T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK NÖROLOJİSİ BİLİM DALI

ÇOCUKLUK ÇAĞI MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA TNF-α, IL-2,-6,-10,-12,-17,-23, MMP-7, MMP-9, TIMP-1 BOS ve SERUM ile NEOPTERİN SERUM ve İDRAR DÜZEYLERİ ve İNTERFERON-β TEDAVİSİ SONUCU DEĞİŞİMLERİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Ünsal YILMAZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Kıvılcım GÜCÜYENER

ANKARA

MART 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK NÖROLOJİSİ BİLİM DALI

ÇOCUKLUK ÇAĞI MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA TNF-α, IL-2,-6,-10,-12,-17,-23, MMP-7, MMP-9, TIMP-1 BOS ve SERUM ile NEOPTERİN SERUM ve İDRAR DÜZEYLERİ ve İNTERFERON-β TEDAVİSİ SONUCU DEĞİŞİMLERİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Ünsal YILMAZ

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimi tarafından SBE-11/2010-119 proje numarası ile desteklenmistir.

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Kıvılcım GÜCÜYENER

ANKARA

MART 2011

KISALTMALAR DİZİNİ

ADEM : Akut dissemine ensefalomiyelit

ASH : Antijen sunan hücre

BOS : Beyin omurilik sıvısı

ÇÇMS : Çocukluk çağı multipl sklerozu

EAE : Deneysel alerjik ensefalit

ESM : Ekstrasellüler matriks

GA : Glatiremar asetat

IFN : İnterferon

IL : İnterlökin

KBB : Kan beyin bariyeri

KİS : Klinik izole sendrom

MBP : Miyelin bazik protein

MHC : Majör doku uyumluluğu kompleksi

MMP : Matriks metalloproteinazlar

MOG : Miyelin oligodentrosit protein

MRG : Manyetik rezonans görüntüleme

MS : Multipl skleroz

MSS : Merkezi sinir sistemi

NMO : Nöromiyelitis optika

ON : Optik nörit

PLP : Proteolipid protein

PPMS : Primer progresif multipl skleroz

RRMS : Relapsing remitting multipl skleroz

SPMS : Sekonder progresif multipl skleroz

TCR : T hücre reseptörleri

TGF : Değiştirici büyüme faktörü

Th : Yardımcı T hücre

TIMP : Doku matriks metalloproteinaz inhibitörü

TLR : Ayak-benzeri reseptörler

TM : Transvers miyelit

TNF : Tümör nekroz faktörü

Treg : Düzenleyici T hücre

VEP : Görsel uyarılmış potansiyel

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar ..... İ

İçindekiler .....İİİ

Tablolar ve şekiller dizini .....Vİ

Teşekkür .....Vİİİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Tarihçe 3

2.2. Tanımlar 3

2.3.Epidemiyoloji.....4

2.4. Etyoloji.....6

2.5. Tanı.....6

2.5.1. Çocukluk Çağı Multipl Sklerozu hastalarının MRG özellikleri ve erişkin hastalardan farklılıkları**.....9**

2.6. Klinik 11

2.7. Ayırıcı Tanı.....16

2.8. Patoloji ve Patogenez.....18

2.8.1. T hücre ve sitokinler **…….19**

2.8.2. Matriks metalloproteinazlar ve kan beyin bariyeri yıkımı…….27

2.8.3 Neopterin……32

2.9. Tedavi……..33

2.9.1. Akut atak tedavisi …….33

2.9.2. Hastalık modifiye edici tedavi…….34

3. GEREÇ VE YÖNTEM……36

3.1. Olgu ve kontrol grubunun seçilmesi……36

3.2. Uygulamalar……..36

3.3 İstatistiksel değerlendirme……38

4. BULGULAR……40

4.1 Olgular ……...40

4.2 Olgu ve kontrol grubunun sosyodemografik ve klinik özellikleri……40

4.3. Olgu ve kontrol grubunun TNF-α, IL-2,-6,-10,-12,-17 ve -23 düzeyleri .42

4.4. Olgu ve kontrol grubunun MMP-7, MMP-9, TIMP-1 düzeyleri……42

4.5. Olgu ve kontrol grubunun neopterin düzeyleri……48

5. TARTIŞMA……50

5.1.Th1 Sitokinler……52

5.1.Th2 Sitokinler……54

5.1.Th17 Sitokinler…….55

5.2.Matriks Metalloproteinazlar ……...57

5.3.Neopterin ……..62

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER……..64

7. KAYNAKLAR……66

8. ÖZET……89

9. SUMMARY……91

10. ÖZGEÇMİŞ……93

TABLOLAR VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Tablo 1: Pediatrik merkezi sinir sistemi demiyelinizan hastalıkları için konsensus tanımları ……..5

Tablo-2: 2005 MS Gözden geçirilmiş McDonald tanı kriterleri…….8

Tablo 3: Tablo 3: Multipl skleroz zamanda yayılım için 2005 Gözden geçirilmiş Mc Donald kriterleri ……..9

Tablo 4: Multipl skleroz alanda yayılım için 2005 Gözden geçirilmiş Mc Donald kriterleri……10

Tablo 5: ÇÇMS hastalarında görülen belirti ve bulgular……..14

Tablo 6: ÇÇMS tanısı için tipik olmayan bulgular ……...17

Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri……40

Tablo 8: Bir yıl süreyle takip edilen RRMS tanısı alan çocuk hastaların demografik özellikleri……41

Tablo 9: RRMS tanısı alan hastalar ve sağlıklı kontrollerde serum MMP-7, MMP-9, TIMP-1 düzeyleri…….....47

Tablo 10: MMP-7, MMP-9, TIMP-1 ve MMP-9/TIMP-1 tedavi öncesi ve sonrası serum değişimleri……..48

Tablo11: RRMS tanısı alan hastalar ve sağlıklı kontrollerde neopterin düzeyleri49

Tablo 12: Neopterin tedavi öncesi ve sonrası serum değerleri……49

Tablo 13: Neopterin tedavi öncesi ve sonrası idrar değerleri……..49

Grafik 1: MMP-7 düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması …...43

Grafik 2: MMP-7 düzeyinin tedavi alan grup ile tedavi almayan grupta bir yıl sonraki değişimi…….……...43

Grafik 3: MMP-9 düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması ……44

Grafik 4: MMP-9 düzeyinin tedavi alan grup ile tedavi almayan grupta bir yıl sonraki değişimi …… ...45

Grafik 5: TIMP-1 düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması …….46

Grafik 6: TIMP-1 düzeyinin tedavi alan grup ile tedavi almayan grupta bir yıl sonraki değişimi ……46

Şekil 1: MS'da inflamasyon-demiyelinizasyon sırasında sitokinler …….24

Şekil 2: CD4+ T hücrelerin farklılaşması……..26

Şekil 3: Multipl sklerozda plak oluşumu ……..31

TEŞEKKÜR

Yan Dal Uzmanlık eğitimim boyunca deneyim ve birikimlerini aktararak yolumu aydınlatan, birçok konuda kendime örnek aldığım değerli hocalarım Prof. Dr. Kıvılcım Gücüyener, Prof. Dr. Ayşe Serdaroğlu, Prof. Dr. Ercan Demir, Prof. Dr. Kürşad Aydın, Doç. Dr. Tuğba Hirfanoğlu, Doç. Dr. Y.K.Yavuz Gürer, Doç. Dr. Nesrin Şenbil başta olmak üzere Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma; olguların tanı ve takibinde beraber çalıştığımız Çocuk Nörolojisi Yan Dal Asistanları Uz. Dr. Esra Gürkaş, Uz. Dr. Neşe Çıtak Kurt, Uz. Dr. Ebru Arhan, Uz. Dr. Ebru Kolsal ile çocuk sağlılığı ve hastalıkları asistanlarına; büyük bir titizlikle laboratuar çalışmalarını gerçekleştiren Doç.Dr. Ayşegül Atak ve Uz. Dr. Arzu Aral'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca olguların istatistik analizlerinin yapılmasında yardımını esirgemeyen Uzm. Dr. Abdullah Kurt, olguların bilişsel değerlendirmesini yapan Uz. Psk. A.Şebnem Soysal'a ve eğitim sürem boyunca birlikte olduğum asistan, teknisyen ve personel tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS) genetik olarak duyarlı kişilerde, pek çok çevresel faktörün tetiklediği, merkezi sinir sisteminde (MSS) demiyelenizasyon, inflamasyon ve dejenerasyona yol açan immün kökenli bir hastalıktır. Gelişmiş görüntüleme yöntemlerinin yaygın olarak kullanıma girmesiyle, daha erken dönemde tanı konulmaya başlanmış ve çocuklarda sanılandan daha sık görüldüğü, erişkin dönemde tanı alan hastaların önemli bir bölümünde hastalığın aslında çocukluk döneminde başladığı anlaşılmıştır. Etyolojik, patogenetik, genetik ve epidemiyolojik çalışmalar yüzyılı aşkın süredir devam etmektedir ve 1990'lı yıllarda hastalık seyrini değiştirebilecek tedavilerin uygulamaya başlanmasıyla büyük bir ivme kazanmıştır. Buna karşın hala hastalığın etyolojisi ve patogenezi konusunda pek çok bilinmeyen bulunmakta ve bu da etkin tedavilerin geliştirilmesini güçleştirmektedir.

Çocukluk çağı multipl sklerozu (ÇÇMS) erişkin dönemde başlayan MS ile aynı hastalık olmakla birlikte, epidemiyolojik, patogenetik, klinik seyir ve prognoz açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır (1). Özellikle ergenlik öncesi dönemde bu farklar daha belirgin olmakta, hastalığın tanısı ve tedavisi konusunda ciddi zorluklara yol açmaktadır. Çocukluk döneminde görülen ve MS benzeri tabloya yol açabilen herediter hastalıklar ve MSS'nin diğer demiyelinizan hastalıklarının da benzer tablolara yol açabilmeleri nedeniyle hastalığın tanısı ve takibinde önemli güçlükler oluşmakta ve tedaviye başlamada gecikmelere sebep olmaktadır (2).

Hastalığın patogenezinin yeterince bilinmemesi, tanı ve hastalığın aktivitesini değerlendirmede kolay uygulanabilir yöntemlerin, kan ya da idrarda bakılabilecek belirteçlerin bulunmasının önündeki en büyük engeldir. Çocukluk çağı multipl sklerozu üzerine çalışmaların çok az sayıda olması, bu hastalığın hala gizemini korumasına neden olmuştur. ÇÇMS tanısı almış hastalarla yapılacak çalışmalar, hastalığın başlangıç döneminde olması nedeniyle etyoloji ve patogenezin aydınlatılmasını sağlayabilecektir. Hastalığın daha iyi tanınması da daha etkin ve kolay uygulanabilir tedavilerin bulunabilmesine olanak sağlayacaktır.

Bu çalışmada merkezimizde takip ettiğimiz ÇÇMS tanısı almış hastaların kan, beyin-omurilik sıvısı (BOS) ve idrarındaki, hastalığın patogenezinde rol oynadığı düşünülen bazı sitokinler ile metalloproteinazlar gibi belirteçlerin düzeylerini inceleyerek sağlıklı çocuklara göre farklı olup olmadıklarını, interferon beta tedavisi sonucu değişimlerini, böylece invazif olmayan ve kolay uygulanabilir yöntemlerle hastalığın tanısı ve tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılabilir olup olmadıklarını öğrenmeyi amaçladık. Ayrıca bu moleküllerin hastalığın erken dönemindeki düzeyleri, patogenez hakkında bazı ipuçları da verebilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Tarihte ilk MS hastası olarak bilinen, 1380 yılında doğan Hollandalı ‘Saint Lidwina’nın hastalığı 15 yaşında başlamıştı (3). Bununla birlikte çocuklarda MS hastalığının çok nadir görüldüğü düşünülerek uzun süre pek ilgi çekmedi. Literatürde bildirilen ÇÇMS hasta sayısı 1980 yılına kadar sadece136 iken, 1990’lı yıllardan itibaren, özellikle hastalık düzenleyici ilaçlar ile tedavinin, hastalığın erken döneminde başlanmasıyla hastalık aktivitesini azalttığının gösterilmesiyle hızla artmıştır. Bugün için tüm MS hastalarının %1 kadarı 10 yaşından, %15 kadarı da 18 yaşından önce başlamaktadır (4).

2.2. Tanımlar

Multipl skleroz tipik olarak alevlenmeler ve dinlenme dönemleriyle seyredip, bir süre sonra iyileşme dönemlerinin olmadığı progresif evreye geçen, çocuklarda ortalama 25 yıl sonra ambulasyonun kaybedilmesiyle karakterize bir tablo gösterir. Hastalığın çeşitli evreleri için farklı terimler kullanılmıştır. Ataklarla seyreden döneme ‘relapsing-remitting multipl skleroz’ (RRMS) denirken , bir süre sonra ataklar arası tam düzelme olmadan devamlı özürlülük artışıyla seyreden dönem için ‘sekonder progresif multipl skleroz’ (SPMS) terimi kullanılmaktadır. Hastalığın başından beri tam düzelme olmaksızın özürlülüğün giderek arttığı tablo için ise ‘primer progresif multipl skleroz’ (PPMS) tanımı kullanılmaktadır. PPMS tüm erişkin hastaların %20’sini oluşturmakla birlikte çocuklarda çok nadir görülmektedir. Son yıllarda erken tanı çabalarının artmasıyla

MS gelişme ihtimali yüksek tek bir klinik atak geçiren ancak MS tanı kriterlerini karşılamayan hastalar için ‘klinik izole sendrom’ (KİS) terimi kullanılmaya başlanmıştır. Yine son dönemde, başka nedenlerle manyetik rezonans görüntüleme (MRG) incelemesi yapılan ve MS’a benzer lezyonların saptandığı hastalar için henüz genel kabul görmese de ‘subklinik MS’ ya da ‘radyolojik izole sendrom’ gibi terimler kullanılmaya başlanmıştır.

Çocuk hastalarda MSS’de demiyelinizan bozuklukları tanımlamadaki karmaşıklığı gidermek amacıyla 2007 yılında pediatrik MS Society bir konsensus raporu yayımlamıştır (5) (Tablo 1).

2.3. Epidemiyoloji

Multipl skleroz en sık 20-40 yaş arasında görülmekle birlikte, 2-80 arası her yaşta başlayabilmektedir. Prevalansı dünya üzerinde bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Kurtzke dünyayı MS prevalansı açısında düşük, orta ve yüksek prevalanslı olmak üzere üç bölgeye ayırmıştır. Yüz binde otuzdan fazla ile Kuzey Avrupa, Güney Avustralya ve Kuzey Amerika en yüksek prevalanslı bölgelerdir (6). Kanadalı çocuklar üzerine yapılan bir çalışmada, akut demiyelinizan atak insidansı 0.94:100000 iken, optik nörit (ON), akut dissemine meningoensefalit (ADEM) ve transvers miyelit (TM) insidansları hemen hemen eşit (0.2:100000) bulunmuştur (7). Prevalanstaki bölgesel farklılıklar çevresel ve genetik faktörlere bağlanmaktadır. İlk atak en sık 9-13 yaşları arasında görülür (8). Kız erkek oranı adolesan dönemde erişkin oranlarına benzerken (9,10), yaş küçüldükçe erkeklerde görülme oranı artmaktadır (11).

Tablo 1: Pediatrik merkezi sinir sistemi demiyelinizan hastalıkları için konsensus tanımları (5).

Monofazik MSS inflamatuar demiyelinizasyon atağı	
ADEM	Atak bulguları ile birlikte ensefalopati (davranış ve/veya bilinç değişikliği) olmalıdır. • 3 ay içinde başlayan yeni belirti ve bulgular aynı atağın parçası kabul edilir.
KİS	Monofokal (izole ON gibi) ya da polifokal klinik atak (ensefalopati olmamalı)
NMO	Majör kriter olarak optik nörit ve transvers miyelit olmalı • En az 3 segment uzunluğunda tutulum ya da NMO-IgG pozitif olmalı
Multifazik (tekrarlayan) MSS inflamatouar demiyelinizasyon atakları	
Rekürren ADEM	İlk ataktan en az 3 ay sonra, ilk ADEM belirtilerinin ensefalopati varlığında tekrarlaması (steroid azaltılırken belirtilerin tekrarlaması kabul edilmez)
Multifazik ADEM	Yeni belirtilerle ve yeni radyolojik lezyonlarla karakterize ADEM kriterlerini karşılayan yeni bir atak olması
Relapsing NMO	Yukarıdaki kriterleri karşılayan yeni bir NMO atağı olması
Pediatrik MS	Zamanda (en az 4 hafta arayla) ve alanda (en az 3 ay sonra yeni MRG lezyonu) yayılım gösteren en az 2 MS atağı. • İlk atak ADEM olamaz. İlk atak ADEM ise en az iki farklı MS atağı gereklidir • İlk ataktan en az 3 ay sonra yeni MRG lezyonlarının olması zamanda yayılım kriterini karşılar

2.4. Etyoloji

Çocukluk Çağı MS etyolojisi için en çok kabul gören teori genetik olarak duyarlı kişilerde çevresel faktörlerin hastalığa neden olduğu şeklindedir. Dizigotik ikizlerde MS gelişme riski %5 iken, monozigotik ikizlerde altı kat daha fazla olarak %31 bulunmuştur (12). Birinci derece akrabalarda risk %5'den az olmakla birlikte, genel popülasyona göre yine de 20-40 kat daha fazladır (13). Bununla birlikte olguların çoğu sporadiktir. Genetik faktörlerin yanında doğum yeri ve doğum mevsimi ile de hastalık sıklığı arasında ilişki bulunmuştur. Örneğin ilkbahar-yaz döneminde diğer mevsimlere göre atak sayısı ve hastalık aktivitesi daha fazladır (14). Kişinin yaşadığı yer, viral infeksiyon geçirme (özellikle EBV), sigara dumanına maruz kalma, ve vitamin D eksikliği MS gelişimi için en çok suçlanan çevresel faktörlerdir (15).

2.5. Tanı

Tanı, hastalığın doğal seyri olarak kabul edilen, zamanla MSS'nin farklı bölümlerinin tutulumunun gösterilmesine dayanır. İmmün aktivite ne kadar fazlaysa MRG lezyon yükü ve klinik ağırlık o kadar fazla olmaktadır. Bununla birlikte MRG lezyon yükü ile klinik seyir her zaman paralel olmayabilir. Gerçekte minimal klinik bulguları olup MRG lezyon yükü fazla olan ve 'klinikoradyolojik paradoks' olarak tanımlanan tabloda önemli bir hasta grubu vardır. MRG lezyon yükü belirli bir dereceye ulaşan hastalar sekonder progresif faza geçer ve özürlülük devamlı hale gelir. Bu nedenle klinik olarak aşikar hale gelmeden önce

hastalık aktivitesinin belirlenmesi ve nöral kaybın başladığı hastaların erken tanınması önemlidir.

Tanı için belirli bir süre boyunca (zamanda yayılım) MSS'nde değişik bölgelerin (alanda yayılım) tutulumunun gösterilmesi gerekir (16). Önceleri MSS'nde farklı bölgelerin tutulumunu göstermek için ikinci farklı bir klinik atak gerekirken, MRG'nin kullanıma girmesiyle ikinci bir atak beklenmeksizin MSS'nde farklı bir bölgenin tutulumunun gösterilmesi (ilk ataktan en az 3 ay sonra MRG'de yeni lezyon) tanı için yeterli olmuştur (Tablo 2) (17).

İntratekal inflamasyonun bir göstergesi olan spesifik oligoklonal bandların (OKB) ya da artmış immünglobulin G (IgG) indeksinin BOS'nda gösterilmesi ve elektrofizyolojik olarak uyarılmış potansiyellerle (VEP, SEP, BAEP) beyaz cevher iletim yavaşlamasının gösterilmesi tanıyı destekleyici bulgulardır (16,18).

Optik koherent tomografi (OCT) son yıllarda MS hastalarında kullanılmaya başlanmış, sadece miyelinsiz aksonlardan oluşan retinal doku kalınlığını ölçerek, akson kaybını, dolayısıyla nörodejenerasyonu gösteren, invazif olmayan ve kolay uygulanabilen bir tekniktir. VEP ile birlikte optik tutulumu ve VEP'den farklı olarak da akson kaybını gösterir. Optik nörit geçirmeyen hastalarda da hastalık progresyonuyla birlikte retinal doku kaybı görülmektedir (19).

Tablo 2: 2005 MS Gözden geçirilmiş McDonald tanı kriterleri (17)

Klinik tablo	MS tanısı için gerekli ek bulgular
≥2 atak[1]; ≥2 lezyonun objektif klinik bulgusu	Yok[2]
≥2 atak[1]; 1 lezyonun objektif klinik bulgusu	Alanda yayılımın gösterilmesi • MRG[3] ya da • MS ile uyumlu ≥2 MRG lezyonu ve pozitif BOS bulgusu[4] ya da • Farklı bir lezyonun neden olduğu yeni bir atak[1] beklenmesi
1 atak[1]; ≥2 lezyonun objektif klinik bulgusu	Zamanda yayılımın gösterilmesi • MRG[5] ya da • İkinci klinik atak[1]
1 atak[1]; 1 lezyonun objektif klinik bulgusu (monosemptomatik tabloi klinik izole sendrom)	Alanda yayılımın gösterilmesi • MRG[3] ya da • MS ile uyumlu ≥2 MRG lezyonu ve pozitif BOS bulgusu[4] ve Zamanda yayılımın gösterilmesi • MRG[5] ya da • İkinci klinik atak[1]
MS düşündüren sinsi nörolojik progresyon	1 yıllık progresyon (retrospektif ya da prospektif olarak gösterilen) ve Aşağıdakilerin ikisinin olması • Pozitif beyin MRG'si (9 T2 lezyonu ya da ≥4 T2 lezyonu ve pozitif VEP)[6] • Pozitif spinal kord MRG (2 fokal T2 lezyonu) • Pozitif BOS[4]

Eğer kriterler karşılanmış ve klinik tabloyu daha iyi açıklayabilecek başka neden yoksa, tanı MS'tir. Klinik tablo MS ile uyumlu ancak kriterler tam olarak yerine getirilmemişse, tanı 'muhtemel MS'tir. Tanı ve takip aşamasında klinik tabloyu daha iyi açıklayacak başka bir tanı saptanırsa, tanı 'MS değildir'.

