **2002**;122:186–90.
30. **Miller JF.** Immunological function of the thymus. *Lancet*, **1961**; 2:748-9.
31. **Carding SR, Egan PJ.** Gammadelta T cells: functional plasticity and heterogeneity. *Nat Rev Immunol*, **2002**; 2:336-45.
32. **Godfrey DI, Berzins SP.** Control points in NKT-cell development. *Nat Rev Immunol*, **2007**; 7: 505-18.
33. **Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Donahue CJ, Moore A, Ashkenazi A.** Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem*, **1996**; 271: 12687-90.
34. **Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, Sutherland GR, Smith TD, Rauch C, Smith CA, et al.** Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*, **1995**; 3: 673-82.
35. **Jorgensen, C. and S. Gay,** Gene therapy in osteoarticular diseases: where are we? *Immunol Today*, **1998**;19:387-91.
36. **Chernajovsky Y, Gould D, Annenkov A, Dreja H, Daly G, Rabinovich GA, Croxford L, Baker D, Berenstein M, Podhajcer O.** Immunotherapy of auto-immune diseases by gene transfer. *Biochem Soc Trans*, **1999**; 27:869-73.

37. Mageed, R.A., Adams G, Woodrow D, Podhajcer OL, Chernajovsky Y. Prevention of collagen-induced arthritis by gene delivery of soluble p75 tumour necrosis factor receptor. *Gene Ther*, **1998**; 5:1584-92.
38. Yang, J., Marden JJ, Fan C, Sanlioglu S, Weiss RM, Ritchie TC, Davisson RL, Engelhardt JF., Genetic redox preconditioning differentially modulates AP-1 and NF kappa B responses following cardiac ischemia/reperfusion injury and protects against necrosis and apoptosis. *Mol Ther*, **2003**;7:341-53.
39. Pan, G., Ni J, Wei YF, Yu G, Gentz R, Dixit VM., An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science* **1997**; 277: 815-8.
40. Sheridan, J.P., Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, Ramakrishnan L, Gray CL, Baker K, Wood WI, Goddard AD, Godowski P, Ashkenazi A., Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science*, **1997**; 277: 818-21.
41. Bişgin A. TRAIL (TNF ile ilişkili apoptozisi aktive eden ligand) ligand ve reseptör profillerinin romatoid artrit ile ilişkisi. Doktora Tezi. Antalya. 2010.
42. Degli-Esposti, M.A., Dougall WC, Smolak PJ, Waugh JY, Smith CA, Goodwin RG., The novel receptor TRAIL-R4 induces NF-kappaB and protects against TRAIL-mediated apoptosis, yet retains an incomplete death domain. *Immunity*, **1997**; 7: 813-20.
43. Chaudhary, P.M., Eby M, Jasmin A, Bookwalter A, Murray J, Hood L., Death receptor 5, a new member of the TNFR family, and DR4 induce FADD-dependent apoptosis and activate the NF-kappaB pathway. *Immunity*, **1997**; 7: 821-30.
44. Bernard, D., Quatannens B, Vandenbunder B, Abbadie C., Rel/NF-kappaB transcription factors protect against tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by up-regulating the TRAIL decoy receptor DcR1. *J Biol Chem*, **2001**; 276:27322-8.
45. Ravi, R., Bedi GC, Engstrom LW, Zeng Q, Mookerjee B, Gélinas C, Fuchs EJ, Bedi A., Regulation of death receptor expression and TRAIL/Apo2L-induced apoptosis by NF-kappaB. *Nat Cell Biol*, **2001**; 3: 409-16.
46. Hatano, E. and D.A. Brenner, Akt protects mouse hepatocytes from TNF-alpha- and Fas-mediated apoptosis through NK-kappa B activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **2001**; 281: G1357-68.
47. Mitsiades, N., Mitsiades CS, Poulaki V, Chauhan D, Richardson PG, Hideshima T, Munshi NC, Treon SP, Anderson KC., Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood*, **2002**; 99: 4525-30.
48. Irmeler, M., Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schröter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J., Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature*, **1997**; 388:190-5.
49. Griffith, T.S., Chin WA, Jackson GC, Lynch DH, Kubin MZ., Intracellular regulation of TRAIL-induced apoptosis in human melanoma cells. *J Immunol*, **1998**;161: 2833-40.
