

1-4 Nisan 2004

OTURUM I

09.00-10.30

Oturum Başkanları

Dr. Emin KANSU
Dr. Rana KARABUDAK

09.00-09.40

Milestones in
Neuroimmunology

Angela Vincent MB BS,

FRCPath. Department of Clinical Neurology,
Institute of Molecular Medicine,
John Radcliffe Hospital

Neuroimmunology is a discipline that has emerged over the last 25 years as a result of the coming together of neurology and immunology. It has its roots in the descriptions of the neurological diseases, for instance multiple sclerosis, Guillain-Barre Syndrome and myasthenia gravis, and in experiments during the first half of the 20th century that demonstrated that immune responses to neuronal proteins could cause autoimmune neurological disease. But it was the substantial increases in our knowledge of the immune system in the second half of the 20th century that has allowed us to begin to see how the nervous system and the immune system affect each other in both directions. I will highlight some of the advances that have helped to define immune-mediated neurological diseases.

09.45-10.25

İmmünolojide
Temel Kavramlar

Prof. Dr. Emin KANSU

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Onkoloji Hastanesi Temel Onkoloji AD.

İmmün sistemde görev alan bütün hücreler kemik iliğindeki stem hücrelerden kaynaklanırlar ve periferik kan ile dokularda değişik sürelerde yerleşirler. Yabancı antijenlere yanıt vermekle görevli immün sistem hücreleri vücudun herhangi bir bölgesinde bu tür bir yanıtı hazırlıklı olabilmek amacıyla periferik kanda dolaşırlar, lenf bezlerinde, dalakta, mukoza altında, deride ve değişik dokularda bulunurlar. Bu hücreler arasında özgül olmayan immünite'den sorumlu nötrofiller, monosit-makrofajlar, eosinofiller ve bazofiller ile özgül-immüniteden sorumlu lenfositler ve lenfosit subgrupları yer almaktadır. Hücrelerin kan dolaşımındaki normal değerleri Tablo-1'de gösterilmiştir.

İmmün Sistem Hücreleri

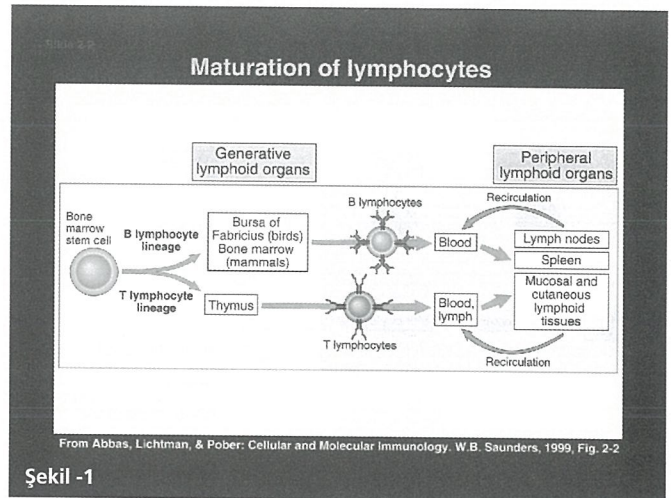
I. Lenfositler

Lenfositler genelde 8-16 micron çapları arasında değişkenlik gösteren dens kromatini, yuvarlak çekirdekleri ve ince sitoplazmaları olan hücrelerdir. Sitoplazmada az sayıda mitokondri, ribozomlar, lizozomlar ve özelleşmiş çok az sayıda organel bulunur. Antijenik uyarım öncesi istirahatte (Go-Fazı) olan bir lenfosit mitojenik veya antijenik uyarım sonrası lenfositler Go'dan G1 fazına geçerler ve 10-12 µm'a ulaşır, RNA sentezi artarak lenfoblast özelliği kazanırlar.

Lenfositler, morfolojik olarak birbirlerinden farklı olmamakla birlikte T ve B-lenfositleri olarak iki alt-grupta incelenmektedir. B-lenfositleri kuşlarda Bursa Fabricius adı verilen bir organdan ve insanda karşılığı kabul edilen kemik iliği'nden kaynaklanan antikor-yapımından sorumlu hücrelerdir. B-lenfosit kelimesi, "Bone Marrow-derived" anlamında kemik iliğinden programlanan lenfositleri ifade etmek için kullanılmaktadır. T-lenfositleride timus'tan kaynaklanan lenfositleri ifade etmektedir.

T-lenfositleri, yardımcı-T-hücreleri ve baskılayıcı / sitotoksik T-lenfositleri olmak üzere iki alt gruba ayrılır. T-lenfositleri üzerinde klonal olarak yerleşmiş ve yüksek antijen-özelliliği gösteren "T-antijen reseptörleri=TCR" bulunur. B-hücreleri yüzeyinde de yine antijenleri tanıyan immüoglobulin yapısında antijen reseptörü bulunur. Bu her iki antijen reseptörünü kodlayan genler, hücrelerin gelişimi süresince çok fazla sayıda somatik rekombinasyonlar ile milyonlarca farklı reseptör yapısı ortaya çıkabilmektedir. Bu da lenfositlerin farklı antijenleri tanımlayabilmeleri için çok değişken ve farklılıklara uyumlu bir hücre repertuarı yaratmaktadır. Lenfositlerin üçüncü alt grubu olarak kabul edilen doğal Öldürücü (NK-hücreleri) doğal immüniteden sorumlu hücrelerdir ve yüzey reseptörleri T ve B-hücrelerinden farklıdır. Fonksiyonel olarak lenfosit alt grupları membranları üzerinde bulunan proteinlerin fenotipik olarak monoklonal antikorlar ile belirlenmesi sonucunda tanıınırlar. Yardımcı T-hücreleri yüzeylerinde CD4 antijeni, baskılayıcı / sitotoksik T-hücreleri de CD8 antijeni taşırlar. Bu antijenler ve diğerleri T-hücre popülasyonlarının aktivasyonu ve fonksiyonlarında da görev almaktadırlar. T-ve B-lenfositleri ile NK-hücrelerinin yüzey işaretleri ile fonksiyonları Tablo-2'de gösterilmiştir. Lenfosit progenitor hücrelerinin periferik kan ve organlarda görev yapacak matür T-ve B-lenfositlerine dönüşmeleri kemik iliği ve timusta gerçekleşir. T-hücreleri progenitorleri kemik iliğinden çıktıktan sonra timus'a migrasyon gösterirler, subkapsüler mesafede prolifer olurlar ve korteks'den medulla'ya geçerek CD4+ veya CD8 hücreler olarak timus'tan çıkıp periferik dolaşıma katılırlar.

B-lenfositleri de kemik iliği'nde pro-B, pre-B ve B-hücre evrelerinden geçerek dolaşıma girerler, lenf bezleri, dalak, mukozal, deri ve diğer dokularda yerleşirler. T-ve B-hücre gelişimi şematik olarak şekil-1'de görülmektedir. B-lenfositleri antijen ile karşılaştıktan sonra aktive olarak plazma hücrelerine dönüşür. Plazma hücreleri lenfoid organlarda gelişme gösterir ve bazıları kemik iliğine geri dönerler. Plazma hücreleri immüoglobulin yapımından sorumludur.



Şekil -1

Hafıza Hücreleri

T-ve B-hücreleri antijenle ilk kez karşılaştıktan sonra müteakip karşılaşmalar için "hafıza hücreleri = memory cells" oluştururlar. Bu hafıza hücreleri de yüzey işaretleri ile tanınmaktadır. Örneğin aktive hafıza T-hücreleri yüzeyinde CD44⁺, CD45RO⁺ bulunur. Hafıza B-hücreleri yüzeyinde de izotip Switching olması nedeniyle IgG, IgE veya IgA bulunabilir.

Tablo-1 Normal Beyaz Küre ve Formül Sayımları

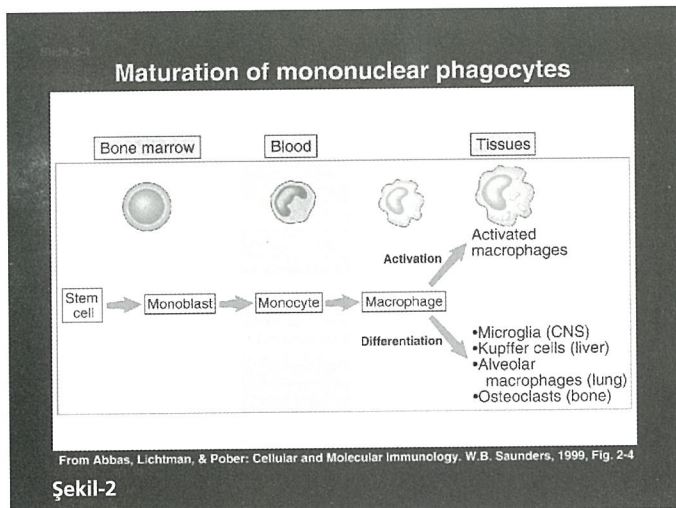
	Ortalama	Aralıklar
Beyaz Küre	7400	4000-10.000 / mm ³
Nötrofiller	4400	1800-7700 / mm ³
Lenfositler	2500	1000-4400 / mm ³
Monositler	300	0-800 / mm ³
Eosinofiller	200	0-450 / mm ³
Bazofiller	40	0-200 / mm ³

Tablo-2 Lenfosit Alt Grupları

Lenfosit Alt Grubu Hücreleri	Antijen Reseptörü Yüzey İmmünglobulini	Yüzey İşareti Fc, Class II MHC	Fonksiyonu Antikor yapımı CD19, CD21
T-Hücreleri Yardımcı-T	αβ heterodimer (TCR)	CD3, CD4, CD8	B-hücre büyümesi Farklaşması, Makrofaj Aktivasyonu
Baskılayıcı / Sitotoksik T	αβ heterodimer (TCR)	CD3, CD4, CD8 ⁺	B-hücre Sapresyonu virüs-infekte hücrelerin lizisi, ADCC
NK-hücreleri		IgG için Fc reseptörü (CD 56)	ADCC, virüs infekte ve tümör hücre lizisi

Aksesuar Hücreler

Antijenlere Özgül lenfosit cevabının oluşmasına yardım eden, kendileri özgül-immün cevap reseptörler taşımayan hücrelerdir. Bu hücre grubunun en önemli üyeleri monositler ve dendritik hücrelerdir.



Monositler

Mononükleer fagositler hücreler temel fonksiyonları fagositoz olan monositler ve makrofajlardan oluşurlar. Kemik iliğinden Periferik kana monosit olarak çıkan hücreler dokulara geçince makrofaj özelliği ve ismini kazanırlar. Ayrıca, merkezi sinir sisteminde mikroglial hücreler, vasküler sinüzoidlerdeki endotel hücreleri ve lenfoid organlardaki retiküler hücreler monosit / makrofaj kaynağıdır. Kandaki monositler ve dokulardaki makrofajlar konal savunmasından sorumlu mononükleer-fagositler sistem olarak tanımlanır.

Monositler, 10-15 µm çapında, geniş gayri-muntazam kenarlı çekirdekleri olan ve sitoplazmalarında ince granüller sitoplazmaları olan hücrelerdir. Dokulardaki bazı monositlerin birleşmesi sonucunda multinükleer dev hücreler oluşabilir. Dokulardaki makrofajlar arasında karaciğer sinüzoidlerinde bulunan Kupffer hücreleri, akciğerde alveolar makrofajlar ve kemikteki osteoklastlar sayılabilir (Şekil-2).

Mononükleer-fagositler mikroorganizmaları fagosite ederler, sitokin salarlar, diğer inflamasyonda rol alacak hücreleri aktive ederler. Monosit/makrofajlar aynı zamanda hücrel ve humoral immün cevapta rol almaktadırlar. Antijen-takdim edici hücre görevi yaparak T-lenfositlerini aktive ederler ve immün cevabın regülasyonunda görev alırlar.

Dendritik Hücreler

Dendritik hücreler, mononükleer fagositik hücrelerden kaynaklanırlar ve membranlarında diken şeklinde çıkıntıları bulunan hücrelerdir. Epidermiste bulunanlarına Langerhans Hücreleri adı verilir. Olgun DH'ler lenf bezlerinin T-hücreden zengin bölgelerinde bulunurlar. Ayrıca dalakta, mukoza-altındaki lenfoid dokularda ve lenf bezlerindeki lenfoid folliküllerde bulunan hücrelere de Folliküler Dendritik Hücreler adı verilir.

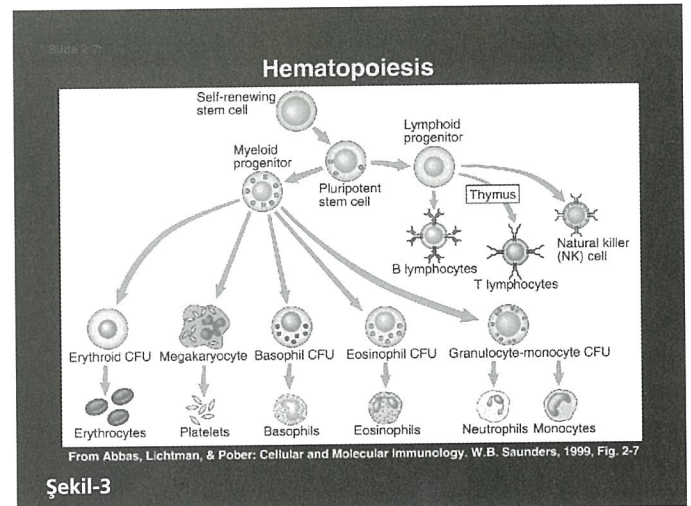
II. İMMÜN SİSTEMDE ROL ALAN DOKULAR

İmmün sistem yanıtı ve regülasyonunda görev alan hücrelerin çok sayıda bulunduğu organlar "Primer Lenfoid Organlar" ve "Sekonder Lenfoid Organlar" olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Timus ve Kemik İliği Primer lenfoid organlar grubunda yer alırlar. Lenf bezleri, olarak, mukoza-altı Lenfoid dokular sekonder lenfoid dokular olarak bilinmektedir.

Primer Lenfoid Dokular

1. Kemik İliği

Kemik iliği erişkinde bütün şekilli elemanların, eritrositlerin, lenfoid hücrelerin ve B-lenfoistlerinin yapıldığı yerdir. Kemiklerde korteks ile çevrili kemik iliği boşluklarında hematopoietik hücreler ile hematopoez-dışında görev yapan stromal hücreler, adipositler, stromal fibroblastlar,



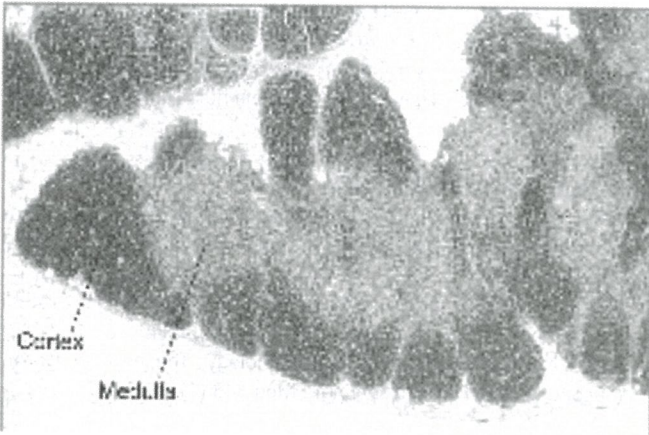
birlikte bulunurlar. Farklılaşmalarını tamamlayan ve olgunlaşan hematopoietik hücreler ve B-lenfositleri kemik iliğini terk ederek periferik dolaşıma girerler ve periferik lenfoid organlarda yerleşirler.

Bütün hücreler kemik iliğindeki stem (kök) hücrelerden kaynaklanırlar. Kemik iliğindeki kök hücreleri yüzeylerinde CD34 antijeni taşırlar. Progenitor hücreler sitokinlerin etkisi altında proliferasyon gösterirler. Stem hücrelerini uyarma özelliğinde olan sitokinlere koloni-stimüle edici faktörler (CSF) adı verilir.

Hematopozezi uyaran faktörlerin büyük kısmı stromal hücrelerden, makrofajlardan ve aktive T-hücrelerinden salınmaktadır. Kemik iliğinde B-lenfosit öncüleri, pre-B-lenfositleri ve plazma hücreleri bulunur (Şekil-3).

II. Timus

Timus anterior mediastinumda bulunan, fetal yaşamda aktivitesi fazla olan, doğumdan sonra aktivitesi ve ağırlığı gittikçe azalan bir organdır. Timus'un her lobu fibröz septalar ile multipl lobüllere ayrılır. Herbir lobülde bir dış korteks ve içte medulla bulunur. Kortekste T-lenfositlerinin proliferasyonu sonucu yoğun bir T-hücre popülasyonu ve medulla'da daha az sayıda T-hücreleri yer alır. Medulla'da dendritik hücreler ve makrofajlar bulunur. Medulla'da ayrıca epitheloid hücrelerden oluşan "Hassall Cisimcikleri" vardır. Timus'un damarsal beslenmesi zengindir ve efferent lenfatik kanallar mediastinal lenf bezlerine drene olurlar. Timusta bulunan hücrelere "Timositler" adı verilir. Kemik iliğinden timusa gelen immatür timositler timik kortekste matürasyon gösterirler, medullaya geçerler ve olgun T-Hücreleri periferik dolaşıma çıkarak lenfoid organlara yerleşirler (Şekil-4).



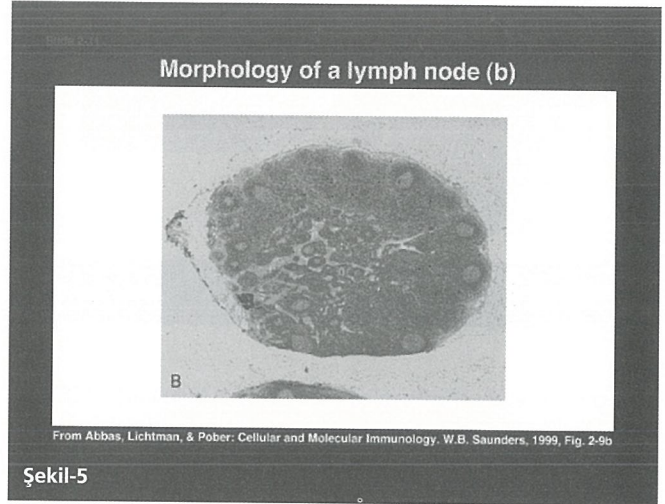
Şekil -4 Timus

Lenfatik Sistem ve Lenf Bezleri

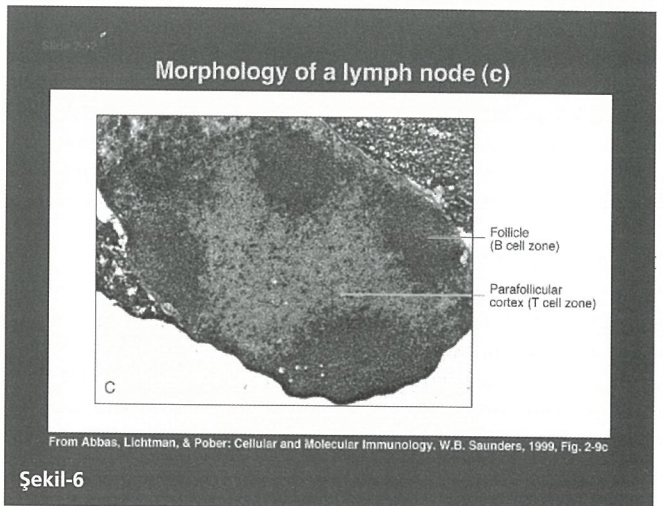
Lenfatik kanallara giren ve lenfatik sistemle taşınan protein antijenler lenf bezlerine geldikten sonra uygun reaksiyonları başlatarak Adaptif İmmün Cevabı oluştururlar. Lenf bezleri iç yapılarında lenfositten-zengin ufak nodüller lenfoid agregatlar olan ve lenfatik kanallar üzerinde yerleşen nodül'larda bulunan yapılardır. Herbir-Lenf Bezi, fibröz kapsül ile sarılıdır. Lenf akımı lenf bezine korteks bölgesinden girer ve hilustaki efferent lenfatiklerle lenf bezini terkeder. Dış kortekste folliküller bulunur ve folliküllerin orta kısımlarına "gerçek merkez" adı verilir. Korteksin hemen alt kısmında parakorteks bulunur. Parakortekste yüzlerce parakortikal kordon bulunur ve bu bölgede makrofajlar, dendritik hücreler, lenfatik ve rasküler sinuzoidler etrafında yerleşim gösterirler. Parakorteksin daha aşağı bölümlerinde medulla olarak tanımlanan, lenfositlerin daha seyrek yerleşim gösterdiği, makrofaj ve plazma hücrelerinin fazlaca bulunduğu bir bölge vardır. Kan lenf bezine arter ile ulaşır ve önce hilusa girer, dallara ayrılarak dış kortekse kadar gider ve yine hilus'tan ven ile kan lenf bezini terkeder (Şekil-5 ve Şekil-6).

Lenf bezindeki primer lenfoid folliküllerdeki germinal merkezlerde naif

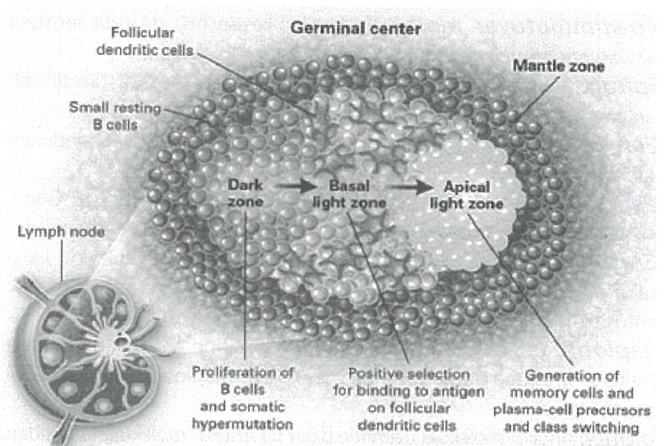
B-lenfositleri bulunur. Antijen ile karşılaşınca aktive olurlar, B-hücre proliferasyonu sonucu yüksek affiniteli antikorlar üretilir. T-lenfositleri, folliküllerin arasında veya hemen altında parakortekste yerleşim gösterirler. T-Lenfositlerinin %70'i CD4(+) hücrelerdir ve CD8(+) hücreler arasında yerleşmiş durumdadırlar (Şekil-7).



Şekil-5

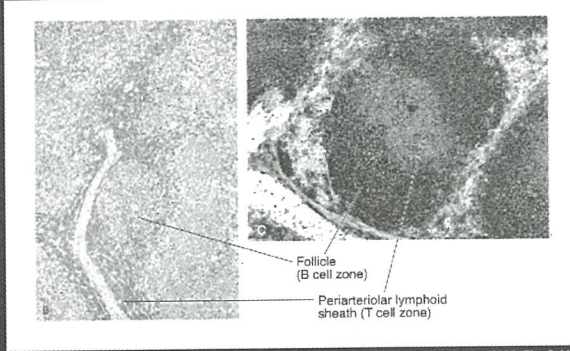


Şekil-6



Şekil-7

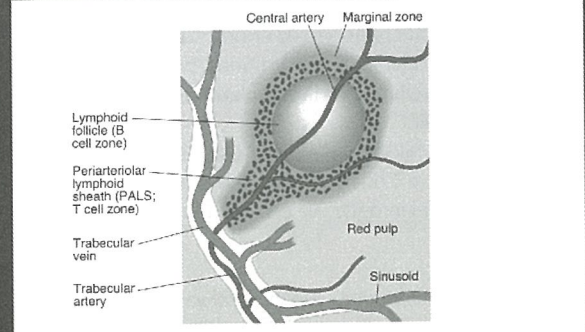
Morphology of the spleen (b)



From Abbas, Lichtman, & Pober: Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders, 1999, Fig. 2-11b

Şekil-8

Morphology of the spleen (a)



From Abbas, Lichtman, & Pober: Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders, 1999, Fig. 2-11a

Şekil-9

Dalak

Dalak immün cevabı oluşturan hücrelerin yoğun bulunduğu 150 gm. ağırlığında bir organdır. Splenik arter ile beslenir ve kapsülü delerek doku bölümlerinde küçük dallara ayrılarak organı besler. Ufak arterioller dallar etrafındaki lenfoid follikülere "periarterioller lenfoid kılıf = Periarterioller Lenfoid Sheath = PALS" adı verilir. PALS'ın içinde T-lenfositleri daha hakimdir. Buradaki T-hücrelerinin %70'i CD4(+) ve %30'u da CD8(+) hücrelerdir. Folliküller ve germinal merkezlerdeki B-lenfositleri lenf bezlerindeki aynı görevleri üstlenmişlerdir. Antijenler ve lenfositler dalak içine vasküler sinüzoidler yoluyla girer ve B-hücreleri aktive olduktan sonra germinal merkezlere veya kırmızı pulpa'ya ilerler. Dalakta da aynı lenf bezinde olduğu gibi T-ve B-hücre dağılımı vardır. Dalak mikroskopik yapısı hücre dağılımı ve damarsal ağ yapısı ile mükemmel bir filtre görevi görmektedir (Şekil-8 ve Şekil-9)

"İmmün Sistem Hücre ve Dokuları"

İmmünojenite Sık Karşılaşılan Terimler

Allel: genin alternatif formları

Allojenik: aynı tür içinde genetik olarak farklılık gösteren bireyler

Allotipler: aynı tür içindeki bireylerin farklı antijenik determinantları

Anerji: Lenfositlerin fonksiyonel olarak cevapsız olması Antikor-Bağımlı-Hücre-Sitotoksite (ADCC)=Antikor-bağlanmış hedef hücrelerin Fc-reseptör taşıyan lökositler tarafından öldürülmesi. Fc-reseptör pozitif hücrelere örnek olarak doğal öldürücü (natural killer, NK), makrofajlar ve nötrofiller verilebilir.