[1]Atak, inflamatuar ve demiyelinizan bir nedenden kaynaklandığı düşünülen nörolojik bozukluk süreci olarak tanımlanır. En az 24 saat sürmüş olmalıdır (objektif bulgularla saptanmalı ya da hikaye objektif bulgularla desteklenmelidir.)

[2]Ek teste gerek yoktur. Ancak 'mrg, bos' incelemeleri yapıldı ve negatif bulundu ise tanı için çok temkinli olunmalıdır. Ayırıcı tanı dikkatle yaoılmalıdır. Tabloyu daha iyi açıklayabilecek bir neden olmamalı ve MS tanısını destekleyecek bazı objektif bulgular olmalıdır.

[3]Alanda yayılımın gösterilmesi için Barkoff ve Tintore MRG kriterleri karşılanmalıdır(Tablo 4).

[4]Pozitf BOS, 'isoelectric focusing' gibi kabul görmüş yöntemlerle BOS'ta serumdakilerden farklı oligoklonal bantların ya da artmış IgG indeksinin gösterilmesi ile belirlenir.

[5]Tablo 3'deki Mc Donald zamanda yayılım kriterlerini karşılamalı

[6]MS'te görülen tipte anormal VEP

2.5.1. ÇÇMS hastalarının MRG özellikleri ve erişkin hastalardan farklılıkları

MS lezyonları için tipik MRG görünümü, derin beyaz cevherde T2 sekanslarda parlak görünümlü ovoid şekilli plaklardır. Gadolinyum injeksiyonu sonrası, aktif plaklarda kan beyin bariyeri (KBB) yıkılması ve aktif inflamasyona bağlı tutulum görülürken, eski lezyonlarda tutulum görülmez. Ancak her yeni lezyon yeni bir klinik bulgu ya da atağa neden olmaz. Gerçekte ancak 5 ila 10 yeni MRG lezyonu yeni bir klinik atağa yol açabilir (20). Bu da hastalığın klinik olarak ataklarla seyretse de patolojik olarak durmaksızın devam ettiğini göstermektedir. MRG'de sağlam görünen beyin dokularında da aktif inflamasyon ve demiyelinizasyon bulunmaktadır.

Çocuk hastalarda erişkin MRG tanı kriterlerinin uygulanabilirliği tartışma konusudur. Tanı için McDonald tanı kriterlerinin çocuklarda uygun olmadığı, çocuklarda erişkinlere göre daha az sayıda MRG lezyonu olduğu ileri sürülmüştür. Hahn ve ark.'nın yaptıkları, erişkin hastalarda doğruluğu gösterilmiş McDonald alanda yayılım MRG kriterlerinin, çocuklardaki uygunluğunu araştıran çalışmada, daha sonra kesin MS tanısı alan hastaların McDonald alanda yayılım MRG kriterlerini karşılama oranı birinci atak sırasında %53, ikinci atakta da ancak % 67 olarak bulunmuştur (21).

Tablo 3: Multipl skleroz zamanda yayılım için 2005 Gözden geçirilmiş Mc Donald kriterleri (17)

• Ataktan en az 3 ay sonra, atakla uyumlu olmayan farklı bir lokasyonda Gadolinyum tutulumunun izlenmesi ya da • Atak başlangıcından en az 30 gün sonra yapılan MRG'de önceki ncelemeyle karşılaştırıldığında yeni bir T2 lezyon saptanması

Tablo 4: Multipl skleroz alanda yayılım için Barkhof ve Tintore kriterleri(17)

Aşağıdakilerin en az 3 tanesinin olması • En az bir Gadolinyum tutan lezyon ya da gadolinyum tutan lezyon yoksa en az 9 T2 hiperintens lezyon olması • En az 1 infratentoryal lezyon olması • En az 1 jukstakortikal lezyon olması • En az 3 periventriküler lezyon olması
Not: Bir spinal kord lezyonu bir infratentoryal beyin lezyonu ile eşdeğerdir: bir kontrast tutan spinal kord lezyonu, bir kontrast tutan beyin lezyonu ile eşdeğerdir ve her bir spinal kord lezyonu beyin lezyonları gibi toplam T2 lezyon sayısını bulmak için ayrı ayrı sayılır.

Callen ve ark. son dönemde yaptığı bir çalışmada : 1) en az beş lezyon olması, 2) en az iki periventriküler lezyon olması, 3) en az bir beyin sapı lezyonu olması kriterlerinden en az ikisinin olmasının ÇÇMS'nu diğer demiyelinizan hastalıklardan ayırmada %85 duyarlı, %98 özgül bulunmuştur (22). Bununla birlikte lezyon sayısının eşit hatta çocuklarda daha fazla olabileceğini gösteren çalışmalar da vardır (23).

Tedaviye erken dönemde başlamanın öneminin anlaşılmasıyla birlikte erken tanı koyabilme arayışları artmıştır. En fazla üzerinde durulan konulardan biri de ilk atak sırasındaki MS için özgül MRG özelliklerinin saptanmaya çalışılmasıdır. Bu amaçla Mikaeloff ve ark. yaptığı, ilk defa demiyelinizan atak geçiren 116 çocuk hastanın dahil edildiği bir kohort çalışmasında, KIDMUS MRG kriterleri olarak tanımlanan korpus kallozuma dik lezyonların varlığı ve sınırları iyi belirlenmiş lezyonların olmasının MS gelişimi için oldukça özgül olduğu ancak duyarlılığının düşük olduğu gösterilmiştir (24).

Ancak ÇÇMS tanısı alan çocukların önemli bir bölümü ilk atakta McDonald ya da KIDMUS MRG kriterlerini karşılamamaktadır. Callen ve ark.nın 38 ÇÇMS tanısı alan hastanın MRG bulgularını incelediği bir çalışmada, ilk atak

sırasında periventriküler, ventriküle dik ovoid şekilli en az iki lezyon olması, en az bir ‘kara delik’ bulunması, en az bir infratentoryal lezyon olması kriterlerinden en az ikisinin bulunması MS için %98 özgül bulunmuştur (22).

Barkoff ve KIDMUS MRG kriterleri, ilk atak sırasında MS için oldukça özgül iken özellikle ergenlik öncesi dönemde duyarlılığı düşük bulunmuştur (23). İlk atakta ergenlik öncesi çocuklarda lezyon sayısının erişkine eşit olduğu, ancak özellikle yaş küçüldükçe sınırlarının daha belirsiz olduğu, ovoid olmadıkları, tümefaktif lezyonların daha sık olduğu ve zamanla ADEM’teki lezyonlar gibi azalma eğiliminde oldukları gösterilmiştir (21,25). Puberte öncesi çocuklarda düzensiz sınırlı bazal ganglia tutulumunun sık olduğu ve erişkinlerin aksine lezyonların hızla kaybolup kontrol MRG’sinde görülmediği gösterilmiştir (4).

Periventriküler lezyonlar ÇÇMS için oldukça duyarlı ve özgül olmasına karşın (26), nöromiyelitis optika (NMO), ADEM gibi diğer demiyelinizan hastalılarda da görülebileceği unutulmamalıdır (16). Çocuklarda erişkinlere oranla infratentoryal tutulum daha sık görülür. Özellikle erkek çocuklarda pons tutulumu MS için oldukça tipiktir (27).

2.6. Klinik

Çocuklarda MS başlangıcı yani ilk atak, akut demiyelinizan sendromlardan (ON, ADEM, TM, polifokal ya da monofokal disfonksiyon) herhangi biri olabilir. İlk kez demiyelinizan atak geçiren 296 çocuk hastanın prospektif takibinde, ortalama 2.9 yıl sonra hastaların %56.7’sinde MS ile uyumlu ikinci atak geçirdiği görülmüştür (4). Bu hastaların çoğunda ilk klinik bulgular

duysal, motor ya da sfinkter anormallikleri (%56.7), beyin sapı bulguları (%41), ON (%22), ve TM(%14) olarak saptanmıştır.

Optik nörit ÇÇMS tanısı almış çocuklarda %14-35'inde ilk atak olarak karşımıza çıkar. Daha çok tek taraflıdır, ancak her iki gözü de tutabilir. Ağrılı, puslu görme şikayetiyle hasta başvurur. Takipte %85 oranında tam düzelme görülür (4,20). Optik nörit sonrası MS tanısını koyduracak ikinci atak yıllar sonra da ortaya çıkabilir (28). İlk atak sırasında en az bir T2 beyaz cevher lezyonu olması MS gelişme riskini ilk iki yılda %68'e çıkarırken, MRG'de lezyon olmayanlarda iki yıl sonunda hiç MS gelişmemiştir (28). Optik nöritin MSS vasküliti, SLE, Lyme hastalığı ve diğer infeksiyonların ilk bulgusu da olabileceği unutulmamalıdır.

Optik nörit, TM birlikteliğinde (aynı anda ya da farklı zamanlarda) şu üç bulgudan ikisinin olması NMO tanısını koydurur: 1) en az 3 vertebral segment uzunluğunda tutulum, 2) beyinde lezyon olmaması ya da MS ile uyumlu lezyon olmaması, 3) NMO IgG pozitifliği (29). Buna karşın erişkin NMO hastalarının %10'unda MS ile benzer, hatta MS için alanda yayılım kriterlerini karşılayabilecek kadar beyin lezyonları bulunmaktadır.

Akut dissemine ensefalomiyelit, MSS'nde yaygın demiyelinizan lezyonların neden olduğu, ensefalopati ile birlikte polifokal nörolojik belirtiler tablosu olarak tanımlanır (30). Tanı kriterlerinden biri olan ensefalopati belirgin davranış değişikliği, belirgin irritabilite ya da letarji, koma gibi bilinç değişiklikleri ile karakterizedir. ADEM genellikle monofazik bir hastalıktır. Ensefalopati varlığında aynı semptomların, MRG'de yeni lezyon olmadan, en az 3

ay sonra ya da steroid dozu azaltılmaya başlandıktan en az 30 gün sonra tekrar başlaması ise rekürren ADEM olarak tanımlanır (5). Üç aydan sonra ya da steroid dozu azaltılmaya başlandıktan en az 30 gün sonra, yeni MRG lezyonu ve ensefalopatiyle birlikte, yeni semptomların da olduğu polifokal nörolojik tablo ise multifazik ADEM olarak tanımlanır. ADEM tipik olarak 10 yaş altında görülür ve kız/erkek oranı eşittir (34). Sıklıkla öncesinde ateş, baş ağrısı, kusma gibi prodromal belirtiler vardır. Beyin omurilik sıvısında pleositoz ve artmış protein miktarı saptanır ve OKB genellikle negatiftir. Hastaların %8-18'i takiplerinde MS tanısı almaktadır (26). ADEM tanısı almış bir hastanın MS tanısı alması için en az 2 ADEM olmayan, MS ile uyumlu atak geçirmesi gerekmektedir (5).

Transvers miyelit, spinal kordu tutan demiyelinizan bir hastalıktır. Sıklıkla monofokal ve monofazik seyreder. Ancak ADEM ya da NMO klinik tablosunun parçası da olabilir. Çocukluk çağı MS tanısı alan çocukların %10'unda ilk atak TM şeklinde karşımıza çıkar (4,16). Ancak monofokal TM geçirenlerde MS gelişme riski yüksek değildir. TM geçiren 47 çocuk hastanın takibinde sadece bir çocukta MS gelişmiştir (31).

Alevlenme dönemlerindeki akut nörolojik bulguların yanında, ÇÇMS hastalarında duysal bozukluklar, güçsüzlük, spastisite, tremor, ataksi, dizartri, mesane-barsak disfonksiyonu, seksüel disfonksiyon bulguları da bulunabilir. Erişkinlerdeki kadar sık olmasa da Uthoff fenomeni (belirtilerin sıcaklık ya da ateşle artması/yeniden ortaya çıkması) ve L'Hermitte belirtisi (boynun fleksiyona getirilmesiyle boyundan aşağı omurga boyunca elektriklenme hissi) görülebilir.

Tablo 5: ÇÇMS hastalarında görülen belirti ve bulgular

Lokalizasyon	Belirti	Bulgu
Serebrum	Bilişsel/davranışsal bozulma Motor, duysal bozukluk Epilepsi Algı bozukluğu Fokal kortikal defisitler	Dikkat, bellek, mantıklı düşünme, yürütücü/yönetici fonksiyon bozukluğu
Serebellum	Dengesizlik, tremor	Ataksi, postürel ve aksiyon tremoru, dizartri
Optik sinir	Tek ya da iki taraflı ağrılı görme kaybı	Görme keskinliği azalması, renkli görme kaybı, santral skotom
Beyin sapı	Diplopi Vertigo Yutma güçlüğü Konuşma bozukluğu, emosyonel labilite	İnternükleer oftalmopleji, nistagmus Dizartri Psödobulbar paralizi
Spinal kord	Güçsüzlük Sertlik, ağrılı spazmlar Mesane disfonksiyonu Konstipasyon Erektil empotans	Güçsüzlük DTR canlılığı Klonus
Diğer	Ağrı Yorgunluk Isı ve egzersiz intoleransı	

ÇÇMS bir çok yönüyle erişkin MS ile benzer özellikler göstermekle birlikte, klinik olarak bazı özellikler ön plana çıkmaktadır. Monosemptomatik klinik tablo erişkin MS hastaları için tipik iken çocuklarda polisemptomatik başvuru daha sık görülmektedir.

Epileptik nöbetin daha ziyade ADEM'te görüldüğü, MS hastalarında görülmediği düşünülmektedir. Ancak bizim hasta grubumuzda olduğu gibi ÇÇMS hastalarında nöbet görülebilmekte ve nöbet geçirme tek başına artık atak olarak kabul edilmektedir (32,33).

Çocuk MS hastaları ergenlik öncesi ve sonrası olarak iki gruba ayrıldığında da önemli farklar görülmektedir. Ergenlik öncesi kız erkek oranı

birbirine eşittir (33). Yaşla birlikte kız oranı giderek artmakta, menarş döneminde en yükseğe çıkmakta sonra tekrar azalmaya başlamaktadır. Bu da hastalık gelişiminde hormonal etkilerin rol oynayabileceğini göstermektedir.

Yaş küçüldükçe klinik değişkenlik artmakta, MS atakları polifokal belirtiler ve ensefalopati ile birlikte görülebilmekte, ADEM'ten ayrımı daha da güçleşmektedir (1,34). Gerçekte MS tanısı alan hastalarda ilk atağın ADEM şeklinde olması küçük çocuklarda sık görülür (4,34).

ÇÇMS hastalarında ilk ataklarda beyin sapı ve serebellum tutulumu erişkin hastalara göre daha sık iken, spinal kord tutulumu daha seyrektir .

MS'da bilişsel bozukluk erişkin hastalarda uzun süreden beri bilinmektedir. 1997-2009 yılları arası yapılan çalışmaların incelendiği bir raporda, MS hastalarında bilişsel bozulmanın çoğu çalışmada ortaya konduğu görüldü. Bu bilişsel bozukluk özellikle hafıza, işlem hızı, yürütücü-yönetici fonksiyonlar, dikkat ve konsantrasyon alanlarındaydı (35). Çocuklarda motor özürlülük daha yavaş gelişmesine karşın, bilişsel yıkım erişkinlerle hemen hemen aynıdır ve hastalığın erken dönemlerinden itibaren başlamaktadır (36).

ÇÇMS ile erişkin MS arasında klinik ve radyolojik farklılıklar olması yanında, hastayı değerlendirirken çocuklara özgü bazı zorluklar da tanı ve takip aşamasında güçlüklere neden olmaktadır. Özellikle küçük çocuklarda görmede azalma ya da duysal bozuklukları değerlendirmek oldukça güç olabilmektedir. Bilişsel fonksiyonlar ya da yorgunluk belirtileri ya hiç fark edilmemekte ya da başka nedenlere bağlanabilmektedir. Ürolojik ve seksüel şikayetler sıklıkla gizlenebileceği için özellikle sorgulanmalıdır.

2.7. Ayırıcı Tanı

Multipl skleroz tanımı yapılırken ‘belirtilerin başka bir nörolojik bozukluk ile açıklanamaması’ şartı getirilmiştir. Erişkin MS hastalarında ayırıcı tanı için son dönemde yayınlanan bir konsensus raporuna göre 36'sı majör olmak üzere toplam 79 'şüphe uyandıran bulgu' (red flag) belirlendi (37). Buna göre hastanın tablosu MS için 'tipik' olsa bile bu 'şüphe uyandıran bulgular' var ise tanı kesinleştirilmeden önce ayrıntılı ayırıcı tanı yapılması önerildi. Çocuk hastalarda da MS için tipik olmayan belirti ya da bulgu olduğunda bu bulguları daha iyi açıklayabilecek diğer tanılar dışlanmalıdır (Tablo 6).

Tablo 6: ÇÇMS tanısı için tipik olmayan bulgular (38)

Klinik tablo	Ayırıcı tanı
Progresif ya da tekrarlayan nörodejenerasyon, demans	Lökodistrofiler Mitokondriyal hastalıklar CADASIL POLD Diğer metabolik hastalıklar (aminoasit, organik asit bozuklukları gibi)
Belirgin ve devamlı baş ağrısı ± inme benzeri bulgular ± psikiatrik belirtiler	Primer küçük damar MSS vasküliti SLE Antifosfolipit antikor sendromu CADASIL MELAS Fabry hastalığı Kronik aktif ensefalit HIV Makrofaj aktivasyon sendromu
Spastik parapleji	TM, NMO Spinal kord tümörü, AVM, iskemi, travma Lyme hastalığı (diğer infeksiyonlar) HTLV-1 SLE Sarkoidoz Behçet hastalığı Pelizaeus-Merzbacher benzeri hastalık MitCHAP60 hastalığı Ailesel spastik parapleji Adrenolökodistrofi Vitamin B12 eksikliği Spinoserebellar ataksi
Eklem ağrısı, fotosensitivite, döküntü, ülser	SLE Behçet hastalığı
Ateş ya da travma ile tetiklenen hızlı nörolojik kötüleşme	Mitokondriyal hastalıklar CACN
Tekrarlayan ya da şiddetli optik nöropati	NMO LHON CRION

CADASIL, serebral otozomal dominant arteriyopati ile subkortikal infarktlar ve lökoensefalopati; POLD, pigmenter ortokromatik lökodistrofi; MELAS, mitokontriyal ensefalopati ile laktik asidoz ve strok; NMO, nöromiyelitis optika; HTLV, human lenfotrofik virüs; SLE, sistemik lupus eritematozus; HIV, human immünyetmezlik virüsü; CACN, çocukluk çağı ataksi ile serebral hipomiyelinizasyon; LHON, Leber'in herediter optik nöropati; CRION, kronik tekrarlayan idiyopatik optik nörit

2.8. Patoloji ve Patogenez

Multipl skleroz klinik olarak olduğu gibi patogenetik olarakta oldukça heterojen bir grup demiyelinizan hastalıktır (39). Temel olarak beyaz cevheri tutmakla birlikte, gri cevher de hastalığın erken dönemlerinden itibaren etkilenmektedir (40).

İmmün hücrelerden fakir ve immün aktivitenin az olduğu, immün olarak korunmuş bir bölge olduğu düşünülen MSS'nde aslında immün reaksiyonlar diğer dokular kadar yoğun gerçekleşir. Multipl skleroz gibi otoimmün hastalıklarda immün hücreler, kendi antijenleri ya da çapraz reaksiyonla virüsler gibi yabancı antijenlerle aktivasyonu sonucu miyelin kılıfı ve oligodentrositlere karşı hem doğal hem de kazanılmış immün yollarla inflamasyon başlatır (41,42).

Doğal immünite 'yabancı' antijenlerin immün hücreler tarafından tanınmasıyla tetiklenir. Miyelin, miyelin proteini ya da miyelin protein peptidlerinin verilmesini takiben ortaya çıkan ve deneysel otoimmün ensefalit (EAE) denilen, hayvanlarda oluşturulmuş MS benzeri tablo üzerine yapılan çok sayıda çalışma ile miyelin antijenlerine karşı gelişen otoimmünitenin hastalığı başlattığı anlaşılmıştır. Otoimmün hastalıklarda 'kendi' ve 'yabancı' ayırımı bozulmuştur.