50. Kreuz, S., Siegmund D, Scheurich P, Wajant H., NF-kappaB inducers upregulate cFLIP, a cycloheximide-sensitive inhibitor of death receptor signaling. *Mol Cell Biol*, **2001**; 21: 3964-73.
51. Perlman, H., Pagliari LJ, Liu H, Koch AE, Haines GK 3rd, Pope RM., Rheumatoid arthritis synovial macrophages express the Fas-associated death domain-like interleukin-1beta-converting enzyme-inhibitory protein and are refractory to Fas-mediated apoptosis. *Arthritis Rheum*, **2001**; 44: 21-30.

52. Perlman, H., Nguyen N, Liu H, Eslick J, Esser S, Walsh K, Moore TL, Pope RM., Rheumatoid arthritis synovial fluid macrophages express decreased tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand R2 and increased decoy receptor tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand R3. *Arthritis Rheum*, **2003**; 48: 3096-101.
53. Terzioglu, E., Bisgin A, Sanlioglu AD, Ulker M, Yazisiz V, Tuzuner S, Sanlioglu S., Concurrent gene therapy strategies effectively destroy synoviocytes of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **2007**; 46: p. 783-9.
54. Griffith, T.S., Wiley SR, Kubin MZ, Sedger LM, Maliszewski CR, Fanger NA., Monocyte-mediated tumoricidal activity via the tumor necrosis factor-related cytokine, TRAIL. *J Exp Med*, **1999**; 189:1343-54.
55. Renshaw SA, Parmar JS, Singleton V, Rowe SJ, Dockrell DH, Dower SK, Bingle CD, Chilvers ER, Whyte MK. Acceleration of human neutrophil apoptosis by TRAIL. *J Immunol*, **2003**; 170:1027-33.
56. Daigle, I. and H.U. Simon, Alternative functions for TRAIL receptors in eosinophils and neutrophils. *Swiss Med Wkly*, **2001**; 131: 231-7.
57. Chen, G.Y., He JQ, Lu GC, Li MW, Xu CH, Fan WW, Zhou C, Chen Z., Association between TRAIL expression on peripheral blood lymphocytes and liver damage in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*, **2005**; 11: 4090-3.
58. Oligino, T., Ghivizzani S, Wolfe D, Lechman E, Krisky D, Mi Z, Evans C, Robbins P, Glorioso J., Intra-articular delivery of a herpes simplex virus IL-1Ra gene vector reduces inflammation in a rabbit model of arthritis. *Gene Ther*, **1999**; 6:1713-20.
59. Nita, I., Ghivizzani SC, Galea-Lauri J, Bandara G, Georgescu HI, Robbins PD, Evans CH., Direct gene delivery to synovium. An evaluation of potential vectors in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum*, **1996**; 39:820-8.
60. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, Sutherland GR, Smith TD, Rauch C, Smith CA., Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*, **1995**; 3: 673-82.
61. Grell, M., Douni E, Wajant H, Löhden M, Clauss M, Maxeiner B, Georgopoulos S, Lesslauer W, Kollias G, Pfizenmaier K, Scheurich P. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell*, **1995**. 83: p. 793-802.
62. Wajant, H., Moosmayer D, Wüest T, Bartke T, Gerlach E, Schönherr U, Peters N, Scheurich P, Pfizenmaier K., Differential activation of TRAIL-R1 and -2 by soluble and membrane TRAIL allows selective surface antigen-directed activation of TRAIL-R2 by a soluble TRAIL derivative. *Oncogene*, **2001**; 20: p. 4101-6.
63. Abe K, Kurakin A, Mohseni-Maybodi M, Kay B, Khosravi-Far R., The complexity of TNF-related apoptosis-inducing ligand. *Ann N Y Acad Sci*, **2000**; 926:52-63.
64. Sheikh, M.S. and A.J. Fornace, Jr., Death and decoy receptors and p53-mediated apoptosis. *Leukemia*, **2000**; 14:1509-13.
65. Meng, R.D., McDonald ER 3rd, Sheikh MS, Fornace AJ Jr, El-Deiry WS., The TRAIL decoy receptor TRUND (DcR2, TRAIL-R4) is induced by adenovirus-p53 overexpression and can delay TRAIL-, p53-, and KILLER/DR5-dependent colon cancer apoptosis. *Mol Ther*, **2000**; 1:130-44.