Kemokin : Lökositlerin kandan dokulara geçmesini düzenleyen kemotaksik sitokinlerdir.

Ko-stimülatuar molekül: Antijen-reseptörü dışında lenfosit aktivasyonu için ek sinyaller verebilen yüzey molekülleri

Epitop: "Antijen" molekülü üzerinde Antijen-reseptörü tarafından tanınan kimyasal yapı.

Gen Kütüphanesi: İlgilenilen genden seçilen ve klonlanarak derlenen "klonlanmış genler"

Germ-line: Ovum ve sperm tarafından taşınan genetik materyal. Germ-line genler, anne ve babanın çocuklarını irsiyetle geçirdikleri genlerdir.

Graft-versus-Host disease: Alıcı (Host)'nın alloantijenlerine karşı nakil ile organizmaya verile gelen verincinin (damar) allofenik lenfositlerinin yaratmış olduğu immünolojik reaksiyon.

Haplotip: Tek bir kromozom üzerinde birbirine çok yakın yerleşen allellerin grubuna verilen isimdir. Bir bireyin haplotipi o kişinin özel fenotipini belirler.

İdiyotipi: Antikor molekülü üzerinde diğer bir antikor molekülü tarafından tanınabilen "antijenik determinant"dır.

İzotipi: İmmünglobulin aşır zincirlerinin immünglobulin sınıflarını tanımlayan antijenik determinant bilgilerine verilen isim. Örnek olarak IgM, IgE veya IgG1 ve IgG2'yi verebiliriz.

Knock-out Fare: Homolog rekombinasyon yöntemiyle bir geni amaçlı olarak delesyona uğratılmış fare

Lokus: Kromozom üzerindeki genin bulunduğu bölge

Polimorfizm: Bir toplumda sıklığının en az %1 olduğu allel

Tolerans: Santral veya periferik lenfoid organlarda klonal delesyon (apoptozis) veya klonal anerji ile gelişen immünolojik cevapsızlık durumu

Transjenik Hayvan: Doku-özümlü veya hücre-özümlü promotör ihtiva eden bir yabancı gen taşıyan hayvan. Transgen fertilize yumurtaya in-vitro olarak iyekte edilir ve hayvanın germ-line hücrelerine entegre olur.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Cells and Tissues of the Immune System In "Cellular and Molecular Immunology", Edited by Abbas, Lichtman and Pober, W.B.Saunders, p.17-38, 1999.
2. Delves PJ, Roitt IM. Advances in Immunology : The Immune System (First of two parts). New Engl J Med 343 (1):37-49, July 6, 2000.
3. Delves PJ, Roitt IM : Advances in Immunology : The Immune System (Second of Two Parts). New Engl J Med 343 (1) : 108-117, July 13, 2000.

OTURUM II

11.00-12.30

Oturum Başkanları

Dr. Nezih YÜCEMEN
Dr. Faruk TURAN

11.00-11.40

Nöroimmun Network

Prof. Dr. Egemen İDİMAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Nöroloji AD.

Organizmanın patojenlerden korunmasında önemli rolü olan ve karmaşık ilişkilere sahip immun sistemin yanlış yönlendirilmesinin konağın kendi dokularının hasarı ile sonuçlanan otoimmun hastalıklara (OIH) yol açtığı bilinmektedir. Çok uzun yıllar beyine immunolojik olarak ayrıcalıklı bir organ olarak bakılmasına karşın geçen yüzyılın sonlarında santral ve periferik sinir sistemi (SSS ve PSS)'nin immun aktif yapılar olduğu görüşü kabul edilmiştir. Kan-beyin bariyeri (KBB)'nin geçirgen olmayışı, SSS'inde klasik lenfatik drenajın bulunmayışı, beyin transplante dokuya gösterdiği alışılmamış tolerans, beyin parankiminin ağrısız oluşu, inflamasyon sırasındaki doku şişmesinin diğer dokulardan farklı olarak geri planda oluşu bu terk edilen görüşün dayanakları olmuştur. Son çeyrek yüzyılda, immunohistoloji ve moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler beyin kendisinin bir immun sistem olduğunu ortaya koymaktadır.

SSS'nin mutlak olmayan impermeabilitesi, SSS'nin temel hücreleri olan mikroglia, astrosit ve endotel hücrelerinin immun yeteneğe sahip olmaları, bazı koşullarda MHC-II antigen ekspresyon etmeleri, nöronlarda MHC-I antigen ekspresyonu, mikrogliaların antigen sunan hücre fonksiyonun görmeleri, SSS'inde sabit bir T-hücre karakolunun varlığı, düşük düzeyde de olsa T ve B hücre trafiğinin bulunması, lenf nodlarına beyinden hücre ve protein akışının saptanması aksine beyin çok aktif bir immun organ olduğu kanıtlanmaktadır.

Kan beyin bariyeri, SSS'inde homeostazın sürdürülmesinde en önemli yapılardan biridir. Anatomik olarak SSS kan damarları; sıkı bileşkeleri, laminin ve fibronektinden oluşan bazal membranı, endotel hücreleri ve astrosit ayakları ile kan plazmasını SSS interstisyel sıvılarından ayıran önemli bir yapıdır. İntravenöz "horseradish peroxidase" ile KBB 'nin ,hipotalamusun medyan eminensi, III. ventrikül, area postrema ve lamina terminalis bölgesinde zedelenebilir olduğu gösterilmiştir. Koroid pleksuslar ve araknoid granülasyonlarda kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) arasındaki geçiş ,KBB ile kıyaslandığında daha kolaydır. Tipik olarak KBB, 4-6 nmikron büyüklükte protein geçişine izin veren aralıklara sahiptir. Protein ve aminoasitler; aktif transport taşıyıcıları, kanallar, veziküler transport, reseptör aracılı endositoz veya açık birleşme noktaları aracılığı ile KBB bariyerinden geçerler. Molekül girişinin belirleyicisi büyüklük ve polaritedir. Glikoz da aminoasitler gibi transport taşıyıcıları gerektirir.

Sistemik inflamasyonda bu bariyer, gerek lokal gerekse sistemik olarak ürünlenen moleküller aracılığıyla önemli ölçüde değişikliğe uğrar. Beyin omurilik sıvısı temelde bir plazma filtratıdır. Protein ve hücre sayısı düşük, IgG ve IgA serum konsantrasyonunun % 0.2-0.4 'üdür. IgM düzeyi daha da düşüktür. BOS'da PMNL bulunması daima patolojiktir. Protein artışı, IgG indeksinde artış ve oligoklonal bandlar inflamasyonun yansımasıdır.

İnflamatuar koşullarda aktive T hücrelerin SSS'ne göçü spesifik alanlardaki perivasküler mikrogliaları aktive eder. Endotel hücre adezyon molekülleri (integrinler ve belirgin biçimde VLA-4),kemokinler, sitokinler ve ekstrasellüler matriksi atake eden nötral proteazlar (MMP) aktive olur. İnflamasyonun erken döneminde SSS' ne göçen T lenfositlerin hepsi antigen spesifik değildir. Endotel hücrelerinin inflamasyon sırasında MHC-II antigeni ekspresyon ettikleri ve antigen sunan hücre görevi yaptıkları bilinmektedir. Kan-beyin bariyeri patogene karşı ilk savunma çizgisidir. SSS'ni dolaşımdan ve dolaşımdaki bir çok hücre ve molekülden izole eder. SSS damarları kapiller endotel hücreleri ile sıkı bir biçimde sarılıdır. İzolasyonun ikinci adımı bazal membran, üçüncü adımı ise arteriol ve kapillerleri çevreleyen astrosit ayaklarıdır. Endotel hücreleri kan ve ekstrasvasküler dokular arasında pasif bir engel değildir. İnflamasyon da dahil olmak üzere bir çok fizyolojik ve patolojik mekanizmalara aktif olarak katılır. Endotel hücreleri diğer damar yataklarındakilerden morfoloji, fonksiyon, geçirgenlik ve immunolojik özellikler açısından farklılıklar gösterir. Başta multipl skleroz (MS)un aktif dönemi olmak üzere bir çok durumda KBB 'nin geçirgenliğinin arttığı gösterilmiştir. KBB geçirgenliğinde artış, sıklıkla öncü, erken ve kritik bir olaydır. Endotel hücreleri sitokinler, kemokinler ve diğer önemli inflamatuvar moleküllerin etkisi ile aktive olur ve morfolojik ve fenotipik değişiklikler gösterir. KBB'nin bu yapısal ve morfolojik özelliklerinin anlaşılması, başta MS olmak üzere bir çok inflamatuvar hastalığın anlaşılması ve tedavi yaklaşımlarının temeli olacaktır.

Yerleşik mononükleer fagositoz sistemi SSS'nin her tarafında yaygındır. Substansiya nigra ve ventral pallidumda yoğun, tersine beyinsapı ve serebellumda enderdir. Pervasküler makrofajlar hem MHC-I hem de MHC-II antigeni ekspresyon ederler ve inflamasyonun başlangıcına SSS' nin temel hücreleri CD4+T hücrelere antigen sunarlar. Astrositlerin, endotel hücrelerinin ve bölgesel makrofajların anatomik pozisyonları bu fonksiyon için idealdir. Makrofajlar doğal immun sistemin hücresele komponentleridir ve T ve B hücre gibi spesifik reseptörleri olmamakla birlikte "self"i "non-self" ten ayırabilen karbohidratlar için özelleşmiş reseptör taşırlar. Ayrıca kompleman ve antikor için reseptörleri vardır. Patojenin antikor ve/veya kompleman aracılığı ile opsonizasyonu makrofaj aktivitesini artırır. Bazı koşullarda T hücreye gereksinim kalmaksızın patojeni fagosite ederler. Ancak bir çok klinik durumda CD4+T hücre, makrofaj uyarımı için koşuldur. Aktive TH1 hücreler ve onların güçlü sitokini IFN gamma makrofaj aktivasyonunda çok önemlidir. Makrofajlar ayrıca,serbest O2 radikalleri, nitrik oksit metabolitleri, proteazlar, glutamat ve diğer proinflamatuvar sitokinler aracılığı ile doku zedelenmesine yol açarlar.

Antijen sunumu, efektör T hücrenin tetiklenmesinde çok önemlidir. Profesyonel antijen sunan hücreler makrofajlar, B lenfositler ve dendritik hücrelerdir. İmmun sistem hücreleri dışında sinir sistemi intrensek antijen sunumu görevini yapan hücre popülasyonlarına sahiptir. SSS'inde kan-beyin bariyer formasyonuna katılan perivasküler mikroglia ve perisitler, endotel hücreleri MHC-II moleküllü ürünleyerek antijen sunan hücre görevi yaparlar. Astrositlerin görevi henüz tartışmalıdır. Mikroglia MHC-II tetiklenmesi elektriksel olarak aktive nöronlar tarafından regüle edilir ki bu durum SSS'inde nöronun immun regülatör görevini gösterir.

Periferik sinir sisteminde Schwann hücresi miyelin kılıf yapma fonksiyonu yanında MHC-II antijen ekspresyon eder ve otoreaktif hücrelere antijen sunar. Ayrıca T hücre aracılı sitotoksiste için onları hedef kılan MHC-I antijen ekspresyon ederler. Schwann hücreleri; lökotrienler, prostanooidler, nitrik oksid gibi toksik ve immunosupressif araçlar ürünlerler. Bu durum,

onların PSS' inde antijen sunucu görevleri yanında immunoregülatör fonksiyonlarına işaret eder. Mikroglialar SSS'inde inflamasyon alanının çok uzaklarında da aktive olurlar. İFN gamma ve TNF alfa bu uzak uyarımda önemli moleküllerdir. Aktive olduklarında proliferer olur ve makrofaj benzeri görünüm alarak makrofaj rolü oynarlar. Mikrogliaların MS ve Eksperimental alerjik ansefalomyelit (EAE) de B 7 molekülü ekspresse etmesi çok önemlidir.

Astrositler, SSS'nin her yerinde bulunan hücreleridir. Mikroglialara benzer görünüşte daha geniş nükleusludur. Glial fibriler asidik protein ile immunohistoşimik olarak farklı görünümde boyanır. Astrositik ayakları kan damarı membranına yaslanır ve KBB 'ni güçlendirir. SSS 'inde ekstrasellüler bölgede iyon ve metabolit regülasyonu yaparlar. İnflamasyonda proliferer ve hipertrofiye olurlar (ASTROGİYOZ). Glioz; IL1, TNFalfa, TGF beta ile provoke edilir . TGF beta-1 gliotik lezyonda astrosit büyüklüğünde artıştan sorumludur. Astrositlerin MHC-I ve II antigen ekspresyonu hala tartışmalıdır. TNF alfa, TGF beta ve olasılıkla IL1 ve IL6 ürünlerler.

Sitokinler, otokrin ya da parakrin tarzda sekrete edildikleri hücrenin ve diğer hücrelerin özelliklerini modüle eden moleküllerdir. Onlar yalnızca immun sistem için değil aynı zamanda SSS'i içinde haberci görev yaparlar ve immun şebekenin çalışmasında ve immun yanıtın düzenlenmesinde görev alırlar . Effektör T hücrenin tüm tipleri tarafından sentez edilir ve etkileri hedef hücreye başlıdır. TH1 ler proinflamatuvar (IFN gamma, TNF alfa, LT alfa, TNF beta), TH 2 hücreler antiinflamatuvar (IL4,IL5,IL10) sitokinleri sentez ederler. IL4 ve IL5 B lenfositleri aktive ederken IL10 makrofaj aktivasyonunu inhibe eder. Proinflamatuvar sitokinler ise makrofajları aktive ederken B hücrelerini inhibe ederler ve bazı hücreler için sitotoksiktirler. Kemoatraktan sitokinler olan kemokinler çeşitli hücreler tarafından sekrete edilirler. Lökosit aktivasyon ve migrasyonundan sorumludurlar. Sıvısal ve hücresele immun reaksiyonları artırır, hücre adezyonunu ve lökosit trafiğini düzenlerler.

Matriks metaloproteinazlar (MMP) geniş bir grup endoproteinazdır. SSS enflamasyonunda nötral pteazlar artar ve ekstrasellüler matriks harap olur. MMP-9 (gelatinaz-B) akut MS ataklarında artar ve MMP-2 (gelatinaz-A) enjeksiyonu KBB 'ni açar. T lenfositler KBB 'ni geçer geçmez MMP-9 kullanarak kapiller bazal laminayı harap ederler. MMP inhibitörleri EAE'de hastalığı bastırır ve MS patogeneğinde çok önemli rolleri vardır.

Kompleman doğal immun sistemin önemli bir moleküldür ve antikor aracılı immunitenin ana efektör mekanizmalarından biridir. Kompleman sistemi, enfeksiyona karşı konak direnci, doğal ve kazanılmış immünite, immun komplekslerin temizlenmesi ve inflamatuvar zedelenmenin nötralizasyonunda görev alır. Çeşitli immun hastalıkların patogeneğinde kompleman sisteminin aktivasyonu anahtar rol oynar. Gerek SSS (MS) gerekse PSS (Guillain-Barre Sendromu (GBS)) nin demiyelinizan hastalıklarında kompleman aktivasyonu miyelin yıkımı ve akson zedelenmesinden sorumludur.

SSS'inde lokal olarak üretilen diğer hücresele metabolitler genellikle immunomodulatör, bazı durumlarda nörotoksiktir. Örneşin,bradikinin serbest radikal üretilmesine yol açarak lipid peroksidasyonu ve doku zedelenmesine neden olur. Aktif mononükleer fagositlerden üretilen neopterin ve quinolil asit nörotoksiktir.

Sıvısal ve hücresele immun moleküllerin masif yayılımını kontrol etmek için bazı mekanizmalar harekete geçer. Önce hedef antigen elimine edilir. Antigenik uyarımın durdurulması programlı hücre ölümünü (APOİTOZ) harekete geçirir. Lenfosit yaşama; ölümü harekete geçiren

mekanizmalar ve ölümü inhibe eden mekanizmalar arasındaki dengeye başlıdır. Apoptoz intrasellüler Bcl-2 ailesinin mitokondriyal şişmeyi bloke eden bazı üyeleri tarafından inhibe edilir. Diğer yandan çeşitli mekanizmalar, T hücrede hücre yüzey reseptörü ve onun ligandı arasındaki ilişkiler yoluyla apoptozu tetikler. Glukokortikoidlerin T hücre apoptozuna yol açtıkları bilinmektedir.

Sinir sisteminin OİH'ında gerçek neden açık değildir. Bir varsayım, intra timik delesyonun değişmesi ve yeterli santral toleransın sağlanamamasıdır. Diğer bir mekanizma,normal repertuarda bulunan self reaktif T lenfositlerin periferde aktivasyonudur. GBS ve MS gibi OİH' larda hastalığın potansiyel nedeni olarak virüslara ilişkin kanıtlar vardır. Alternatif olarak sekestre otoantigen salınımı immun reaksiyonu uyandırabilir. Otoimmunitede bir diğer varsayım,virus veya bakterilerden kaynaklanan bir kısım peptidin (Superantigen) rolüne ilişkindir. Superantigenler MHC molekülüne farklı bağlanarak çok sayıda T ve B hücreyi aktive ederler. Bystander (suçsuz seyirci) aktivasyon OİH'larda yine önemli bir rol oynar. Mikrobiyal ve self antigenler arasındaki moleküler benzerlik otoreaktif T hücreyi aktive edebilir. Diğer yandan tek bir T hücre reseptörü birden çok peptidi tanıyabilir. SSS'inde ilk yanılı yönlendirilmiş çapraz reaksiyon örneşi Sydenham Koresidir. Yine Campylobacter jejuni ve bazı virüslerin GBS'nu tetikledikleri bilinmektedir. Immun yanıt ilerledikçe yanıtın başında orjinal olarak bulunmayan peptid epitoplara immun sistem tarafından fark edilmeye başlar. Sonuç olarak T hücre yanıtları genişler. SSS'ne T hücre girişi büyük çoşunlukta antigen spesifik olduğu için bu epitop yayılımı ile SSS'inde OİH kötüleşir. Epitop yayılımı virustan miyeline kayar ve SSS patojenleri tarafından ekspresse edilen proteinler ve nöral antigenler arasındaki çapraz reaksiyonlar Oı hastalığı ağırlaştırır. Çeşitli nörolojik hastalıklar otoreaktif T hücreye sınırlıdır. Akut dissemine ansefalomyelit (ADEM) ve GBS monofazik hastalıklara örnektir. Diğer bazı formlar epizodik ancak persistandır (Relapsing remitting MS, kronik progressif MS, kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati).

Oı yanıtın süre ve genişliğini belirleyen etmenler kesinleşmemiştir. Otoreaktif T hücre apoptozu veya bozulmuş TH 1/TH 2 dengesinin restorasyonu altta yatan mekanizmalar olarak önerilmektedir.

Sinir sisteminde OİH varlığı; otoantikör veya otoreaktif T hücrelerin gösterilmesi, otoantikörün hedef yapılara bağlanması, aktif immünizasyonla hastalık modellerinin yaratılması, hastalığın immunomodulatör veya immunosüpressiflere yanıt vermesi ile belirlenir. Ancak immun yanıt SSS'inde her zaman tahrip edici değildir. Yakın zamanlarda immun yanıtların koruyucu ve SSS'inde hasarı tamir edici olduğu gösterilmiştir. Otoreaktif T hücrelerin lezyon yerinde NGF, BDNF sentez ettikleri gösterilmiştir. Bu yakın sonuçlar, inflamasyonun nöroprotektif yönü konusuna yeni bir bakış açısı getirmiştir.

KAYNAKLAR:

1. Abbas AK,Sharpe AH.T-cell stimulation:an abundance of B 7s.Nat Med.1999;5:1345-1346.
2. Antel JP, Owens T .Immune regulation and CNS autoimmune diseases. J .Neuroimmunol,1999;100:181-189.
3. Hartung H-P, Kieseier,BC. Autoimmunity in the nervous system..Neurological therapeutics.Principles and practice.Ed by.John H Noseworthy.Vol I.Chap.96Martin Dunitz.London,2003,pp1094-1106.
4. Mancall EL. Immunology and autoimmunity: EAE and ADEM. Continium Neuroimmunology, 2001;7(3):7-34.
5. Tyor W R. Fundamentals of immunology. Neuro-immunology for the clinician.Ed by: Loren A Rolak, Yadollah Harati, Butterworth-Heinemann, Boston.1997.pp:3-34.

Kan - Beyin Bariyeri

Doç. Dr. Ayşe ALTINTAŞ

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa
Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.

Son 20-30 yıl içerisinde beyin endotel hücrelerinin kan ve ekstra vasküler dokular arasında sadece pasif bariyer oluşturan yapılar olmadıkları, fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda aktif rol oynadıkları anlaşılmıştır. Endotel hücrelerinin yapıları ve fonksiyonları; pek çok ortak fonksiyonel ve morfolojik özellikler taşımalarına rağmen, türe ve lokalize oldukları organa göre değişkenlik göstermektedirler (1, 2). Konuşmamda beyin mikrovasküler yapılarında yer alan endotelium'un spesifik protektif özelliklerini ve patolojik durumlarda oluşan değişimlerini vurgulamaya çalışacağım.

Beyin endoteli; sirkülasyondaki hücrelerin ve plazma komponentlerinin beyne infiltrasyonunu sıkı bir şekilde denetler ve düzenler. Yani kan-beyin bariyeri (KBB) intravasküler alan ile santral sinir sistemi (SSS) yapıları arasında bir separatör görevi üstlenmiştir. İnsan vücudunda kan ile organ arasında yer alan en sıkı bariyer KBB'dir. Kan-beyin bariyeri; sıkı bağlantılarla (tight junctions) dizilmiş endotel hücreleri, bazal membran hücreleri ve perisitler ile astrositler tarafından oluşturulan glia limitans'tan meydana gelmektedir. Glia limitansı oluşturan astrosit hücreleri gap junction'lar ile birbiri ile bağlantılıdır. Normal koşullarda KBB büyük moleküller ve hücreler için önemli bir bariyer özelliğindedir. Sadece aktive immün hücreler bu bariyeri geçebilirler. Bu özellik SSS'nin immün-kökenli hastalıklarında (multipl skleroz-MS gibi) önemli bir rol oynamaktadır. Bu özellik dolayısıyla perivasküler demiyelinizan lezyonlarda T ve B lenfositler ile monositlerin saptanması ön plandaki histopatolojik bulgudur. Bu hücrelerin SSS içine geçişi ve birikmesi ile ilgili mekanizmaların ortaya konması, bu konuda KBB'nin rolünün aydınlatılması, immün-kökenli SSS hastalıklarının tedavisine yönelik yeni ufuklar açmaktadır (2, 3). Yapılan çalışmalar hem T hücreleri hem de endotel hücreleri üzerindeki adezyon moleküllerinin T hücrelerinin ve monositlerin ekstrasvazyonunda önemli olduklarını göstermektedir. Kan-beyin bariyerinin primer fonksiyonu; SSS içinde homeostazisi oluşturmak ve bunun devamlılığını sağlamaktır. Geçmişte statik bir yapı gibi ele alınan KBB'nin dinamik bir yapı olduğu ortaya konmuştur. İntravenöz horseradish peroxidase boyası kullanılarak KBB incelenmiş ve bu yapının hipotalamus'un medial eminence bölümünde, üçüncü ventrikülde, area postrema ve lamina terminalis'te daha gevşek olduğu saptanmıştır (2).