Patogenezde primer olarak T hücreler rol almakla birlikte, antijen sunan hücre (ASH), B hücreler, lökosit gibi çok çeşitli hücreler ve bu hücrelerin ürettikleri sitokinler önemli rol oynamaktadır. Multipl skleroz patogenezi şu şekilde özetlenebilir:

1. Dolaşımda miyeline karşı özelleşmiş otoreaktif T hücrelerin bulunması

2. Bu hücrelerin aktif hale gelmesi
3. Kan beyin bariyeri infiltrasyonu
4. Merkezi sinir sisteminde antijenin ASH tarafından T hücrelere tanıtılması ve inflamasyon
5. Plak oluşumu
6. Dejenerasyon
7. Remiyelinizasyon

Bu patolojik olayları başlatan nedenlerin ve sürecin iyi bilinmesi, immün aktiviteyi kesintiye uğratabilecek ajanların bulunup tedavide kullanılmasını mümkün kılabilecektir. MS gelişiminde birincil rolü oynayan T hücreler ve bu hücrelerin farklılaşmasında önemli görevleri olan sitokinler, kan-beyin bariyeri (KBB) ve beyin dokusunun yıkımında önemli rol oynayan matriks metalloproteinazlar (MMP) ile hastalık aktivitesini değerlendirmede kullanılabileceği düşünülen neopterini biraz daha ayrıntılı değerlendireceğiz.

2.8.1. T hücre ve sitokinler

Miyelin antijenlerine karşı geliştirilen otoreaktif T hücrelerin (CD4+, CD8+), hayvan çalışmalarında MSS'nde demiyelinize lezyonlar oluşturması, MS'un MSS'de miyelin antijenlerine karşı gelişen otoimmün bir hastalık olduğunu göstermektedir (43). Hedef olduğu düşünülen miyelin ve oligodentrosit antijenleri normalde kanda bulunmazlar ve immün olarak korunmuş bir bölgede KBB ile sınırlanmışlardır. Son birkaç yıla kadar MS hastalarında ve sağlıklı bireylerde dolaşımda aynı sayıda miyeline karşı duyarlı T lenfosit olduğu

düşünülmekteydi. Multipl skleroz hastalarında mononükleer hücreler (B, T hücre, makrofaj) tarafından verilen immün cevabın nicelikten ziyade nitelik olarak daha farklı olduğu düşünülmekteydi. Ancak son dönemde Bahbouhi ve ark.nın yaptığı çalışmada MS hastalarında periferik kanda miyeline karşı otoreaktif T hücre sayısının sağlıklı kontrollere göre çok daha fazla olduğu gösterilmiştir (44).

T hücrelerin nasıl aktifleştiği ise tam olarak bilinmemektedir. Çeşitli nedenlerle KBB'nin bozulup miyelin antijenlerinin dolaşıma karışması ya da miyelin benzeri antijenik yapıya sahip virüsler gibi yabancı antijenler yoluyla (moleküler benzerlik) aktifleşme en kabul gören teorilerdir (45). Bazı infeksiyonlar, MSS'den gelen proteinler, mikrobial süperantijenler, bazı metabolik ürünler ya da metabolik stres de bu duyarlı lenfositleri aktif hale geçirebilirler. Herpes simpleks virüs, adenovirüs tip12, human papillomavirüs, Ebstein-Barr virüs ve influenza A virüsü ile Pseudomonas aeruginosa'nın T lenfositler üzerindeki T hücre reseptörlerine (TCR) bağlanarak onları aktifleştirdiği bilinmektedir (46).

Multipl skleroz patogenezini başlatmada en sık sorumlu tutulan antijenler proteolipid protein (PLP), miyelin oligodentrosit glikoprotein (MOG) ve miyelin bazik proteindir (MBP).

Multipl skleroz hastalarında ve sağlıklı bireylerde kanda otoreaktif T hücre bulunması, T hücrelerin timik seleksiyon sırasında ortaya çıktığını düşündürmektedir. Timik seleksiyon sırasında kendi antijenleriyle kuvvetli reaksiyon veren hücreler ölürken, zayıf bağlanan hücreler yaşamaya devam eder. Ancak MS hastalarında ve sağlıklı bireylerde bu otoreaktif T hücrelerin özellikleri

farklıdır. Multipl skleroz hastalarında miyeline reaktif T hücreler uygun antijenle karşılaştığında hemen aktive olurken, hasta olmayanlarda herhangi bir aktivite görülmez (47). Yine MS hastalarında miyeline duyarlı T hücreler Th1 yönünde sitokin üretirken, sağlıklı bireylerde Th2 cevap görülür.

Dolaşımdaki T hücrelerin aktifleşmesiyle, hücre zarında bulunan ve T hücrelerin lenf nodlarından kana geçmesini sağlayan sfingozin1-fosfat reseptörleri artar. Bu reseptörlerin yeni geliştirilen oral kullanılan bir molekül olan fingolimod ile blokajı, atak sıklığını, şiddetini ve yeni MRG lezyonu gelişme hızını azalttığı gösterilmiştir (48).

Multipl skleroz gelişimine neden olan otoreaktif T hücreler, beyinde sağlıklı hücresel çevre bütünlüğünün sağlanmasında gereklidir. Merkezi sinir sisteminde homeostazın devamına, hasarlanma sonrası nöronların hayatta kalmasına ve yeniden olgunlaşmasına yardım eder. Tüm erişkinlik dönemi boyunca hipokampusta devam eden nörogenezde rol oynar. Bu nörogenezin bozulması ciddi bilişsel bozukluklara neden olur. IFN-γ'nın erişkin farelerde dentat girusta yeni nöron oluşumunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (49). Yani otoreaktif T hücrelerin ömür boyu süren nörogenez ve bilişsel fonksiyonlar üzerine önemli olumlu etkileri vardır.

Miyelin antijenlerine benzeyen yabancı antijenler ya da MSS'den dolaşıma bir şekilde geçen miyelin antijenleri, ASH üzerinde bulunan ayak benzeri reseptörler (TLR) gibi 'kalıp tanıma' molekülleri ile yakalayarak bağlar. IFN-β'nın terapötik etkilerinden biri de bu TLR aktivitesini azaltmaktır (50). Dentritik

hücreler (DH), monositler, makrofajler ve B hücreler antijen sunabilen hücrelerdir.

Antijenle bağlandıktan sonra, ASH aktifleşerek interferon (IFN)-γ gibi tip1 IFN'lar üretir (51). Aktifleşmiş ASH üzerinde bulunan MHCII moleküllerinin CD4+T hücrelerinin üzerindeki TCR ile birleşmesiyle (MHC-I molekülü ise CD8+ T hücre ile birleşir) antijeni T hücreye tanıtır ve kazanılmış immünite başlar. T hücreler bağlandıkları antijen ve ASH'in ürettikleri sitokinlerin etkisi altında çeşitli yönlere farklılaşarak, bu yönlere uygun sitokinler üretmeye başlar ve immün cevap o yöne doğru gelişmeye devam eder.

Kan-beyin bariyerini aşıp dokuya geçen T lenfositler proinflamatuar sitokinler üreterek buradaki mikroglia ve diğer immün hücreleri aktive eder. Aktif hale gelmiş lokal ASH üzerindeki antijenleri T hücrelere sunarak onların çoğalmasını ve daha fazla aktifleşmesini sağlar. Astrositler, glial hücreler, diğer inflamatuar hücrelerin çoğalması ve aktifleşmesiyle demiyelinizasyona kadar giden inflamatuar kaskat başlar.

T hücreler doğrudan ya da salgıladıkları sitokinlerle hedef dokuları tahrip ederken, aktifleşmiş mikroglia ve makrofajlar bu fonksiyonu salgıladıkları IL-1-β, IL-6, TNF-α, nitrik oksit gibi nörotoksik ürünler ile gerçekleştirir (52).

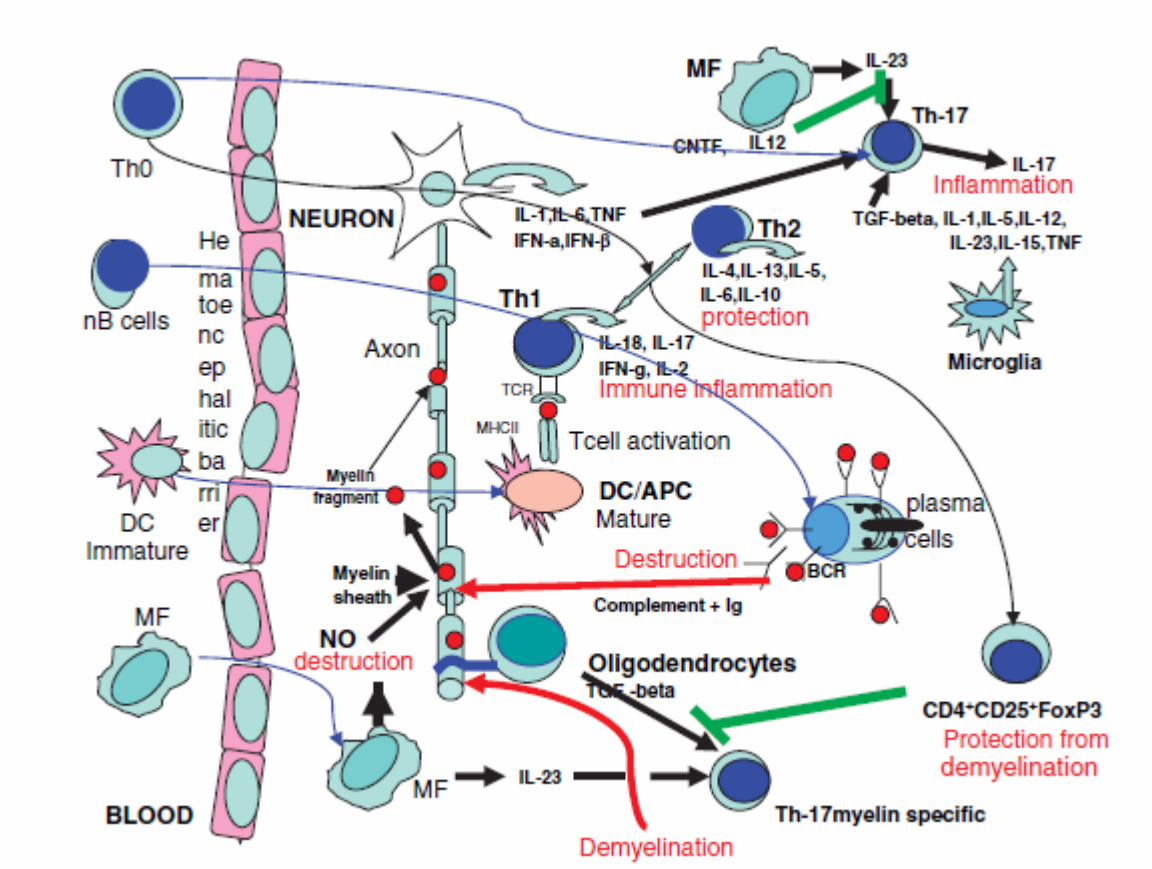
Önceleri tek tip hücre grubu olduğu sanılan T hücrelerin farklı sitokinler salgılayan ve bu sitokinlere göre farklı, hatta antagonistik görevleri olan iki ayrı gruba ayrıldığı, ilk olarak 1986 yılında Mosmann ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (53). Bu hücreler tip1 yardımcı T hücreler (Th1 hücreler) ve tip2 yardımcı T hücreler (Th2 hücreler) olarak adlandırılmıştır (53).

Th1 hücreler MS ve Crohn hastalığı gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde rol alan birincil hücrelerdir (57). Büyük miktarlarda IFN-γ üretir, gecikmiş hipersensitivite cevabına yol açar, makrofajları aktive eder ve intrasellüler patojenlere karşı etkinlik gösterir. IL-1, IL-2, IFN-γ ve TNF-α bu grubu oluşturan sitokinlerdir.

Th2 grubu hücrelerin ise immün aktiviteyi azaltıcı, dolayısıyla MS gelişimi üzerine baskılayıcı etkileri vardır. Buna karşın astma, ülseratif kolit gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde birincil rolü oynarlar. Temel olarak IL-4 üretir ve IgE üretimi, eozinofillerin inflamasyon yerine toplanmasını sağlar ve ekstrasellüler, parazitik infeksiyonları karşı etkindir. IL-4 ile birlikte IL-6 ve IL-10 Th2 sitokinler grubundandır. Ancak Th2 sitokinlerinin hümoral cevabı artırarak hastalık aktivitesini artırıcı etkisi de olmaktadır (57).

Sitokinler daha çok immün hücreler olmak üzere çok çeşitli hücreler tarafından üretilebilen büyük ve heterojen bir polipeptid ailesidir (56). İnflamasyon sırasında immün hücreler arası haberleşmeyi sağlar ve hücrelerin hangi yöne farklılaşacağını belirler (Şekil 1) (57). Yapılarına göre tip 1 ve tip 2 gruplarına ayrılır.

Tip 1 ailesini IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12, granülosit-koloni uyarıcı faktör ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör oluşturur. Bunlardan IL-2, IL-3, IL-4 ve IL-7 T hücre büyüme faktörleri; IL-2, IL-6 ve IL-12 proinflamatuar sitokinleri oluşturur. İlginç olarak, aynı tip1 grubundan olmasına karşın, IL-2 bir Th1 sitokini iken, IL-4 ve IL-5 Th2 sitokinleridir.



Şekil 1: MS'da inflamasyon- demiyelinizasyon sırasında sitokinler (57)

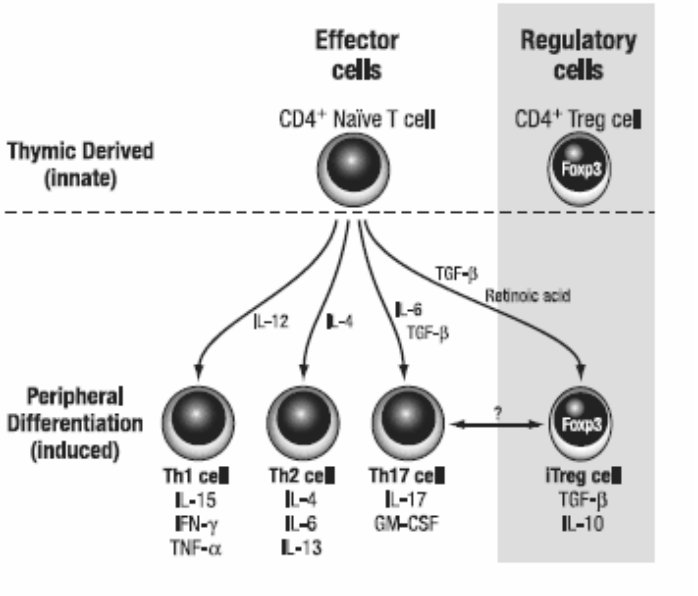
Tip-2 sitokinler IL-10, IL-19, IL-22 ve interferonlardan (IFN-α,-β, -ε, -κ, -δ, -ω, -τ, -γ) oluşur. Antiviral ve antiinflamatuar fonksiyonları başta olmak üzere çok çeşitli immün fonksiyonları vardır. IL-10 kuvvetli bir antiinflamatuar sitokin iken, IFN-γ kuvvetli bir proinlamatuar sitokindir. Bu grupta da Th1 ve Th2 sitokinler bulunmaktadır.

Multipl skleroz hastalarında Th1 hücre grubunun Th2'ye oranla artmış olması yani bu hücre grupları arasındaki dengenin değişmesinin (immün deviasyon) tekrar terse döndürülmesiyle hastalığın tedavi edilebileceği fikri ortaya çıkmıştır (58). Ancak, bu hipotezle yapılan, Th1 hücre popülasyonunu

azaltan monoklonal anti-CD4+ antikorunun kullanıldığı fazII çalışmasında tedavi edici etki görülmemiştir (59). Bu hücreleri hedef alan tedavilerin istenen başarıya ulaşamaması, Th17, T regülatuar (Tregs) ya da B hücreler gibi diğer hücre tiplerinin de patogenezde önemli rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Aktif MS hastalarında inaktif MS hastaları ya da kontrol grubuna göre periferik kanda Th17 hücreler Th1 hücrelerden çok daha fazla miktarda bulunmaktadır ve bu hücreler MBP için spesifiktir. İnaktif MS hastalarında hastalık aktivitesi artmaya başladıkça Th17 T hücre popülasyonu da artmaya başlar (60). Bu da bize Th17 hücrelerin en azından hastalığın aktivitesiyle daha yakından ilişkili olduğunu göstermektedir.

Th17 hücreler IL-17A, IL-17F, IL-6, TNF-alfa, IL-22 ve IL-21 salgılarlar (62). Farklılaşmamış T hücrelerden Th17 hücre gelişimi için ortamda IL-23 bulunması gereklidir (63). IL-4 gibi bazı sitokinler IL-17 üretimini inhibe eder. Th2 hücreler tarafından üretilen IL-25 ise IL-23, IL-1 ve IL-6'yı azaltarak IL-17 düzeyini düşürür. Farelerde IL-25 tedavisinin beyinde inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (64). IL-12/IL-23 ailesinden bir interlökin olan IL-27 spesifik olarak IL-17 üretimini azaltır ve EAE üzerine koruyucu etkisi gösterilmiştir (65). IFN-β da Th17 hücre yönündeki immüniteyi baskılamaktadır (66).



Şekil 2: CD4+ T hücrelerin farklılaşması (67)

Sfingosin1-fosfat reseptörlerini bloke ederek T hücrelerin lenfoid dokudan dolaşıma geçişini engelleyerek MS tedavisinde etkin olduğu bilinen fingolimod, bu etkisini santral bellek T hücrelerin dolaşıma geçişini engelleyerek gerçekleştirmektedir (48). Th17 hücreleri de bellek T hücrelerinin bir grubu olarak bu tedaviyle sayısı azalmaktadır. Bununla birlikte aktif hale gelmiş Th17 hücreler üzerine fingolimodun baskılayıcı bir etkisi yoktur (48).

Multipl skleroz patogenzinde rol oynadığı düşünülen bir diğer hücre grubu ise **Treg hücreleridir**. Ortamda TGF-β ve bir vitamin A öncülü olan retinoik asit varlığında CD4+ T hücrelerden farklılaşır. TGF-β ve IL-10 salgılayarak Th17 ve Th1/Th2 hücreler üzerine düzenleyici etki gösterirler (68). Vitamin D'nin MS üzerine koruyucu etkilerinden biri de Treg hücreleri uyarmasıdır (69).

MS plaklarında bulunan **CD8+ T hücrelerinin** MS gelişimi üzerine düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir. Genetik olarak MHC-II alelleriyle

ilişkilidir. Daha çok ankilozan spondilit, Behçet, Psöriazis gibi hastalıklarla ilişkili bulunup MS ile pek bağlantı kurulamamıştır. Ancak MS plaklarında sayıca CD4+ T hücrelerden daha fazladırlar. CD4+ T hücreler gibi MBP, PLP ve MOG antijenlerine karşı duyarlanırlar. Hem immün baskılayıcı hem de patojenik etkileri vardır (70).

MS hastalarında BOS'nda OKB ya da artmış IgG indeksi olması nedeniyle uzun süredir **B hücre**lerin de MS patogenezinde rolü olduğu bilinmektedir (71). Aynı antikorların periferik kanda bulunmaması, BOS'nda B hücre proliferasyonu ve somatik hipermutasyon denen artmış B hücre reseptör mutasyonları, B hücre cevabının spesifik bir antijene karşı MSS'nde oluştuğunu göstermektedir.

2.8.2.Matriks metalloproteinazlar ve kan beyin bariyeri yıkımı

Dolaşımda aktif hale geldikten sonra otoreaktif T hücreler ve monositlerin KBB'ne yapışıp onu geçerek MSS dokusuna geçmesi gereklidir. Dolaşımda bulunan otoreaktif T hücreler aktifleştikten sonra yüzeylerinde adhezyon molekülleri ile bağlanmak üzere α4β1-integrin adı verilen molekülleri eksprese etmeye başlar. Bu adhezyon molekülleri vasıtasıyla, dolaşımın da yavaşlamış olmasının yardımı ile MSS'nde endotel hücrelere yapışır ve burada çoğalmaya başlarlar.

Endotele yapışan aktif T hücreler bazal membran ve ekstrasellüler matriks (ESM) proteinlerini yıkan **matriks metalloproteinaz (MMP)** adı verilen bir grup enzimin yardımıyla MSS dokusuna geçer (72). Yine bu enzimlerin ESM'te açtığı yollardan ilerleyerek inflamasyon bölgesine ulaşır. MMP'lar monosit, makrofaj, T

hücre, endotel hücresi, mikroglia, astrosit, oligodentrosit gibi pek çok hücreden salgılanmaktadırlar.

Ekstrasellüler matriksin proteazlar ve onların inhibitörleri tarafından düzenlenmesi MSS'nin normal gelişimi ve çeşitli nedenlerle hasarlanma sonrası tamiri için gereklidir. Normal doku gelişimi ve tamiri için gerekli olan bu enzimler, bazı kişilerde inflamasyon sırasında patolojik şekilde ani ve aşırı yükselerek yıkıcı etkilere neden olur (73).

MMP'lar yanında, disintegrin ve metalloproteinaz ile serin proteazlardan plazminojen/plazminojen aktivatör sistemi (P/PA) ESM yıkım enzimlerini oluştururlar. MMP'lar çinko ve kalsiyuma bağımlı endopeptidazlar grubundandır. MS hastalarında çinko düzeyinin yüksek bulunması ve ataklar sırasında bu düzeyin belirgin olarak azalması çinko ile dolayısıyla MMP'lar ile MS patogenezi arasında ilişki olduğunu göstermektedir (74). Bilinen yirmiden fazla MMP tipi vardır (75). Genellikle intersellüler aralığa inaktif zimojen olarak salınırlar. Bazıları hücre membranına bağlı olarak bulunurlar. İnaktif olarak salınmasını takiben, aktivasyonun şiddeti, etkilerinin fizyolojik mi yoksa patolojik mi olacağını belirler. Klasik aktivasyon mekanizması, aktif bölgedeki çinko molekülü ile pro-domaindeki sistein molekülünün ayrılması şeklindeki 'sistein switch' olarak bilinen mekanizmadır. Plazmin ve plaminojen aktivatörü gibi pek çok endopeptidaz bu aktivasyona neden olur. MMP'lar diğer MMP'lar üzerine de aktivatör ya da inhibitör etki gösterirler.