66. Song, K., Chen Y, Göke R, Wilmen A, Seidel C, Göke A, Hilliard B, Chen Y., Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is an inhibitor of autoimmune inflammation and cell cycle progression. *J Exp Med*, **2000**; 191: 1095-104.
67. Lamhamedi-Cherradi, S.E., Zheng SJ, Maguschak KA, Peschon J, Chen YH., Defective thymocyte apoptosis and accelerated autoimmune diseases in TRAIL-/- mice. *Nat Immunol*, **2003**; 4: 255-60.
68. Kayagaki, N., Yamaguchi N, Nakayama M, Eto H, Okumura K, Yagita H., Type I interferons (IFNs) regulate tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) expression on human T cells: A novel mechanism for the antitumor effects of type I IFNs. *J Exp Med*, **1999**; 189: 1451-60.
69. Grob D, Brunner N, Namba T, Pagala M. Lifetime course of myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. **2008**; 37:141-9.
70. Grob D, Arsura EL, Brunner NG, Namba T. The course of myasthenia gravis and therapies affecting outcome. *Ann N Y Acad Sci*. **1987**; 505:472-99.
71. Pal S, Sanyal D. Jaw muscle weakness: a differential indicator of neuromuscular weakness--preliminary observations. *Muscle Nerve*. **2011**; 43:807-11.
72. Keeseey JC. Clinical evaluation and management of myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. **2004**; 29:484-505.
73. Werner P, Kiechl S, Löscher W, Poewe W, Willeit J. Distal myasthenia gravis frequency and clinical course in a large prospective series. *Acta Neurol Scand*. **2003**; 108:209-11.
74. Pascuzzi RM. The edrophonium test. *Semin Neurol*. **2003**; 23:83-8.
75. Meriggioli MN, Sanders DB. Advances in the diagnosis of neuromuscular junction disorders. *Am J Phys Med Rehabil*. **2005**; 84:627-38.
76. Sethi KD, Rivner MH, Swift TR. Ice pack test for myasthenia gravis. *Neurology* **1987**; 37:1383-5.
77. Sanders DB, Howard JF, Johns TR. Single-fiber electromyography in myasthenia gravis. *Neurology*. **1979**; 29:68-76.
78. Oh SJ, Kim DE, Kuruoglu R, Bradley RJ, Dwyer D. Diagnostic sensitivity of the laboratory tests in myasthenia gravis. *Muscle and Nerve*. **1992**; 15:720-724.
79. Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA. Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. *Neurology*. **1976**; 26:1054-1059.
80. Lennon VA. Serologic profile of myasthenia gravis and distinction from the Lambert- Eaton myasthenic syndrome. *Neurology*. **1997**; 48:S23-S27.
81. Vincent A, Newsom-Davis J. Acetylcholine receptor antibody as a diagnostic test for myasthenia gravis: results in 153 validated cases and 2967 diagnostic assays. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*. **1985**; 48:1246-52.
82. Mittag TW, Caroscio J. False-positive immunoassay for acetylcholine-receptor antibody in amyotrophic lateral sclerosis. *The New England Journal of Medicine*. **1980**; 302:p. 868.
83. Koon HC, Lachance DH, Harper CM, Lennon VA. Frequency of seronegativity in adult-acquired generalized myasthenia gravis. *Muscle and Nerve*. **2007**; 36:651-58.

84. Cikes N, Momoi MY, Williams CL, Howard FM Jr, Hoagland HC, Whittingham S, Lennon VA.. Striational autoantibodies: quantitative detection by enzyme immunoassay in myasthenia gravis, thymoma, and recipients of D-penicillamine or allogeneic bone marrow. *Mayo Clinic Proceedings*. 1988;63:474–81.
85. Suzuki S, Satoh T, Yasuoka H, Hamaguchi Y, Tanaka K, Kawakami Y, Suzuki N, Kuwana M.. Novel autoantibodies to a voltage-gated potassium channel KV1.4 in a severe form of myasthenia gravis. *Journal of Neuroimmunology*. 2005; 170:141–49
86. Leite MI, Jacob S, Viegas S, Cossins J, Clover L, Morgan BP, Beeson D, Willcox N, Vincent A. IgG1 antibodies to acetylcholine receptors in “seronegative” myasthenia gravis. *Brain*. 2008; 131:1940–52.