Kan-beyin bariyeri kapillerleri 4-6 nano metrelik fenestrasyonlara sahiptirler ve bu açıklıklar proteinlere karşı permeabiliteyi sağlarlar. Protein ve amino asitler aktif transport, veziküler transport, reseptör-kökenli endositoz ile geçiş yaparlar. Kan-beyin bariyerinin in vitro modeli, endotel hücreleri ile astrositler bir arada besiyerine konularak oluşturulmuştur. Kan-beyin bariyerinin açık olduğu alanlarda (nörohipofiz, area postrema vb) incelenen maddelerin KBB'e daha hızlı penetre olabildikleri gösterilmiştir. Ancak bu sınırlı alanlar, total alanın ancak % 0.2'sini oluşturmaktadır. Kan-beyin bariyerinin aksine, kan-iskelet kası bariyeri, kapiller direncinin daha az olması nedeniyle, 100-1000 kez daha fazla geçirgendir (2).

Santral sinir sisteminin kompleks yapısı; enerji kaynaklarının daima yakınında lokalize olan nöronları koruyacak şekildedir. Hiçbir nöronun en yakın glikoz molekülüne 2 saniyeden fazla süre gerektiren bir mesafede yerleşemeyeceği tahmin edilmektedir. Bu durum geniş vasküler yüzeyler tarafından oluşturulan difüzyon sayesinde gerçekleştirilebilmektedir. İnsanda KBB'nin yüzey alanı 12000-18000 santimetre kare'dir.

Daha önce de belirttiğim gibi, KBB'nin bulunmadığı alanlar total yüzey alanının % 0.2'sini oluşturmaktadırlar. Bu nedenle de, daha geçirgen olan bu alanlar ilaçların geçişi gibi konularda pratik olarak önem taşımamaktadırlar (2).

Lipid-solubl, non-polar maddeler KBB'den pasif olarak geçebilirler. Polar yapılar taşıyıcılarla geçiş yapabilmektedirler. Bu yapılar arasında; glikoz, amino asitler, aminler, monokarboksinatlar, nükleositler ve küçük peptidler sayılabilir. Veziküler transport ise; ATP-sodyum-potasyum pompasına bağımlı aktif bir sistemdir (2).

Beynin mikrovasküler yapısı, meningeal damarlardan köken almakta ve angiogenesis ile tüm beyne yayılmaktadır. Bu endotel hücrelerinin embriogenezis sırasında nöroektoderm ile girdikleri ilişki yoluyla kan-beyin bariyerinin özelliklerini kazandıkları düşünülmektedir. Endotel hücrelerinin bariyer özelliklerini oluşturmalarına astrositler de katkıda bulunmaktadırlar. Ancak, son araştırmalar astrositlerin henüz oluşmadıkları gestasyonel erken dönemlerde bile, beyin endotel hücrelerinin bazı spesifik markırları taşıdıklarını ortaya koymuştur (1).

Normal fizyolojik koşullarda KBB immün sistemin pek çok hücrelerine karşı impermeabl olmasına rağmen, aktive lenfositler bariyeri kolayca geçebilmektedirler. Böylece, periferik immün aktivasyon nedeni ile aktive olmuş T hücreleri SSS içine geçebilmekte ve yönelmiş oldukları spesifik antijenlerini SSS içinde arayabilmektedirler. Eğer spesifik antijenlerini bulamazlarsa, SSS içinde hızlıca temizlenmektedirler. Ancak, bu hücrelerin SSS'ini aktif bir şekilde terk mi ettikleri, yoksa SSS içinde mi yok edildikleri bilinmemektedir. Tersine, eğer antijenlerine rastlarsa; immünolojik olaylar dizisi meydana gelmekte ve bu mekanizma SSS içine diğer immün hücrelerin (makrofajlar, B lenfositler vb), antikorların ve immün mediatörlerin girmelerine olanak sağlamaktadır. Tüm bu olaylar sonucunda da inflamatuvar süreç başlamaktadır (4).

KAYNAKLAR

- 1- Lampugnani MG, Bazzoni G, Dejana E. The endothelium of the brain microvasculature and the organization of intercellular junctions. From Basic Immunology to immune-mediated demyelination. Eds by G.Martino and L.Adorini. Springer-Verlag Italia, Milano, 1999. p 47-57.
- 2- Mandler RN. Dysfunction of the blood-brain barrier in the pathogenesis of multiple sclerosis. Proceedings of a 2001 Chicago International Conference (sponsored by Serono Symposia international).
- 3- Archelos JJ, Hartung HP. Adhesion molecules and the Blood-brain barrier in multiple sclerosis. From Basic Immunology to immune-mediated demyelination. Eds by G.Martino and L.Adorini. Springer-Verlag Italia, Milano, 1999. p 148-161.
- 4- Lassmann H. Lymphocyte trafficking in the central nervous system. From Basic Immunology to immune-mediated demyelination. Eds by G.Martino and L.Adorini. Springer-Verlag Italia, Milano, 1999. p 82-88.

OTURUM III

14.30-16.15

Oturum Başkanları

Dr. Egemen İdman

14.30-15.10

Çocukluk ve Ergenlikte İmmün Mekanizmalı Nörolojik Hastalıklar

Prof. Dr. Banu ANLAR

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Nöroloji Ünitesi

Çocukluk çağında sinir sistemini tutan otoimmün mekanizmalı hastalıklar arasında en sık olarak Guillain-Barré sendromu, merkezi sinir sistemi (MSS) hastalıkları arasında ise Sydenham koresi ve akut dissemine ensefalomyelit başta gelir. Ancak otoimmünite ile sinir sistemi arasındaki ilişki bundan ibaret değildir. Kalıtsal metabolik hastalıklardan bazıları belirgin inflamatuvar yanıtla seyrederek. İnflamatuvar moleküllerden interlökin-6 ve -3 genleri silinmiş farelerde de ilerleyici nörolojik belirtilerin ortaya çıkması, MSS'nin bu tür moleküller arasındaki dengenin bozulmasından etkilendiğini desteklemektedir. Bunların dışında hipoksik-iskemik ensefalopati, serebral palsy, hatta tik, obsesif-kompulsif bozukluk ve yaygın gelişimsel bozukluklarda otoimmün mekanizmaların rol oynadığı, örneğin streptokok antijenlerine karşı immün yanıtın hareket bozukluklarını tetikleyebildiği, gebelikte anneden fetusa geçen antikörlerin ailevi disleksilerin bir kısmından sorumlu olabileceği öne sürülmektedir.

MSS nin demiyelinizan hastalıklarından akut dissemine ensefalomyelit bazen tekrarlayabildiği, multipl skleroz ise bazen çocuklarda yıllarca sessiz kalabildiği için bu iki hastalığın ayırıcı tanısında güçlük çıkabilmektedir. Tedavi ve prognoz açısından farklılıklar gösterdikleri için bazı vakalarda ancak birkaç yıllık bir izlem süresinden sonra kesin tanıya karar verilmelidir.

Miyasteni ve Guillain Barré sendromu da çocukluk çağında klinik ve prognostik özellikler taşırlar. Miyastenide spontan remisyon oranının yüksekliği, sadece göz bulguları ile başlayan miyastenilerde yaygın hastalığa dönüşümün düşük oranda olması, timektominin tedavideki yeri, özellik taşıyan konular arasındadır. Enfeksiyonlarla, özellikle kızamıkla bağlantılı remisyon gözlenmiş ve bildirilmiştir. Guillain Barré sendromu için prognozun erişkinlerden daha iyi olduğu, ayırıcı tanıda özellikle metabolik hastalıkların ve kalıtsal nöropatilerin akut bozulma dönemleri ile karılabileceği gözönünde bulundurulmalıdır. Bu sendrom için henüz ülkemizde bir etyolojik çalışma yapılmamış ve epidemiyolojik özellikleri belirlenmemiştir. Sinir sisteminin immün mekanizmalardan etkilenmesi sonucunda özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde öğrenme güçlüklerinden dejeneratif hastalıklara kadar uzanan, geniş kapsamlı klinik tablolar ortaya çıkabilmektedir. Bu olaylarda enfeksiyon etkenlerinin, immün sistemin bu yaşlardaki yapısının, ya da sinir sisteminde, örneğin miyelindeki yapısal yatkınlıkların payı gibi çok sayıda konu halen araştırılmaya açıktır.

OTURUM IV

16.30-17.30

Oturum Başkanları

Dr. İlhan TEZCAN

Dr. Ayşe Kocaman SAĞDUYU

16.30-17.00

İmmüno-supresif Tedavilerin Temel Özellikleri

Prof. Dr. İlhan TEZCAN

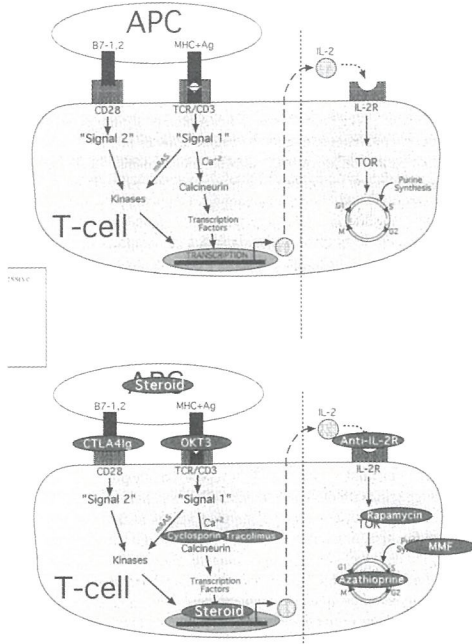
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Pediyatrik İmmünoloji AD.

İmmün sistem, organizmayı çevrede bulunan milyonlarca hastalık etkeninden koruyan, tüm vücuda dağılmış hücre ve moleküllerin oluşturduğu organize bir sistemdir. Otoimmün hastalıklarda, transplant rejeksiyonunda ve allerjik hastalıklarda ise immün sistemin oluşturduğu istenmeyen bir immün cevap söz konusudur. Çağımızda laboratuvar teknolojilerinin hızlı gelişim göstermesi, organ ve kök hücre transplantasyonunun artan sıklıkta uygulanması ve otoimmün hastalıkları daha etkili yaklaşımlarla tedavi etme gereksinimi immüno-supresyon konusundaki araştırmalara hız kazandırmıştır. İmmüno-supresyonla otoimmün hastalıklarda ve graft rejeksiyonunda doku antijenlerine karşı gelişmiş olan istenmeyen immün cevabın baskılanması, doku zedelenmesinin azaltılması ve/veya önlenmesi amaçlanmaktadır. Organ rejeksiyonlarında oluşabilecek immün cevap öngörülebilme ve buna yönelik immüno-supresyon istenmeyen immün cevap daha ortaya çıkmadan uygulanabilmektedir. Ancak otoimmün hastalıklarda istenmeyen immün cevap oluşup, hastalık ortaya çıkınca immüno-supresyon yaklaşımları uygulamaya girmekte, bu da daha zor bir yaklaşımı gerekli kılmaktadır. İmmüno-supresyonda kullanılan ajanların bazıları daha genel bir immüno-supresyon (Örn. Steroidler) yaparken, bir kısmı da bazı moleküller üzerinden selektif etki yapmaktadır (Şekil 1).

İmmünolojik hastalıklarda kullanılan ajanları çeşitli kategorilere ayırabiliriz:

1. Antiinflamatuvar etkileri olan kortikosteroid ailesi
2. Sitotoksik ilaçlar (Azatioprin, siklofosamid)
3. Fungus ve bakterilerden elde edilen türevler (Siklosporin A, FK506, Rapamisin, Mycophenolic asid)
4. Antikörler(ALG, ATG, IVIG)
5. Yeni moleküller: Bunlar içerisinde interlökin 2 reseptörüne karşı geliştirilen antikörler önem taşımaktadır. Basiliximab (Simulect) kimerik bir insan/ fare monoklonal antikördür. Özellikle aktive T lenfosit yüzeyinde bulunan IL-2 reseptörünün alfa zincirine karşı geliştirilmiştir. Diğer bir monoklonal antikör ise humanize edilmiş bir monoklonal antikör olan Daclizumab'dır. Bu da IL-2' nin alfa zincirine karşı geliştirilmiş olup, her iki haftada bir 1mg/kg beş doz verildiğinde 3 aylık bir blokaj oluşturabilmektedir.

FTY720 : Bu molekül lenfositlerin aktivasyonu ve proliferasyonundan



Şekil 1. T Lenfosit aktivasyonu ve bazı immunosupresif ajanların etki mekanizmaları(B.Pietra, Pediatr Clin N Am 50: 2003: 1233 değiştirilerek alınmıştır)

ziyade T ve B lenfositlerin dolaşımını modüle etmektedir. Önceleri bu molekülün lenfosit apoptozisini uyarak dolaşımdaki lenfosit sayısını azalttığı düşünülüyordu. Ancak daha sonra elde edilen veriler LTY720 nin lenfositlerin lenf nodlarına ve Peyer Plaklarına yerleşmesini hızlandırdığını işaret etmektedir. Muhtemelen kemokinlere artmış bir yanıt söz konusudur.

Everolimus: Yeni bir ajan olup, sirolumusa benzemektedir. T ve B lenfositlerin sitokin aracıklı proliferasyonunu bloke etmektedir. Hücre döngüsü G1 den S 'e geçişte durmaktadır.

Alemtuzumab: Humanize edilmiş bir monoklonal antikor olup, immün sistemin çeşitli hücrelerinin üzerinde bulunan CD52'ye yöneliktir.

CTLA-4Ig: T lenfosit aktivasyonunda CD28-B7 kostimulasyon yolu önemli noktalardan birisidir. CTLA-4 T lenfositlerin negatif yönde regülasyonunu sağlayan kostimülatör moleküldür. Bu füzyon proteini hem B7-1 hem de B7-2 ye yüksek bir afinite ile bağlanmakta ve CD28-B7 kostimulasyonunu bloke etmektedir.

Anti-CD 154 monoklonal antikor: Bir önemli kostimulasyon yolu CD40-CD40L etkileşimi ile olmaktadır. CD154 aktive T lenfositlerde bulunmakta CD40 ise antijen sunan hücrelerde bulunmaktadır. Bu molekül bu etkileşimi durdurmaktadır.

Anti TNF alfa tedaviler

Görüldüğü gibi immünosupresyonda yeni moleküller gerek deneysel olarak gerekse de klinik olarak uygulamaya girmektedir.Daha selektif etkili ve yan etkileri daha az olan bileşikler uygulamaya girdikçe daha dengeli ve daha etkin immünosupresyon söz konusu olabilecektir.

17.00-17.30

Nöroimmünoloji'de Immünosupresyon

Prof. Dr. Ö. Faruk TURAN

Uludağ Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.

Immünosupresif ilaçlar organ nakillerinde ve otoimmün hastalıklarda, otoimmün cevabı baskılamak için kullanılırlar. 1950'lerde tüm vücut ışınlanması ile başlayan immünosupresyon günümüzde daha spesifik tedavilere dönüşmüştür. Esas olarak iki tür immünosupresyon yöntemi vardır.

1-Nonspesifik immünosupresyon: Immün sistemin aktivasyonunu antijene bağlı olmaksızın durdurur. Bu yöntem immün sistemi her safhada baskılar ve alıcı enfeksiyonlara karşı hassas hale getirir. Günümüzde en sık kullanılan ilaçlar steroidler, azatioprin ve siklofosfamidi sayabiliriz.

2-Spesifik immünosupresyon: Enfeksiyonlara duyarlılık artışına yol açmadan durduran tedavilerdir. Örneğin Siklosporin IL-2 yapımını azaltarak Th1 çoğalmasını baskılar. Başarılı immünosupresif protokollerin ortak hedefleri mononükleer hücre aktivasyonunu önlemek, sitokin ekspresyonunu yada sitokin-reseptör ilişkisine mani olmak ve endotel hücre aktivasyonunu önlemektir.

İMMUNOSUPRESİF İLAÇLAR

- 1- Glukokortikoidler
- 2- Kalsinorin inhibitörleri (siklosporin, takrolimus)
- 3- Antiproliferatif / Antimetabolitler: (Sirolimus, Azatioprin, Mikofenolat Mofetil, Methotrexate, Siklofosfamid, Talidomid, Klorambusil, Mitoksantron, Kladrinin, Leflunomid, 15-Deoksipergualin, Mizoribine)
- 4- Poliklonal antilenfosit ajanlar : Antilenfosit Globulin (ALG), Antitümör Globulin (ATG)
- 5- Monoklonal antikorlar: OKT-3, Anti IL2 reseptör antikorları , Anti-TNF-α monoklonal antikorlar
- 6- Plazmaferezis ve immünabsorban tedaviler

Nörolojik otoimmün hastalıklar, Multipl Skleroz, Myastenia Gravis, Dermatomyozit ve Polimiyozit'dir.

1-GLUKOKORTIKOİDLER: 1960'lardan beri kullanılmaktadır. Sıklıkla diğer immünosupresif ajanlarla birlikte transplant rejeksiyonun engellenmesi, tedavisi ve otoimmün hastalıklarda kullanılmaktadır. MS'de ataklarda kullanılmaktadır. Uzun süreli kullanımın bir yararı olmadığı anlaşılmıştır. Yan etkileri iyi bilinmektedir.

2-KALSINORIN İNHİBİTÖRLERİ

SIKLOSPORIN: Multipl Skleroz'da kullanılmış, atak ve progresyon üzerine etkili bulunmamıştır. Dermatomyozit, polimiyozit de iyi sonuçlar alınmıştır, doz ayarı zordur, terapotik endeksi dardır, kişiye özel doz ayarı gereklidir. Ciddi yan etkileri vardır. Nörotoksitesite ve nefrotoksitesite yararlarını aşabilir. Myastenia Gravisde'de etkili olduğu yolunda yayınlarda artma görülmektedir.

TAKROLIMUS: Etki mekanizması Siklosporin gibidir. Siklosporin'den daha etkilidir. Ciddi yan etkileri vardır. Kronik progresif MS'li hastalarda anlamlı bir fark izlenmemiştir. Deneysel otoimmün Myasteni'de iyileşmeler rapor edilmiştir. Steroide dirençli Polimiyozit ve Dermatomyozit'de de alternatif tedavi olarak önerilmektedir. Myastenia Gravis'de tek tek olgu

sunumları vardır.

Antiproliferatif ve antimetabolit ilaçlar

AZATIOPRIN: Multipl Skleroz'da uzun yıllar kullanıldı. Meta analizler atak oranı ve progresyon üzerine faydalı olduğunu düşündürmektedir. Emniyetli bir ilaçtır. Uzun kullanımda kanser riski vardır. Pek çok otoimmün hastalıkta kullanılmaktadır.

Polimyozi, Dermatomyozit Myastenia Gravis'de kortikosteroide cevap alınmadığı veya yan etki oluştuğunda kullanılmaktadır.

SIKLOFOSFAMİD: Polimyozi, Dermatomyozit, Myastenia Gravis gibi hastalıklarda steroide cevap vermeyen durumlarda kullanılmaktadır.

Relapsing remiting ve relapsing progresif MS'de kullanılmaktadır.

METHOTREXATE: MS'de progresyon üzerine etkili, özellikle üst ekstremiteler fonksiyonlarına faydalı etkileri vardır. Polimyozi, Dermatomyozit'de ikinci basamak tedavide kullanılmaktadır.

MITOKSANTRON: Sekonder progresif MS'de atak oranı ve Gadolinium tutan lezyon sayısında azalma görülmüştür. Hızlı progresif ve sık atak geçiren MS'li hastalarda kullanılmaktadır. Kümülatif doz 100 mgr/m2 kadar emniyetli ve kardiyak fonksiyonları bozmaz.

KLADRİBİN: MS'te kullanılmıştır. İleri çalışmalara ihtiyaç vardır.

MIZORİBİN: MS'te kullanılmıştır. İleri çalışmalara ihtiyaç vardır.

15-DEOKSİPERGUALİN: Deneysel otoimmün Myastenia Gravis'de elektron mikroskopik çalışmalarda nöromusküler kavşak ve antikör baskılanmasında etkili bulunmuştur. Deneysel alerjik ansefolomyelitis'de faydalı olduğu gösterilmiştir. Klinik çalışmalar yoktur.

LEFLUNOMİD: Deneysel myasteni de EMG bulgularını düzeltmektedir.

SIROLİMUS: Uzun süreli faydalı etkileri, birkaç deneysel otoimmün hastalıkta gösterilmiştir. MS'de denenmemiştir. İyi bir ilaç olmaya adaydır.

MİKOFENOLAT MOFETİL: MS'de kullanılmaya aday bir ilaçtır. Myastenia Gravis'de kullanımı ile ilgili tek tek olgu sunumları vardır.

3-POLİKLONAL ANTİKORLAR: Nörolojide otoimmün hastalıklarda kullanılmamaktadır.

4-MONOKLONAL ANTİKORLAR:

OKT-3: Nörolojik otoimmün hastalıklarda kullanılmamaktadır.

Anti-IL-2 monoklonal antikörler: Daklizumab (zenepax), basiliximab (simulect) Daklizumab'ın interferonlarla birlikte kullanımında faydalı olduğu yolunda bir bildiri sunulmuştur.

Anti-INF a monoklonal antikörler: (infliximab) MS'de kullanılmış, hastalar kötüleşince çalışma durdurulmuştur.

Plazmaferezis ve immunabsorban tedaviler

Myastenia Gravis, Polimyozi, Dermatomyozit ve MS'de kullanılmaktadır. Progresif MS' de plazma değişiminin çok az yararı vardır veya değeri yoktur. Daha önceden nörolojik defisiti olmayan kişilerde gelişen aşırı demyelinizasyon ataklarında yararlı olabilir.

SONUÇ

Nonspesifik olarak başlayan immunsupresif tedaviler, son 10 yılda yerini daha spesifik immunsupresif tedavilere bırakmıştır. Tedaviye dirençli otoimmün nörolojik hastalıklarda yeni immunsupresif ilaçlar kullanılmakta ve bu konuda yeni deneyimler kazanılmaktadır. MS'de Azatioprin, Siklofosfamid, Metotrexate gibi klasik tedaviler yanında günümüzde Kladrabin, Mitoksantron kullanıma girmiş, yeni immunsupresif ilaçlar denenmeye başlanmıştır.

Dermatomyozit, Polimyozi, Myastenia Gravis'de klasik ilaçlar yanında yeni immunsupresif ilaçlarla yeni deneyimler kazanılmaktadır.

2 Nisan 2004

İMMÜNÖLOJİDE TEMEL KAVRAMLAR

OTURUM II

11.00-12.30

Oturum Başkanı

Dr. Ender TERZİOĞLU

Dr. Dicle GÜÇ

11.00-11.40

Majör Histokompatibilite Kompleksi

Prof. Dr. Güher Saruhan-DİRESKENELİ

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Fizyoloji AD.

Majör histokompatibilite kompleksi (MHC) gen bölgesi insanda 6.kromozomda yer alır. İnsan MHC bölgesinin tüm dizi analizi 1999 yılında tamamlanmış, 4 milyon baz çiftlik bölgede 200 kadar genin kodlandığı bulunmuştur. MHC içinde, sınıf I, II ve III bölgeleri ayırılmakta, bunlardan sınıf I ve sınıf II bölgesindeki genler, immunoglobulin süper gen ailesinde yer alan hücre yüzeyi glikoproteinleri olan iki grup insan lökosit antijenlerine (human leukocyte antigen = HLA) kaynaklık etmektedir. Sınıf III olarak tanımlanan bölge ise kodlanan proteinlerin çeşitliliği açısından ilk iki gruptan farklıdır. Bu bölgede ısı şoku proteini (Heat shock protein), tümör nekroz faktörü (TNF), kompleman faktörleri (C4A, C4B, Bf ve C2), 21-hidroksilaz gibi proteinleri kodlayan genler yer almaktadır.

MHC nin Genetik Yapısı

Sınıf I bölgesinde HLA-A, HLA-B, HLA-C gibi "klasik" gen lokusları (sınıf I-a) yanında HLA-E, HLA-F, HLA-G gen lokusları da (sınıf I-b) tanımlanmıştır. Bu bölgede yer alan genlerden HLA-A için 124, HLA-B için 258, HLA-C için 74, HLA-E için 5 ve HLA-G için 14 farklı alel tanımlanmıştır (1998). Bu alellerin her biri farklı bir polipeptit zincirine kaynaklık etmektedir. Ayrıca sınıf I bölgesinde "sınıf I ile ilişkili" MICA ve MICB genleri de tanımlanmıştır.