Aktif MMP'ları inaktive eden sistem MMP doku inhibitörleridir (TIMP) . Bunların da dört tipi vardır. TIMP-1, MMP-9 'un doğal inhibitörüdür.

İnfeksiyon, otoimmün reaksiyonlar ya da hipoksi/iskemi nedeniyle aktive olan MMP sistemi ESM'i yıkıma uğratarak KKB ve beyin dokusunda hasara neden olurken, aynı zamanda anjiogenez ve nörogenezi uyararak doku yenilenmesinde de önemli rol oynarlar (75,76). MMP'lar normal durumlarda dokularda çok az miktarda bulunur ve doku yenilenmesi sırasında, yani doku hasarı başlar başlamaz miktarları hızla artar. Çok çeşitli dokularda özellikle doku tamiri ve yeniden yapılanmasında önemli görevleri olan bu proteazları bloke ederek tedavide kulanmak bu nedenle çok gerçekçi değildir (77). Bununla birlikte MS gelişiminde spesifik rolü olan MMP'ların blokajı ya da MMP-plak düzeyindeki tedavi seçenekleri başarıya ulaşabilir.

MMP'lar ESM yıkımı yanında miyelin yıkımında da rol oynarlar. MBP'in yıkımıyla antijenlerin ortaya çıkması T hücrelerin daha fazla aktifleşmesine dolayısıyla inflamasyonun giderek artmasına neden olur. Özellikle membran tip6 MMP (MT6-MMP, lökolizin) MBP yıkımından sorumludur (80).

MMP'lar MS yanında menenjit, ensefalit, beyin tümörleri, Guillain-Barre Sendromu gibi pek çok immün hastalıkta önemli rol oynarlar (81,82).

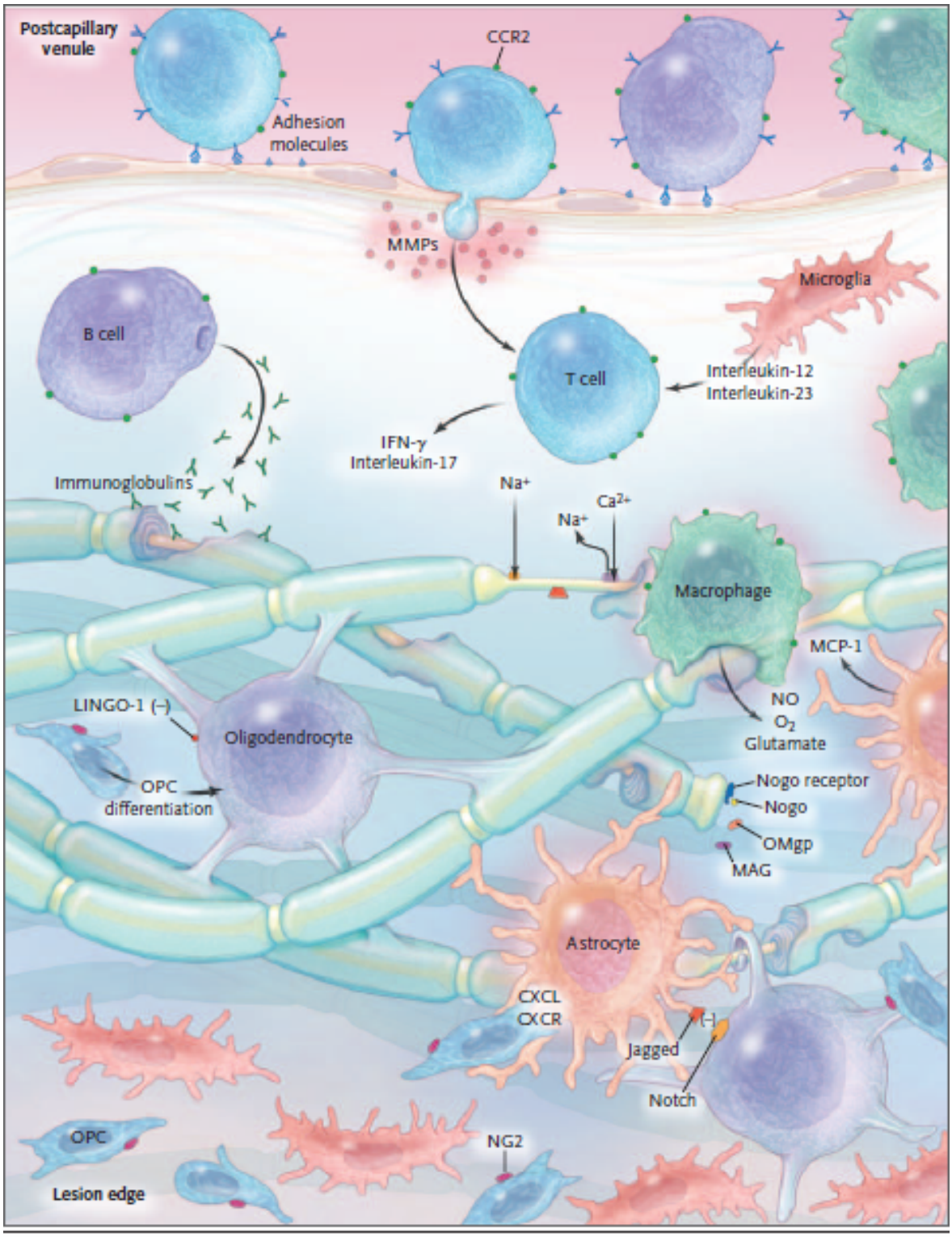
Aktifleşmiş T hücrelerin MSS dokusuna geçerek inflamasyonu başlatması sonunda, MS'un patolojik bulgusu olan, daha çok beyaz cevherde bulunan ve plak adı verilen yamasal lezyonlar ortaya çıkar (Şekil 3) (83).

Multipl skleroz hastalarında çeşitli tipte patolojik lezyonlar tanımlanmıştır (39). Luchinetti ve ark. temel olarak 4 farklı patolojik lezyon tipi tanımlamıştır (39). Tüm tiplerin ortak özelliği T hücre ve makrofaj dominant inflamasyon olmasıdır.

Multipl sklerozda erken dönemlerden itibaren miyelinin koruyucu ve trofik etkilerinin kaybı ile birlikte çıplak kalan aksonlarda dejenerasyon ve geri dönüşümsüz süreç başlamış olur. Çeşitli sitokinler, nitrik oksit, proteazlar, süperoksitler, CD8+ T hücreler ve glutamatın aksonal hasarda rol oynadığı düşünülmektedir. Bu hasarlanma akson boyunca ilerleyerek sonuçta nöron kaybına yol açar. Akson kaybı T1 serilerde 'kara delik', MR spekroskopide N-asetil aspartat azalması şeklinde görüntülenmektedir (84).

Sadece aksonlardan oluşan bir doku olan retinal doku kalınlığında incelme de aksonal kaybın bir başka göstergesidir. Akson kaybının önemli bir göstergesi olan retinal doku kalınlığındaki incelme ile beyin hacminde azalma arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (85). Çocuklarda da MS yanında ON, ADEM, TM gibi diğer inflamatuar demiyelinizan hastalıklarda da retinal doku kaybı görülür (86).

Özellikle başından beri progresif seyir gösteren hastalarda kortikal lezyonlar sık olarak bulunur ve hastanın özürlülük durumuyla orantılıdır. Yüksek çözünürlüklü MRG incelemeleriyle kortikal lezyonların korteksteki tutulum yerine göre dört ayrı tipi belirlenmiştir. Gelişmiş MRG yöntemleriyle sık olarak kortikal lezyonların saptanmasının, MRG tanı kriterleri arasına girmesi düşünülmektedir (87). Çocuklarda kortikal tutulumdan ziyade talamik tutulumun olması patogenezin çocuk hastalarda farklı olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 3: Multipl sklerozda plak oluşumu (99)

Demiyelinizasyon ile birlikte, aksonların miyelin kaybını takiben öncül hücrelerin olgun oligodentrositlere dönüşmesi ve çıplak aksonların bu hücreler ile yeniden miyelin kılıfı ile sarılmaları şeklinde tanımlanan remiyelizasyon süreci başlar. Bu süreçte pek çok immün reaksiyon görev alır. T hücre, B hücre, makrofaj, TNF-α, MMP gibi immün öğeler eksik farelerde remiyelinizasyon bozulmuştur (109). MS patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülen MMP-9 aynı zamanda remiyelinizasyon için de önemli bir faktördür (88).

2.8.3. Neopterin

Multipl skleroz tanısı ve hastalık aktivitesinin saptanmasında kolay uygulanabilir ve ucuz yöntemlerin olması önemlidir. Bu amaçla üzerinde çalışılan çok sayıda belirteçten biri de neopterindir. Neopterin, guanozin trifosfattan sentezlenen düşük molekül ağırlıklı bir moleküldür. İnflamasyon sırasında IFN-γ tarafından aktive edilen monosit ve makrofajlardan salınır ve kanda mononükleer hücrelerin TNF-α salınımını artırır. Böylece IFN-γ'nın dolayısıyla Th1 immün cevabın dolaylı bir belirteci olarak bilinir. Bazı infeksiyöz, neoplastik ve Guillain-Barre sendromu gibi otoimmün hastalıklarda, hastalık aktivitesiyle doğru orantılı olarak artmaktadır(91).

2.9.Tedavi

Multipl skleroz tedavisi, akut atak tedavisi, hastalığın ilerlemesini azaltacak ‘hastalık modifiye edici’ tedavi ve komorbit durumların tedavisi olmak üzere tedavi üç ana planda ve multidisipliner bir yaklaşımla değerlendirilir.

2.9.1. Akut atak tedavisi

Kortikosteroidler atak tedavisinde en sık kullanılan ilaçlardır. Uzun dönemde atak sonrası düzelme derecesini etkilemese de atak süresini kısaltır ve iyileşmeyi hızlandırır (97). Atak sıklığı üzerine etkisi yoktur. Atak sonrası düzelme derecesine etkisi olmadığı için günlük aktiviteyi kısıtlamayan hafif-orta derecede atakların tedavi edilmesine gerek yoktur. İnflamasyonun en yoğun olduğu atak başlangıcında verilmesi etkinliğini artırır. Adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak ve MMP profilini değiştirerek KBB’ni korur ve T lenfositlerin dokuya geçişini azaltır (98). Antiinflamatuar etkisini ise antijene karşı T lenfosit cevabını, MSS’nde antijen sunan hücrelerde MHC-II ekspresyonunu, IFN-γ, IL-2 gibi Th1 sitokinleri azaltarak ve IL-10, TGF-β gibi Th2 sitokinleri artırarak gösterir (99).

Plazmaferez ve intravenöz immünglobulin, kortikosteroid tedavisine cevap vermeyen ya da kortikosteroid kullanımı kontrendike hastalarda kullanılabilir (100,101).

2.9.2. Hastalık modifiye edici tedavi

Erişkin MS tedavisinde onay almış immünmodülatuar ajanlar interferon beta 1-a, interferon beta 1-b ve glatiremar asetattır. Erişkin hastalarda olduğu gibi çocuklarda da tedavide ilk seçenek olarak kullanılması gerektiği düşünülmektedir (102). Atak sıklığını ortalama %30, MRG lezyon sayısını %30-80 oranında azaltmaktadır (103,104). Erken tedaviye başlamak hastalığın seyrini yavaşlatır ve özürlülük gelişme hızını azaltır (105). İlk ataktan sonra tedaviye başlamak ikinci atağın oluşmasını geciktirmekte ve atak şiddetini azaltmaktadır (106).

Tip I interferon grubunda yer alan interferon-β'nın immün aktiviteyi çeşitli basamaklarda etkilediği bilinmekle birlikte tedavi edici etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Genel olarak immün hücreler üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanarak, T-hücre proliferasyonunu azaltma, TNF-α üretimini engelleme, antijen sunumunu azaltma, sitokin üretimini Th2 yardımcı hücre yönüne kaydırma, Th1 lenfositleri inhibe etme, IL-10 sekresyonunu artırma, adhezyon molekülleri, proteazlar ve kemokinleri etkileyerek immün hücrelerin KBB'ni geçmelerini azaltma gibi etkileri bilinmektedir. İki IFNβ-1a ve bir IFNβ-1b preperatı RRMS ve KİS için onay almıştır. IFNβ-1a insanda bulunan doğal IFNβ ile aynıyken, IFN β-1b insandakinden biraz farklı sekansı olan nonglikozile formudur.

Multipl skleroz düşündüren ilk atak yani klinik izole sendrom tanısı alan hastalarda tedavi hala tartışmalı bir konudur. Ancak son dönemde erişkin hastalarda yapılan iki faz 3 çalışması KİS sonrası interferonβ 1-a tedavisinin ikinci atağı geciktirdiğini göstermiştir (105,107). Uzun dönem etkisi

bilinmemekle birlikte bu çalışmalar sonrası KİS'u takiben IFN tedavisine başlanması görüşü ağırlık kazanmıştır.

İmmünmodülatuar ilaçlar yanında, özellikle tedaviye dirençli ve ağır seyreden hastalarda immünsüpresif tedaviler kullanılmaktadır. Mitoksantron ve natalizumab erişkin hastalarda ağır seyreden MS'da (PPRR, SPMS) FDA tarafından onay alan immünsüpresif ilaçlardır.

Multipl skleroz tedavisinde sıklıkla kullanılan ancak henüz onay almamış diğer tedaviler ise aylık pulse MPZ, oral azatioprin, IV siklofosfamid, oral metotreksat, oral mikofenolat mofetil, IVIG, plazmaferez oral fingolimod ve cladribine olarak sıralanabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu ve kontrol grubunun seçilmesi

'Gözden Geçirilmiş Mc Donald Tanı Kriterlerine' göre 18 yaş altında RRMS tanısı alan 1 erkek 13 kız olmak üzere 14 hasta ile genellikle hastaların arkadaşlarından oluşan, yaş ve cinsiyetleri aynı olan 15 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm hasta, kontrol grubu ve velilerine çalışmanın amacı ve uygulanacak yöntem sözel olarak anlatıldı ve hasta ve velilerinden yazılı onam alındı. Bu bir yıl süren prospektif çalışma Sağlık Bakanlığı 1. No'lu Etik Kurulu tarafından etik açıdan uygun görülüp onaylandı.

3.2. Uygulamalar

On üç hastadan tanı sırasında BOS, serum ve idrar örnekleri alındı. Bir hasta BOS alınmasını kabul etmedi ve sadece kan ve idrar örneği alındı. Sekiz RRMS hastasına interferon beta-1a ve interferon beta 1-b (Avonex, Rebif, Betaferon) tedavisi başlandı. Tedavi başlanan bu 8 hasta ile birlikte 12 ÇÇMS hastası en az 1 yıl süreyle takip edildi. Tedaviye başlayıp başlamama kararı tamamen hastanın klinik durumuna ve hasta ve ailesiyle konuşarak tedavinin fayda ve yan etkileri anlatılarak hasta ve ailesinin tercihine göre verildi. Bu durumda hastalık aktivitesi fazla olan ve klinik olarak daha ağır seyredeceği düşünülen hastalara tedavi başlanıp, hastalık aktivitesi hafif olanlara başlanmamış oldu. Bu da her iki grubun hastalık aktivitesi açısından benzer olmaması sonucunu doğurdu. RRMS tanısı alan 2 hasta bir yıldan az süreyle takip edildi ve bu nedenle bir yıl sonra yapılması planlanan serum ve idrar incelemeleri yapılmadı.

Böylece ‘interferon tedavisi alan 8 RRMS’, ‘tedavi almayan 4 RRMS’ hastalarından oluşan 2 grup elde edildi.

Hastalar 3 ay aralarla kontrole çağrıldı. Bu kontroller sırasında nörolojik muayene, EDSS puanlaması ve tedavi alan hastalarda tam kan sayımı ve karaciğer fonksiyon testleri yapıldı. Hastaların durumlarına göre MRG, uyarılmış potansiyeller, EEG gibi ek incelemeler yapıldı. Tüm hastaların EDSS skoru 0-4,5 arasındaydı.

1 yıllık süre sonunda 12 RRMS hastasından tekrar serum ve idrar örnekleri alındı. BOS tekrar alınmadı. Atak sırasında ve sonrasındaki 60 gün içinde örnek alınmadı. Yaş ve cinsiyetleri uygun 15 sağlıklı kontrol grubundan bir kez kan ve idrar örneği alındı.

Alınan kan örnekleri 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrılarak eppendorf tüpüne konuldu. Serum ve idrar örnekleri kullanılacakları zamana kadar -20 derecede saklandı.

Serum ve BOS’nda TNF-α, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IL-23, MMP-7, MMP-9 ve TIMP-2 ile idrar ve serumda neopterin düzeyleri, Gazi üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuarında, ELISA yöntemiyle, aşağıda adı ve seri numaraları yazılı ticari kitler ile, üretici firmaların kullanım kılavuzuna uygun olarak çalışıldı.

TNF-α için Lot:59572084 ve Ref: BMS223INSTCE no’lu e-Bioscience human TNF-α Instant ELISA;

IL-2 için Lot:60254039 ve Ref: BMS221INST no’lu e-Bioscience human IL-2 Instant ELISA

IL-6 için Lot:60038046 ve Ref: BMS213/2CE no'lu e-Bioscience human Platinum IL-6 ELISA

IL-10 için Lot:60197027 ve Ref: BMS215/2CE no'lu e-Bioscience human IL-10 Platinum ELISA

IL-12 için Lot:60726032 ve Ref: BMS238CE no'lu e-Bioscience human IL-12 (p70) Platinum ELISA

IL-17 için Lot:593607006 ve Ref: BMS2017 no'lu e-Bioscience human IL-17A Platinum ELISA

IL-23 için Lot:59104004 ve Ref: BMS2023/2 no'lu e-Bioscience human IL-23 Platinum ELISA

MMP-7 için Lot:280902 R&D Systems Quantikine human total MMP-7 ELISA

MMP-9 için Lot:60800008 ve Ref: BMS216/2CE no'lu e-Bioscience human MMP-9 Platinum ELISA

TIMP-1 için Lot:605900006 ve Ref: BMS2018 no'lu e-Bioscience human TIMP-1 Platinum ELISA

Neopterin için Lot:MNPK 1005, DRG Neopterin ELISA

3.3 İstatistiksel değerlendirme

Çalışmanın istatiksel değerlendirmesi SPSS 17.0 programı (Statistical Package for Social Sciences, version 17.0, SPSS Inc., Chicago, Ill, USA) kullanılarak yapıldı. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluk testi Shapiro-Wilk testi ile yapıldı ve istatistiksel değerlendirmeler için non parametrik tesler kullanıldı. Kategorik verilerin değerlendirmesinde Chi square testi, bağımsız grupların

değerlendirmesinde Mann-Whitney U testi ve bağımlı grupların değerlendirilmesinde ise Wilcoxon testi kullanıldı. P <0.05 değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Olgular

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nörolojisi Polikliniğinde 1 Ocak 2009-1 Ocak 2011 tarihleri arasında 15 ÇÇMS tanısı alan hasta takip edilmiştir. Bir hasta PPMS tanısı aldığı için çalışmaya dahil edilmedi. Kalan 18 yaş altında tanı almış 14 RRMS hastası çalışmaya dahil edildi.

4.2 Olgu ve kontrol grubunun sosyodemografik ve klinik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 14 hastadan 13'ü kız (%92.9), biri erkekti (%7.1) (Tablo 7). Sekiz hastaya interferon beta tedavisi (4 hastaya Rebif, 2 hastaya Avonex, 2 hastaya Betaferon) başlandı.

Bu araştırmanın birincil amacı olarak RRMS hastalarında Th1, Th2 ve Th17 sitokinleri ile MMP-7, MMP-9 ve TIMP-1 BOS ve serum düzeyleri ve neopterin serum ve idrar düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışılarak sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldı.

Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	RRMS		**Sağlıklı kontrol**	
		Ortalama		**Ortalama**
Sayı	14		15	
Yaş	13-20	15,8	8-20	15,4
Kız /erkek	13/1		2/13	
İlk atak yaşı	8-16	12.1		
Tanı yaşı	10-18	13,9		
Hastalık süresi	1-6 yıl	3,5		
Son 1 yılda atak sayısı	0-2	1		
EDSS skoru	0-4,5	1.5		

On iki hasta (Tablo 8) bir yıl süresince takip edildi. Tedavi alan 8 hasta ile tedavi almayan 4 hasta bir yıl sonunda tekrar değerlendirilerek tedavinin bu parametreler üzerine etkisi araştırıldı. Bu bir yıl süresince bir hasta iki, diğer hastalar birer kez atak geçirdi. Bu 9 ataktan 7'sinde puls steroid tedavisi uygulandı.