87. Jacobs MT, Frush DP, Donnelly LF. The right place at the wrong time: historical perspective of the relation of the thymus gland and pediatric radiology. *Radiology* 1999; 210:11-6.
88. Siegel MJ. *Great vessels*. In: Siegel MJ, ed. Pediatric body CT. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 121-44.
89. Tunacı A. Timusun radyolojisi. Erişim http://www.toraks.org.tr/_doi:10.5152/tcb.2012.07
90. Sarısoy T. Bilgisayarlı tomografi. Erişim: <http://www.toraks.org.tr/>
91. Chagnac Y, Hadani M, Goldhammer Y. Myasthenic crisis after intravenous administration of iodinated contrast agent. *Neurology*. 1985; 35:1219-20.
92. Eliashiv S, Wirguin I, Brenner T, Argov Z. Aggravation of human and experimental myasthenia gravis by contrast media. *Neurology*. 1990; 40:1623-5.
93. Gözü A, Akkalyoncu B, Önde Üçoluk G, Uğurman F, et al. *Timolipom (Olgu Sunumu) Solunum Hastalıkları* 2007; 18: 36-40.
94. Koç F, Bozdemir H, et al. Myasthenia gravis ve timolipoma. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002; 27:59-61.
95. Grob D, Brunner N, Namba T, Pagala M. Lifetime course of myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 2008; 37:141-9.
96. Wendell LC, Levine JM. Myasthenic crisis. *Neurohospitalist* 2011; 1(1):16-22.
97. Diaz-Manera J, Rojas Garcia R, Illa I. Treatment strategies for myasthenia gravis: an update. *Expert Opin Pharmacother*. 2012; 13:1873-83.
98. Baykan B, Gürses C, Gökyiğit A, Öge AE. *Nöroloji*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2004; 664-674.
99. Ropper AH, Brown RH, Phil D. *Principles of Neurology*, eight edition. McGraw-Hill, New York, 2005; 1250-63.
100. Doğusoy I. Timektomi ile tedavi edilen myasthenia gravis hastalarında prognostik faktörler. Erişim: http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/gogus_cerrahi/
101. Pascuzzi RM, Coslett HB, Johns TR. Long-term corticosteroid treatment of myasthenia gravis: Report of 116 cases. *Ann Neurol* 1984; 15:291.
102. Schneider-Gold C, Toyka KV. Myasthenia gravis: pathogenesis and immunotherapy (English). *Dtsch Arzteblatt* 2007; 104:A420–A426.

103. El-Salem K, Yassin A, Al-Hayk K, Yahya S, Al-Shorafat D, Dahbour SS. Treatment of MuSK-Associated Myasthenia. *Curr Treat Options Neurol*. **2014**;16:283.
104. Goti P, Spinelli A, Marconi G, Duranti R, Gigliotti F, Pizzi A, Scano G. Comparative effects of plasma exchange and pyridostigmine on respiratory muscle strength and breathing patterns in patients with myasthenia gravis. *Thorax* **1995**; 50:1080-86,.
105. Krucylak PE, Naunheim KS. Preoperative preparation and anesthetic management of patients with myasthenia gravis. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* **1999**; 11:47-53.
106. Drachman DB. Myasthenia gravis. *N Engl J Med* **1994**; 330:1791-810.
107. Mantegazza R, Baggi F, Antozzi C, Confalonieri P, Morandi L, Bernasconi P, Andreetta F, Simoncini O, Campanella A, Beghi E, Cornelio F. Myasthenia gravis: epidemiological data and prognostic factors. *Ann N Y Acad Sci*. **2003**; 998:413-23.
108. Riggs KR, Gutmann L, Riggs JE. Discordant thymectomy in identical twins concordant for myasthenia gravis. *Ann Intern Med*. **2011**; 155(7):478-9.
109. Koç F, Yerdelen D. Myasthenia gravis ve hasta yönetimi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* **2007**;15:257-70.