Sınıf II bölgesinde HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP moleküllerine ve "sınıf II benzeri" HLA-DM ve HLA-DO moleküllerine kaynaklık eden bölgelerde kendi içinde farklı sayılarda gen lokusu bulunmaktadır. Ayrıca TAP-1 ve TAP-2 (transporters associated with antigen processing) genleri hücre içi peptit transport moleküllerini ve LMP-2, LMP-7 (large multifunctional proteasome) genleri hücre içi proteazom kompleksinin altbirimlerini kodlamaktadır. Endoplazmik retikulumda eksprese olan tapasin molekülünü kodlayan gen de bu bölgede gösterilmiştir.

Sınıf II bölgesinde yer alan altgruplarda iki ayrı gen ürünü eksprese edilmekte, bu genlerin ürünleri birlikte HLA sınıf II molekülünü

oluşturmaktadır. Bu bölgelerde "A" geni α zincirini, "B" geni β zincirini kodlar. DR bölgesinde genetik düzen karmaşık olup, DRA geni α zincirine kaynaklık etmekte, ancak β zinciri birden fazla (1-4) bulunabilmekte ve DRB1, DRB3, DRB4 ve DRB5 genlerinden kaynaklanabilmektedir.

HLA Moleküllerinin Yapısı HLA sınıf I molekülleri α ve β 2-mikroglobulin polipeptit zincirlerinin oluşturduğu heterodimer yapısında hücre membran proteinleridir. İki zincirden ağır olan ve MHC de kodlanan azinciri polimorfik özellik gösterir (Bireyleri arasında "alelik" farklılık bulunur). Hücre dışında yer alan kısım α 1, α 2 ve α 3 olarak 3 ayrı "domain" oluştururken, kısa bir hücre içi uzantısı ile sonlanır. Bu bölgelerden α 1 ve α 2 en yaygın polimorfizm gösteren bölgeleri olup, molekülünün "antijen bağlama bölgesi"ni (ABB) oluştururlar. β -mikroglobulin zinciri ise MHC içinde kodlanmaz.

2. sınıf II molekülleri α ve β polipeptit zincirlerinin oluşturduğu bir heterodimerdir. Bu molekülleri oluşturan genlerin tümü MHC de yer almaktadır. HLA sınıf II molekülünü oluşturan α ve β zincirlerinin her ikisi de sınıf I molekülü α zinciri yapısına benzer özellikler gösterir. Hücre dışı kısımları her iki zincirde ikiye bölgeden ("domain") oluşur. Sınıf II moleküllerinin α ve β zincirlerinin α 1 ve β 1 bölgeleri polimorfik olup, molekülün antijen bağlama bölgesini oluşturmaktadır. Bu iki zincirde yer alan bölgelerin ortak oluşturduğu "oluk" sınıf I molekülüne benzer bir yapıdır.

HLA Moleküllerinin Doku Dağılımı

HLA sınıf I molekülleri insanda bütün çekirdekli hücreler üzerinde, hücre membranında yer alırken, sınıf II grubu moleküllerin ekspresyonu sınırlıdır. Fizyolojik koşullarda immun sistemin antijen sunucu hücreleri olarak bilinen B hücreleri ve monosit/makrofaq serisi ve bu serinin farklılaşmış tüm elemanlarında (dendritik hücreler vb.) eksprese olurlar. Ancak sınıf II moleküllerinin dağılım özellikleri immun aktivasyon ile gelişen değişikliklerden etkilenmekte, immun yanıt sırasında açığa çıkan proinflatuar sitokinlerden öncelikle IFN γ etkisiyle sınıf II moleküllerinin eksprese edildiği hücre tipleri artabilmekte, aktiflenmiş T hücreleri gibi hücrelerde de bulunabilmektedir.

HLA Moleküllerinin İşlevi

"HLA molekülleri kendi sentezlendikleri ve buldukları hücrenin (sınıf I) ya da içinde buldukları lokal mikroçevrenin (sınıf II) durumunun moleküler yansıtıcılarıdır". Bu moleküllerin işlevleri immun sistemin efektör hücreleri ile ilişki kurarak immun yanıtı yönlendirmektir. HLA molekülleri bu işlevi T hücrelerine antijen sunarak ve NK hücreleri ile etkileşerek yerine getirmektedir. Bu moleküller hücrede işlenen antijenik yapıları hücre içinde bağlayarak hücre yüzeyine taşır ve T hücrelerince "görülebilecek" şekilde sunar. HLA sınıf I ve sınıf II de benzer özellikler gösteren ABB işlenmiş bir antijen parçasını (sınıf I için 8-9 amino asit uzunluğunda, sınıf II için 13-25 amino asit uzunluğunda olabilen bir peptiti) özgün noktalarıyla "seçici" olarak bağlamakta, hücre yüzeyine taşıyarak sunmaktadır. T hücrelerinin antijen tanıma işlevi ancak 3 ayrı elemanın birlikte bulunması, T hücre reseptörü, antijenik peptit ve HLA molekülünün bağlanması ile oluşmakta, bu özgün ilişki her 3 elemanın

uygunluğunu gerektirmektedir. Bu bağlantının HLA elemanı sınıf I ya da sınıf II molekülü olabilmekte, sınıf I ile oluşan bir HLA-antijen (MHC-peptit) kompleksini yüzeyinde CD8 molekülü taşıyan T hücreleri görebilmektedir. Bu hücrelerin taşıdığı CD8, eş-reseptör (co-receptor) olup antijenik peptitten bağımsız olarak sınıf I molekülü ile bağlanır. Sınıf II ile oluşan bir HLA-antijen kompleksini ise yüzeyinde CD4 eş-reseptörü taşıyan T hücreleri görebilmektedir. HLA sınıf I molekülleri ağırlıklı sitosol kökenli "endojenik" proteinlerden kaynaklanan peptitleri bağlar. Bu proteinler özproteinler, hücrede sentezlettilen viral proteinler ya da hücre içinde sitosole geçen mikrobiyal proteinler olabilir. Sitosolde proteinler büyük oranda "proteazom" kompleksinde parçalanır. Proteazom, proteolitik etkili, çok birimli ve bir grup altbirimi LMP genlerinde, MHC de kodlanan bir protein kompleksidir. Sitosolde oluşan peptitler endoplazmik retikuluma membran geçirme (TAP) molekülleri ile taşınmaktadır. Bu işlevi yerine getiren transport molekülleri de MHC de TAP genlerinde kodlanmaktadır. Endoplazmik retikulum içinde yeni sentezlenen uygun sınıf I molekülleri ile bağlanan peptitler, bu moleküllerin yapısını da etkileyerek hızla hücre yüzeyine taşınır ve sunulur.

HLA sınıf II molekülleri ise ağırlıklı hücreye endositozla alınan "eksojenik" proteinlerden kaynaklanan peptitleri bağlar ve hücre yüzeyine taşıyarak sunar. Bu proteinler hücre yüzey proteinleri ya da fagositozla hücre içine alınan mikroorganizmalardan kaynaklanan proteinler olabilir. Bu proteinler, endozomlardan çıkmadan lizozomal enzimlerce yıkılır ve "sınıf II yüklem kompartmanları" olarak isimlendirilen asidik yapılarda peptitler halinde sınıf II moleküllerine yüklenir.

Sınıf II moleküllerinin α ve β zincirleri, endoplazmik retikulumda sentezlerini izleyerek, önce birbirine sonra "değişken olmayan zincir"e (invariant chain = iz) bağlanır. Bu eşlikçi protein sayesinde sınıf I gibi, antijen bağlama bölgesi endoplazmik retikulumda bulunan peptitlerle dolmaz. İz ile birlikte asidik endozomal kompartmanlara ulaşan sınıf II molekülleri burada, HLA-DM ve HLA-DO moleküllerinin de kontrolü ile, bulunduğu uygun peptitleri bağlar ve hücre yüzeyine taşır. Sınıf II nin taşıdığı peptitler genelde 13-26 amino asit uzunluğunda ve sıklıkla HLA kökenli peptitlerdir.

Her iki grup HLA molekülünü oluşturan polipeptit zincirlerinin özellikle ABB leri çeşitlilik göstermekte, bu özellik moleküllerin bağlayabildiği antijenik peptitleri belirlemektedir. HLA molekülleri, sundukları peptidi ABB ni oluşturan dizilerinde yer alan amino asitlerin yan dalları ile ve hidrojen bağı oluşturarak bağlarlar. Bu bağlanma kritik noktadaki amino asitlerin yükleri vb özelliklerinin uygunluğunu gerektirir. HLA-peptit bağlantısı "sınırlı" seçicidir ve bu özellik her bireyde ancak belirli sayıda tipi bulunabilen HLA moleküllerinin geniş bir antijenik peptit panelini sunabilmesini sağlar.

HLA moleküllerinin yeni belirlenen düzenleyici rolü ise NK hücreleri üzerinde yer alan KIR ya da C-tipi lektin reseptörleri ile bağlanarak bu hücreleri inhibe ya da stimüle etmek yoluyla gerçekleşmektedir.

MHC Genlerinin Kalıtım Özellikleri

MHC genleri "ko-dominant" ekspresyon gösterir: Çocuklar anne ve babadan aldıkları birer kromozomda yer alan MHC haplotiplerinin tüm elemanlarını birlikte taşırlar ve her birey 2 ayrı haplotipde yer alan HLA moleküllerini birlikte eksprese eder.

MHC bölgesinde aynı kromozomda yer alan farklı lokuslar birbirine yakın yer alıp, çoğunlukla birlikte kalıtılırlar: Özellikle sınıf II genlerinin, birbirine yakınlığı dolayısıyla, aralarında sıkı bir bağlantı dengesizliği (BD= Linkage disequilibrium) sıklıkla gösterilmiştir. İki ya da daha çok alelin, rastlantısal olarak birlikte bulunması olasılığına göre, daha sık bir arada bulunması BD olarak tanımlanmaktadır.

HLA sisteminin yaygın polimorfizmi tanımlanan birçok lokusu için, popülasyonlar düzeyinde, çok sayıda alternatif alelin bulunmasına, etnik gruplar arasında alelik ve haplotipik dağılımın farklılıklar göstermesine dayanmaktadır. Bu özellik farklı toplulukların incelenmesi ile gösterilmiş, incelenen etnik gruplar arttıkça zenginleşen bu çeşitlilik hastalıklara yatkinlik işareti olarak da zengin bir araştırma alanı yaratmıştır.

HLA Sisteminde İsimlendirme ve Genomik Düzen

İnsanda bilinen en polimorfik genleri oluşturan HLA sisteminin isimlendirilmesi WHO (Dünya Sağlık Örgütü) HLA Komitesince yapılmaktadır. HLA sisteminin yaygın polimorfizmi tanımlanan bütün gen lokusları için, popülasyonlar düzeyinde, çok sayıda alternatif örneğin (alelin) bulunmasına dayanmaktadır. Sınıf II bölgesinin en karmaşık yapıli bölümünü DRB lokusları oluşturur. HLA-DRB lokusları içinde DRB1 lokusunda bulunabilecek aleller (toplam 221 alel tanımlanmıştır) bu lokusun adını izleyen bir "*" işareti ile belirtilir. Aleli gösteren rakamların ilk 2 si daha önce tanımlanmış olan serolojik alt gruplara karşılık gelir, ancak bu 2 rakamı izleyerek yer alan 2 rakam ise bu grubun alelik farklarını anlatır. Örneğin serolojik olarak HLA-DR4 olarak tanımlanan bir molekül gen düzeyinde HLA-DRA gen ürünü α zinciri ile birlikte HLA-DRB1*0401 den HLA-DRB1*0432 ye dek farklı alellerin ürünü β zincirinin ortak oluşturdukları molekülü ifade etmektedir.

Hızla gelişen HLA sistemi ile ilgili bilgiler www.ebi.ac.uk/imgt/hla/ sitesinden sağlanabilmektedir.

KAYNAKÇA

- Beck S, Trowsdale J. Sequence organisation of the class II region of the human MHC. *Immunol Rev* 1999;167:201-210.
- Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GMTh, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI. Nomenclature for factors of the HLA system, 1998. *Tissue Antigens* 1998;53:407-493.
- Chapman HA. Endosomal proteolysis and MHC class II function. *Curr Op Immunobiol* 1998;10:93-102.
- Margulies DH, McCluskey J. The major histocompatibility complex and its encoded proteins. "Fundamental Immunology" Editor: W.Paul, 2003, Lippincott Williams and Wilkins, USA.
- Pamer E, Cresswell P. Mechanisms of MHC class I-restricted antigen processing. *Annu Rev Immunol* 1998;16:323-58.
- Parham P. Virtual reality in the MHC. *Immunol Rev* 1999;167, 5-15.
- Pieters J. MHC class II restricted antigen presentation. *Curr Op Immunol* 1997;9:89-96.
- Van Endert PM. Genes regulating MHC class I processing of antigen. *Curr Op Immunol* 1999;11:82-88.

Adezyon Moleküller ve Matris Metalloproteinazları

Doç. Dr. Dicle GÜÇ

Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü,
Temel Onkoloji AD.

Adezyon Molekülleri

Adezyon molekülleri, hücrelerin özgül olarak dokulara yönlendirmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar (1, 2, 3).

Adezyon molekülleri bugün dört sınıfta incelenmektedirler şöyle ki, integrinler, selektinler, immünglobulin süper-ailesine dahil adezyon molekülleri ve kaderinler. Bir de fonksiyonel olarak adezyon görevi gören ama yukarıdaki gruplar içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri vardır. Bu yazıda bu moleküllerin yapı, fonksiyon ve dağılımlarından bahsedilecektir.

Integrinler

Integrinler, heterodimer transmembran proteinlerdir. Aktif ya da inaktif halde bulunabilen integrinlerin, birbirine kovalent olmayan bağlarla bağlı alfa(α) ve beta(β) alt üniteleri vardır (4).

Molekülün fonksiyonel aktivitesi için her iki alt ünite de gereklidir, ancak bağlanma özgülüğünün α alt ünitesi ile ilişkili olduğu düşünülür (5). Integrinler, yapılarında bulundukları balt ünitelerine göre $\beta 1, \beta 2, \beta 3$ ve $\beta 7$ integrinler olarak adlandırılırlar. $\beta 1$ yapısında olan integrinlere "Very Late Activation(VLA)" adı verilir. Bu ismi aktive olmuş T-lenfositlerin yüzeyinde 2-4 hafta gibi uzun bir süre sonunda eksprese olmaları nedeniyle alırlar. $\beta 1$ integrinler özellikle lökositlerin endotel hücrelerine ve hücre-dışı matrisle bağlanmasında görev alırlar. $\beta 2$ grubu integrinler üç homolog heterodimerden oluşur; kompleman reseptör tip 3(CR3;CD11b/18), CR4(CD11c/18) ve lökosit fonksiyonları ile ilişkili molekül-1 "Leukocyte Function Associated Antigens 1(LFA-1; CD11a/18)"(6). Integrinlerin yapıları ve fonksiyonları 2+ iki-değerli katyonlara bağımlıdır (Ca^{2+} , Mg^{+}). Integrinler Arginin-Glisin-Asparagin (RGD) aminoasit dizilerine sahip moleküllere bağlanma özelliği gösterir. Bu diziler hücre-dışı matris glikoproteinlerinde, bazı hücrelerin yüzeyinde ve bazı kompleman proteinlerinde bulunur. Sitoplazmik kısımları ile vinkulin, talin, aktin, α -aktinin, tropomyozin gibi hücre içi iskelet yapıları ile etkileşirler (7). Dolaşımdaki lökositlerin damar endoteline tutunup, yapıştıktan sonra, inflamatuvar reaksiyonun bulunduğu alana göç etmelerinde rol alırlar (8). Hücre dışı sinyaller aracılığı ile haberleşmeyi sağlarlar(9). Integrin adı, bu moleküllerin hücre-dışı matris ve hücre iskeleti ile ilgili aktivitelere aracılık etmesinden (integre etmesi) kaynaklanır. Embriyolojik gelişim, hemostazis, tromboz, yara iyileşmesi, immün ve immün-olmayan savunma mekanizmaları gibi birçok fizyolojik olayda hücre-hücre ve hücre-matris adezyonuna katılırlar. Kardiyovasküler sistemde hücre-hücre ilişkisi dinamik bir olgudur ve ince ayarlı bir düzenleme gerektirir. Fibrinojen (2 mg/ml) varlığına rağmen trombositler agrege olmaz, kan akımına rağmen lökositler inflamasyon alanına gidebilir. Bütün bu olaylarda integrin grubu hücre yüzey molekülleri rol oynar. Integrinler, insan vücudunda bulunan hemen tüm hücrelerde eksprese olurlar (10).

Aktif hale geçen bir hücre sitoplazmasından sinyal iletildiğinde, integrinlerin hücre-dışında kalan kısmı şekil değişimi göstererek kendi ligandına olan afinitesini artırır. Bu işleme içeriden-dışa (inside-out) sinyal iletimi denir. Bu işlem adezyon molekülleri arasında bir tek integrinlerde görülür.

Integrinlerin ligandına bağlanması ile bu kez dışardan-içeriye (outside-in) sinyal mekanizması çalışır bu da hücre içerisinde apoptozisten proliferasyona kadar birçok işlevde etkili olur (1).

Integrinler, liganlarının aviditesi yönünden düşük ve yüksek afiniteli durumda olabilirler. Integrinler farklı yollardan aktive edilebilirler. TCR kompleksi veya protein kinazı C(PKC) aktive eden forbol ester'ler aracılığıyla içeriden dışarıya doğru sinyal iletimi sağlanabilir(11). CD2, CD44 veya CD43'e karşı monoklonal antikolar da C11/CD18 aktivasyonu neden olurlar. Mg^{2+} ve Mn^{2+} ve bazı integrin başlatan antikolar da(MEM83, KIM127, KIM18) hücre içi sinyali olmaksızın integrin aktivasyonu yapabilirler (11).

İntegrinle ilişkili patolojiler

Lökositlerin dokulara yönelmesinde adezyon moleküllerinin önemi, insanlarda rastlanan hastalıklarla daha iyi anlaşılabilir. Lökosit adezyon eksikliği tip-1 sendromunda $\beta 2$ integrin eksikliği veya mutasyonu sonucunda azalan polimorfonükleer ve monosit ekstrasvazasyonu söz konusudur. Sıklıkla hayatı tehdit eden tekrarlayan enfeksiyonlarla karışmaya çıkar (12). Bu hastaların lökositlerinde adezyon bozulmuş, fagositoz ve kemotaksi anomalileri ortaya çıkmıştır (13). Glanzmann trombastenisi otozomal resesif geçiş karakteri gösterir. Trombositlerdeki αb IIb 3-integrinlerde nokta mutasyonu veya delesyonu vardır. Trombosit fonksiyonlarında bozukluk ve uzamış kanama zamanı ile sonuçlanır(14). Bir başka integrinle ilişkili hastalık epidermolisis bullosadır. Otozomal resesif geçiş gösterir. $\alpha 6$ -veya $\beta 4$ integrin alt ünitelerinin fonksiyonel heterodimer olarak ekspresyonundaki hata, bazal membran ile bazal keratinosit katmanı arasındaki mekanik bağlantının bozulmasına ve hastalığın ortaya çıkmasına neden olur (15). Konjenital musküler distrofi kas zayıflığı ile ortaya çıkan otozomal resesif geçiş gösteren ve diğer musküler distrofilerle (Duchenne) ilişkili bir hastalıktır. Kasa özgül $\alpha 7$ -integrin alt ünitesinde mutasyon taramalarında bozukluk saptanmıştır (16). Integrinlerin buradaki özgül rolü tam olarak bilinmemekle beraber ekstrasellüler çevre bağlantılarındaki rolü nedeniyle patolojik önemi olduğu ileri sürülmektedir. Son olarak tümörlerin progresyonunda integrinlerin azalması çoğalmasının önemi çeşitli raporlarla bildirilmiştir. Integrin-kanser ilişkisi yakın zamana kadar adezyon ve migrasyonla sınırlıydı ve integrin alt ünitelerinde oluşan genetik bozuklukların kanser ile ilişkisi yakın zamana kadar bilinmiyordu. Kısa süre önce, Evans ve arkadaşları $\beta 1$ -integrin alt ünitesinde ortaya çıkan heterozigot mutasyonların dilin skuamöz hücreli kanserinin oluşmasında etkili olduğunu gösterdi (17). Yine, integrinlerin $\beta 1$ alt ünitesinin, multiple myelomalarda ortaya çıkan hücre adezyon aracılı ilaç direncinde (CAM-DR) önemli rolü olduğu son bir kaç yılın dikkat çeken konuları arasında yer almaktadır (18).

İmmünglobulin Super-Ailesi

Omurgalılar bağışıklık sisteminde adezyon, tanıma veya bağlanma fonksiyonlarına aracılık eden birçok çözünebilir molekül ve hücre yüzey molekülü vardır. Bu moleküllerin aminoasit dizilerinin bir kısmı ve üçüncül yapıları immünglobulin hafif ve ağır zincirlerinde saptanan bazı yapılarla homoloji gösterirler. Aynı özellikleri taşıyan ve bağışıklık sistemi dışında bulunan moleküller de vardır ve benzer fonksiyonlara sahiptirler. Bu proteinler immünglobulin super ailesinin üyeleridir. Bu ailenin üyeleri büyük olasılıkla ortak bir prekürsör genden çeşitli evrimler sonucu meydana gelmiştir (19). Bu ailedeki moleküller homofilik ya da heterofilik ilişki kurabilirler.

Bu gruptaki, intersellüler adezyon molekülleri ICAM-1 ve ICAM-2, CD11/18 integrinlerin karşıt reseptörleridir. ICAM-1 yapısal olarak endotel hücrelerinde eksprese olur. Tümör nekrotizan faktör (TNF), interlökin-1 beta (IL-1 β) ve lipopolisakkarit (LPS) muamelesini takiben 24 saat içerisinde ekspresyonları artar ve 72 saat yüksek seviyede eksprese olurlar.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, ICAM-1'in CD8⁺ T hücre cevabını da uyarabileceğini göstermiştir (20). CD8⁺ T hücreleri, ICAM-1 bağımlı kositimulasyona CD4⁺ T hücrelerinden daha çok duyarlıdır. ICAM-1'in, CD8 T hücrelerinden IL-2 üretiminde β7-1 kostimulasyonundan farklı yada ona tamamlayıcı etkisi vardır. Ancak β7-1 ve ICAM-1'in oluşturduğu kostimulasyonlar arasında kalite farkı olduğu ve ICAM-1'in klonal ekspansiyona neden olmadığı belirlenmiştir. ICAM-1 bağımlı B7-bağımsız kostimulasyonun, profesyonel olmayan antijen sunan hücreler tarafından MHC klas I antijeni aracılı sitotoksik T lenfosit cevabının oluşmasında önemli olabileceği düşünülmektedir (20).

ICAM-2'nin endotel hücrelerindeki ekspresyonu ICAM-1'e göre daha fazladır ve sitokin ve LPS ile uyarımdan sonra değişmez. ICAM-2 nin inflamasyondaki fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. ICAM-3, ICAM-1 ile %48 homoloji gösterir. Endotel hücreleri üzerinde bulunmaz. Lökosit infiltrasyonunda görev almaz, yalnız aktif olmayan lökositler üzerinde bulunur(8). ICAM-4(LW blood group antigen) eritrositlere, ICAM-5(telencephalin) ise beyine özgündür (11).

Vasküler hücre adezyon molekülü 1(VCAM-1), lökositlerde bulunan VLA grubu integrinler ile ilişkiye girer. Endotel hücreleri, antijen sunan hücreler, kemik iliği stromal hücreleri, embriyonik doku ve sinoviyal dokuda eksprese olurlar. İnflamasyon alanına lenfosit ve lökosit göçü ile lenfosit aktivasyonu ve kositimulasyonuna katılırlar.

Nöral hücre adezyon molekülü (NCAM, CD56), NK hücreleri, nöral hücreler, astrosit ve myoblastta eksprese olur. Embriyogenezde normal doku mimarisinin gelişimi ve hücre büyümesi sırasında izlenen kontak inhibisyonuna katılırlar.