Tablo 8: Bir yıl süreyle takip edilen RRMS tanısı alan çocuk hastaların demografik özellikleri

	IFN-β tedavisi alanlar	**Tedavi almayanlar**
Sayı	8	4
Yaş	13-17	13-20
Kız /erkek	7/1	4/0
İlk atak yaşı	8-14	10-16
Tanı yaşı	10-15	11-17
Hastalık süresi	2-6 yıl	2-6 yıl
Son 1 yıldaki atak sayısı	1-2	0-1
EDSS skoru	1-4,5	0-1

4.3. Olgu ve kontrol grubunun TNF-α, IL-2, -6, -10, -12, -17 ve -23 düzeyleri

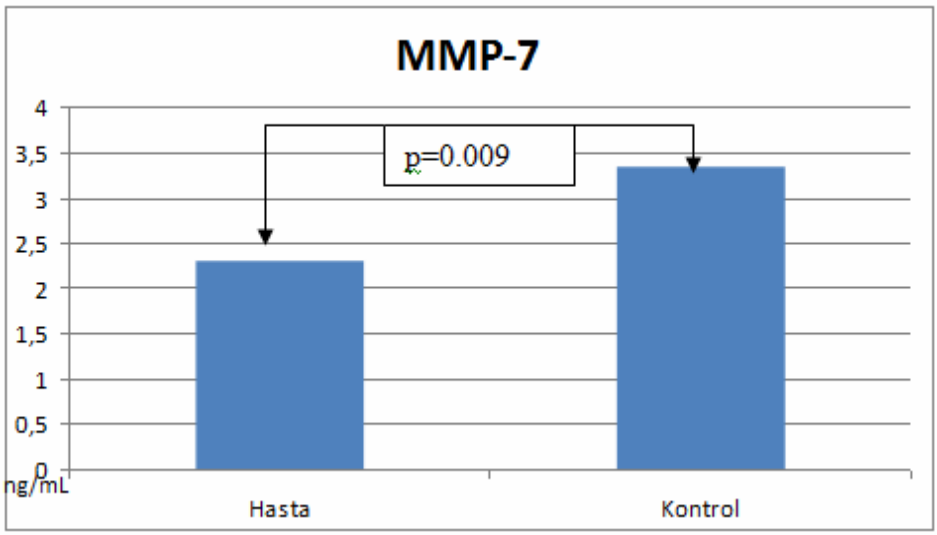
Hastaların beyin omurilik sıvısında, TNF-α, IL-2, -6, -10, -12, -17 ve -23 düzeyleri çoğunlukla ölçülebilir sınırın altında bulundu. Aynı şekilde hasta ve sağlıklı kontrol serumlarındaki düzeyler de genellikle ölçülebilir sınırın altındaydı ve aralarında anlamlı bir fark saptanmadı.

Bir yıl sonra yapılan incelemede de tedavi alan ve almayan hastalarda serum TNF-α, IL-2, -6, -10, -12, -17 ve -23 düzeyleri çoğunlukla ölçülebilir düzeyin altında bulundu ve her iki grup arasında fark görülmedi.

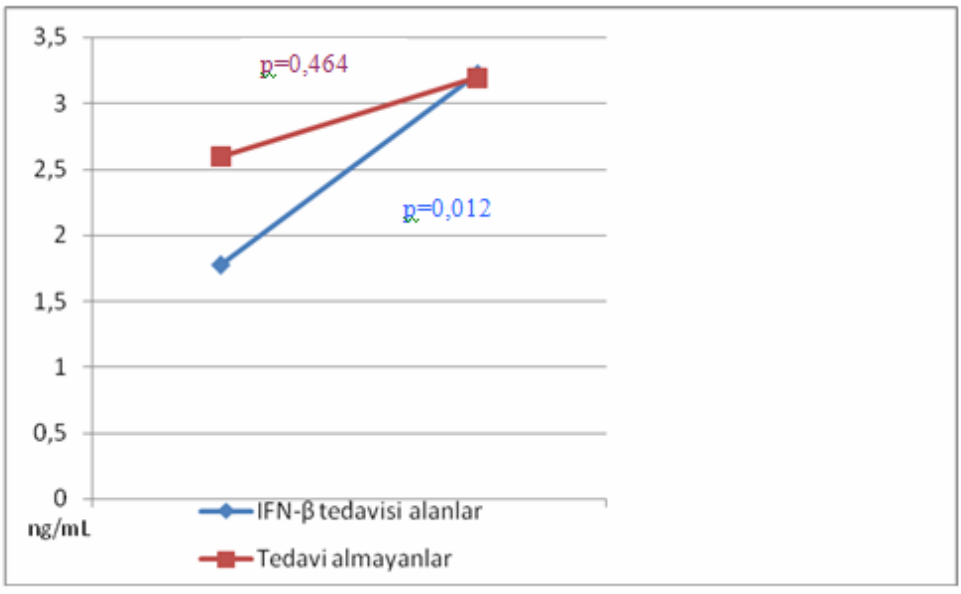
4.3. Olgu ve kontrol grubunun MMP-7, MMP-9, TIMP-1 düzeyleri

4.3.1.MMP-7

Hastalarda BOS MMP-7 düzeyi ölçülebilir sınırın altında saptandı. Serum MMP-7 düzeyi çocuk RRMS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu (hasta 2,309±0.969 ng/ml, kontrol 3,336±0,631 ng/ml ortalama±, p=0,009) (Tablo 9, Grafik 1). Bir yıl sonraki değerlendirmede tedavi alan grupta serum MMP-7 düzeyi belirgin olarak yükselirken (p=0.012), tedavi almayan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi (0.465) (Tablo 10, Grafik 2).



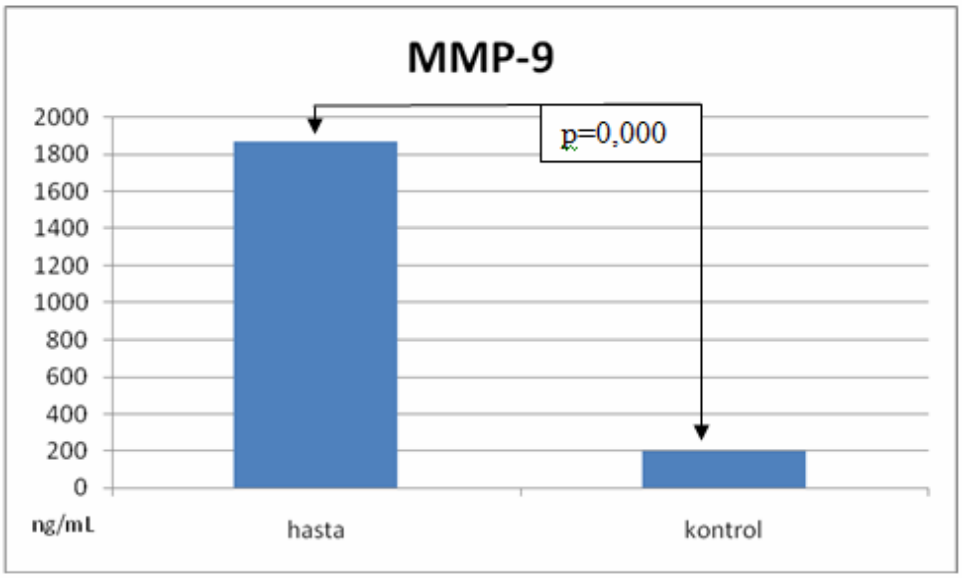
Grafik 1: MMP-7 düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması



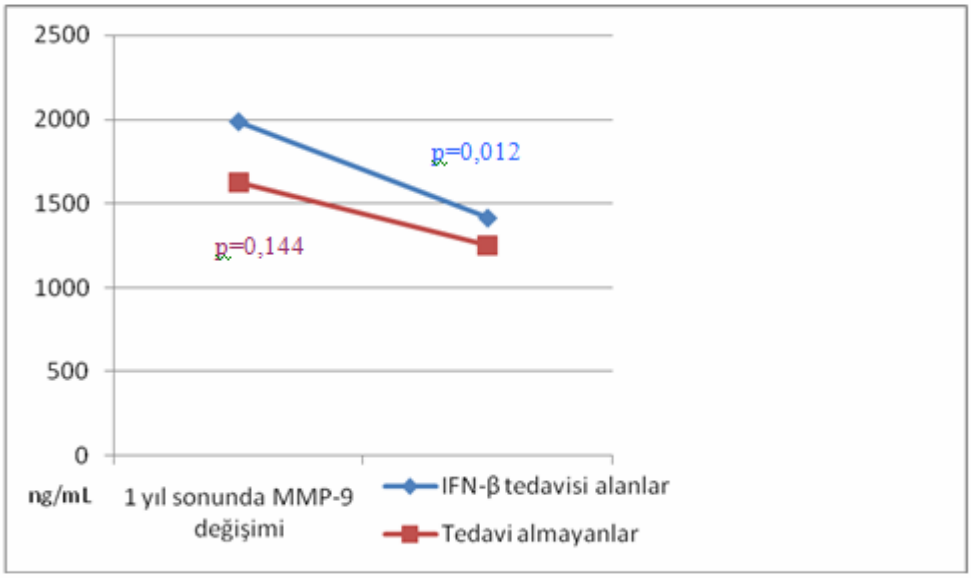
Grafik 2: MMP-7 düzeyinin tedavi alan grup ile tedavi almayan grupta bir yıl sonraki değişimi

4.3.2.MMP-9

Hastalarda BOS MMP-9 düzeyi ölçülebilir sınırın düzeyin altında saptandı. Serum MMP-9 düzeyi ise çocuk RRMS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (hasta 1870±487 ng/ml, kontrol 195±24 ng/ml ortalama±, p=0.000) (Tablo 9, Grafik 3). Bir yıl sonraki değerlendirmede tedavi alan grupta serum MMP-9 düzeyi belirgin olarak azalırken (p=0.012, tedavi almayan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi (p=0.144) (Tablo 10, Grafik 4).



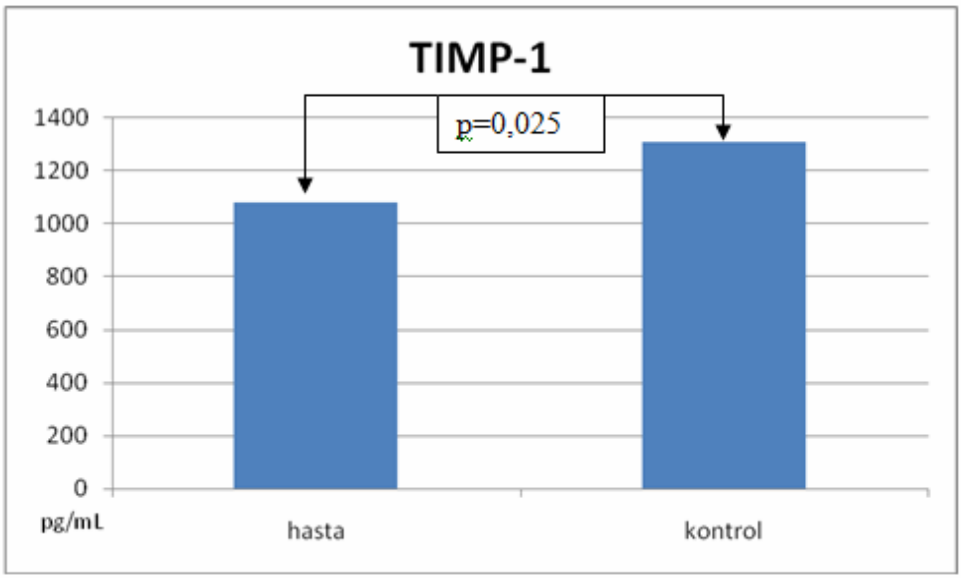
Grafik 3: MMP-9 düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması



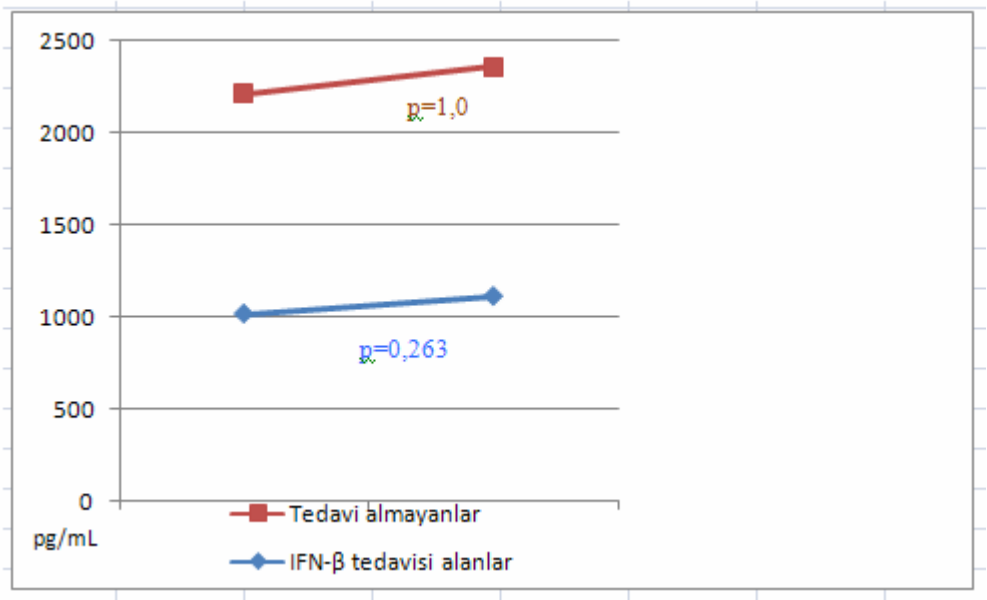
Grafik 4: MMP-9 düzeyinin tedavi alan grup ile tedavi almayan grupta bir yıl sonraki değişimi

4.3.3.TIMP-1

Hastalarda BOS TIMP-1 düzeyi ortalama 120 pg/ml olarak saptandı. Serum TIMP-1 düzeyi çocuk RRMS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin olarak daha düşük bulundu (hasta 1083±317 pg/ml, kontrol 1308±210 pg/ml ortalama±, p=0.025) (Tablo 9, Grafik 5). Bir yıl sonraki değerlendirmede her iki grupta TIMP-1 düzeyi yükselmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 10, Grafik 3).



Grafik 5: TIMP-1 düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması



Grafik 6: TIMP-1 düzeyinin tedavi alan grup ile tedavi almayan grupta bir yıl sonraki değişimi

4.3.4. MMP-9/TIMP-1 Oranı

MMP-9/TIMP-1 oranı RRMS hastalarında kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu (hasta 1,580±0,404 , kontrol 0,153±0,035 ortalama±, p=0.000) (Tablo 9). Bir yıllık takip sonunda tedavi alan grupta bu oran belirgin şekilde azalırken (tedavi öncesi 1,689±0,400, 1 yıl sonrası 1,090±0,477, p=0.046), tedavi almayan gruptaki azalma (tedavi öncesi 1,343±0,443; 1 yıl sonrası 1,017±0,240, p=0.273) istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 10).

Tablo 9: RRMS tanısı alan hastalar ve sağlıklı kontrollerde serum MMP-7, MMP-9, TIMP-1 düzeyleri

		Hasta Serum	Kontrol Serum	P değeri
MMP-7 ng/ml	En az-en fazla	1,21-4,11	2,35-5,03	
	Median	2,02	3,39	
	Ortalama±	**2,30±0.96**	**3,33±0,63**	**0,009**
MMP-9 ng/ml	En az-en fazla	1173-2591	152-228	
	Median	1982	192	
	Ortalama±	**1870±487**	**195,2±24,1**	**0,000**
TIMP-1 pg/ml	En az-en fazla	0-1282	956-1592	
	Median	1142	1389	
	Ortalama±	**1083±317**	**1308±210**	**0,025**
MMP-9 /TIMP-1	En az-en fazla	1,03-2,27	0,10-0,21	
	Median	1,60	0,162	
	Ortalama±	**1,58±0,40**	**0,15±0,03**	**0,000**

Tablo 10: MMP-7, MMP-9, TIMP-1 ve MMP-9/TIMP-1 tedavi öncesi ve sonrası serum değişimleri

		IFN-β tedavisi alanlar			**Tedavi almayanlar**		
		Tedavi öncesi	**1 yıl sonra**	**p Değ.**	**Tedavi öncesi**	**1 yıl sonra**	**p Değ.**
MMP-7 ng/ml	En az-En fazla	1,21-2,67	2,47-5,42		1,55-3,79	2,43-3,82	
	Median	1,700	2,900		2,52	3,26	
	Ortalama ±	**1,77 ±0,49**	**3,22 ±0,94**	**0,012**	2,59 ±0,98	3,19 ±0,58	0,465
MMP-9 ng/ml	En az-En fazla	1304-2591	649-2136		1173-2565	1007-1491	
	Median	2131	1393		1382	1245	
	Ortalama ±	**1987 ±445**	**1412 ±545**	**0,012**	1625 ±634	1247 ±228	0,144
TIMP-1 pg/ml	En az-En fazla	0-1257	0-1554		1139-1282	1087-1462	
	Median	1140	1223		1179	1212	
	Ortalama ±	1018 ±415	1115 ±496	0,263	1194 ±63	1243 ±172	1,0
MMP-9/ TIMP-1	En az-En fazla	1,17-2,27	0,72-1,77		1,03-2,00	0,76-1,32	
	Median	1,70	0,80		1,172	0,99	
	Ortalama ±	**1,68 ±0,40**	**1,09 ±0,47**	**0,046**	1,34 ±0,44	1,01 ±0,24	0,273

4.4. Olgu ve kontrol grubunun neopterin düzeyleri

Serum ve idrar neopterin düzeyleri hasta ve sağlıklı kontrollerde anlamlı olarak farklı bulunmadı (serum hasta 12,60±10,48 nmol/L, kontrol 19,5±13,31 nmol/L, p=0.063; idrar hasta 6065±2601 nmol/L, kontrol 5190±2112 nmol/L ortalama±, p=0.256) (Tablo 11). Bir yıllık süre sonunda tedavi alan hastalarda

serum neopterin düzeyleri belirgin olarak artarken (tedavi öncesi 15,80±12,44nmol/L, 1 yıl sonrası 29,77±10,91nmol/L ortalama±, p=0.025) , tedavi almayan grupta anlamlı bir değişiklik görülmedi (p=0.465) (Tablo 12,13).

Tablo 11: RRMS tanısı alan hastalar ve sağlıklı kontrollerde neopterin düzeyleri

		Hasta serum	**Kontrol serum**	**p Değ.**	**Hasta idrar**	**Kontrol idrar**	**p Değ.**
Neopterin	En az-fazl	0-31,70	8-46		576,0-9331	1166-7357	
	Median	9,05	12,7		6961	6049	
	Ortalama±	12,60±10,48	19,5±13,31	0,063	6065±2601	5190±2112	0,256

Tablo 12: Neopterin tedavi öncesi ve sonrası serum değerleri

		IFN-β tedavisi alanlar		**p Değ.**	**Tedavi almayanlar**		**p Değ.**
		Tedavi öncesi	**1 yıl sonra**		**Tedavi öncesi**	**1 yıl sonra**	
Serum neopterin	En az- faz	0-31,7	6,1-42,7		7,1-18,0	4,0-16,9	
	Median	14,65	33,15		9,25	14,85	
	Ortalama±	**15,80±12,44**	**29,77±10,91**	**0,025**	10,90±	12,65±	0.465

Tablo 13: Neopterin tedavi öncesi ve sonrası idrar değerleri

		IFN-β tedavisi alanlar		**p değ**	**Tedavi almayanlar**		**p Değ.**
		Tedavi öncesi	**1 yıl sonra**		**Tedavi öncesi**	**1 yıl sonra**	
İdrar neopterin	En az-fazl	576-8459	879-8081		2980-8698	1501-8219	
	Median	5618	6093		7224	6799	
	Ortalama±	5321±2751	5781±2486	0,674	6531±2472	5829±3069	0,144

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ÇÇMS tanısı alan hastalarda, MS patogenezinde önemli rolleri olduğu düşünülen Th1 sitokinlerden TNF-α, IL-2 ve IL-12, Th2 sitokinlerden IL-6, IL-10 ve Th17 sitokinlerden IL-17 ve IL-23 ile KBB yıkımında rol oynayan MMP-7, MMP-9 ve MMP-9 doku inhibitörü olan TIMP-1'in BOS ve serum düzeylerini, neopterinin ise serum ve idrar düzeylerini araştırdık. Ayrıca bir yıl interferon beta tedavisi alan ve herhangi bir tedavi almayan hastalarda bu düzeylerdeki değişimi inceledik. Böylece ÇÇMS hastalarında bu parametrelerin düzeyini ve zamanla tedavi alan ve almayan hastalardaki değişimini görerek hastalık patogenezinde etkisi ile tanısı ve takibi güç olan bu hastalıkta tanı, hastalık aktivitesi ve tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılabilir olup olmadıklarını öğrenmeyi amaçladık.

Sitokinlerin MS patogeneziyle ilişkisi deneysel araştırmalar ve erişkin hastalar üzerinde yapılan klinik çalışmalar ile ortaya konmuştur. EAE çalışmalarında bir sitokinin etkisini, o sitokini bloke eden spesifik antikor ile ya da o sitokini kodlayan geni işlevsiz hale getirerek anlamaya çalışılmaktadır.

Antijen sunan hücreler IFN-γ, IL-12 ve IL-18 salgıladıklarında, farklılaşmamış T hücreler Th1 yönüne faklılaşıp IL-2, TNF-α, IFN-γ gibi proinflamatuar sitokinler salgılayarak intrasellüler patojenlere karşı hücre aracılı immüniteyi aktive ederler (53,108). Buna karşın ortamda IL-4, IL-10, TGF-beta gibi sitokinler olduğunda Th2 yönüne farklılaşarak IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 gibi antiinflamatuar sitokinler salgılayarak immun düzenleyici olarak davranırlar ve hümoral immüniteyi harekete geçirirler (53).