110. Berg, M., Lundqvist A, McCoy P Jr, Samsel L, Fan Y, Tawab A, Childs R., Clinical-grade ex vivo-expanded human natural killer cells up-regulate activating receptors and death receptor ligands and have enhanced cytolytic activity against tumor cells. *Cytotherapy*, **2009**; 11: 341-55.
111. Kayagaki, N., Yamaguchi N, Nakayama M, Takeda K, Akiba H, Tsutsui H, Okamura H, Nakanishi K, Okumura K, Yagita H. Expression and function of TNF-related apoptosis-inducing ligand on murine activated NK cells. *J Immunol*, **1999**; 163: p. 1906-13.
112. Terzioglu, E., Bisgin A, Sanlioglu AD, Ulker M, Yazisiz V, Tuzuner S, Sanlioglu S., Concurrent gene therapy strategies effectively destroy synoviocytes of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **2007**; 46: p. 783-9.
113. Sanlioglu, A.D., Koksai IT, Ciftcioglu A, Baykara M, Luleci G, Sanlioglu S., Differential expression of TRAIL and its receptors in benign and malignant prostate tissues. *J Urol*, **2007**. 177: 359-64.
114. Aydin, C., Sanlioglu AD, Karacay B, Ozbilim G, Dertsiz L, Ozbudak O, Akdis CA, Sanlioglu S., Decoy receptor-2 small interfering RNA (siRNA) strategy employing three different siRNA constructs in combination defeats adenovirus-transferred tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand resistance in lung cancer cells. *Hum Gene Ther*, **2007**. 18: p. 39-50.
115. Sanlioglu, A.D., Korcum AF, Pestereli E, Erdogan G, Karaveli S, Savas B, Griffith TS, Sanlioglu S., TRAIL death receptor-4 expression positively correlates with the tumor grade in breast cancer patients with invasive ductal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **2007**; 69: p. 716-23.
116. Bisgin A, Terzioglu E, Aydin C, Yoldas B, Yazisiz V, Balci N, Bagci H, Gorczynski RM, Akdis CA, Sanlioglu S. TRAIL death receptor-4, decoy receptor-1 and decoy receptor-2 expression on CD8+ T cells correlate with the disease severity in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord*. **2010**; 27;11:192.
117. Liu, Xu X, Hsu HC, Tousson A, Yang PA, Wu Q, Liu C, Yu S, Zhang HG, Mountz JD., CII-DC-AdTRAIL cell gene therapy inhibits infiltration of CII-reactive T cells and CII-induced arthritis. *J Clin Invest*. **2003**;112:1332-41.

118. Tsokos, G.C., Tsokos, M., The TRAIL to arthritis. *J Clin Invest.* **2003**;112:1315-7.
119. Koksak, I.T., Sanlioglu AD, Karacay B, Griffith TS, Sanlioglu S. Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand-R4 decoy receptor expression is correlated with high Gleason scores, prostate-specific antigen recurrence, and decreased survival in patients with prostate carcinoma. *Urol Oncol.* **2008**; 26:158-65.
120. Sanlioglu A.D., Dirice E, Elpek O, Korum AF, Balci MK, Omer A, Griffith TS, Sanlioglu S. High levels of endogenous tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand expression correlate with increased cell death in human pancreas. *Pancreas.* **2008**; 36:385-93.
121. Sanlioglu A.D., Dirice E, Elpek O, Korum AF, Ozdogan M, Suleymanlar I, Balci MK, Griffith TS, Sanlioglu S., High TRAIL Death Receptor 4 and Decoy Receptor 2 Expression Correlates With Significant Cell Death in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Patients. *Pancreas.* **2009**; 38:154-60.
122. Wendling U., Walczak H, Dörr J, Jaboci C, Weller M, Krammer PH, Zipp F. Expression of TRAIL receptors in human autoreactive and foreign antigen-specific T cells. *Cell Death Differ.* **2000**; 7:637-44.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ali DİNÇER
Doğum Tarihi ve Yeri : 1987 – ADANA/Kozan
Medeni Durumu : Bekar
Adres : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroloji ABD Sarıçam - Adana
Telefon : 0 (544) 665 92 55
E-posta : alidincer2016@gmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri : K.Maraş Pazarcık Büyüknacar Sağlık Ocağı
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroloji ABD Sarıçam - Adana
Yabancı Dil(ler) : İngilizce