PECAM-1(CD31), polimorfonükleer hücreler, monosit, trombosit, nötrofil ve endotel hücresi üzerinde eksprese olur. İnflamasyon, integrin aktivasyonu, hücre-hücre adezyonu, transendotelial nötrofil, monosit, NK hücresi ve T hücre göçüne aracılık ederler. CD2(LFA-2), T-hücresi ve NK hücresi üzerinde eksprese olurlar. LFA-3'e bağlanarak T-hücresinin hedef hücreye adezyonu, T-hücre aktivasyonu ve ko-stimülasyonuna katılırlar. LFA-3(CD58), lökosit, eritrosit, endotel ve epitelyal hücreler, fibroblast üzerinde eksprese olurlar. CD2'ye bağlanarak, T-hücresinin hedef hücre ve antijen sunan hücreler ile ilişkisine, T-hücresinin eritrositler ile adezyonuna(rozet oluşumu) aracılık ederler. Kısa bir süre önce Immüoglobülin super ailesine yeni bir üye daha katıldı, junctional adhesion molecule (JAM). JAM endotelial hücrelerde, hücreler arası kavşakta yapısal olarak bulunan bir moleküldür. JAM'ın monosit transmigrasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. In vitro, anti-JAM mAb'ların endotelden monosit göçünü engellediği gösterilmiştir (21,22).

Kaderinler

Kaderinler, moleküler ağırlıkları 120.000-140.000 arasında değişen yapı ve fonksiyonları açısından Ca²⁺ 'a bağımlı transmembran proteinlerdir (23). Kaderinler yapısal olarak birbirleri ile benzerlik gösterirler. Birçok tekrarlayan ilmiikten(domain) oluşan ve Ca²⁺ 'a bağlanmada önem taşıyan geniş bir hücre-dışı N-ucu ile, kaderinler arasında çok iyi korunan sitoplazmik bölümlerle bağlantılı tek bir transmembran kısımdan oluşur. Sitoplazmik kısım üç sitoplazmik protein ile ilişkilidir; bunlar αβ ve μ-katenindir(24). Kaderinler üzerinde buldukları dokulara, göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş kaderin grubu vardır(25).

E-kaderinler, Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-kaderinler, Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokulara da buldukları bildirilmiştir.

V-kaderinler, Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar N-kaderinler, Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

H-kaderinler, Kalp kasında eksprese olur (26).

Desmoglein, desmocollin gibi kaderin ailesi ile daha uzak ilişkili moleküller de vardır (23). Kaderin/katenin haberleşmesinin kaderinlerin adeziv fonksiyonunda önemli olduğu düşünülmektedir. Fibroblastlarda sitoplazmik kısmı bulunmayan E-kaderin ekspresyonunun fonksiyonel bir hücre-hücre adezyonu sağlayamadığı bildirilmiştir. Bunun muhtemel sebebi kateninlerle irtibat kurulamaması olabilir (27). Kaderinler, yanyana hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı sağlarlar. Yapışma kavşaklarında fermuara benzer yapılar oluştururlar. Bu grupta bulunan desmosomlar hücre iskeletinin ara flamanları için kutuplaşma noktaları oluştururlar. Kaderinler, birbiri ile genelde homofilik karakterde ilişkiye girerler. Karşılıklı hücrelerde bulunan aynı kaderinler birbirine bağlanarak hücre-hücre adezyonunu sağlarlar. Kaderinlerin bu özelliği yukarıda bahsedilen histogenetik dağılımı sağlar. Kaderinler embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumlu hücre yüzey glikoproteinleridir. Embriyoda özgün adezyon moleküllerinin ekspresyonu hücre göçü ve doku diferansiyasyonu için gereklidir. Kaderinlerin adeziv fonksiyonunu göstermek için normal koşullarda yüzeyinde bu molekülleri taşımayan hücrelere, kaderin cDNA transfeksyonu yapılmış, bu hücreler kaderin moleküllerini eksprese etmeğe başladıkdan sonra adeziv özellik de kazanmıştır (28). Ayrıca, Na⁺-K⁺-ATPase gibi bazı moleküllerin de basolateral kısımda birikmeye başlaması kaderinlerin epitele-benzer bir polarite de sağladığını, sinyal iletiminde de rol alabileceğini göstermiştir. Böylece, iki kaderinin ilişkisi bir dizi biyokimyasal olaya neden olarak doğru pozisyon, tanıma ve hücreler arası haberleşmeyi sağlamaktadır (25). Tümör oluşumunda, kaderinlerin azaldığı belirlenmiştir. Tümör hücrelerinin düzensiz davranışı nedeniyle hücre-hücre ilişkisi tümörlerde bozulmuştur. Kaderinlerin hücre yüzeyinde azalması ile ortaya çıkan azalmış adezyon ve hücre ilişkilerinin neoplastik progresyonla ilişkisi her geçen gün daha da belirgin hale gelmeye başlamıştır (26). İnvaziv karsinoma hücrelerinin başlıca karakteristiği az diferansiyasyon olmaları ve hareketliliklerinin artmış olmalarıdır E-kaderin hücrenin hareketlilik özelliğinin yok olmasına neden olur. E-kaderin ekspresyonu azalan epitel hücrelerinde diferansiyasyonunun azaldığı ve göç kabiliyetlerinin arttığı belirlenmiştir (26). Buradan E-kaderinlerin invaziv özelliğe karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (29). Ayrıca E-kaderinin birçok az diferansiyasyon insan karsinom hücresinde bulunmadığı da tespit edilmiş ve bu hücrelerin invaziv özelliği E-kaderin cDNA transfeksyonu ile ortadan kaldırılmıştır (30). Aynı şekilde meme kanserli hastalarda H-kaderin ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (26).

Selektinler

Selektinlerin yapılarında hücre-dışı bölümde bulunan bir lektin kısmı, bunun hemen yanında epidermal büyüme faktörü'ne (EGF) benzer bir bölüm ve bunun yanında da kompleman regülatuar proteinlerinde bulunan 60 aminoasitlik tekrarlayan diziler (Short Consensus repeats, SCR) vardır. Bunları mebranı geçen kısım ve sitoplazmik kısım izler (31). Lektin kısmı ligand ile başlayan bölümdür. EGF'e benzer bölümün molekülün genel yapısının sağlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir bu bölümün çıkartılması selektinlerin adezyon fonksiyonunu ortadan kaldırır (32). Selektinlerin yapısında bulunan kısa ardışık tekrarlayan dizilerin (SCR) tam fonksiyonu bilinmese de, bu bölümün delesyonu fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Selektinler lökosit ve endotel hücreleri üzerindeki karbohidrat ligandlarına bağlanarak lökosit trafiğinin düzenlenmesine katılırlar.

Selektinler de kaderinler gibi üzerinde buldukları dokulara göre isim alan üç ana grupta incelenir.

L-selektinler, hemen tüm nötrofiller ve monositlerde, T ve B lenfositlerin büyük bölümünde ve NK hücrelerinin bir alt grubunda eksprese olurlar. T ve B hücreleri üzerinde eksprese olan L-selektinler tüm naiv hücrelerde bulunurken bazı hafıza hücrelerinde eksprese olmazlar (32).

E-selektinler, endotel hücresi üzerinde bulunurlar ve ekspresyonları IL-1, TNF-a gibi inflamatuvar uyaranlara cevaben artar (33).

P-selektinler, trombositler ve endotel hücreleri üzerinde bulunurlar. Bu gruptaki selektinler trombin, histamin, protein kinaz C, kompleman fragmanları gibi çeşitli mediatörlerle uyarılabilir. Ancak endotel hücrelerine özgün Weibel-Palade cisimcikleri ve trombositlerde bulunan α granüllerde P-selektinler hazır olarak da bulunur (32). Böylece, bu granüllerin membrana füzyonu ile P-selektinler çok hızlı şekilde eksprese olma özelliği gösterirler.

Her üç grup selektin, lökositlerin endotele yapışarak yuvarlanmasında rol alır. Bu genlerin fonksiyonları "knockout" farede analiz edilerek belirlenmiştir. L-selektin eksikliği oluşturulan farede ortaya çıkan başlıca belirti lenfositlerin lenf nodüllerine yerleşiminin "homing" ortadan kalkmasıdır. P-selektin eksikliği oluşturulan farede lökositler normal kan damarları üzerinde yuvarlanma yeteneğini yitirirken, inflamasyon alanında yuvarlanırlar. E-selektinden yoksun farede ise büyük bir değişim saptanmamasına rağmen, aynı anda E-ve P-selektin kaybı inflamatuvar alandaki yuvarlanma işleminin de kaybolmasına neden olur (13). Her selektin yuvarlanmaya farklı hız karakterlerinde aracılık eder. L-selektin, akım halindeki hücrelerin yakalanmasında en etkili rol oynarken, E-selektinin durağan yuvarlanmada etkili olduğu, P-selektinin ise her ikisini de başlatıp yuvarlanmayı devam ettirebildiği gösterilmiştir (33). Ancak, selektinlerin ve ligandlarının ekspresyon kinetiklerinin farklı olması nedeniyle, farklı selektinler, inflamasyonun farklı zamanlarında rol oynarlar. Ayrıca selektinlerin ve ligandlarının ekspresyon paterni dokuya ve cinse göre de farklılık gösterebilir. Etkili bir immün cevap için temel şart T ve B lenfositlerin ikincil lenfoid organlarda sürekli dolaşım olmalarıdır. Lenfositlerin dolaşımdan sekonder lenfoid organlara geçişi lenf nodüllerindeki postkappiller damarlarda bulunan özelleşmiş endotel hücrelerinden sağlanır. L-selektinlerin monoklonal antikorlarla bloke edilmesi lenf nodüllerindeki endotel hücrelerine bağlanmayı durdurmuştur. Bu deneyler L-selektinlerin lenf nodüllerine geçiş için tek olmasa da temel molekül olduğunu göstermiştir (32). Bu gereklilik nedeniyle L-selektin T ve B lenfositleri üzerinde daimi olarak eksprese olmaktadır.

Sınıflandırılmayan Adezyon Molekülleri

Adezyon fonksiyonuna katılan ancak yukarıda bahsedilen dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleridir.

Hermes (CD44), Hücre-dışı matris reseptörü III olarak da bilinir. Membran glikoproteinidir. İnsan dokularında variant izoformları yaygın olarak eksprese olur. T ve B lenfositler, timositler, granülosit, monosit, epitelyal hücreler, fibroblastlar bunlardan bazılarıdır. Hücre-hücre ve hücre, hücre-dışı matris adezyonundan sorumludur. Endotel hücresi üzerinde lenfositlerin yuvarlanmasına, hücre göçüne ve hematopoetik hücrelerin diferansiyasyonunun uyarılmasına aracılık eder (34). CD36, platelet glikoprotein VI, GP IIIb olarak da bilinir. Apoptozise giden hücrelerin fagositoz kapasitesi ile ilgili rolü olabilir. Monositlerdeki gen düzenlenmesinin adezyonla ilişkili olduğu düşünülmektedir (35)

Laminin, dokular arasında geniş dimerler oluşturur. Bazal membran

mimarisi için önem taşır. Embriyogenez, gelişim ve dokuların yeniden şekillenmesi için gereklidir.

Fibronektin, glikozaminglikana, jelatine, fibrin, heparin ve hücre yüzey integrinlerine bağlanır.

Embriyogenez, anjiogenez, tromboz, hemostaz, inflamasyon ve yara iyileşmesi sırasında adeziv ve migratuvar olaylara aracılık eder (36).

OX40, aktif T-hücrelerinin vasküler endotel hücrelerine ligandı olan gp 34 aracılığı ile adezyonunda rol alır. T hücre kostimülasyonuna katılır (37).

Adezyon Reseptörleri ile Sinyal İletimi

Adezyon moleküllerinin sinyal iletebildiklerinin gösterilmesi son on yılın temel gelişimlerinden biri sayılmaktadır. Sinyal iletimi, en iyi integrinlerde tanımlanmıştır. Integrinler, bir grup farklı sinyal iletim repertuarına sahiptir (38). Rho-ailesi GTPase'ların aktivasyonuna neden olarak hücre iskeleti organizasyonunda değişimlere neden olurlar. Mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz yolağının ve bir grup protein ve lipid kinazın aktivasyonuna yol açarlar. Bu sinyal yolağının aktivasyonu integrinlerin hücre adezyonu ve morfolojisinin yanısıra, hücre-siklusunun ilerlemesini, hücrenin yaşamının devamını ve gen ekspresyonunu etkilemesine neden olurlar. Gerçekten de birçok hücre bir substrata yapışmadığı takdirde çoğalamaz ve yaşayamaz, buna "anchorage dependence" adı verilir. Büyüme faktörleri ile integrinler arasında önemli oranda karşılıklı konuşma ve yardımlaşma söz konusudur. Büyüme faktörlerinin tek başına bulunması yeterli değildir, integrin sinyalinin varlığına da ihtiyaç vardır. Bu yardımlaşma her seviyede söz konusudur. Membranın proksimalinde farklı tipte reseptörler birbirinin aktivasyonunu etkiler. Bunun yanısıra, ortak yolağlarda çoklu uyarılar olabilir. Bu iki reseptör grubu, integre bir sistemin parçaları olarak düşünülmelidir. Bu kaynaşma kaderin/ -katenin sisteminde de görülmektedir (39). β -katenin klasik kaderinlerin β hücre iskelet bağlayıcısıdır. Aynı zamanda, Wnt sinyaline cevaben miktarı artan transkripsiyonel aktivatör işlevini göreyerek sinyal iletiminde temel rol oynar. Hücre-hücre adezyonu ile Wnt sinyal iletim yolu arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır ve tıpkı integrin ve tirozin kinaz reseptörleri gibi birbirleri üzerinde etkilidirler. Kaderin superaillesinin diğer üyeleri de farklı sinyal iletim yollarıyla işlev görebilir (39).

Integrinlerin kendi başlarına sinyal iletmeyip, bir takım yardımcı transmembran molekülleri ile birleşerek sinyal kapasitelerinin çeşitliliğini arttırdığı da bildirilmeye başlanmıştır. Bu yardımcı sinyal molekülleri arasında tetraspaninler, CD47, kaveolin ve syndekanlar sayılabilir (40).

Hernekadar son on yılda adezyon molekülleri ile ilgili bilgilerimiz arttıysa da bu konuda halen aydınlatılmayı bekleyen bir çok soru vardır. Önümüzdeki yıllarda adezyon moleküllerinin gelişimdeki rolü, ekspresyon paternleri ve fonksiyonları, sinyal iletimindeki rolü ve bunun diferansiyasyona etkisi transjenik hayvanlarda incelenerek daha iyi olarak belirlenecek, bu şekilde adezyon moleküllerinin ekspresyonunun hastalıklarda ve özellikle kanserdeki prognostik değeri klinik ve temel araştırmalarla saptanarak bu moleküllerin diferansiyasyon ve invazyonu engelleyici özelliklerini artırıcı ilaçlarla tedavi yolları aranacaktır.

Matriks Metalloproteinazları

Hücre-dışı matris (extracellular matrix) sürekli olarak bir yenilenme işlemine maruz kalır. Bu işlem var olan proteinlerin yıkılması ve yeni proteinlerin sentezlenmesi ve depolanmasıyla gerçekleşir. Hücre-dışı matris'in yıkılmasına çok sayıda proteolitik enzim katılsa da matriks metalloproteinazları (MMP) diye adlandırılan bir enzim grubunun baskın rol aldığı bilinmektedir. Matriks metalloproteinazları geniş metzincin

metalloendopeptidaz ailesinin bir alt grubudur ve çinko elementine gereksinimleri ile tanımlanırlar. İlk MMP kollajenolitik aktivitesinin varlığı ile farkedilmiş ve bunu ilişkili diğer enzimlerin bulunması izlemiştir. Bugün bilinen 20 tane memeli MMP vardır ve diğer organizmalarda da birçok MMP homoloğu tanımlanmıştır(41). MMP'ları başlangıçta substrat özgüllüklerine bağlı olarak isimlendirilmişlerdir. Bu nedenle MMP'ları aynı zamanda kollajenazlar (MMP-1, 8, 13); jelatinazlar (MMP-2, 9); stromelisinler (MMP-3, 10, 11) ve matrilizinler (MMP-7, 26) olarak da bilinirler. Ancak bugün bunların hatalı bir isimlendirilme olduğu gayet iyi bilinmektedir çünkü MMP'ları substrat özgüllüğü açısından önemli ölçüde üstüste çakışır. Genel olarak MMP'larının hepsinin birlikte tüm hücre-dışı matris proteinlerinin yıkılmasına neden olduğu düşünülmektedir. MMP'ları gelişme, hormon-bağımlı dokuların yeniden şekillenmesi, doku tamiri gibi fizyolojik olaylarda temel görev alırlar. Ancak, inflamasyon, tümör yayılımı, metastaz gibi birtakım patolojik durumların ortaya çıkmasında da rol oynarlar (42-44). MMP'ları, epitelial hücreler, fibroblast, miyofibroblast, kondrosit, osteoklast, endotelial hücreler ve lökositler gibi oldukça fazla miktarda hücreden salıverilirler. MMP'larının büyük bir bölümü salıverilerek işlev görürler (41). Birçok malign hücre de yapısal olarak MMP'larını salıverir. Erişkin yaşamda istirahat halinde MMP ekspresyonu çok düşük seviyededir. Ancak doku yeniden şekillenmesi ile ilgili durumlarda ortamda bulunan sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkisi ile MMP ekspresyonu ve aktivitesi hemen uyarılır. MMP'larının aktivitesi bir çok seviyede kontrol altındadır. MMP'larının aktivasyonu pro-domain'in proteolitik olarak ayrılmasıyla gerçekleşir. Her ne kadar otokatalitik aktivasyon söz konusu olsa da MMP aktivasyonu, genellikle diğer proteazların aktivasyonu ile gerçekleşir. MMP'larının hücre göçünü sağlamak için yollar oluşturmakta görev aldıkları kesin olarak bilinse de son çalışmalar MMP'larının yalnızca yapısal hücre-dışı matris proteinlerinin yıkımından sorumlu olmadığını, bunun çok ötesinde görevleri de olduğunu göstermektedir. Hücre-dışı matrisde tutulan büyüme faktörlerinin biyo-yararlanımlarını artırmanın yanısıra, latent olarak salıverilen büyüme faktörlerinin (TGF- α , HB-EGF) ve hücre yüzey büyüme faktörü öncüllerinin aktivitelerini artırır (41). Ayrıca, MMP'ları hücre yüzey büyüme faktörleri, sitokin ve kemokin reseptörleri ve adezyon reseptörlerini de proteolitik olarak parçalar. Bunu yaparak MMP'ları; büyüme faktörlerine, sitokinler ve kemokinlere karşı normal ve tümör hücresi cevabına, hücre-hücre ve hücre-hücre-dışı matris cevabına da katılır.

KAYNAKLAR

- Frenette PS ve Wagner DD. Adhesion molecules Part I. N Eng J Med 1996; 334:1527-1529.
- Steinberg MS. Does differential adhesion govern self-assembly process in histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of a hierarchy among populations of embryonic cells. J Exp Zool 1970; 173:395-434.
- Holtfreter J. Significance of the cell membrane in embryonic processes. Ann NY Acad Sci 1948; 49: 709-760.
- Shimizu Y, Rose D.M, Ginsber M.H. Integrins in the Immune System Advances in Immunology 1999; 72:325-381.
- Hynes RO. Integrins, versatility, modulation and signalling in cell adhesion. Cell 1992; 69:11-1. 25.
- Petty HR ve Todd III RF. Integrins as promiscuous signal transduction devices. Immunol Today 1996; 17: 209-211.
- Aydyntu AO, Hücre adezyon molekülleri ve immün sistem. MN Klinik Bilimler 1995; 1: 16-21.
- Malik AB ve Lo SK. Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation Pharmacol Rev 1996; 48: 213-229.
- Etzioni A. Adhesion Molecules-Their Role in health and disease. Ped Res 1996; 39:191-198.
- Luscinskas FW ve Lawler J. Integrins as dynamic regulators of vascular function. FASEB J 1994; 8:929-938.
- Kotovori A., Pessa-Morikawa T., Kotovori P, Nortamo P, Gahmber CG, ICAM-2 and a peptide from Its binding domain are efficient activators of leukocyte adhesion and integrin affinity. J. Immunol 1999; 162:6613-6620.
- Werle-Haller B, Imhof BA. Integrin-dependent pathologies. J Pathol 2003; 200:481-487.
- Frenette PS, Denisa D, Wagner DD. Adhesion Molecules-Part II. N Eng J Med 1996; 335: 43-45.
- D'Andrea G, Colazzio D, Vecchione G et al. Glanzmann's thrombasthenia:identification of 19 new mutation in 30 patients. Thromb Haemost 2002; 87: 1043-1042.
- Pulkkinen L, Uitto J. Mutation analysis and molecular genetics of epidermolysis bullosa. Matrix Biol 1999; 18(1):29-42.
- Hayashi YK, Chou FL, Engvall E, et al. Mutation in the integrin alpha-7 gene cause congenital myopathie. Nature Genet 1998; 19(1): 94-97.
- Evans RD, Perkins VC, Henry A, Stephens PE, Robinson MK, Watt FM. A tumor associated b1 integrin mutation that abrogates epithelial differentiation control. J.Cell Biol 2003; 169: 589-596.
- Landowski TS, Olashaw NE, Agrawal D, Dalton WS. Cell adhesion-mediated drug resistance(CAM-DR) is associated with activation of NF-kappa B(RelB/p50) in myeloma cells. Oncogene 2003; 22(16):2417-2421.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Molecular Basis of T-cell Antigen Recognition and Activation. In:Cellular and Molecular Immunology. 2nd ed. London, W.B. Saunders Company, 1994:136-20.
- Deeths M.J., Mescher M.F., ICAM-1 and B7-1 provide similar but distinct costimulation for CD8 T cells, while CD4 T cells are
- Martin-Padura I., Lostaglio S., Schneeman M., Williams M., ve ark. Junctional adhesion molecule, a novel member of the Immunoglobulin super family that distributes at intercellular junction and modulates monocyte transmigration. J. Cell Biol 1998; 142:117-123. 2.
- Ozaki H, Ishii K, Horivchi H, Arai H, ve ark. Combined treatment of TNF and IFN-causes redistribution of junctional adhesion molecule in human endothelial cells J Immunol 1999; 163:553-557.
- Behrens J. Cadherins as determinants of tissue morphology and suppressors of invasion. ; acta Anat(Basel) 1994; 149: 165-169.
- Kemler, R. Classical cadherins. Stem Cell Biol 1992; 3:149-155.
- Alattia JR, Tong KI, Takeichi M, Ikura M. Cadherins. Methods Mol Biol 2002; 172:199-210.
- Lee SW. H-Cadherin, a novel growth inhibitory function and diminished expression in human breast cancer. Nature Med 1996; 2: 776-782.
- Ozawa M, Ringwald M, Kemler R. Uvomorilin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. Proc Natl Acad Sci. USA 1990; 87:4246-4250.
- Nagafuchi A, Shirayoshi Y, Okazaki K, Yasuda K., Takeichi K. Transformation of cell adhesion properties by exogenously introduced E-cadherin cDNA. Nature 1987; 329:341-343.
- Behrens J, Mareel MM, Van Roy F, Brichmeijer W, Dissecting tumor cell invasion: Epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin mediated cell-cell adhesion. J Cell Biol 1998; 108:2435-3447.
- Frixen U, Behrens J, Sachs M, et. al. E-cadherin mediated cell-cell adhesion prevent invasiveness of human carcinoma cell lines. J Cell

-
- Biol 1991; 111:173-185.
31. Springer TA, Adhesion receptors of the immune system *Nature* 1990; 346:425-434.
 32. Kansas GS. Selectins and their ligands: Current concepts and controversies. *Blood* 1996; 88:3259-3287.
 33. Jung U, Ley K. Mice lacking two or all three selectins demonstrate overlapping and distinct functions for each selectin. *J of Immunol* 1999; 162:6755-6762.
 34. Galluzzo E, Albi N, Fiorucci S. Involvement of CD44 variant isoform in hyaluronate adhesion by human activated T cells. *Eur J Immunol* 1995; 20: 2932-2939.
 35. Ren Y, Silverstein RL, Allen T, Savill J. CD36 gene transfer confers capacity for phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *J Exp Med* 1995; 181: 1857-1862.
 36. French-Constant J. Alternative splicing of fibronectin, many different proteins but few different functions. *Exp Cell Res* 1995; 222:261-271.
 37. Imura A, Hori T, Imada K. The human OX40/gp34 system directly mediates adhesion of activated T cells to vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1996; 183(5):2185-2195.
 38. Schwartz MA et al. Integrins: emerging paradigms of signal transduction. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995; 11:549-599.
 39. Barth AI, Nathke IS, Nelson WJ. Cadherins, catenins and APC protein: interplay between cytoskeletal complexes in signalling pathways. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 683-690.
 40. Hynes RO. Cell adhesion old and new questions. *Trends Cell Biol* 1999; 9(12):M33-37.
 41. Bosman FT, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular. *J Pathol* 2003; 200:423-428.
 42. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: They're not just for matrix anymore! *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13:534-540.
 43. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature Rev* 2000; 2: 161-174.
 44. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17:463-516.