Multipl skleroz tedavisinde genel kabul görmüş tedavilerden IFN-β ve GA Th1/Th2 oranını Th2 yönünde değiştirmektedir (109,110). Ancak Th1/Th2 oranındaki değişikliğin bu ilaçların tedavi edici etkisi ile mi oluştuğu yoksa inflamasyondaki azalmanın mı bu değişikliğe yol açtığı henüz bilinmemektedir.

Son dönemde Th1 hücreler gibi IFN-γ ya da Th2 hücreler gibi IL-4 salgılamayan, buna karşın fazla miktarda IL-17 üreten T hücreler Th1 ve Th2'den ayrı bir grup olarak Th17 hücreler adıyla tanımlanmıştır (111). Bazı araştırmacılar temel olarak salgıladıkları interlökine göre, her farklı interlökin için farklı yardımcı T hücre grubunun olduğunu iddia etse de bugün için Th1, Th2 ve Th17 olmak üzere üç yardımcı T hücre grubu olduğu kabul edilmektedir. Th1 ve Th2 gibi Th17 hücreler de kendi sitokinlerini üretir: IL-17 (IL-17A), IL-17F, IL-22 ve IL-21. Th17 hücreler de Th1 ve Th2 hücreler gibi farklılaşmamış CD4+T hücrelerden köken alır (54). T hücreler antijenle karşılaştıklarında ortamda TGF-β ile birlikte IL-6 ya da IL-21 varlığında TH17 hücrelere dönüşür (112,113). IL-23 Th17 hücreler tarafından üretilmemekle birlikte, Th17 hücrelerin aktivitelerinin devamı için gereklidir. IL-23 yokluğunda Th17 hücreler hızla ortamdan kaybolmaktadır.

Erişkin MS hastaları ve EAE ile yapılan çok sayıda çalışmada MS hastalarında patolojik sürecin bir T hücre alt grubu olan Th1 hücreler ve onların ürettikleri proinflamatuar sitokinlerle gerçekleştiği gösterilmiştir (55,114). Th2 hücreler antiinflamatuar sitokinler üreterek inflamasyonu baskılayıcı etki gösterirler. Yani MS'e karşı koruyucu etkileri vardır. Son dönemlerde ise MS

patogenezinde ana rolü Th17 hücrelerin oynadığı görüşü giderek ağırlık kazanmaktadır.

Çocuk hastalarda yeterli çalışma olmaması ve bu dönemin hastalığın başlangıç dönemi ve ilerleyen yıllara göre daha aktif dönemi olması nedeniyle, bu sitokinlerin çocuklardaki düzeyini, dolayısıyla hastalığın patogenezindeki rolünü anlayabilmek amacıyla, her üç hücre grubundan sitokin düzeylerini araştırdık. Böylece Th1 sitokinlerden TNF-α, IL-2 ve IL-12, Th2 sitokinlerden IL-6 ve IL-10, Th17 sitokinlerden de IL-17 ve IL-23'ü çalışmaya dahil ettik.

5.1.Th1 Sitokinler

TNF-α proinflamatuar mediatörlerin prototipidir ve Th1 hücreler yanında makrofaj, astrosit ve mikroglial hücreler tarafından üretilir (115). İnfeksiyon ve inflamasyonun en erken dönemlerinde salınır. Multipl skleroz hastalarında serum ve BOS'ında arttığı gibi, MS plağında da bol miktarda bulunmaktadır (116,117,118). Bir çalışmada; TNF-α verilerek deneysel olarak farelerde MS benzeri tablo oluşturulmuştur (119), ancak TNF-α blokajıyla tedavi çalışmaları umulduğu gibi sonlanmamıştır. TNFR1 füzyon proteini olan lenercept tedavide başarılı olmadığı gibi tedavi öncesine ve kontrol grubuna kıyasla atak sayısı ve şiddetini artırmıştır (120). Dahası romatoid artrit tedavisinde kullanılan TNFR2 füzyon proteini olan etanercept ve anti-TNF-α antikoru olan infliximab, MS hastası olmayanlarda MS benzeri demiyelinizan lezyonlara yol açmıştır (121). Bu tedavi başarısızlıklarının nedeni araştırıldığında, TNF-α'nın TNFR2 yoluyla olgunlaşmamış oligodentrositleri uyararak remiyelinizasyonu artırıcı etkisi de

olduğu saptanmıştır (122). Yani TNF-α proinflamatuar bir sitokin olmakla birlikte, MS hastalarında remiyelinizasyonu uyararak iyileşme sürecini hızlandırmaktadır.

Erişkin RRMS hastalarında atak sırasında periferik kan lökositlerinde IL-2 düzeyi artarken, remisyon dönemlerinde normale dönmektedir (123). IL-2, MSS'nde daha çok astrositler tarafından üretilir ve yeni lezyon gelişimi sırasında geçici olarak yükselir.

IL-12, IL-18 ile birlikte T hücrelerin Th1 yönünde farklılaşmasını sağlar. Bu farklılaşmayı IL-12 ve tip1 interferon gibi sitokinler T hücrelerinde transkripsiyon faktör Stat-4 aktive ederek gerçekleştirir. IL-12 p40 ve p35 adı verilen iki subunitten oluşan heterodimerik bir yapıdır. IL-12 p40 eksik fareler hem Th1 hücre üretemezler hem de EAE'e tamamen dirençlidirler (124). MS hastalarında da BOS ve plaklarda IL-12 düzeyi artmıştır ve hastalık aktivitesiyle IL-12p40 düzeyi arasında arasında doğru orantı saptanmıştır (125).

IL-12p40 sitokinin MS gelişimindeki etkisinin anlaşılmasını takiben, anti-IL-12p40 antikorunun kullanıldığı bir faz II çalışmasında tedavi edici etkinin görülmemesi hayal kırıklığı yaratmıştır (126). IFN-β'nın Th2 artırıcı etkiyle tedavi edici etkisini ortaya koyduğu düşünülürken, yapılan klinik çalışmalarda tam tersine Th1 oranını artırdığı görülmüştür.

Erişkin hastalarda ve EAE çalışmalarında plak, BOS ve serumda artmış Th1 sitokinleri gösterilmesi nedeniyle, hastalık aktivitesinin yüksek olduğu yeni tanı almış çocuk MS hastalarında da Th1 aktivitesinin yüksek olabileceğini varsayarak yaptığımız bu çalışmamızda, çocuk MS hastalarında tanı sırasında ya

da bir yıl sonraki takibinde serum ve BOS'ında farklılaşmamış T hücreleri Th1 yönüne farklılaşmasını sağlayan IL-12 ya da Th1 sitokinleri olan TNF-α ve IL-2 düzeylerinde artış gösterilemedi.

5.1.Th2 Sitokinler

Hayvan modellerinde farklılaşmamış T hücrelerin Th2 yönüne farklılaşmasını sağlayan IL-4 verildiğinde Th2 oranının arttığı ve hastalık aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiştir. Buna karşın bu hipotezi doğrulamayan araştırmalar da yayınlanmıştır. Bir çalışmada kuvvetli bir antiinflamatuvar Th2 sitokini olan IL-10'un hastalık aktivitesini azaltmadığı gibi tam tersine artırdığı görülmüştür (127). Yine de IL-10'un MS için koruyucu olduğu ve özellikle ataklar sırasında düzeyinde azalma olduğu genel kabul görmektedir. Özellikle progresif seyir sırasında bu azalma daha belirgin olmaktadır (128).

IL-6 diğer bir Th2 sitokini olup aktif T hücre ve makrofajlardan salgılanır. Ancak son yıllarda tanımlanan ve MS patogenezinde birincil rolü oynadığına inanılan Th17 hücreleri de uyardığı görülmüştür (129,130). Böylece hem proinflamatuar hem de antiinflamatuar etkileri vardır. IL-6 eksik farelerin EAE'e dirençli olmaları nedeniyle tedavi için hedef olabileceği düşünülmüştür (105,131). IL-6 eksikliği, T hücre cevabını Th1 den Th2 yönüne kaydırarak MS gelişimine karşı koruyucu olmaktadır. Erişkin MS hastalarında periferik kan lökositlerinde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek oranda saptanmıştır. Bu yükselme atak sırasında en fazla olmaktadır.

Çalışmamızda ise ÇÇMS tanısı alan hastalarımızda IL-6 ve IL-10 BOS ve serum düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre farklı olmadığı ve ölçülebilir düzeyin altında olduğunu gördük.

5.1.Th17 Sitokinler

Multipl skleroz hastalarında serum ve BOS'nda yüksek miktarda IL-17 gösterilmiştir (60). Yine beyindeki MS plaklarında T hücrelerin Th17 hücrelere farklılaşmasını sağlayan IL-6 ve Th17 hücreler tarafından üretilen IL-17 genleri artmış şekilde eksprese edilmektedir (132). Lezyonların optik sinir ve spinal korda sınırlı olan MS hastalarında, diğer MS hastalarına göre serum ve BOS'nda IL-17 ve IL-8 daha yüksek oranda bulunmuştur (133). Hatta BOS'ndaki IL-17 düzeyi spinal kord lezyonlarının ağırlığı ile doğru orantılıdır (133).

Th17 hücrelerin aktivitelerini devam ettirmeleri için IL-23'e gereksinim duymaktadır (134,135). IL-23 eksik farelerin de fonksiyonel Th17 hücreleri olmadığı için EAE'e dirençli olduğu görülmüştür (136). IL-17, MS hastalarında endotelyal hücrelerde, periferik monositlerde ataklar sırasında saptanırken, IFN-β ve GA tedavisiyle azalmaktadır (60).

IFNβ-1b ile tedavi edilen RRMS hastalarında bir yıl sonunda IL-12p40, IL-23 ve Th17 hücrelerinde anlamlı azalma görülmüştür (61). Multipl skleroz için koruyucu etkisi olduğu bilinen Vitamin D bu koruyucu etkisini IL-23/12p40 düzeyini azaltarak göstermektedir.

Farklılaşmamış T hücrelerin, ortamda TGF-β ve IL-6 varlığında Th17 hücrelere farklılaşmasını takiben, Th17 hücreler yüzeylerinde IL-23 reseptörleri

oluşturmaya başlar. IL-23'te bu reseptörlere bağlanarak Th17 hücre sayısını artırırken, aynı zamanda IL-22 üretimini uyarır ve IL-10 ile IFN-γ üretimini baskılar (112). Yani IL-23, farklılaşmamış T hücrelerin Th17 yönüne farklılaşmasını sağlayamaz, ancak oluşmuş Th17 hücrelerin artmasını sağlar ve diğer hücre yönlerine farklılaşmasını engeller. IFN-γ ve IL-4 üretildikleri Th1 ve Th2 hücreleri otokrin bir şekilde uyararak giderek artmalarına yol açarken IL-17'nin Th17 hücreler üzerine böyle bir etkisi yoktur. Bunun yerine IL-2 familyasından bir interlökin olan ve Th17 hücreler tarafından üretilen IL-21, TGF-β ile birlikte Th17 hücreleri uyarır (113).

IL-23'ün MS patogenezinde önemli bir rol oynadığının anlaşılmasıyla bu sitokine yönelik klinik çalışmalar planlanmıştır. Antihuman p40 antikoru olan ustekinumab RRMS hastalarında faz II çalışmasında kullanılmış ancak başarılı bulunmamıştır (126). Buna karşın bu hasta grubunda IL-23 ve Th17 hücreler ile ilişkili olan psöriasis hastalarının deri bulgularının gerilediği görülmüştür. Tedavideki bu başarısızlık antikorun KBB'ni geçememesi ya da MS patogenezinin sadece CD4+T hücreler üzerinden değil aynı zamanda IL-23 üretmeyen CD8+ T hücreler üzerinden de olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Daha sonra farklılaşmamış T hücrelerin Th1 yönüne farklılaşmasını sağlayarak MS gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülen IL-12'nin p40 alt ünitesine karşı geliştirilen anti-IL-12p40 tedavisinin başarıya ulaşmamasının nedeni araştırıldığında, IL-12'nin IL-23 ile karıştırıldığı fark edildi. Her iki sitokin de ortak olarak p40 subunitine sahipken, IL-23'ün p35 yerine p19 içerdiği

görüldü (137). Bunun üzerine yapılan çalışmada IL23-p35 eksik farelerin hastalık duyarlılığına bakıldı ve dirençli olmak bir yana daha da duyarlı oldukları görüldü (137,138,139). Bu bulgular MS patogenezinde IL-12 değil de, IL-23'ün esas sorumlu olduğunu göstermiştir (140,141). Yani EAE, IL-12 ve Th1 hücrelerden ziyade IL-23 aracılı inflamasyon sonucu gelişir. IL-23 bulunan ortamda faklılaşan T hücreler otoimmünitenin esas nedenidir. Bu hipotez, IL-23 ile aktive edilmiş IL-17 üreten T hücrelerin farelerde EAE geliştrmesiyle doğrulanmıştır (134). Yine akut ve kronik MS plaklarında IL-17 reseptörleri bulunurken kontrollerde saptanmamıştır (142).

Son yıllarda dikkat çeken ve MS patogenezinde önemi fark edilen Th17 hücrelerin çocuk hastalardaki durumunu görmek için araştırdığımız IL-12, IL-17 ve IL-23 serum ve BOS düzeylerinde, deneysel ve erişkin MS hastalarıyla yapılan çalışmaların aksine, ÇÇMS hastalarında sağlıklı kontrollere göre belirgin bir fark gözlemedik.

Çalışmamızda sitokinlerden hiç birinin çocuk MS hastalarında BOS ya da serumda anlamlı olarak farklı bulunmaması, bu sitokinlerin patolojik süreç sonunda zamanla düzeylerinin değiştiğini ya da lokal olarak beyin lezyonlarında ya da hücre içi ile yakın çevresinde değişip serum ya da BOS düzeylerinin değişmediğini düşündürmektedir.

5.2.Matriks Metalloproteinazlar

Çalışmamızın ikinci bölümünde, yine deneysel alerjik ensefalit ve erişkin klinik çalışmalarında, MS patogenezinde önemli rolü olduğu anlaşılan MMP-7 ve

MMP-9 ile MMP-9 inhibitörü olan TIMP-1'in ÇÇMS hastalarında serum ve BOS değerlerini inceledik. Multipl skleroz ile özellikle hastalığın aktivitesi ile yakından ilişkisi olduğu gösterilen MMP-9 ve onun inhibitörü olan TIMP-1 ile, erişkin hastalarda bile üzerinde az sayıda çalışma yapılmış olan MMP-7'nin BOS ve serum düzeylerini inceledik. Serum düzeylerini sağlıklı kontrol serumlarıyla karşılaştırarak anlamlı fark olup olmadığına baktık. Bir yıllık süre sonunda tedavi alan ve almayan hastalarda bu düzeylerdeki değişikliği karşılaştırdık.

MMP-9 ve TIMP-1

Tüm MMP'lar MS patogeneziyle aynı oranda ilişkili değildir. 14 MS hastası ve 8 sağlıklı kontrolle yapılan bir çalışmada bilinen tüm MMP ve inhibitörlerinin RNA ekspresyonu bakıldığında MMP-9, MMP-14, MMP-19, TIMP-1, TIMP-2 RNA ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı, IFN-β tedavisiyle MMP-8, MMP-9, MMP-19 düzeylerinin azaldığı görülmüştür (94). Plaklarda astrosit, mikroglia, endotel hücreleri ve makrofajlarda MMP-2, -3, -7 ve -9 ekspresyonu artmıştır. Yine EAE'te klinik olarak hastalık aktivitesi fazlayken, MMP-9 ve MMP-7 düzeyi de yüksek bulunmuştur. Erişkin MS hastalarında MMP-9 BOS düzeyi artmış, MMP-2, -3 ve -7 düzeyi ise normal bulunmuştur. MMP-9 düzeyi hastalık aktivitesi ile BOS'nda değişmezken, serumda ataklar sırasında daha yüksek düzeyde bulunur. Deneysel alerjik ensefalit olan farelerde de MMP-9, MMP-3, MMP-12 gibi MMP'ların arttığı bilinmektedir (143). Buna karşın bazı MMP'ların hastalık üzerine koruyucu etkisi vardır. MMP-12 eksikliği farelerde EAE şiddetinin artmasına neden olur (78).

Metal şelatör özelliği olan antibiyotik minosiklinin MMP-9 aktivitesini azalttığı bilinmektedir. Minosiklin verilen EAE'li farelerde klinik olarak hastalık aktivitesiyle birlikte, MMP-9 düzeyinin, MMP-9 protein sentezinin, T hücrelerin fibronektin matriks bariyerler içindeki hareketinin ve lökositlerin MSS'ye geçişinin azaldığı görülmüştür (79).

Erişkin MS hastalarında serum ve BOS'nda MMP-9 düzeyinin arttığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (144,145,146,147). Bu artış RRMS hastalarında ve MRG aktivitesi yoğun olan hastalarda daha belirgindir (148-155). Henüz kesin MS tanısı almamış KİS tanılı hastaların takiplerinde, MS tanısını koyduran ikinci atak geçiren hastalarda MS tanısı almayanlara göre daha yüksek oranlarda MMP-9 düzeyi saptanmıştır (156). Diğer yandan MMP-9 inhibitörü olan TIMP-1 serum ve BOS düzeyleri de MS hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulunmuştur (152-154).

Hastalık aktivitesinin arttığı dönemlerde MMP-9 düzeyi artmakta ve onun dokudaki inhibitörü olan TIMP-1 düzeyi ise azalmaktadır (148). Yine IFN-β tedavisine cevap veren MS hastalarında MMP-9 seviyesi tedavi öncesi döneme göre düşmekte, TIMP-1 ise yükselmektedir. Tedaviye cevap vermeyen hastalarda ise bu değişiklikler gözlenmemektedir. Sonuç olarak özellikle MMP-9/TIMP-1 oranı hastalık aktivitesini gösteren önmeli bir parametre olarak saptanmıştır. Özellikle ataklar sırasında artan BOS ve kan MMP-9 düzeyi KBB'nin yıkımında rol oynar ve kortikosteroid tedavisiyle yapılan atak tedavisiyle bu etki önemli derecede azalır (155,157). MMP-9 ataklar sırasında kısa süreli yükselmeler gösterirken, MMP-2 düzeyi özürlülük düzeyi ile doğru orantılı olarak artar. Yani

MMP-9 KBB'nin yıkımı ile MMP-2/TIMP-2 oranı ise daha çok hastalığın progresyonu ile ilişkilidir (153).

IFN-β tedavisi ile hem MMP-9/TIMP-1 oranı düşmekte hem de MRG'de lezyon sayısında artış yavaşlamaktadır (158). MMP-9/TIMP-1 oranı ile gadolinyum tutan aktif MS lezyonları azasında pozitif korelasyon vardır.

RRMS hastalarında IFN β-1b tedavisi sonrası hastalık aktivitesi ile birlikte MMP-8 ve MMP-9 düzeylerinde anlamlı azalmalar (61) ve TIMP-1 düzeyinde artış (159,160) görülür. MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerindeki bu değişiklikler MRG'de yeni lezyon gelişimin de azalmayla korelasyon göstermektedir (161).

Bütün bu araştırmalar MMP-9'un MS patogenezinde önemli bir rol oynadığı ve hastalık aktivitesiyle MMP-9 miktarı arasında doğru orantı olduğunu göstermektedir. MMP-9/TIMP-1 dengesinin MMP-9 lehine bozulması proteolitik aktiviteyi artırmakta, dolayısıyla KBB yıkımını hızlandırmaktadır. Bizim çalışmamızda da ÇÇMS hastalarında serumda MMP-9 düzeyleri ve MMP-9/ TIMP-1 oranı anlamlı derecede yüksek bulundu. Erişkin hastalarda yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, sağlıklı kontrollere göre ÇÇMS hastalarında daha belirgin fark saptandı. Bu da bize sitokinlerin aksine MMP-9'un hastalığın erken dönemlerinden itibaren yüksek seyrettiği, dolayısıyla patolojik sürecin sonucundan ziyade bizzat patolojik sürece neden olabileceğini düşündürmektedir. Serumda MMP-9 yüksekliği ve TIMP-1 düşüklüğü ÇÇMS tanısında ve tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılabilir. Özellikle MMP-9/TIMP-1 oranı hastalığın en aktif olduğu başlangıç döneminde en yüksekken zamanla bu düzey azalmakta ve bu düşüş interferon beta tedavisiyle anlamlı derecede hızlanmaktadır.

MMP-7

Multipl skleroz için gecikmiş tip hipersensitivite modelinde en fazla artan MMP tipi MMP-7 olmuştur (162). Yine multipl skleroz hastalarında BOS ve plaklarda yüksek MMP-7 aktivitesi gösterilmiştir (163-167). Bu aktivite özellikle KBB'nin endotel tarafında belirgindir. Bu da MMP-7'nin özellikle KBB yıkımınına neden olduğunun bir göstergesidir.

Miyelin ilişkili glikoprotein ile oluşturulan EAE'e MMP-7 eksik farelerin dirençli olduğu gösterilmiştir (168). MMP-7'nin aktif hale gelmiş immün hücrelerin MSS dokusuna geçmesini kolaylaştırarak hastalığa zemin hazırladığı öne sürülmüştür. MMP-7 ve MMP-9, MS yanında deneysel alerjik nörit ve Guillain-Barre sendromu gibi periferik sinir sistemi demiyelinizan bozukluklarda da yüksek bulunmuştur (169).

MMP-7 MS gelişimine, MMP-2 ve MMP-9 gibi MS patogenezinde rol oynayan moleküllerin düzeylerini artırarakta katkıda bulunmaktadır (170).

TNF-α gibi proinflamatuar bazı sitokinler MMP-7 ekspresyonunu artırmaktadır (171,172). İnterferon beta tedavisi sonrası RRMS hastalarında MMP-7 ve MMP-9 düzeyleri azalmaktadır (79,173). IFN-β tedavisinin en önemli etkisi T hücrelerin KBB'ni geçip MSS'ye girişini azaltmasıdır. IFN-β etkinliği nötralizan antikorların etkisiyle azalınca MMP'ler üzerindeki etki de azalır.

Çalışmamızda ÇÇMS hastalarında serum MMP-7 düzeylerini incelediğimiz zaman, deneysel modeller ve erişkin hastalarla yapılan çalışmaların aksine sağlıklı kontrollere göre MMP-7 düzeyinin daha düşük olduğunu saptadık. Dahası interferon beta tedavisiyle bu düzeylerde anlamlı olarak artışlar görüldü.

Bu bulgu MMP-7'nin hastalığı artırıcı etkisinden çok, patolojik süreç sonunda arttığını göstermektedir. Çalışmamızdaki hasta sayısı göz önüne alındığında, bu bulgunun daha yüksek sayıda hasta üzerinde doğrulanması gerektiğini düşünmekteyiz.

5.3.Neopterin

Çalışmamızda son olarak RRMS hastalarında IFN biyolojik cevap belirteci olarak bilinen neopterinin serum ve idrar düzeylerini araştırdık. İnvazif olmayan bir yöntem olan idrarda neopterin ölçümü ile erişkin hastalarda hastalık aktivitesinin anlaşılabileceğine dair çalışmalar vardır (89,90,91).

Erişkin MS hastalarında yapılan az sayıda çalışmada karşıt sonuçlar görülmüştür. Ataklar sırasında sağlıklı kontrollere göre BOS ve serum neopterin düzeyleri artmıştır (89). Yine ataklar sırasında daha belirgin olmak üzere progresif ve RRMS hastalarında idrar neopterin atılımı artmış bulunmuştur (90). Buna karşın bazı çalışmalarda neopterin düzeylerinin MS hastalarında değişmediği ve MRG aktivitesiyle korelasyon göstermediği görülmüştür (91,92,95).

Neopterin IFN-β etkinliğinin biyolojik bir belirtecidir. IFN-β tedavisi alanlarda serum düzeyi artmakta, IFN-β'ya karşı nötralizan antikor geliştiren hastalarda ise bu düzey azalmaktadır (93).

Başka bir çalışmada hastalık aktivitesinin yoğun olduğu atak dönemlerinde idrar neopterin düzeyinin arttığı, remisyon dönemlerinde düşük seyrettiği, bu nedenle hastalık aktivitesini göstermek amacıyla kullanılabileceği gösterilmiştir

(95). Yine neopterin kan düzeyi IFN-β tedavisine cevabı değerlendirmede kullanılabilir (96).

Bizim çalışmamızda da erişkin hastalarla yapılan çoğu çalışmada olduğu gibi RRMS tanısı alan çocuklarda serum ve idrar neopterin düzeyleri sağlıklı kontrollerle farklılık göstermedi. Ancak tedavi sonrasında serum neopterin düzeyi belirgin bir şekilde yükseldi. Bu da bize özellikle serum neopterin düzeyinin interferon beta tedavisine cevabı değerlendirmede kullanılabileceğini göstermiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda tanısı ve takibi özellikle çocukluk döneminde güç olan bu hastalığın patogenezine biraz ışık tutabilmek ve erişkin hastalarda düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptanan bazı sitokinler, neopterin ve matriks metalloproteinazların düzeylerini saptayarak klinik pratikte kullanılabilir olup olmadıklarını saptamaya çalıştık. Multipl skleroz patogenezinde sorumlu tutulan Th1 ve Th17 sitokinlerden TNF-α, IL-2, IL-12, IL-17 ve 23 ile MS gelişimine karşı koruyucu olduğu düşünülen Th2 sitokinlerden IL-6 ve IL-10 düzeylerinin çocuk hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre farklı olmadığını ve bir yıllık süre sonunda hastalar tedavi alsın ya da almasın bu düzeylerde herhangi bir değişiklik olmadığını gördük. Bu sitokinlerin düzeyleri genellikle ölçülebilir sınırın altında saptandı. Bu da bize bu sitokinlerdeki değişikliğin lezyonla sınırlı lokal bir çevrede olduğunu ya da hastalık ilerledikçe patolojik sürecin sonucu olarak ortaya çıktığını düşündürdü.

MMP düzeylerine gelince, erişkin çalışmalarına paralel olarak, MMP-9 düzeyinin çocuk hasta serumlarında, hastalığın başından beri yüksek olduğunu ve tedaviyle bu düzeyin azaldığını gördük. IFN-β tedavisi almayanlarda ise anlamlı bir değişiklik görmedik. Aynı şekilde MMP-9'un doğal inhibitörü olan TIMP-1 düzeyleri de hasta çocuklarda daha düşük bulundu ve bu düzeyler tedavi alan çocuklarda yükselmeye başladı. Sonuç olarak ÇÇMS hastalarında da MMP-9 ve TIMP-1 düzeyi ile MMP9/TIMP-1 oranının hastalığın tanısında ve tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılabileceğini gördük. Hastalık patogeneziyle ilişkili olduğu düşünülen MMP-7 düzeylerinde ise literatürden farklı sonuçlar elde ettik.

ÇÇMS hastalarında hastalığın erken dönemlerinde MMP-7 düzeyi sağlıklı çocuklara göre anlamlı derecede düşük bulundu. IFN-β tedavisiyle bu düzeylerde bir yıl sonunda anlamlı yükselmeler görüldü. Tedavi almayan grupta ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Bu sonuç bize, MMP-7 düzeyinin ÇÇMS hastalarında, deneysel alerjik ensefalit ya da erişkin MS olgularının aksine, düşük olduğu ve MMP-7'nin MS gelişiminin nedeni olmasından ziyade patolojik sürecin sonucu olarak hastalığın ilerleyen dönemlerinde yükselme eğiliminde olduğunu düşündürdü.

7. KAYNAKLAR

1. Simone IL, Carrara D, Tortorella C, et al. Course and prognosis in earlyonset MS: comparison with adult-onset forms. Neurology. 2002;59:1922– 1928.

2. Belman AL, Chitnis T, Renoux C, et al. Challenges in the classification of pediatric multiple sclerosis and future directions. Neurology 2007;68(Suppl 2):S70–S74

3. Medaer R. Does the history of multiple sclerosis go back as far as the 14th century? Acta Neurol Scand 60:189 –192, 1979.

4. Mikaeloff Y, Suissa S, Vallee L, Lubetzki C, Ponsot G, Confavreux C et al. First episode of acute CNS inflammatory demyelination in childhood: prognostic factors for multiple sclerosis and disability. J Pediatr 144:246 –252, 2004.

5. Krupp LB, Banwell B, Tenembaum S. Consensus definitions proposed for pediatric multiple sclerosis and related disorders. Neurology. 2007; 68(suppl 2):S7–S12.

6. Kurtzke JF. Multiple sclerosis: changing times. Neuroepidemiology 1991;10:1-8.

7. Banwell B, Kennedy J, Sadovnick D, et al. Incidence of acquired demyelination of the CNS in Canadian children. Neurology. 2009;72:232–239.

8. Banwell B, Ghezzi A, Bar-Or A, et al. Multiple sclerosis in children: clinical diagnosis, therapeutic strategies, and future directions. Lancet Neurol. 2007; 6:887–902.

9. Boiko A, Vorobeychik G, Paty D, et al. Early onset multiple sclerosis: a longitudinal study. Neurology. 2002;59:1006 –1010.

10. Ghezzi A, Pozzilli C, Liguori M, et al. Prospective study of multiple sclerosis with early onset. Mult Scler. 2002;8:115–118.

11. Ruggieri M, Iannetti P, Polizzi A, et al. Multiple sclerosis in children under 10 years of age. Neurol Sci. 2004;25(suppl 4):S326 –S335.

12. Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP, et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. Ann Neurol 1993;33:281-5.

13. Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH. Multiple sclerosis: updated risks for relatives. Am J Med Genet 1988;29:533-41.

14. Meier DS, Balashov KE, Healy B, et al. Seasonal prevalence of MS disease activity. Neurology® 2010;75:799–806

15. Ascherio A, Munger KL. Environmental Risk Factors for Multiple Sclerosis. Part II: Noninfectious Factors . Ann Neurol 2007;61:288–299

16. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin F et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol 50:121–127, 2001.

17. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. Ann Neurol 2005; 58: 840–46.

18. Pohl D, Rostasy K, Reiber H, Hanefeld F. CSF characteristics in early-onset multiple sclerosis. Neurology 63:1966 –1967, 2004.

19. Tamlan LS, Bisker ER, Sackel DJ, et al. Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. Ann Neurol 2010;67:749–760

20. Kermode AG, Thompson AJ, Tofts P, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP et al. Breakdown of the blood– brain barrier precedes symptoms and other MRI signs of new lesions in multiple sclerosis. Brain 113:1477–1489, 1990.

21. Hahn CD, Shroff MM, Blaser SI, Banwell BL. MRI criteria for multiple sclerosis: evaluation in a pediatric cohort. Neurology 62:806–808, 2004.

22. Callen DJ, Shroff MM, Branson HM, et al. MRI in the diagnosis of pediatric multiple sclerosis. Neurology. 2008;72:961–967.

23. Neuteboom RF, Boon M, Catsman Berrevoets CE, et al Prognostic factors after a first attack of inflammatory CNS demyelination in children. Neurology 2008;71:967–973.

24. Mikaeloff Y, Adamsbaum C, Husson B, et al. MRI prognostic factors for relapse after acute CNS inflammatory demyelination in childhood. Brain. 2004;127(pt 9):1942–1947.

25. Chabas D., Castillo-Trivino T., Mowry E.M., et al. Vanishing MS T2-bright lesions before puberty A distinct MRI phenotype. Neurology® 2008;71:1090–1093

26. Dale RC, Pillai SC. Early relapse risk after a first CNS inflammatory demyelination episode: examining international consensus definitions. Dev Med Child Neurol. 2007;49:887– 893.

27. Ghassemi R, Antel SB, Narayanan S, et al. Lesion distribution in children with clinically isolated syndromes. Ann Neurol. 2008;63:401– 405.

28. Wilejto M, Shroff M, Buncic JR, et al. The clinical features, MRI findings, and outcome of optic neuritis in children. Neurology. 2006;67:258 –262.

29. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, et al. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. Neurology. 2006;66:1485–1489.

30. Tenembaum S, Chitnis T, Ness J, et al. Acute disseminated encephalomyelitis. Neurology. 2007;68(suppl 2):S23–S36.

31. Pidcock F, Krishnan C, Crawford T, et al. Acute transverse myelitis in childhood: center-based analysis of 47 cases. Neurology. 2007;68:1447– 1449.

32. Pinhas-Hamiel O, Barak Y, Siev-Ner I, Achiron A. Juvenile multiple sclerosis: clinical features and prognostic characteristics. J Pediatr 132:735–737, 1998.

33. Ghezzi A, Ruggieri M, Trojano M, Filippi M. Italian studies on early-onset multiple sclerosis: the present and the future. Neurol Sci 25 (Suppl 4):S346 – S349, 2004.

34. Banwell, B. et al. Clinical features and viral serologies in children with multiple sclerosis: a multinational observational study. Lancet Neurol. 6, 773–781 (2007).

35. Brito ML, Ferreira B. Cognitive deficits in multiple sclerosis a systematic review. Arq Neuropsiquiatr 2010;68(4):632-641.

36. Amato MP, Goretti B, Ghezzi A, et al. Cognitive and psychosocial features in childhood and juvenile MS. Neurology® 2010;75:1134–1140

37. Miller DH, Weinshenker BG,Filippi M, et al. Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis a consensus approach. Multiple Sclerosis 2008; 14: 1157–1174

38. Venkateswaran S, Banwell B. Pediatric Multiple Sclerosis. The Neurologist 2010;16: 92–105

39. Lucchinetti C., Bru¨ck W., Parisi J., et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions Implications for the pathogenesis of demyelination. Ann Neurol 2000;47:707–717.

40. Calabrese M., Rocca M.A., Atzori M,et al.A 3-year magnetic resonance imaging study of cortical lesions in relapse-onset multiple sclerosis . Ann Neurol 2010;67:376–383.

41. Hemmer B., Töpfner N., Hartung H.P. Immunopathogenesis of multiple sclerosis. Neurobiology of Disease. 197-204, 2007.

42. Huang D., Grant A.R.. Advances in the Immune Pathogenesis and Treatment of Multiple Sclerosis. Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, 2009, 9, 20-31.

43. Pettinelli CB, McFarlin DE. Adoptive transfer of experimental allergic encephalomyelitis in SJL/J mice after in vitro activation of lymph node cells by

myelin basic protein: requirement for Lyt 1+ 2- T lymphocytes. J Immunol 1981;127:1420-3.

44. Bahbouhi B., Pettre S., Berthelot L.,et al.T cell recognition of self-antigen presenting cells by protein transfer assay reveals a high frequency of anti-myelin T cells in multiple sclerosis. Brain 2010: 133; 1622–1636.

45. Karman J, Ling C, Sandor M, Fabry Z. Initiation of immune response in brain is promoted by local dendritic cells. J Immunol 2004;173:2353–2361.

46. Wucherpfennig KW, Strominger JL. Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. Cell 1995;80:695–705.

47. Scholz C, Patton KT, Anderson DE, Freeman GJ, Hafler DA. Expansion of autoreactive T cells in multiple sclerosis is independent of exogenous B7 costimulation. J Immunol 1998;160:1532-8.

48. MehlingM., Lindberg R., Raulf F., et al.Th17 central memory T cells are reduced by FTY720 in patients with multiple sclerosis. Neurology 2010;75:403–410.

49. Baron R, Nemirovsky A, Harpaz I, Cohen H, Owens T, Monsonego A. IFN-gamma enhances neurogenesis in wild-type mice and in a mouse model of Alzheimer's disease. FASEB J 2008;22:2843–2852.

50. Balashov K.E., AungL.L., Dembinsky A.V.,et al. Interferon-beta inhibits toll-like receptor 9 processing in multiple sclerosis. Ann Neurol 2010

51. Schnare M, Barton GM, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses. Nat Immunol 2001;2:947– 950.

52. Lehnardt S, Massillon L, Follett P, et al. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:8514–8519.

53. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J Immunol. 1986 Apr 1;136(7):2348-57

54. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annu Rev Immunol 1989;7: 145-73.

55. Khoruts A, Miller SD, Jenkins MK. Neuroantigen-specific Th2 cells are inefficient suppressors of experimental autoimmune encephalomyelitis induced by effector Th1 cells. J Immunol 1995;155:5011–5017.

56. Huang Y., Erdmann N., Hexum T.D., Zheng J. Cytokines and Chemokines. Neuroimmune Pharmacology. T. Ikezu and H.E. Gendelman (eds.), 183-205.

57. Ketlınskıy S.A., Kalınına N.M. Cytokines in Demyelinating Diseases. Cytokines and the Brain , Edited by C. Phelps and E. Korneva , 455-483.

58. Nicholson LB, Kuchroo VK. Manipulation of the Th1/Th2 balance in autoimmune disease. Curr Opin Immunol 1996; 8:837–842.

59. van Oosten BW, Lai M, Hodgkinson S, et al. Treatment of multiple sclerosis with the monoclonal anti-CD4 antibody cM-T412: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, MR-monitored phase II trial. Neurology 1997;49:351–357.

60. Durelli L., Conti L., Clerico M.,et al. T-helper 17 cells expand in multiple sclerosis and are inhibited by interferon-β. Ann Neurol 2009;65:499–509. 70

61. Weiner H.L. A shift from adaptive to innate immunity a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. J Neurol (2008) 255 [Suppl 1]:3–11.

62. Ouyang W, Kolls J.K., Zheng Y. The Biological Functions of T Helper 17 Cell Effector Cytokines in Inflammation. j.immuni.2008.03.004.

63. KroenkeM.A., SegalB.M. IL-23 modulated myelin-specific T cells induce EAE via an IFNγ driven, IL-17 independent pathway. Brain, Behavior, and Immunity (2010)

64. Kleinschek MA, Owyang AM, Joyce- Shaikh B, et al. IL-25 regulates Th17 function in autoimmune inflammation. J Exp Med 2007;204:161-70.

65. Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, et al. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. Nat Immunol 2006;7:937-45.

66. Zhang X., Markovic-Plese S. Interferon beta inhibits the Th17 cell-mediated autoimmune response in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. Clinical Neurology and Neurosurgery 112 (2010) 641–645.

67. Kasper L.H, Shoemaker J. Multiple sclerosis immunology The healthy immune system vs the MS immune system. Neurology 2010;74(Suppl 1):S2–S8 .

68. Kasper L, Bergeron A, Noelle R, Channon J. Enhanced T regulatory cell conversion in relapsing multiple sclerosis: response to treatment with glatiramer acetate. Mult Scler 2009;15(suppl 2):S118 –S119.

69. Smolders J., Damoiseaux J.,Menheere P.,Hupperts R. Vitamin D as an immune modulator in multiple sclerosis, a review. Journal of Neuroimmunology 194 (2008) 7–17.

70. Correale J, Villa A. Isolation and characterization of CD8_ regulatory T cells in multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2008;195:121–134.

71. Tintore M., Rovira A., Rio J., et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis. Neurology 2008;70:1079–1083.

72. Szabo K.A., Ablin R.J., Singh G.. Matrix metalloproteinases and the immune response. Clinical and Applied Immunology Reviews 4 (2004) 295–319

73. Agrawal S.M., Lau L., Yong V.W.. MMPs in the central nervous system Where the good guys go bad. Seminars in Cell & Developmental Biology 19 (2008) 42–51

74. HoS.Y., Catalanotto F.A., Lisak R.P., et al. Zinc in multiple sclerosis. II Correlation with disease activity and elevated plasma membrane-bound zinc in erythrocytes from patients with multiple sclerosis. Ann Neurol 20:7 12-715, 1086.

75. Gasche Y, Copin JC. Matrix metalloproteinases and inflammatory diseases of the central nervous system. Matrix metalloproteinases in tissue remodeling and inflammation, 2009, Birkhauser ed.,123-152

76. Rosenberg G.A. Matrix metalloproteinases and their multiple roles in neurodegenerative diseases. Lancet Neurol 2009; 8: 205–16.

77. Murphy G., Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. Molecular Aspects of Medicine 29 (2008) 290–308.

78. DaSilva A.G., Yong V.W.. Matrix Metalloproteinase-12 Deficiency Worsens Relapsing-Remitting Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in Association with Cytokine and Chemokine Dysregulation. The American Journal of Pathology, Vol. 174, No. 3, March 2009 .

79. Yong V.W., Zabad R.K., Agrawal S., et al. Elevation of matrix metalloproteinases (MMPs) in multiple sclerosis and impact of immunomodulators. Journal of the Neurological Sciences 259 (2007) 79–84 .

80. Shiryaev S.A., Savinov A.Y., Cieplak P, et al. Matrix Metalloproteinase Proteolysis of the Myelin Basic Protein Isoforms Is a Source of Immunogenic Peptides in Autoimmune Multiple Sclerosis. PLoS ONE 4(3): e4952. 2009.

81. Ram M, Sherer Y, Shoenfeld Y. Matrix Metalloproteinase-9 and Autoimmune Diseases. Journal of Clinical Immunology, Vol. 26, No. 4, July 2006.

82. Rosenberg G.A . Matrix Metalloproteinases and Neuroinflammation in Multiple Sclerosis. Neuroscientist 2002; 8; 586 .

83. Frohman E.M., Racke M.K., Raine C.S. Multiple Sclerosis — The Plaque and Its Pathogenesis. N Engl J Med 2006;354:942-55.

84. Bjartmar C, Kidd G, Mork S, Rudick R, Trapp BD. Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients. Ann Neurol 2000; 48:893-901.

85. Gordon-Lipkin E., Chodkowski B., Reich D.S., et al. Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. Neurology® 2007;69:1603–1609 .

86. Yeh E.A., Weinstock-Guttman B., Lincoff N., et al. Retinal nerve fiber thickness in inflammatory demyelinating diseases of childhood onset. Mult Scler 2009; 15; 802

87. Filippo M., Rocca M.A., Calabrese M, et al. Intracortical lesions Relevance for new MRI diagnostic criteria for multiple sclerosis. Neurology® 2010;75:1988–1994

88. Larsen PH, Wells J, Stallcup WB, Opdenakker G, Yong VW. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) facilitates remyelination by processing the inhibitory NG2 proteoglycan. J Neurosci 2003;23:11127–11135.

89. Shaw CE, Dunbar PR, Macaulay HA, Neale TJ (1995) Measurement of immune markers in the serum and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients during clinical remission. J Neurol 242:53–58

90. Giovannoni G, Lai M, Kidd D et al (1997) Daily urinary neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis. Brain 120:1–13

91. Rudzite V, Berzinsh J, Grivane I et al (1996) Serum tryptophan, kynurenine, and neopterin in patients with Guillain- Barré-syndrome (GBS) and multiple sclerosis (MS). Adv Exp Med Biol 398:183–187

92. Giovannoni G, Miller DH, Losseff NA et al (2001) Serum inflammatory markers and clinical/MRI markers of disease progression in multiple sclerosis. J Neurol 248:487–495

93. Cook S.D., Quinless J.R., Jotkowitz A., et al. Serum IFN neutralizing antibodies and neopterin levels in a cross-section of MS patients. Neurology 2001;57:1080–1084

94. Bernal F., Elias B., Hartung H.P., Kieseier B.C. Regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors by interferon-beta a longitudinal study in multiple sclerosis patients. Mult Scler 2009 15: 721.