III. OTURUM

14.30-15.10

Oturum Başkanı

Dr. Rana KARABUDAK

14.30-15.10

Autoantibodies in CNS and PNS

Angela VINCENT MB BS,

FRCPath. Department of Clinical Neurology,
Institute of Molecular Medicine,
John Radcliffe Hospital

Autoantibodies can be detected in a growing number of neurological diseases. Some antibodies are markers for disease (eg. most paraneoplastic antibodies), others are thought directly to cause disease (eg. AChR antibodies in myasthenia gravis). Here we will discuss mainly those antibodies that are thought to be pathogenic, and the growing evidence for antibodies to ion channels associated with CNS disease.

Seropositive myasthenia gravis (MG) Myasthenia gravis (MG) is caused in the majority of cases by circulating autoantibodies to the nicotinic muscle acetylcholine receptor (AChR), the main neurotransmitter receptor at the neuromuscular junction. The detection of these antibodies, which was first demonstrated in the 1970s, and the investigation of their role in causing the disease, provide the clinical and experimental paradigms for assessing the presence and significance of autoantibodies in other disorders.

In MG, anti-AChR antibodies are generally measured by immunoprecipitation of 125 I- α -bungarotoxin-labelled AChRs. α -bungarotoxin is a neurotoxin from the venom of *Bungarus multicinctus*, the banded krait, that binds very specifically and irreversibly to the AChR. A highly variable, but often quite large proportion of the antibodies detected bind to the "main immunogenic region" (MIR) which is present on each of the two α -subunits. In addition, some of the antibodies in MG sera bind to the fetal isoform of the AChR exclusively, and some inhibit function of the AChR by binding to the ACh binding site which does not overlap the main immunogenic region. Antibodies specific for the fetal isoform are occasionally present in women whose babies are born with multiple joint contractures and other deformities due to paralysis in utero. In these cases, the antibodies are principally directed against the ACh binding site that is adjacent to the gamma subunit, and strongly inhibit the function of the fetal AChRs. The paradigms that established the role of AChR antibodies in MG, and which have been adapted for investigating the role of antibodies in other neurological diseases, are summarized below.

1. Antibodies to extracellular domains of the AChR are found in >80% of patients with MG and are very rare in healthy individuals or other disease controls. There are some individuals in which they can be present without apparent disease but, in most cases, these individuals are at increased risk of developing MG and may have subclinical disease.

2. MG patients respond to plasma exchange. The clinical response appears to follow the fall in circulating AChR antibodies, and subsequent deterioration, which occurs weeks to months later, is mirrored by a rise in AChR. Thus circulating factors, probably AChR antibodies, are intimately related to the patient's clinical state. Patients also respond to immunosuppressive therapies such as steroids, azathioprine and intravenous immunoglobulins.

3. Injection of MG Ig or IgG into experimental animals, usually mice,

results in "passive transfer" of the disease resulting in weakness associated with loss of muscle AChRs. This was first demonstrated by Toyka et al in 1975 and has since become a well-recognised approach for determining the pathogenicity of serum antibodies. The antibodies do not necessarily cross-react well with the mouse AChR, and the severity of the clinical and physiological condition in the mice will not, therefore, necessarily reflect that in the patient.

MG is being increasingly recognized in the elderly. Several studies have now documented a higher incidence of AChR positive MG in both men and women over age 60 years than among younger individuals (Vincent et al JNNP 2003). Since MG can be misdiagnosed as stroke or motor neuron disease in the elderly, it is likely that there is considerable underdiagnosis of MG in this age group. This is a subject for future study.

Antibodies in seronegative myasthenia gravis

Antibodies to AChRs are present in about 85% of patients with generalized disease, but only in about 50% of patients with purely ocular muscle weakness. A negative AChR antibody result, therefore, does not exclude a diagnosis of MG. A substantial proportion of MG patients without AChR antibodies (so called seronegative MG, SNMG) appear to have an acquired myasthenia; they respond to plasma exchange and other immunosuppressive therapies and their Ig or IgG fractions transfer disease to experimental antibodies. Recently, antibodies to the muscle specific receptor tyrosine kinase, MuSK, have been identified in 40-70% of SNMG patients; those with MuSK antibodies tend to have unusual presentations with predominant neck extensor weakness, bulbar or respiratory symptoms, and be more difficult to treat effectively with conventional immunosuppression (Sanders et al 2003; Vincent et al Lancet Neurology Reviews 2003).

SNMG patients without MuSK antibodies also have an immune mediated disease. Their plasma or sera inhibits the function of AChR expressed on TE671 cells, or on the subline that expresses adult AChRs. The effect appears to be indirect, perhaps acting on another muscle surface receptor that activates a second messenger system leading to reduced AChR function. This plasma factor is not an IgG and co-purifies with IgM (Plested et al Neurology 2002).

Although SNMG is clearly an antibody-mediated disease, one must consider the possibility that some patients without AChR antibodies (or even very occasionally those with, Croxen et al Neurology 2002) may have a late-onset hereditary congenital myasthenic syndrome due to mutations in the AChR or in the cytoplasmic molecule, RAPSyn, that anchors the AChR.

Ocular MG is still very much an enigma. AChR antibodies are present in only 50% of patients, but MuSK antibodies are negative in all those tested so far. The non-IgG plasma factor is probably not involved. Although it has been proposed that the ocular muscles contain mainly fetal AChRs, rather than the adult isoform, adult AChR is also present in large amounts on the multiple innervated muscle fibres. It is possible that there is another, quite different, target for antibodies in ocular MG, and it is well recognized that some patients may turn out to have a non-immune, genetic condition such as ocular pharyngeal muscular dystrophy or mitochondrial myopathy.

Antibodies to voltage-gated calcium channels in the Lambert Eaton myasthenic syndrome

The Lambert Eaton myasthenic syndrome (LEMS) is a condition in which muscle weakness results from a reduction in the amount of ACh released from the motor nerve terminals. It is associated with antibodies to voltage-gated calcium channels (VGCCs) that are present on the motor nerve

terminal at the neuromuscular junction. The antibodies lead to loss of the VGCCs, and a marked reduction in the calcium-induced ACh release that is responsible for neuromuscular transmission. About 50% of LEMS patients have a small cell lung cancer (SCLC), and SCLC cell lines express VGCCs. Thus LEMS is a disorder in which an immune response against a tumour leads to a neurological syndrome, and is a paradigm for paraneoplastic disorders in general.

The role of the antibodies in causing the disease was established in a similar manner to that for AChR antibodies, but importantly the crucial clinical experiments predated the identification of the antigenic target. The patients respond to plasma exchange, and other immunotherapies, although the response may be less dramatic than in MG. The passive transfer of disease to mice has proved to be relatively efficient, probably because the VGCCs are highly conserved among species. Serum antibodies specific for P/Q-type VGCCs can be measured by immunoprecipitation using a particular subtype of cone-snail toxin (conotoxin MVII C) from *Conus magus* to label the VGCC. Positive levels of antibodies are present in >90% of patients with well characterized disease and are very infrequent in other patients except for some with SCLC and cerebellar ataxia (only some of whom have LEMS as well, Graus et al Neurology 2002), and a small percentage of patients with SCLC without overt neurological disease.

Removal of a SCLC, if present, can lead to neurological improvement, and conversely those patients with LEMS may have a better oncological prognosis emphasizing that the neurological syndrome is the price paid for an effective and early immune response against the tumour.

Antibodies to voltage-gated potassium channels (VGKC) in acquired neuromyotonia

Neuromyotonia is a disorder in which patients have hyperactivity of their muscles, often associated with muscle cramps and fasciculations and increased sweating. Neuromyotonic discharges (spontaneous and repetitive motor unit discharges detected by placing a microelectrode on the surface of the muscle in vivo) are associated in about 40% of patients with antibodies binding to voltage-gated potassium channels (VGKCs). It is possible that some patients with adult-onset, apparently acquired, neuromyotonia without these antibodies have a different disorder. For instance, some cases of Guillain Barre syndrome or other peripheral neuropathies, in which autoimmunity to gangliosides or other myelin glycoproteins are found, can be associated with neuromyotonic discharges. In addition, episodic ataxia type 1 can present late in some patients and could be mistaken for the immune-mediated disease. Cramp fasciculation syndrome is probably a variant of neuromyotonia (Hart et al Brain 2002).

As in myasthenia gravis and LEMS, the efficacy of plasma exchange in improving symptoms, and the transfer of electrophysiological abnormalities to mice by injection of IgG, are the two most convincing data supporting an immune basis for the condition. Plasma exchange produced a substantial reduction in the number of neuromyotonic discharges. Passive transfer of IgG from neuromyotonia patients to mice resulted in an increase in the release of ACh from the motor nerves, and also prolongation of sensory nerve action potentials; importantly, the results were very similar to those of low concentrations of 3,4 diaminopyridine, the VGKC blocking drug, suggesting that even a modest reduction in VGKC function might be sufficient to cause hyperexcitability in the peripheral nervous system.

without detectable tumours (occasionally with a history of thymoma), have VGKC antibodies (Buckley et al 2002). These patients may not give a history of neuromyotonia (Vincent et al Brain 2004), and often recover substantially if they are immunosuppressed.

15.15-15.35

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa) ve Western Blotting

Yrd. Doç. Dr. Kemal HAMAMCIOĞLU

Gülhane Askeri Tıp Akademisi,
Nöroloji AD.

Araştırmalarda kullanılan birçok teknik temelde antikorlarla yapılır. Modern moleküler biyoloji sayesinde gelişen bu tekniklerin immün sistemin değerlendirilmesinde çok önemli bir yeri vardır. Genelde araştırmalar için kullanılan bu teknikler aynı zamanda rutin değerlendirmelerde de sıklıkla kullanılır. Bu bölümde temeli antijen-antikor reaksiyonuna dayanan iki teknikten bahsedeceğiz.

1. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

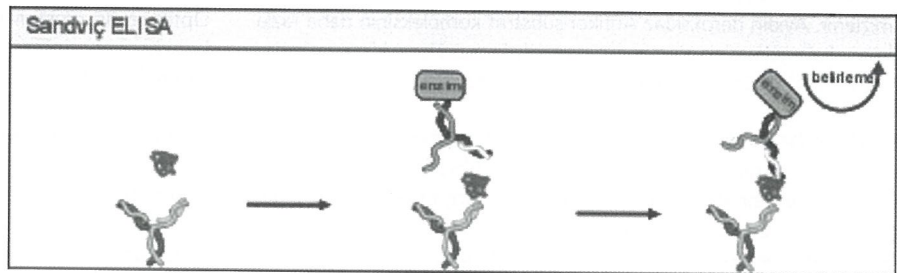
2. Western Blotting.

Antikorların belirli antijenlere karşı olan spesifitesi sayesinde antijenler tespiti edilebilir, saflaştırılabilir ve ölçülebilir. Her türlü makromolekül ve küçük kimyasallara karşı antikor üretilebildiği için her türlü antijen tespitinde ve ölçümünde rahatlıkla kullanılabilir. Monoklonal antikor üretim teknikleri ilerlemesi sayesinde istenilen özellikte antikor üretimi yapılabilmektedir.

ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA)

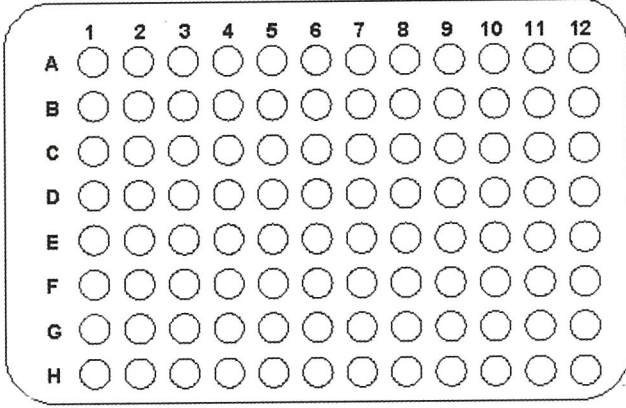
Antijen miktarları immünolojik yöntemlerle ölçme hem hastanın değerlendirmesinde hem de araştırma amaçlı sensitivitesi ve spesifitesi yüksek testlerle uygulanmaktadır. Tüm modern immünokimyasal ölçme metotları, aktivitesi bir indikatörle belirlenen antijen-antikor reaksiyonu sonucu değerlendirilir. Eğer bu indikatör radyoizotop ile işaretlenmişse bunun ölçümüne "radioimmunoassay" (RIA) denir. İndikatör kovalent bir şekilde enzime bağlandıysa bunun optik dansitometre ile ölçümüne ise ELISA denir. Her iki tekniğinde çok çeşitli alt grupları vardır. Burada en sık kullanılan "sandviç ELISA" yönteminden bahsedilecektir.

Sandviç ELISA yönteminde ölçülmek istenen antijene karşı oluşturulmuş tanımlayıcı antikor (capturing antibody) ve biyotinli antikor (biotinylated antibody) kullanılır. İstenilen antijenin tanımlayıcı antikor ile tespiti, enzim-konjuge biyotinli antikor ile işaretlenerek ölçülmesi temeline dayanır (Şekil-1).



Şekil -1

Yüzey olarak yüksek bağlanma kapasitesine sahip "polystyrene" 96 kuyucuklu, düz tabanlı levha (plate) kullanılır (Şekil-2).



Şekil-2

Primer antikor ilk aşamada bilinen tanımlayıcı antikor, bağlayıcı tampon içinde (binding buffer) bu kuyucuklara konur ve inkübasyon için oda ısısında 4 saat veya +4 derecede (buzdolabı) bir gece bekletilir.

Inkübasyon süresi sonunda kuyucuklar fosfat tamponlu solüsyon (PBS+tween) ile temizlenir.

Bloklama Kuyucuk yüzeyinin antijen bağlanmamış kısımlarına başka protein ve moleküllerinin bağlanma olasılığı olduğundan ve bu bağlanmanın ölçümü etkileyeceğinden spesifik olmayan bağlayıcılarla (blocking buffer) bloklama işlemine ihtiyaç vardır. Bu amaçla protein bağlayıcı olarak en sık bovin serum albümin (BSA) veya yağsız süt tozu kullanılır.

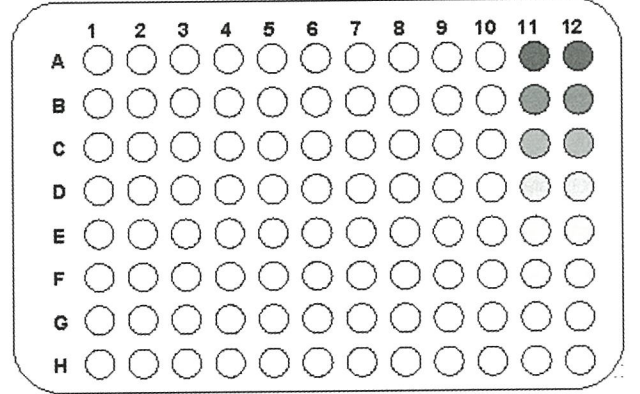
Örnekler Kuyucuklar tekrar PBS+tween ile temizlendikten sonra örnekler non-spesifik bağlayıcı ve deterjandan oluşmuş tampon ile istenilen oranda sulandırılarak konur. Bu aşamada antijen değerlendirilecek olan antikora bağlanır. Oda sıcaklığında 2-4 saat veya bir gece +4 derecede bekletildikten sonra PBS+tween ile temizlenir. Bu temizleme işleminden tabandaki antijen-antikor kompleksi etkilenmez.

Sekonder antikor Daha sonra enzim iğaretili (biotinylated) anti-antikor eklenir. Enzim işaretli monoklonal veya poliklonal (IgM veya IgG) antikorlar konjugant olarak adlandırılır. Enzim olarak genellikle peroksidaz (HRP-horse redish peroxidase) ile iğaretilmiştir. Ancak alkalen fosfataz, glukoz oksidaz, beta D-galaktozidaz gibi başka enzimlerde işaretleme için kullanılmaktadır. Oda ısısında bir saat bekletildikten sonra kuyucuklar temizlenir. Avidin peroksidaz Antikor-substrat kompleksinin daha fazla görünür hale gelmesini sağlayan bu aşamada kuyucuklar avidin peroksidaz ile yarım saat inkübe edildikten sonra temizlenir.

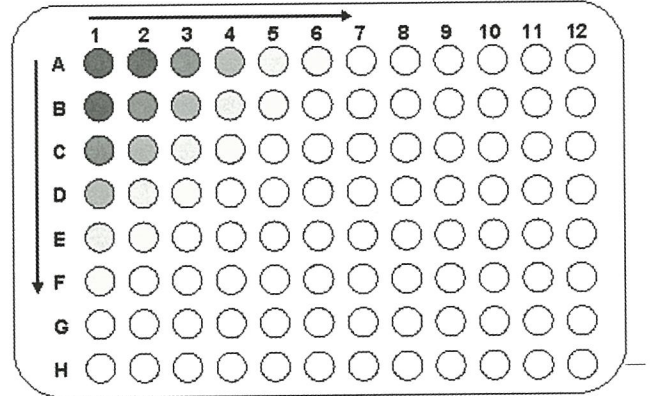
Substrat Ortamda bağlı kalan konjugatın gösterilmesi amacı ile kuyucuklara konjuganttaki enzime uygun substrat ve reaksiyonun görünür hale gelmesi için kromojen içeren karışım eklenir. Örneğin konjuganttaki enzim peroksidaz ise enzim substratı olarak o-fenilen diamin (OPD) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanımı.

Optik okuyucu Bu şekilde kısa sürede sarı renge dönüşen substrat ELISA optik okuyucusu ile 450-650 nm de okunarak optik dansitesi belirlenir. Enzim aktivitesi sürekli devam ettiğinden renk giderek koyulaşır.

Reaksiyonu durdurmak için stop solüsyonu (H₂SO₄) kullanılır. Enzim aktivitesi zamanında durdurulmazsa bir süre sonra kuyucuklar arasındaki dansite farkı azalır ve ölçümün sensitivitesini etkiler. Kuyucuklarda oluşan rengin koyuluğu örnekteki antijen miktarı ile doğru orantılıdır. Antijen konsantrasyonu en yüksek olan standardın kuyucuğunun optik dansitesi (OD) 1,0 olduğunda ideal ölçüm değerindedir.



Şekil-3



Şekil-4

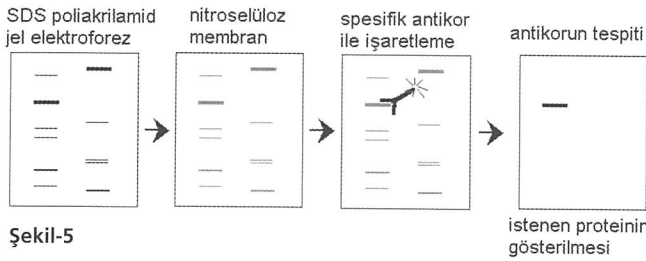
Standartlar Levhadaki önceden belirlenen kuyucuklara aranan antijenden bildiğimiz miktar (beklenen en yüksek konsantrasyondan başlayarak) belirli dilüsyonlarda (1/2 veya 1/3) konulur. Bu kuyucuklardan elde edilen OD ler ve bu OD lere karşılık gelen konsantrasyonlarla bir eğri elde edilir. Örneklerin konsantrasyonları bu eğriden elde edilen formül ile (logaritmik veya lineer) belirlenir. Ayrıca antijensiz kuyucuklarla zemin değeri de (background noise) belirlenir (Şekil-3).

Öneriler - işlem sırasında kullanılacak olan tanımlayıcı ve belirleyici antikorların yoşunlukları önceden yapılacak kontrol tablosu ile belirlenir. Optik cevap oluşturabilecek, bilinen yoşunluktaki antijen ile değişik konsantrasyonlardaki antikorlar ile optimum konsantrasyon çifti bulunur (Şekil-4).

Kuyucukların temizleme işlemi özel aspiratörlerle veya levhanın ters çevrilerek boşaltıldıktan sonra kuru kağıt havlu üzerine vurulması ile yapılır. Temizleme ve örnek doldurma işlemleri arasında kuyucukların kuruma-ması gerekmektedir. Kuyucukların doldurulması ve boşaltılması sırasında pipet uçlarının kuyucuğun tabanına değmemesine özen gösterilmelidir. Her aşama sona erdiğinde en az 4 kez yıkanmalıdır. Değerlendirilecek örnekler genel olarak %10 ve %50 oranında dilüe edilerek kullanılır. Her bir örnek ve standart için iki kuyucuk kullanılır ve ortalaması alınır. Her levha üzerine o levhaya özel standartların yapılması

gerekir. Çünkü her levhanın işlem koşulları farklı olabilir. Non-spesifik blokan antikorlar kontaminasyonu önlemek için taze hazırlanmalı ve kısa sürede kullanılmalıdır. Enzim substratı olarak kanserojen madde olan OPD kullanıldığı için optik dansitesi ölçüldükten hemen sonra deaktive edilmelidir (O₃ ile).

WESTERN BLOTTING Western blotting bir karışımdaki proteinin rölatif miktarını ve moleküler ağırlığının tespiti için kullanılır. Karışım önce SDS-PAGE (sodium dodecyl (lauryl) sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) denen jel içerisinde moleküler ağırlığına göre ayrılır. Ayrılan proteinler elektroforez yardımı ile membrana aktarılır. Membrana aktarılan proteinler işaretlenmiş (radiolabeled) antikorlarla radyografik inceleme veya son zamanlarda sıklıkla kullanıldığı gibi kimyasal ışınım yapabilen (chemiluminescent) antikorlarla buna hassas fotoğraf filmlerinin kullanılması ile görünür hale getirilir. Aynı membran üzerinde molekül ağırlığı bilinen karışımlarla molekül ağırlığının tespiti, her örnekte eşit boyama yapabilecek bilinen bir molekül ile de rölatif miktar değerlendiril-



Şekil-5

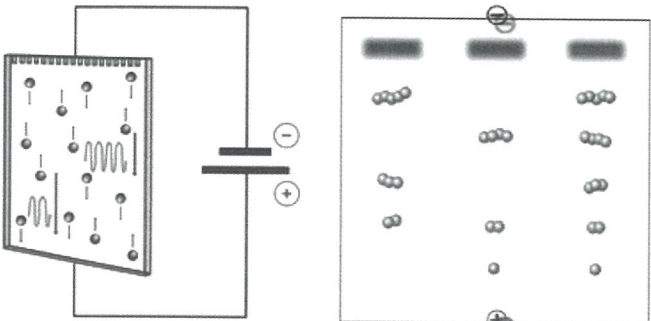
mesi yapılabilir (Şekil-5).

Jel Değerlendirmesi yapılacak olan molekülün molekül ağırlığı biliniyorsa buna uygun jel seçilir. Yoğunluğu yüksek bir jel ile molekül ağırlığı düşük proteinler, yoğunluğu düşük bir jel ile yüksek molekül ağırlıklı proteinlere bakılır (Tablo-1).

Tablo 1

Jel (%)	Molekül ağırlığı (kDa)
6	60-200
8	50-150
10	25-100
12	15-80
18	<15

Nitroselüloz membran Elektroforezden sonra jel içinde ağırlığına göre dizilen proteinler (Şekil-6) daha sonra yine elektroforez ile nitroselüloz membrana aktarılır. Jel tarafında negatif akım, membran tarafında pozitif akım olduğu için negatif yüklü proteinler jel üzerindeki yerleşimi ile aynı şekilde nitroselüloz membrana aktarılırlar (Şekil-7).

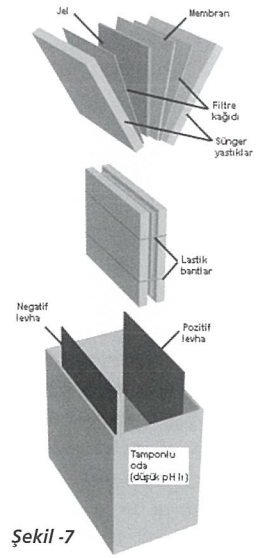


Şekil-6

Burada önemli olan ortam pH'sıdır. Genel olarak düşük pH gereklidir. Ancak uygun pH çoğunlukla deneme yanılma yöntemi ile bulunur. İkinci önemli nokta ise elektroforez sırasında jel ile membran arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat etmek lazımdır.

Bloklama Nitroselüloz membranın boş kalan kısımlarına bağlanmayı önlemek için bir gece, +4° C de non-spesifik blokerle inkübe edilir.