95. Bagnato F., Durastanti V., Finamore L., Volante G., Millefiorini E.. Beta-2 microglobulin and neopterin as markers of disease activity in multiple sclerosis. Neurol Sci (2003) 24:S301–S304.

96. Casoni F, Merelli E, Bedin R, Sola P, Bertolotto A, Faglioni P. Is serum neopterin level a marker of responsiveness to interferon beta-1a therapy in MS. Acta Neurol Scand 2004: 109: 61–65.

97. Oliveri R, Valentino P, Russo C, et al. Randomized trial comparing two different high doses of methylprednisolone in MS: a clinical and MRI study. Neurology 1998;50:1833-6

98. 330. Droogan A, Crockard A, McMillan S, et al. Effects of intravenous methylprednisolone therapy on leukocyte and solubele adhesion molecule expression in MS. Neurology 1998;50:224-9

99. Almawi W, Beyhum H, Rahme A, et al. Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids. J Leukoc Biol 1996;60:563-72.

100. Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM, et al. A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. Ann Neurol 1999;46:878-86.

101. Sorensen P, Haas J, Sellebjerg F, et al. IV immunoglobulins as add-on treatment to methylprednisolone for acute relapses in MS. Neurology 2004;63:2028-33.

102. Ghezzi A, Amato M, Annovazzi P, et al. Long-term results of immunomodulatory treatment in children and adolescents with multiple sclerosis: the Italian experience. Neurol Sci 2009;30:193-9.

103. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Neurology 43:655– 661, 1993.

104. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing

multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). Ann Neurol 39: 285–294, 1996.

105. Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownscheidle CM, Murray TJ et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. N Engl J Med 343:898 –904, 2000.

106. Coyle PK. Early treatment of multiple sclerosis to prevent neurologic damage. Neurology 2008;71 (Suppl 3):S3–S7

107. Comi G, Filippi M, Barkhof F, et al. Interferon beta 1a (Rebif) in patients with acute neurological syndromes suggestive of multiple sclerosis: a multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Neurology 2000;54:Suppl 3:A85-A86.

108. Gutcher I, Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. J Clin Invest 2007; 117:1119–1127.

109. Kozovska ME, Hong J, Zang YC, et al. Interferon beta induces T-helper 2 immune deviation in MS. Neurology 1999; 53:1692–1697.

110. Miller A, Shapiro S, Gershtein R, et al. Treatment of multiple sclerosis with copolymer-1 (Copaxone): implicating mechanisms of Th1 to Th2/Th3 immune-deviation. J Neuroimmunol 1998; 92:113–121.

111. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. Nat Immunol 2005;6:1123-32.

112. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, et al. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. Nat Immunol 2007; 8:1390–1397.

113. Miossec P., Korn T., Kuchroo V.K.. Interleukin-17 and Type 17 Helper T Cells. N Engl J Med 2009;361:888-98.

114. Ando DG, Clayton J, Kono D, Urban JL, Sercarz EE. Encephalitogenic T cells in the B10.PL model of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) are of the Th-1 lymphokine subtype. Cell Immunol 1989; 124:132-43.

115. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies integrating mammalian biology. Cell 2001; 104:487–501.

116. Hofman FM, Hinton DR, Johnson K, Merrill JE. Tumor necrosis factor identified in multiple sclerosis brain. J Exp Med 1989; 170:607–612.

117. Sharief MK, Hentges R. Association between tumor necrosis factor-alpha and disease progression in patients with multiple sclerosis. N Engl J Med 1991; 325:467–472.

118. Maimone D, Gregory S, Arnason BG, Reder AT. Cytokine levels in the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 1991; 32:67–74.

119. Taoufik E, Tseveleki V, Euagelidou M, et al. Positive and negative implications of tumor necrosis factor neutralization for the pathogenesis of multiple sclerosis. Neurodegener Dis 2008; 5:32–37.

120. TNF neutralization in MS: results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. The Lenercept Multiple Sclerosis Study Group and the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. Neurology 1999; 53:457–465.

121. Sicotte NL, Voskuhl RR. Onset of multiple sclerosis associated with anti-TNF therapy. Neurology 2001; 57:1885–1888.

122. Arnett HA, Mason J, Marino M, et al. TNF alpha promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. Nat Neurosci 2001; 4:1116–1122.

123. Inoges S, Merino J, Bandres E, et al. Cytokine flow cytometry differentiates the clinical status of multiple sclerosis patients. Clin Exp Immunol 1999;115:521–535.

124. Leonard JP, Waldburger KE, Goldman SJ. Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against interleukin 12. J Exp Med 1995; 181:381–386.

125. Comabella M, Balashov K, Issazadeh S, et al. Elevated interleukin-12 in progressive multiple sclerosis correlates with disease activity and is normalized by pulse cyclophosphamide therapy. J Clin Invest 1998; 102:671–678.

126. Segal BM, Constantinescu CS, Raychaudhuri A, Kim L, Fidelus-Gort R, Kasper LH. Repeated subcutaneous injections of IL12/23 p40 neutralising antibody, ustekinumab, in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a

phase II, double-blind, placebo-controlled, randomised, dose-ranging study. Lancet Neurol 2008;7:796–804.

127. Cannella B, Gao YL, Brosnan C, Raine CS. IL-10 fails to abrogate experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neurosci Res 1996; 45:735– 746.

128. Djordjevic D, Jovicic A, Kataranovski M, et al. Interleukin-10 possible immunomodulatory role in multiple sclerosis patients. Mult Scler 1997;3:314–20.

129. Okuda Y, Sakoda S, FujimuraH, et al. IL-6 plays a crucial role in the induction phase of myelin oligodendrocyte glucoprotein 35-55 induced experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neuroimmunol 1999; 101:188–196.

130. Okuda Y, Sakoda S, Saeki Y, et al. Enhancement of Th2 response in IL-6-deficient mice immunized with myelin oligodendrocyte glycoprotein. J Neuroimmunol 2000; 105:120–123.

131. Raine CS. The Dale E. McFarlin Memorial Lecture: the immunology of the multiple sclerosis lesion. Ann Neurol 1994; 36:Suppl:S61-S72.

132. Lock C, Hermans G, Pedotti R, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. Nat Med 2002;8:500-8.

133. Ishizu T, Osoegawa M, Mei FJ, et al. Intrathecal activation of the IL-17/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. Brain 2005;128:988-1002.

134. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. J Exp Med 2005; 201:233–240.

135. Lovett-Racke A.E., Yang Y., Racke M.K.. Th1 versus Th17 Are T cell cytokines relevant in multiple sclerosis. Biochimica et Biophysica Acta (2010)

136. Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. Nat Immunol 2007; 8:345–350

137. Oppmann B, Lesley R, Blom B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. Immunity 2000; 13:715–725.

138. Becher B, Durell BG, Noelle RJ. Experimental autoimmune encephalitis and inflammation in the absence of interleukin-12. J Clin Invest 2002; 110:493– 497.

139. Gran B, Zhang GX, Yu S, et al. IL-12p35-deficient mice are susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis: evidence for redundancy in the IL-12 system in the induction of central nervous system autoimmune demyelination. J Immunol 2002; 169:7104–7110.

140. Zhang GX, Gran B, Yu S, et al. Induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-12 receptor-beta 2-deficient mice: IL-12 responsiveness is not required in the pathogenesis of inflammatory demyelination in the central nervous system. J Immunol 2003; 170:2153 2160.

141. Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. Nature 2003; 421:744–748.

142. Matusevicius D, Kivisakk P, He B, et al. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. Mult Scler 1999;5: 101-4.

143. Ulrich R., Baumgartner W., Gerhauser I., et al. MMP-12, MMP-3, and TIMP-1 Are Markedly Upregulated in Chronic Demyelinating Theiler Murine Encephalomyelitis. J Neuropathol Exp Neurol _ Volume 65, Number 8, August 2006,783-793.

144. Kieseier BC, Seifert T, Giovannoni G, Hartung HP. Matrix metalloproteinases in inflammatory demyelination. Targets for treatment. Neurology 1999; 53: 20_/25.

145. Leppert D, Lindberg RLP, Kappos L, Leib SL. Matrix metalloproteinases: multifunctional effectors of inflammation in multiple sclerosis and bacterial meningitis. Brain Res Rev 2001; 36: 249_/57.

146. Opdenakker G, Nelissen I, Van Damme J. Functional roles and therapeutic targeting of gelatinase B and chemokines in multiple sclerosis. Lancet Neurol 2003; 2: 747_/56.

147. Yong VW, Power C, Forsyth P, Edwards DR. Metalloproteinases in biology and pathogenesis of the nervous system. Nat Rev Neurosci 2001; 2: 502_/11.

148. Leppert D, Ford J, Stabler G, Grygar C, Lienert C, Huber S et al . Matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) is selectively elevated in CSF during relapses and stable phases of multiple sclerosis. Brain 1998; 121: 2327_/34.

149. Lee MA, Palace J, Stabler G, Ford J, Gearing A, Miller K. Serum gelatinase B, TIMP-1 and TIMP-2 levels in multiple sclerosis. A longitudinal clinical and MRI study. Brain 1999; 122: 191_/97.

150. Waubant E, Goodkin DE, Gee L, Bacchetti P, Sloan R, Stewart T et al . Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. Neurology 1999; 53: 1397_/401.

151. Sellebjerg F, Madsen HO, Jensen CV, Jensen J, Garred P. CCR^32, matrix metalloproteinase-9 and disease activity in multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2000; 102: 98_/106.

152. Liuzzi GM, Trojano M, Fanelli M, Avolio C, Fasano A, Livrea P et al . Intrathecal synthesis of matrix metalloproteinase-9 in patients with multiple sclerosis: implication for pathogenesis. Mult Scler 2002; 8: 222_/28.

153. Avolio C, Ruggieri M, Giuliani F, Liuzzi MG, Leante R, Riccio P et al . Serum MMP-2 and MMP-9 are elevated in different multiple sclerosis subtypes. J Neuroimmunol 2003; 136: 46_/53.

154. Sastre-Garriga J, Comabella M, Brieva L, Rovina A, Tintore` M, Montalban X. Decreased MMP-9 production in primary progressive multiple sclerosis patients. Mult Scler 2004; 10: 376_/80.

155. Rosenberg GA, Dencof JE, Correa N, Reiners M, Ford CC. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis. Relation to blood_/brain barrier injury. Neurology 1996; 46: 1696_/32.

156. Correale J, de los Milagros Bassani Molinas M. Temporal variations of adhesion molecules and matrix metalloproteinases in the course of MS. J Neuroimmunol 2003; 140: 198_/209.

157. Rosenberg G.A., Dencoff J.E., Correa N., et al. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis Relation to blood-brain barrier injury. Neurology 1996;46:1 626-1632.

158. Avolio C., Filippi M., Tortorella C., Rocca M.A., et al. Serum MMP-9/TIMP-1 and MMP-2/TIMP-2 ratios in multiple sclerosis relationships with different magnetic resonance imaging measures of disease activity during IFN-beta-1a treatment. Mult Scler 2005; 11; 441.

159. Karabudak R., Kurne A., Guc D., et al. Effect of interferon β-1a on serum matrix metalloproteinase – 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1) in relapsing remitting multiple sclerosis patients. J Neurol (2004) 251 : 279–283.

160. Boz C, Ozmenoglu M, Velioglu S., et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1) in patients with relapsing–remitting multiple sclerosis treated with interferon beta. Clinical Neurology and Neurosurgery 108 (2006) 124–128.

161. Waubant E. , Goodkin D., Bostrom A., et al. IFN lowers MMP-9 TIMP-1 ratio, which predicts new enhancing lesions in patients with SPMS. NEUROLOGY 2003;60:52–57.

162. Anthony DC, Miller KH, Fearn S, Townsend MJ, Opendakker G, Wells GMA, Clements JM, Chandler S, Gearing AJH, Perry VH: Matrix metalloproteinase expression in an experimentallyinduced DTH model of Multiple sclerosis in the rat CNS. J Neuroimmunol 1998, 87:62-72.

163. Maeda A, Sobel RA: Matrix metalloproteinases in the normal human central nervous system, microglial nodules and multiple sclerosis lesions. J Neuropathol Exp Neurol 1996, 55:300-309.

164. Cuzner ML, Gveric D, Strand C, Loughlin AJ, Paemen L, Opdenakker G, Newcombe J: The expression of tissue type plasminogen activator, matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors in the central nervous system in multiple sclerosis: comparison of stages in lesion evolution. J Neuropathol Exp Neurol 1996, 55:1194-1204.

165. Anthony DC, Ferguson B, Matyzak MK, Miller KM, Esiri MM, Perry VH: Differential matrix metalloproteinase expression in cases of multiple sclerosis and stroke. Neuropathol Appl Neurobiol 1997, 23:406-415.

166. Cossins JA, Clements JM, Ford J, Miller KM, Pigott R, Vos W, Valk P Van der, De Groot CJ: Enhanced expression of MMP-7 and MMP-9 in demyelinating multiple sclerosis lesions. Acta Neuropathol 1997, 94:590-596.

167. Ozenci V, Rinaldi L, Teleshova N, Matusevicius D, Kivisakk P, Kouwenhoven M, Link H: Metalloproteinaese and their tissue inhibitors in multiple sclerosis. J Autoimmun 1999, 12:297-303.

168. Buhler L.A., Samara R, Guzman E, et al. Matrix metalloproteinase-7 facilitates immune access to the CNS in experimental autoimmune encephalomyelitis. BMC Neuroscience 2009, 10:17

169. Kieseier B.C., Clements J.M., Pischel H.B., et al. Matrix metalloproteinases MMP-9 and MMP-7 are expressed in experimental autoimmune neuritis and the guillain-barré syndrome. Ann Neurol 1998;43:427-434

170. Ethell DW, Buhler LA: Fas ligand-mediated apoptosis in degenerative disorders of the brain. J Clin Immunol 2003, 23:361-368.

171. Galboiz Y, Shapiro S, Lahat N, Rawashdeh H, Miller A: Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors as markers of disease subtype and response to interferon-beta therapy in relapsing and secondary-progressive multiple sclerosis patients. Ann Neurol 2001, 50(4):443-451. 206

172. Ethell IM, Ethell DW: Matrix Metalloproteinases in brain development and remodeling: Synaptic functions and targets. J Neurosci Res 2007, 85:2813-2823.

173. Yong VW, Zabad RK, Agrawal S, Goncalves Dasilva A, Metz LM: Elevation of matrix metalloproteinases (MMPs) in multiple sclerosis and impact of immunomodulators. J Neurol Sci 2007, 259:79-84.

8. ÖZET

Çocukluk Çağı Multipl Skleroz Hastalarında TNF-α, IL-2,-6,-10,-12,-17,-23, MMP-7, MMP-9, TIMP-1 BOS ve Serum ile Neopterin Serum ve İdrar Düzeyleri ve İnterferon-β Tedavisi Sonucu Değişimleri

Çocukluk çağı MS hastalığı nisbeten nadir görülmesi ve çocukluk döneminde pek çok herediter ve inflamatuar hastalıklarla benzer klinik özellikler göstermesi nedeniyle, tanı ve takibinde zorluklar olan bir hastalıktır. Hastalık aktivitesini gösteren belirteçlerin bulunmaması bu zorlukların en önemli nedenidir.

Çocukluk çağı MS patogenezinde rol oynadığı düşünülen yardımcı T (Th) hücrelerden Th1, Th2 ve Th17 hücre gruplarının ürettikleri bazı sitokinler; kan beyin bariyeri ve beyin dokusunun yıkımında rol oynayan matriks metalloproteinazlar (MMP-7 ve-9) ve MMP doku inhibitörü TIMP-1'nin beyin omurilik sıvısı (BOS) ve serum düzeyleri ile neopterin serum ve idrar düzeylerini inceledik. Bir yıllık interferon beta tedavisi alan ve tedavi almadan takip edilen hastalarda bu belirteçlerin değişimlerini gözledik.

Bu amaçla 18 yaşından önce relapsing remitting MS (RRMS) tanısı almış 14 çocuk hasta çalışmaya dahil edildi. BOS, serum ve idrar örnekleri alındı. 8 hastaya interferon beta (Avonex, Rebif, Betaferon) tedavisi başlandı. Bir yıl sonra hastalardan tekrar serum ve idrar örnekleri alındı. Aynı yaş ve cinsiyette 15 sağlıklı kontrol grubu ile birlikte BOS ve serum örneklerinden IL-2,-6,-10,-12,-

17,-23, MMP-7, MMP-9 ,TIMP-1 düzeyleri, serum ve idrar örneklerinden de neopterin düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışıldı.

Sonuç: İnterlökinlerden hiçbirinin düzeylerinde sağlıklı kontrollere göre anlamlı fark saptanmadı ve bu düzeyler çoğunlukla ölçülebilir miktarın altındaydı. Benzer şekilde neopterin idrar ve serum düzeylerinde MS hastalarında sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi. Ancak serum neopterin düzeyi tedavi alan hastalarda belirgin artış gösterdi. MMP-9 düzeyi RRMS hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulundu. İnterferon beta tedavisi alan hastalarda bu düzeyler belirgin olarak azaldı. TIMP-1 düzeyi hasta grubunda anlamlı derecede düşük bulundu ve tedavi sonrası bu düzey anlamlı derecede yükseldi. MMP-9/TIMP-1 oranı da hasta çocuklarda belirgin derecede yüksekken, bu oranda tedavi sonrasında yine belirgin derecede azalma görüldü. MMP-7 düzeyi ise RRMS hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. IFN-β tedavisiyle düzeyi anlamlı derecede yükselirken, tedavi almayanlarda belirgin bir artış görülmedi.

Çocukluk çağı MS hastalarında serum ve BOS MMP-7, MMP-9, TIMP-1 düzeyleri ile MMP-9/TIMP-1 oranı anlamlı derecede farklıdır. Bu farklılıklar interferon beta tedavisiyle belirgin olarak düzelmektedir. Bu belirteçler çocuklarda MS hastalığının tanısı ve serum neopterin düzeyiyle birlikte tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılabilir. İnterlökin düzeylerinde ise anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Çocukluk çağı multipl sklerozu, interlökin, neopterin, matriks metalloproteinaz, interferon beta

9. SUMMARY

TNF-á, IL-2, -6, -10, -12, -17, -23, MMP-7, MMP-9, TIMP-1 and Neopterin Levels in Childhood Multiple Sclerosis Patients and alterations in patients treated with interferon beta.

Childhood MS is a relatively rare occurrence and because of similar clinical features with many hereditary and inflammatory diseases, diagnosis and monitoring of the disease is considerably difficult. The most important reason for this difficulty is the lack of markers indicating disease activity.

We investigated in childhood RRMS patients, the levels of some cytokines which are thought to play a role in the pathogenesis of MS, matrix metalloproteinases (MMP-7 and-9) and MMP tissue inhibitors TIMP-1 which are known to play a role in the breakdown of the blood brain barrier and brain tissue and neopterin. We reevaluated these levels and observed the changes after one year in patients both treated with interferon beta and received no treatment.

For this purpouse, 14 children with diagnosis of RRMS before 18 years old were included in our study. Baseline serum, CSF and urine samples were collected before treatment started. Interferon beta treatment (Avonex, Rebif, Betaferon) was started in 8 patients. A year later, serum and urine samples were taken again from all patients. Along with the samples of healthy controls at the same age and sex, the IL-2, -6, -10, -12, -17.23, MMP-7, MMP-9, TIMP-1 and neopterin were calculated in all samples by ELISA in our immunology laboratory.

Results: None of the interleukine levels were significantly different compared to healthy controls and these levels were often below the quantifiable

amount. Similarly, neopterin in urine and serum did not differ significantly in MS patients compared with healthy controls. But serum neopterin levels increased significantly in patients treated with IFN-â. MMP-9 levels were significantly higher in RRMS patients compared to healthy controls. These levels decreased significantly in patients receiving interferon beta treatment. TIMP-1 levels were significantly lower in the patient group and this level was significantly increased after one year of treatment. MMP-9/TIMP-1 ratio were significantly higher in children with RRMS and this rate also significantly decreased after treatment. MMP-7 levels were significantly lower than the control group in patients with RRMS. Serum MMP-7 significantly increased in patients treated with IFN-â but not in patients without any treatment.

Conclusion: In childhood MS patients, serum and CSF MMP-7, MMP-9 levels and MMP-9/TIMP-1 ratio was significantly different than healthy controls. These differences significantly improves with the treatment of interferon beta. These markers can be used to assess the disease activity and along with serum neopterin levels, to predict response to treatment in children diagnosed with MS. There is no significant differences in interleukin or neopterin levels in pediatric RRMS patients compared with healthy controls.

Key words: Childhood multiple sclerosis, interleukin, neopterin, matrix metalloproteinases, interferon beta

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ünsal

Soyadı: Yılmaz

Dogum Yeri ve Tarihi: Giresun, 12.12.1970

Egitimi:

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağ. ve Hast., Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı,

2008-2011

Şişli Etfal E.A.H, 1995-2001

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (İng.), 1988-1995

Giresun Atatürk Lisesi, 1983-1988

Giresun Gazipaşa İlkokulu, 1978-1982

Yabancı Dili: İngilize

Üye Oldugu Bilimsel Kuruluslar:

Türkiye Çocuk Nörolojisi Derneği