Primer ve sekonder antikor Daha sonra tanınması istenen proteine karşı üretilmiş antikor ile inkübe edilir. Membranlar yıkandıktan sonra konjuge enzim içeren sekonder antikor ile inkübe edilir.



Şekil-7

Görüntüleme Yıkandıktan sonra "chemiluminescent" madde olan ECL ile kısa süre reaksiyona girdikten hemen sonra fotoğraf kağıdına veya bu maddelere duyarlı özel tarayıcılarla (alpha imager) görüntü elde edilir.

Değerlendirme Membranda bir bölüme belli molekül ağırlıkları olan protein standardı eklenerek elde edilmek istenen proteinin yeri belirlenir. Elde edilen görüntü her sırada bilinen bir proteinin (örn:aktin) dansitesi ile oranlanarak rölatif miktar elde edilmiş olur.

Ekspirimental Allerjik Ensefalomyelit

Dr. Aslı KURNE

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Nöroloji AD Nöroimmünoloji Birimi

I-Hayvan Modellerine Genel Giriş

Model, bir durumun aynı ya da farklı türlerde incelenmesi için hazırlanan deneysel düzenektir. Sıklıkla modeller, insan psikopatolojisi de dahil, insanlarda görülen bir durumu taklit edecek şekilde hazırlanmış düzeneklerdir. Bir modelin kullanılabilirliği ve geçerliliğine karar verirken, o modelin hazırlanmasında neyin amaçlandığının bilinmesi gerekir. Modelin temel öğeleri bağımlı ve bağımsız değişkenlerdir. Bir model için bağımsız değişken, modelinin oluşturulmaya çalışıldığı durumu oluşturmak için yapılan müdahaledir. Bu müdahaleler hastalığın etiolojisine göre seçilebilir, ya da ilgilenilen psikiyatrik hastalıkla ilgili olduğu düşünülen bir anormalliğin tetiklenmesi denenebilir. Hastalığın etiolojisi biliniyorsa hayvanlarda, insanlardaki duruma koşut modeller çok daha kolay bir şekilde oluşturulabilir.

Hayvan modellerinin amaçları

Hayvan modeli ile amaçlanan aşağıdakilerin bir ya da birkaçı olabilir;

- Hastalığın bir sendrom olarak, bütün halinde modellenmesi.
- Hastalığa ilişkin belirli ve bulguların modellenmesi, türler arasında hastalıkların tüm özellikleriyle homoloji göstermeyebileceği, hastalığın insan türünde de yeterince homojen olmadığı, hastalığı tanımlayan belirti kümelerinde değişiklikler olabileceğini bu modeller yolu ile gösterme.
- Hastalığın gelişiminde rolü olabilecek nörobiyolojik, genetik ve çevresel etkenlerin anlaşılmasına katkıda bulunma.
- Terapötik ajan geliştirilmesi, bu durumda model hastalığı taklit eder ya da etmez, modelden beklenen etkinliği bilinen ilaçların etkisini gösterebilmesi, böylece yeni ilaç üretilebilmesidir. Farklı ajanların tedavi edici etkinliğini hedefleyen bu yöntemin altında yatan temel ilke "farmakolojik izomorfizm" dir.
- Benzer ya da yeni etki mekanizmaları olan ilaçları belirlemek için hızlı ve verimli taramalar yapılması.

Tedavi ile ilgili çalışmalarda bir başka konu da normal hayvan kullanımı ile hastalık modeli oluşturulmuş hayvan kullanımınıdır. Tedavilerin sağlıklı insanlardaki etkisi ile hastalar üzerindeki etkisi her zaman koşut olmadığı için, özellikle fizyopatoloji ya da tedavinin etki mekanizması ile ilgili çalışmalarda bazal koşullardaki hayvan kullanımı önerilmemektedir. Modeller hayvanlarda oluşturulabileceği gibi, insanlarda da oluşturulabilir. Ancak bu modellerde hayvanları kullanmanın avantajları vardır. Birincisi hayvan modelleri çalışılan durumların nörobiyolojisi ile ilgili insanlarda kullanılmayacak invazif tekniklerin kullanılabilmesine olanak tanır. İkincisi, pahalı ve uzun süreli klinik çalışmalar aşamasına gelmeden, belli farmakolojik yaklaşımların güvenilirliği ile ilgili bilgi sağlayarak, ilaç gelişimi çalışmalarının giderlerini azaltır. Ancak insanlarla geliştirilen prelinik modellerde türler arası farklılıklar sorunu ortadan kalkmış olur.

II-Genel Bilgi ve Kavramlar

Multipl Skleroz (MS), santral sinir sisteminin (SSS) kronik, inflamatuvar, demyelinizan bir hastalığı olup organ spesifik olma ve T hücre aracılığı ile gerçekleştirime özelliklerini taşımaktadır.

SSS de tipik olarak izlenen inflamatuvar infiltrasyon alanları, otoreaktif T hücreler ve patojenik nonspesifik lenfositlerden oluşmaktadır (1). MS hastalarının SSS'de izlenen T hücreleri arasında CD4+ hücreler ön planda olmakla beraber CD8+ T hücreler ve B lenfositler de bulunabilmektedir.

Santral sinir sisteminde, tipik, yama tarzında demyelinizasyon alanları ve bu alanlarda oligodendrositlerin korunumundan oligodendrositlerin tamamı ile kayıplarına dek uzanım gösteren heterojen ve ağır glial skar dokusu oluşumu ile karakterize olan bir patolojik oluşum temel patolojik özellikler arasındadır. Bu organ spesifik inflamatuvar demyelinizasyonun oluşumunda şu an için henüz tanımlanamamış olan bir tetikleyici tarafından harekete geçirilen immün aracılıklı reaksiyon ile inflamatuvar olaylar zinciri gelişmektedir. SSS deki bazı yapılara (myelin proteinleri gibi) karşı hedeflenen T hücreleri patolojik prosesin organ spesifik olmasını sağlamaktadırlar.

Ekspirimental allerjik ensefalomyelit (EAE), MS'e ait pekçok temel klinik ve histolojik özelliği paylaşan T hücre aracılıklı gelişen bir hastalık olup SSS de genel bir inflamasyon ve demyelinizasyona eşlik eden asendan paralizli kliniği ile karakterizedir (2). MS'de demyelinizasyondan sorumlu olan kompleks patojenik olayların ayrıntılı olarak anlaşılmasında immün aracılıklı hastalık modellerinden, özellikle de EAE'den yararlanılmıştır. EAE, farklı suşlarda farklı myelin antijenleri (myelin basic protein-MBP, myelin proteolipid protein-PLP, myelin oligodendrosit glikoprotein-MOG gibi) yada bazı myelin antijenleri için spesifik olan T hücrelerinin adoptif transferi ile indüklenmektedir. Hedef antijenin yapısı inflamatuvar infiltratların içerik ve dağılımını etkilemektedir, ayrıca, bu inflamatuvar T hücre yanıtı sonucu gerçekleşen demyelinizasyon genetik olarak da belirlenmektedir. Myelin antijen / peptidleri ile yapılan immunizasyon sonrasında otoreaktif T hücreleri periferde aktive olmakta ve kan-beyin bariyeri aracılığı ile SSS ne doğru harekete geçmektedirler. SSS'de, bu otoreaktif T hücreleri perivasküler makrofajlar, mikroglial hücreler yada astrositler gibi MHC sınıf II molekülleri doğrultusunda myelin antijenlerini sunma yeteneğine sahip olan antijen presente edici hücreler (APH) ile temasa geçerler. Bu inflamatuvar mikroçevrede T lenfositleri ve diğer hücrelerden patolojik prosesi tetikleyen ve regüle eden sitokin ve kemokinler eksprese edilirler.

MS'de farklı klinik prezentasyonların olması farklı SSS yapılarına karşı gelişen otoimmün reaksiyonların varlığını yansıtmaktadır. EAE'de farklı SSS antijenlerine karşı yönelmiş olan ensefalitojenik T hücre yanıtları yalnızca SSS'de yer alan inflamatuvar infiltrasyonlara ait lezyonel topografik yapıyı değil ayrıca inflamatuvar infiltratlara ait kompozisyonu da etkilemektedir. EAE'de izlenen lezyonların dağılımına ait heterojenite MS'da farklı klinik subtiplerin anlaşılmasında yararlı olabilmektedir.

MBP, ilk defa Ben-Nun ve meslektaşları tarafından tanımlanmış olup Lewis ratlarında bu protein kullanılarak EAE indüksiyonu yapılmıştır. MOG ise, myelin kılıfı yüzeyinde lokalize olan bir glikoprotein olup hem humoral hem de hücresele immün yanıtı tetiklemektedir.

MOG'a karşı olan humoral immün yanıt ilk defa Linington ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Türlerle, antijene, verilmiş yoluna bağlı olarak EAE nin gidiği monofazik-akut/ kronik relapslarla giden veya primer progresif tipte olup MS subgruplarırlı taklit edebilir. EAE ye ait klasik prezentasyon beyin beyaz cevherine ait perivasküler infiltrasyonlar ile karakterize olup bu alanda CD4+ ve CD8+ T lenfositleri ve makrofajlar yoğun olarak bulunmaktadır. Ancak az önce belirtilen faktörlerin etkisi ile demyelinizasyon, remyelinizasyon, gliosis, aksonal kayıp ve nekroz gibi farklı bulguların ön planda olabileceği farklı nöropatolojik bulgular ortaya çıkabilmektedir. Myelin basic protein (MBP), SSS'nin ana myelin komponentlerinden olup (total myelin proteinlerinin %30 udur) güçlü bir ensefalitojen olarak tanımlanan ilk myelin proteindir ve uzun yıllar MS de ki tek olası antijenik yapı olarak tanımlanmıştır. Son yıllarda SSS myelininin en geniş kısmını oluşturan (%50) proteolipid proteine (PLP) ait ensefalitojenik aktivite de gösterilmiştir(3).

Tablo 1: EAE modelleri

Tür	MHC	Immunojen	Ensefalitojenik epitop	Gidiş şekli	Çalışan grup
Fare	Suş				
Biozzi/ABH	Dg1	MH		RR	Baker ve ark.
		MOG	1-22/43-47/ 134-148	KR	Amor ve ark
SJL	H-2 ^s	MH		AM	Brown ve ark
		MBP	89-101	AM	Zamvil ve ark
		PLP	139-151	RR	Twoky ve ark
		PLP	40-70/ 100-119/178-209	RR	Greer ve ark
		MOG	92-106	KR	Amor ve ark
PL/J	H2 ^u	MH		AM	Zamvil ve ark
		MBP	Acl-9	KR	Zamvil ve ark
		MBP	35-47	KR	Zamvil ve ark
		MOG	35-35	KR	Kerlero de Rosho
C57BL/6	H2 ^b	MOG	35-55	KR	Mendel ve ark
C3H.SW	H2 ^k	MOG	35-55	KP	Mendel ve ark
B.10.PL	H2 ^d	MH	Acl-9	AM	Zamvil ve ark
		MBP	1-37	KR	Zamvil ve ark
Ratlar	Suş				
Lewis	RT1.B	MH		AM	Hoffman ve ark.
		MBP	68-88	AM	Burns ve ark.
		MOG	35-55	RR	Linnington ve ark
DA	Av1	MH		KR	Lorentzen ve ark.
Guşnea Pig					
13		MH		AM	Freud ve ark
Primatlar					
Macaque		MH	Heterojen	AM	Rivers ve ark
Marmoset		MH	Heterojen	KR	Massacesi ve ark
MH: Myelin homojenaty	MOG: Myelin oligodendrosit glikoprotein	MBP: Myelin basic protein	PLP: Proteolipid protein	RR: Relaps ve remisyonlarla giden subtip	KR: Kronik relapslarla giden grup AM: Akut monofazik grup KP: Kronik progresif grup

1976 yılından bu yana Lebar ve arkadaşları tüm SSS homojenati enjekte edilen hayvanlarda izlenen demyelinizan etkinin M2 olarak adlandırdıkları ve MBP ile PLP den farklı yapılanma gösteren bir myelin komponentine karşı gelişen antikordardan kaynaklandığını vurgulamışlardır. İmmunolojik reaktivite, dokusal ve hücreler lokalizasyon ve moleküler ağırlık temel olarak alındığında M2, myelin oligodendrosit glikoprotein (MOG) olarak adlandırılmıştır. Anti-MOG antikordlarının invitro ve invivo kullanımı sonrasında gelişen ve bu antikora ait demyelinizan etkilere ait gözlemler MOG'un SSS'de primer otoimmün aracılıklı demyelinizasyonun başlamasından sorumlu antijenlerden biri olabileceği görüşünü desteklemektedir (4). MOG, myelin kılıfının en dış kısmında oligodendrosit yüzeylerinin dış alanında yer almaktadır. Periferik sinir yada diğer dokularda ne mRNA ne de protein seviyesinde saptanmamış olup SSS myelinini için spesifik bir antijenik yapıdır. Safılaştırılmış anti-MOG antikordları SSS ne verildiğinde direk yada indirek demyelinizasyona neden olmaktadır. Ayrıca total SSS homojenati verilen ve kronik-relapslarla seyreden EAE modelinde hayvan serumlarında anti-MOG antikordları saptanırken daha bol miktarda bulunan MBP ve PLP antijenlerine karşı

antikorlar izlenmemiştir. MS'da anti-MOG antikordları ve sekresyondan sorumlu olan B hücreleri hastalara ait kan ve serebrospinal sıvı örneklerinde gösterilmiştir (5,6).

MOG, myelin içinde çok daha düşük miktarlarda bulunsa da yüksek immunojenik potansiyele sahiptir (7). MOG'a ait biokimyasal özellikler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- 1-SSS'ne spesifiktir
- 2-Myelin kılıfı ve oligodendrosit yüzeylerinde en dıştaki alana yerleşimlidir.
- 3-Oligodendrosit maturasyonunda bir yüzey işaretidir.
- 4-Myelinin yaklaşık olarak %0.05 ini oluşturur
- 5-Suçlar arasında yüksek oranda korunmuştur.
- 6-Myelin formasyonu sırasında geç dönemde oluşur, ileri myelinizasyon myelin bütünlüğünün sağlanmasında önemli yeri vardır.

Son dönemlerde daha ön planda olmakla beraber EAE hem immunolojik hem de nörolojik sistem kökenli temel mekanizmaları araştırmak amacı ile düzenlenmekte, bu açıdan da nöro-immunolojinin gelişimine büyük katkıda bulunmaktadır. EAE ile yapılmakta olan temel ve güncel çalışmalar pek çok konuyu hedeflemiş olmakla beraber, a-nöroimmunitede temel tetikleyici antijenik yapının ve buna karşı immün sistem davranış biçiminin belirlenmesinde b-genetik ve çevresel farklılıkların hastalık prognozundaki etkisinin tanımlanmasında c-immün yanıtın ortaya çıkmasında rol oynayan sitokin/kemokin/kemokin reseptörleri gibi pek çok faktörün araştırılmasında

d- Sağlıklı ve hasarlanmış kan beyin bariyeri ve beyin parankiminin immunolojik açıdan farklılıklarının tanımlanmasında

e- Özellikle son dönemde regülatuar T hücreler, alt gruplarının araştırılması ve bu veriler ışığında immunolojik terimlerin yeniden şekillenmesinde

f- Apoptosisin nöroimmunolojideki yerinin saptanmasında

g- Hastalık tedavisinde kök hücre transplantasyonunun yerini-etkilerini araştırmak amacı ile

h- Farklı farmakolojik ajanların hastalığın önlenmesi ve tedavisindeki yerini saptamak ve bu bilgiler ışığında hastalık immunopatogenezine katkıda bulunmak amacı gibi farklı alanlarda kullanılabilir. Kronik, immün aracılıkla gelişen ve santral sinir sistemde demyelinizasyon ile karakterize olan multipl skleroza ait hayvan modelini oluşturan EAE, hastalığa ait pek çok ortak klinik, immunolojik ve patolojik özellikler taşımaktadır.

Rivers ve arkadaşlarının 1933 de maymunları SSS homojenati ile immunize etme çalışmalarının ardından EAE, hastalığın fizyopatolojisini anlamak için sıkça başvurulan bir metod haline gelmiştir. EAE de T lenfositlerinin rolü ilk defa immunize edilen hayvanlarda T lenfositleri transfer ederek

memeliler doğru immunize edilmeleri koşulu ile EAE ye yatkınlık gösterebilirler. Demyelinizasyonun otoimmün modellerine ait klinik, patolojik ve immunolojik özellikler immunojenin doğasına, sensitizasyon yoluna ve her bir suşa ait genetik özelliklere dayalıdır.

Tablo 1 de farklı türlerin farklı antijenlerle immunize edildiklerinde ortaya çıkan farklı klinik seyirler izlenmektedir. SSS demyelinizasyonu Theiler's virüsü gibi nörotrofik virüslerin enjeksiyonu sonrasında da ortaya çıkabilir. Bu virus picornavirüs olup kronik demyelinizasyonu tetiklemekte ve klinik ile histopatolojik özellikler kronik progresif MS e benzemektedir. Bu model de yukarıda tanımlanan amaçları içeren çalışmalarda kullanılmaktadır. Konuşma içeriği temel olarak EAE nin tarihçesi, indüklenmesi, klinik/ histopatolojik özellikleri ile MS benzeyen ve benzemeyen yönlerine dayalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Martino G, Adorini L. From basic Immunology to Immune-mediated Demyelination-Topics in Neuroscience, Springer-Verlag Italia, Milano 1999.
2. Wekerle H. Experimental autoimmune encephalomyelitis as a model of immune-mediated CNS disease. Current Opinion in Neurobiology 1993; 3:779-784.
3. Mendel I, Kerlero de Rosbo N, Ben-Nun A. A myelin oligodendrocyte glycoprotein peptide induces typical chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in H-2 mice: fine specificity and T cell receptor V expression of encephalitogenic T cells. Eur. J. Immunol 1995; 25:1951-4.
4. Schmidt S. Candidate autoantigens in multiple sclerosis. Multiple sclerosis 1999; 147-160.
5. Xiao B.G, Lington C, Link H. J. Neuroimmunology 1991; 31: 91.1.
6. Sun J, Link H, Olsson T, Xiao B.G, Andersson G, Ekre H.P, Lington C, and Diener P. J. Immunol. 1991; 146: 1490.
7. Bernard C.C.A, Johns T.G, Slavin A, Ichikawa M, Ewing C, Liu J, Bettadapura J. Myelin oligodendrocyte glycoprotein: a novel candidate autoantigen in multiple sclerosis. J Mol Med 1996; 1-12.
8. Kuchroo VK, Anderson A.C, Waldner H, Munder M, Bettelli E, Nicholson L. T cell response in experimental autoimmune encephalomyelitis-Role of self and cross-reactive antigens in shaping, tuning, and regulating the autopathogenic T cell repertoire. Annu.Rev. Immunol 2002; 20:101-23.
9. Bradl M, Lington C. Animal models of Demyelination. Brain Pathology 1996; 303-311.
10. Xiao B.G, Link H. Antigen specific T cells in autoimmune diseases with a focus on multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis. Celluler and Moleculer Life Sciences 1999; 56: 5-21.

15.55-16.15

Gen Tedavisi Yöntemleri

Dr. Didem BEK

Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji AD.

GİRİŞ

Bir genetik eksikliği düzeltmek veya yeni bir fonksiyon kazandırmak amacıyla fonksiyonel genetik materyalin bir kişiye transferine gen tedavisi denir (1). Verilen genetik materyal bir gen, gen segmenti veya oligonükleotid olabilir (2). Konvansiyonel tıbbi tedavinin çok özelleşmiş bir uzantısı olan gen tedavisi, hastalıkları tedavi etmek için ilaçlar yerine nükleik asitlerin uygulanması prensibine dayanır(1).

Etkili bir konvansiyonel tedavi seçeneği bulunmayan hastalıklar için yeni tedavi stratejilerinin geliştirilme zorunluluğu gen tedavisi çalışmaları için itici güç olmuştur (2). İnsanlarda klinik etkinliğin elde edilmesiyle aseptik teknikler, anestezi, antibiyotikler, aşılar ile doku ve organ nakli gibi modern tıbbın dönüm noktaları arasında gen tedavisi de yerini alacaktır (1).

Monogenik hastalıklardan edinsel ve multifaktöriyel hastalıklara kadar geniş bir hastalık grubu gen tedavisi uygulamaları kapsamındadır. Bugün, gen tedavisi klinik uygulamaları başlıca kanser, monogenik hastalıklar, enfeksiyöz hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar üzerine yoğunlaşmıştır (3). Diğer hastalık grupları gen tedavisi çalışmalarının gelecekteki adaylarıdır.

Gen Tedavisi Yaklaşımları

Bir hastalık için gen tedavisi stratejisi geliştirmede ilk ve en önemli basamak hastalıkla ilişkili genin ve bazı durumlarda majör regülatuar bölgelerin tanımlanması ve izole edilmesidir. Daha sonraki basamaklar yeterli genetik materyalin oluşturulması ve hastanın hücrelerine aktarılmasıdır (4). Tüm bu işlemler sırasında Hipokrat' in öğretisi "Primum non nocere" yani "Öncelikle zarar verme" ilkesi her zaman akıldak tutulmalıdır.

Günümüzde insan gen tedavisi somatik hücrelerin modifikasyonuna dayalı olan somatik gen tedavisi üzerine yoğunlaşmıştır. İnsan eşey (germline) hücrelerine yönelik gen tedavisi (germline gen tedavisi) araştırmaları ise henüz başlangıç aşamasındadır. Somatik hücrelerin genetik modifikasyonu sadece tedavi edilen hastayı etkilerken, germline gen tedavisinin gelecek kucakları etkileme potansiyeli mevcuttur (5). Bu etik problem germline gen tedavisinin önündeki en büyük engel olup uygulanabilirliği ileride bilimsel çevrenin ve toplumun ortak kararına bağlı olacaktır.

Somatik Gen Tedavisi

Somatik hücreleri genetik olarak değiştirme amacıyla iki yaklaşım söz konusudur. İlk yaklaşım hastanın vücudundan hücrelerin alınması, hücrelerin genetik olarak değiştirilmesi ve sonrasında hastaya geri verilmesi olup ex vivo gen tedavisi olarak adlandırılmaktadır. İkinci yaklaşım ise hücreler hastanın vücudunda doğal yerleşim yerlerinde iken genetik materyal transferinin gerçekleştirilmesidir ve in vivo gen tedavisi adını almaktadır (5).

Ex vivo veya in vivo, tüm gen tedavilerinin amacı terapötik genetik materyali hedef hücrelere başarılı bir şekilde aktarmaktır (gen transferi) (5). Hastalığın patogenezeine bağlı olarak geliştirilen farklı gen tedavisi stratejileri iki ana başlık altında incelenebilir (2).

1. Klasik gen tedavisi stratejileri:

Uygun hedef hücrelere belirli genlerin aktarılması ve optimal ekspresyonun sağlanması esasına dayalıdır.

a) Gen Arttırma Tedavisi (GAT):

Bir genin fonksiyon kaybı sonucu gelişen hastalıklarda, normal genin ekstra bir kopyası verilerek eksik olan gen ürününün miktarı normal fenotipi sağlayacak düzeylere yükseltilir. GAT, özellikle verilecek genin hafif ekspresyon düzeylerinde bile fenotipte yeterli düzelmeye yaratacak otozomal resesif hastalıklarda uygulama alanı bulmaktadır (2).

b) Hasta hücrelerin öldürülmesi:

Bu yaklaşım kanser gen tedavilerinde sıklıkla uygulanmaktadır. Hedef hücrelere yönlendirilen genler, ekspresyonları sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. Hasta hücrelerine ölümcül bir toksin geni (intihar geni) aktarılması veya hastaya bir ilaç verilmesini takiben toksik ürüne dönüşebilen bir ürün kodlayan proilaç geninin aktarılması ile hasta hücrelerin doğrudan öldürülmesi söz konusudur. Alternatif olarak replikasyon kompetan, tümöre selektif litik virüsler (onkolitik virüsler) kullanılmaktadır (2).

c) İmmünmodülasyon: İmmün cevabın kuvvetlendirilmesi sonucu hasta hücrelerin dolaylı yoldan ölümünü sağlamak immünmodülasyon kapsamında yer almaktadır. Özellikle kanser gen tedavisi stratejileri arasında önemli yer bulan bu yaklaşımda, hasta hücreleri ortadan kaldırmak amacıyla immün sistem hücrelerinin aktive edilmesi amaçlanmaktadır. Bir antijen geninin hasta hücrelere verilmesi veya bir sitokin geninin immün sistem hücrelerine veya hasta hücrelere verilmesi sonucu immün cevabın artırılması mümkündür (2). İmmün cevabı değiştirmeye yönelik gen tedavisi stratejileri özellikle otoimmün hastalıklarda deneysel uygulama alanı bulmaktadır. Örneğin Multipl Skleroz (MS) hastalığının hayvan modeli olan Deneysel Allerjik Ensefalomyelit (DAE)'de Th1 cevabını inhibe etmek ve Th2 cevabını arttırmak amacıyla; antiinflamatuvar profile sahip sitokin ajanlar (IFN β , TNF α reseptör p55-Ig) veya Th2 sitokinlerin (IL-4, IL-10, TGF) santral sinir sisteminde multifokal lezyonlara uzun b dönem verilebilmesini sağlamak için in vivo veya ex vivo gen tedavisi stratejileri uygulanmaktadır (6,7).

2. Klasik olmayan gen tedavisi stratejileri

Patogenezle ilişkili genlerin ekspresyonunu inhibe etmek veya bir genetik hatayı tamir etmek ve böylece normal gen ekspresyonunu sağlamak esasına dayalıdır.

Dominant negatif etkiye yol açan kalıtsal mutasyonlarda gen arttırma tedavisi uygulamasının yeri yoktur. Bunun yerine mutasyonun düzeltilmesi gerekmektedir (2). Ayrıca fonksiyon kaybı mutasyonları sonucu gelişen hastalıklarda da; gen tamiri sonucunda; tamir edilen genin ekstra bir kopya olmaması ve endojen genle aynı yerde lokalize olması, ayrıca ekspresyon ve regülasyon paterninin de endojen genden farklı olmaması gen arttırma tedavisiyle karşılaştırıldığında büyük üstünlüklerdir (8).

Defektif kromozomal allelin çift zincirli DNA ile homolog rekombinasyon sonucu yer değiştirmesi gen tamiri amacıyla ilk kullanılan yaklaşımdır. Ancak memeli hücrelerinde çok düşük homolog rekombinasyon oranı (yaklaşık 10) ve aktarılan DNA'nın yüksek oranlarda nonhomolog, rastgele integrasyonu nedeniyle bu yaklaşım pratik kullanım alanı bulamamıştır. Ancak homolog rekombinasyon mekanizmaları ve kısıtlılıklarının yoğun bir şekilde çalışılması DNA tamirinin temel biyokimyasına ışık tutmuştur. Böylece küçük sentetik oligonükleotidler kullanılarak hedeflenmiş gen tamiri yaklaşımları ortaya çıkmıştır (9).

Oligonükleotidler nükleik asit sekanslarını RNA veya DNA seviyesinde modifiye edebilirler. Son yıllarda RNA düzeyinde gen fonksiyonunu düzenlemede iki ana yaklaşım ön plana çıkmıştır. Birincisi RNA substratları

etkili bir şekilde yıkan ve splicing yapan terapötik RNA enzimleri (terapötik ribozimler)'dir. Terapötik ribozimlerin hedeflenmiş mutasyonları modifiye etme kapasiteleri gösterilmiştir ve miyotonic distrofi, orak hücreli anemi ve over kanserinde hücre kültür sistemlerinde terapötik uygulamaları mevcuttur. Ribozimlerin uygun katlanması ve sekans içerikleri aktiviteleri açısından büyük önem taşımaktadır. İkinci yaklaşım ise splicing yollarını modifiye etmek için antisense oligonükleotidlerin kullanılmasıdır. Antisense oligonükleotidler; sense RNA transkriptindeki aberran splicing bölgelerini bloke ederek splicing işlemini doğru splice sekansına yönlendirirler (8).

DNA seviyesinde ise mutasyonları tamir etmek için triple-helix-forming oligonükleotid (TFO), kimerik RNA-DNA oligonükleotid (RDO) ve kısa modifiye tek zincirli oligodeoksinükleotidler (ODN) kullanılmaktadır. Hücre ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar tüm bu stratejilerin; mutasyonları DNA seviyesinde, DNA tamir mekanizmalarının yardımıyla tamir ettiğini göstermektedir (8,9).

Patogenezle ilişkili genlerin ekspresyonunu DNA veya RNA seviyesinde inhibe etmek amacıyla antisense oligonükleotidler kullanılmaktadır. Antisense prensibi; DNA ve RNA bölgelerinin antisense oligonükleotidler tarafından spesifik olarak tanınması ve sense ile komplementer antisense oligonükleotid zincirinin selektif bağlanması sonucu translasyonun inhibisyonu mekanizmasına dayanmaktadır(10,11). İstenmeyen gen ürünlerinin inhibisyonuna yönelik bir diğer yaklaşım da; hedef RNA ile komplementer sekanslar içeren ve katalitik komponentleri ile hedef RNA'yı yıkan ribozimlerin kullanılmasıdır(2).

Gen Transferi Metodları

Gen tedavisinin başarılı olabilmesi için uygun miktarda terapötik genin toksik bir etki oluşturmadan hedef hücrelere verilmesi gerekmektedir (12). DNA genetik bilginin fiziksel taşıyıcısıdır; gen ise kalıtımın temel birimidir ve protein kodlayan bir DNA parçasıdır. Modern moleküler biyoloji; genleri veya gen fragmanlarını tanıma, çoğaltma ve DNA zincirlerini kesen ve başlayan enzimler kullanan genetik rekombinasyon teknikleri ile genlerde değişiklikler yapmayı da mümkün kılmıştır. Ancak DNA hücre membranından kendi başına geçemez. Hedef hücrelere genetik materyali transfer etmek (gen transfeksiyonu) için çok çeşitli fizikokimyasal ve biyolojik metod geliştirilmiştir. Gen tedavisinin güvenilir klinik etkisinin elde edilmesinin önündeki en büyük engel, güvenli ve etkili transfer sistemlerinin geliştirilmesidir (1).

Transfer sistemlerinde verilecek DNA fragmanlarının büyüklüğü sınırlıdır. Bu nedenle klasik gen tedavisi yöntemleri için yapay "minigen" ler kullanılmaktadır. Bu minigenler, kodlanan DNA sekansının tümünü içeren cDNA sekansı ve yüksek düzeyde ekspresyonu sağlayacak olan uygun regülatuar sekansları (örn. güçlü bir viral promotor) içerir (2).

Kullanılan transfer sisteminin özellikleri doğrultusunda, gen transferini takiben, eksojen verilen genler ekstrakromozomal genetik elemanlar (epizom) olarak kalabilirler veya kromozomlara integre olabilirler. Kromozoma integre olan eksojen gen hücre bölünmesini takiben tüm progenilerde bulunacak ve böylece uzun dönem, stabil ekspresyon sağlanacaktır. Bu nedenle genetik bir hastalık için kök hücre gen tedavisi yapılırken kromozomal integrasyon büyük avantajdır. Ancak kromozomal integrasyon rastgele gerçekleşmektedir. Aktarılan gen heterokromatik bir bölgeye integre olabilir ve eksprese olmayabilir veya hücre yaşamı için kritik bir gen bölgesine yerleşir, kritik genin inaktivasyonuna ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilir. Bu olaylar integrasyonun gerçekleştiği tek hücre için önem taşımaktadır. En çok korkulan ise insersiyonel mutagenез sonucu kanser oluşmasıdır. İntegrasyon sonucu bir onkogen aktivasyonu veya bir tümör süpresör geni veya apoptozisi indükleyen

bir gen inaktivasyonu gelişmesi durumunda kanser oluşması gündeme gelmektedir (2).

Transfer edilen gen ekstrakromozomal yerleşir ve hücreler aktif olarak bölünürse; eksojen gen progeni hücrelere eşit olarak dağılmayacak ve uzun dönem ekspresyon sağlanamayacaktır. Bu nedenle gen tedavisinin tekrarlanması gerekecektir. Ancak uzun dönem, stabil ekspresyon gerektirmeyen durumlarda bu bir dezavantaj olmamaktadır. Örneğin kanser hücrelerinin öldürülmesine yönelik bir kanser gen tedavisi stratejisinde genin kanser hücresine transferi ve ekspresyonu sonucunda hücrenin ölümü gerçekleşecek ve terapötik gene artık ihtiyaç kalmayacaktır (2).

Transfeksiyon etkinliği uygun gen transfer metodunun seçilmesinde önemli bir kriterdir. Genetik bozukluklar gibi hastalıkların tedavisinde hücrelerin bir bölümünden uzun dönem ekspresyon yeterlidir. Ancak kanser hücrelerinin büyümesini inhibe etmek amacıyla yapılan bir tümör süpresör gen tedavisinde kanser hücrelerinin çok büyük bir bölümüne ulaşılması gereklidir ve yüksek transfeksiyon etkinliği şarttır. Gen transfer sistemi tasarlanırken dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta da gen ekspresyonunun düzenlenmesidir. Bazı hastalıkların tedavisinde düzenlenebilir gen ekspresyonu istenir. Örneğin diabetes mellitus hastalığında eksojen insülinin glukoz konsantrasyonundaki hızlı değişikliklerle çok sıkı bir şekilde kontrolü gerekmektedir. Bu durumda metabolik olaylara cevap veren uygun post-translasyonel işlemler gerekmektedir (12). Çeşitli anemilerde ise tetrasiklin gibi oral alınan ilaçların spesifik transaktivatör üzerine düzenleyici etkisi sonucu spesifik promotörün aktivasyonu ve represyonu ile eritropoietin geninin ekspresyonunun sağlanması çalışmaları yapılmaktadır (12,13).

Gen transferinde seçilecek metod başlıca tedavinin uygulanacağı dokunun tabiatı, hastalığın patogenezi ve tedavinin in vivo veya ex vivo uygulanmasına göre değişir. Hiçbir gen transfer sistemi ideal değildir. Her birinin avantaj ve dezavantajları farklıdır (2). Gen transfer etkinliğinin yüksek olması, istenen hücre veya dokuda ekspresyonun sağlanması, ekspresyon süresinin istenildiği kadar olması ve toksisite, immünojenisite ve kromozomal integrasyon gibi konularda güvenilir olması bir vektörde aranan en önemli özelliklerdir.

Gen transfer metodlarını viral, nonviral ve hibrid vektörler olmak üzere üç ana kategoride inceleyebiliriz.

Viral Vektörler

Viral vektörler, kendi viral genomlarının yerine terapötik gen kaseti bulunan modifiye genoma sahip viral partiküllerdir. Rekombinant vektörün hedef hücre içinde fonksiyonel genetik bilgiyi sağlaması ile sonuçlanan nonreplikatif enfeksiyonuna transdüksiyon denilmektedir (12).

Virüs genomu genler ve cis-etkili gen regüle edilebilir sekanslarından oluşmaktadır. Vektör oluştururken; virüsün kodlanan genleri ve cis-etkili gen regüle edilebilir sekansları ayrı nükleik asit molekülleri şeklinde düzenlenirler. Bu şekilde üretimi viral partiküller oluşturmak üzere rekombinasyonların engellenmesi amaçlanmaktadır. Virüsün kodlanan sekansları trans etkilidir, böylece viral genler heterolog plazmidler olarak ekspres edilebilir ve hatta stabiliteyi sağlamak ve tekrar mobilize olmalarını kısıtlamak amacıyla üretici hücrelerin kromatinlerine yerleştirilebilirler. Ardından terapötik gen ve ona bağlı olan viral cis-etkili sekanslar aynı hücreye konulabilir ve böylece hedef hücrelere yeni genetik bilgiyi spesifik olarak kazandıracak olan replikasyon-defektif partiküllerin yapılması sağlanmış olur. Üretim aşamasında

viral genler ile cis-etkili sekansların ayrılmasının sağlanması vektör sisteminin etkinliği ve güvenilirliğini belirleyen önemli bir faktördür (12).

Spesifik hedef doku veya hücrede transgen ekspresyonunun sağlanması gen tedavisi etkinliği ve yan etkileri açısından büyük önem taşımaktadır. Transgenin hedeflenen dokudan ekspresyonunu sağlayabilmek için doku spesifik promotörlerin kullanılması veya rekombinant viral partiküllerinin yüzey tanıma elemanlarının değiştirilerek (pseudotyping) hücre tanıma özelliklerinin modifiye edilmesi günümüzde kullanılan yöntemlerdir(12).

En sık kullanılan viral vektörler ve özellikleri Tablo 1' de özetlenmiştir (14). Viral gen transfer vektörleri ile en sık karşılaşılan problemler yabancı materyal infüzyonu sonucu gelişen akuttoksiste, transdükte hücrelere karşı hücrel immün cevap, terapötik gen ürününe karşı hücrel immün cevap ve integre olan vektörlerin insersiyonel mutagenез olasılığıdır (12).

Viral vektörler kullanılarak yapılan gen tedavisi klinik çalışmalarında iki vektörlerle yaşanan deneyimler güvenlik konularında çok daha dikkatli olunması ve vektör tasarlanması aşamalarındaki temel araştırmaların üzerine daha çok yoğunlaşılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Doğal adenovirüs enfeksiyonunu takiben ağır bir hastalık riskinin olması ve viral genomun konak kromozomlarına nadiren integre olması adenoviral aracılı gen tedavisinin göreceli olarak güvenli bir yöntem olarak kabul edilmesine yol açmıştır. Ancak 1999 yılında parsiyel ornitin transkarbamilaz eksikliği nedeniyle gen tedavisi uygulanan 18 yaşında bir erkek hasta, vektörün yol açtığı enfeksiyon sonucunda ölmüştür. Rekombinant adenoviral vektörler özellikle duyarlı kişilerde doğal formlarından daha farklı bir davranış sergileyebilmektedir. Bu çıkarım aslında diğer tüm virüs temelli vektör sistemleri için de dikkate alınmalıdır. Kısa bir süre önce ise X'e bağlı ağır kombine immün yetmezlik hastalığı (X-SCID) nedeniyle retroviral vektör gen tedavisi yapılan iki çocukta lösemi geliştiği bildirilmiştir. İki hastada da retroviral vektörün LMO2 onkogenine integre olduğu gösterilmiştir. Kullanılan retroviral vektörün neden aynı endojen geni hedeflediği bilinmemektedir. Ancak iki hastanın da aynı çalışma grubundan olması ve ikisinin de integrasyon bölgesinin aynı olması büyük olasılıkla kullanılan retroviral vektörün bundan sorumlu olduğunu göstermektedir. Retroviral vektör tasarımlarının geliştirilmesinin herhangi bir iyatrojenik lösemi veya benzer ters olayların meydana gelmemesini engelleyeceği umut edilmektedir(5).

Tablo 1. Gen transferinde kullanılan başlıca viral vektörler

Vektör	Paketleme kapasitesi	Konak hücre çeşitliliği	Özellikleri
Adenoasosiyasyon virüsü (AAV)	Düşük, <4 kb	Geniş, bölünen ve bölünmeyen hücreler	Ekspresyonun başlaması yavaş, genom integrasyonu (+/-), uzun dönem ekspresyon, verimsiz geniş ölçekli virüs üretimi
Adenovirüs	Orta, <7.5 kb	Geniş, nörolara düşük transdüksiyon	Geçici ekspresyon, yüksek immünojenisite
Herpes simpleks virüsü (HSV)	Yüksek, >30kb	Geniş, nöronlar, kök hücreler, kas hücreleri	Latent enfeksiyon, uzun dönem ekspresyon, düşük toksisite (mutantları)
Lentivirüs	Orta, 8 kb	Geniş bölünen ve bölünmeyen hücreler	Genom integrasyonu, uzun dönem ekspresyon, güvenlik problemleri verimsiz üretim
Retrovirüs	Orta, 8kb	kısıtlı, sadece bölünen hücreler	Genom integrasyonu, uzun dönem ekspresyon

Nonviral vektörler

Viral vektör sistemlerinin paketleme hücre hatlarına ihtiyaç duymaları, güvenilirlik, toksisite, immün cevap oluşturma problemleri, hücre hedeflemedeki sorunları, dolaşımdan hızlı bir şekilde temizlenmeleri, kromozomal integrasyona yol açan türleri ve rekombinasyon sonucu replike olabilen virüs oluşturma riskleri nonviral vektör sistemlerinin geliştirilmesi konusunda itici güç olmuştur (15).

Nonviral taşıyıcıların viral vektörlere üstünlükleri şöyle özetlenebilir:

1. Hazırlanmaları kolaydır,
2. Daha büyük DNA transferine olanak tanır,
3. Genel olarak in vivo daha güvenlidir,
4. Spesifik immün cevap oluşturmazlar, bu nedenle tekrar tekrar verilebilirler.

Ancak özellikle in vivo kullanıldıklarında; DNA' yı transfer etmede ve gen ekspresyonunu başlatmada etkileri daha zayıftır. Bu nedenle klinik çalışma aşamasına ulaşmış az sayıda nonviral vektör vardır. Nonviral vektör sistemleri sadece plazmid temelli ekspresyon kaseti (çiplak DNA) veya bir sentetik amfipatik DNA-kompleksleyici ajanla hazırlanmış çiplak DNA' dan oluşurlar (15).

Fiziksel metodlar

Fiziksel metodlar kullanılarak çiplak DNA endozom ve lizozomların enzimatik degradasyonuna maruz kalmadan doğrudan sitoplazmaya verilir (15).

1. Çiplak DNA' nın doğrudan enjeksiyonu:

Gen tedavisinde günümüzde kullanılan en basit nonviral sistem lokal dokulara veya sistemik dolaşıma çiplak plazmid DNA' nın enjeksiyonudur. Ancak sistemik dolaşımda, çiplak DNA nükleazlar tarafından hızla yıkılır ve mononükleer-fagosit sistemi tarafından temizlenir. Buna ek olarak dokuya doğrudan enjekte edilen DNA hızla lenfatiklere drene olur ve ekstrasellüler boşluktaki endonükleazlar 30 dakika içinde nonviral DNA' yı yıkarlar. Ancak, farelerde yüksek hacimli enjeksiyonun iç organlara etkili gen transferini indükleyebildiği gösterilmiştir. Muhtemelen hidrodinamik ve hidrostatik basınç DNA' nın hücrelere verilmesinde majör itici güçtür. Sitokin geni eksprese eden çiplak plazmid DNA' nın basit intramusküler enjeksiyonu kanser gen tedavisi çalışmalarında kullanılan bir yöntemdir.

2. Elektroporasyon:

Elektrik alanı yaratarak hücre membranında geçici porlar oluşturulması ve çevrede bulunan DNA moleküllerinin bu porlardan sitoplazmaya geçmesi prensibine dayanır. In vitro olarak çok iyi geliştirilmiş bir tekniktir, miyopati gen tedavisi ve aşılama amaçlı in vivo uygulamaları da çalışılmaktadır.

3. Partikül Bombardımanı:

Altın partikülleri üzerine kaplanmış çiplak DNA, gen tabancası kullanılarak hedef doku veya hücrelere gönderilmektedir. Bu teknik DNA doğrudan hücre nükleusuna gitmektedir. Deri, karaciğer ve kas hücrelerinin başarılı bir şekilde transfekte edildiği bildirilmiştir. Gen tabancasının in vivo uygulamaları gen ürününün kısa dönem ve düşük düzeyde ekspresyonu ile sonuçlanmaktadır, ancak genetik aşılama için uygun bir teknik olabilir.

Kimyasal metodlar

Eksojen genlerin somatik hücrelere verilmesinde kullanılan en eski nonviral, kimyasal metodlar arasında kalsiyum fosfat presipitasyonu ve dietilaminodekstran yer almaktadır. Ancak bu sistemler artık in vivo gen transferinde kullanılmamaktadır (15).

Lipozomlar, biyolojik membran yapısını taklit eden sentetik lipid çift tabakadan oluşan küresel veziküllerdir. Transfer edilecek DNA lipozomla in vitro paketlenir ve DNA' yı uygun bir hedef dokuya doğrudan transfer etmek üzere in vivo kullanılır. Lipid kaplama, DNA' nın in vivo yıkılmamasını, hücrelere başlanmasını ve endositozla hücre içine alınmasını sağlar (2).

Katyonik lipozomlar üstünde en çok çalışılan nonviral vektörlerdir. Katyonik lipozomların (katyonik lipopleksler) pozitif yükü negatif yüklü DNA' nın başlanmasını stabilize eder. Hazırlanmaları kolay ve ucuzdur, transfer edecekleri DNA' nın büyüklüğü sınırsızdır. Ancak gen transfer etkinlikleri düşüktür, in vitro etkin transfeksiyon ajanları olmalarına rağmen sistemik uygulamada verimli değildir (15).

Katyonik lipidler gibi katyonik polimerler de negatif yüklü DNA ile elektrostatik kompleksler (polipleksler) oluşturabilirler. Bunların arasında poli-L-Lizin deriveleri ve polietilenimin, poliamidoamin ve polimetakrilat dendrimerleri sayılabilir (15).

Başarılı bir transfeksiyon için plazmidin nükleusa taşınması gereklidir. Polipleks ve lipopleksler endositozla hücre içine alınır, endozomal kaçış sonrası nükleusa taşınırlar. Endozomdan kaçışlarına yardımcı olmak için nonviral vektörlere füzojenik lipidler veya peptidler yerleştirilebilir (15). Gen transferinin hedeflenmesi amacıyla hücre hedefleyici ligandlar kullanılarak katyonik gen taşıyıcıları modifiye edilebilir. Bu ligandlar arasında insülin, galaktoz, hepatositler için asialoglukoproteinler, T lenfositler için anti-CD3 ve anti-CD5 antikörleri, bazı kanser hücreleri için transferrin sayılabilir (15).

Hibrid vektörler

Hibrid vektörler; katyonik temelli vektör sistemleri (nonviral) ile virüsler veya viral peptidlerin bir araya geldiği transfer sistemleridir. Sentetik vektörlerin etkinliği, yapay nükleik asit taşıyıcılarına virüsleri taklit eden fonksiyonel elemanlar eklenerek artırılabilir. Örneğin, adenovirüs hekson proteini polietilenimin-plazmid DNA vektörlerinin nükleusa taşınmasını ve transgen ekspresyonunu artırır. Retrovirüslerin lipid yapısına benzer yapay viral zarflar, kondense plazmid DNA' nın enkapsüle edilmesinde kullanılabilir. Adenovirüs penton proteini; lipopleks veya poliplekslerin endozomdan kaçışını arttırabilmek amacıyla füzojenik olarak kullanılabilir(15).

SON SÖZ

Bir zamanlar hayal olarak görülen ve ancak bilim kurgu romanlarında yer alabilen genetik temelli tedavi yöntemleri artık moleküler biyoloji ve genetiğin ilerlemiş teknikleri ile temel araştırmalarda ve ardından da klinik araştırmalarda uygulanmaktadır. Vektör sistemlerinin hiçbir bütünü gen tedavisi uygulamaları için optimum değildir. Her hastalık için patogeneze uygun bir strateji ve vektör sistemi belirlenmelidir. Tam anlamıyla başarılı klinik sonuçların elde edilebilmesi için vektör tasarlanması aşamalarında çok dikkatli olunmalı ve kusursuz sistemlerin elde edilmesi için çalışılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Lyngstadaas A. Status and potential of gene therapy in clinical medicine. International Journal of Technology Assessment in Health Care. 2002;18(3):645-674.
2. Strachan T, Read A. P. Human Molecular Genetics, Bios Scientific Publishers Ltd, 1999.
3. www.wiley.co.uk/genmed/clinical, The Journal of Gene Medicine, 2004 John Wiley and Sons Ltd.
4. Editorial. The Lancet. 1995; 345(8952):739-740
5. Smith K. R. Gene therapy: theoretical and bioethical concepts. Archives of Medical Research. 2003;34:247-268.

-
6. Slavin A. J., Tarner I. H., Nakajima A. et al. Adoptive cellular gene therapy of autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews*. 2002;1:213-219.
 7. Baker D., Hankey D. J. R. Gene therapy in autoimmune, demyelinating disease of the central nervous system. *Gene Therapy*. 2003;10:844-853.
 8. Liu C. M., Liu D. P., Liang C. C. Oligonucleotide-mediated gene repair at DNA level: the potential applications for gene therapy. *Journal of Molecular Medicine*. 2002;80:620-628.
 9. Kren B. T., Steer C. J. The application of DNA repair vectors to gene therapy, *Current Opinion in Biotechnology*. 2002;13:473-481.
 10. Urban E., Noe C. R. Structural modifications of antisense oligonucleotides. *Il Farmaco*. 2003;58:243-258.
 11. Sazani P., Vacek M. M., Kole R.. Short-term and long-term modulation of gene expression by antisense therapeutics. *Current Opinion in Biotechnology*. 2002;13:468-472.
 12. Kay M. A., Glorioso J. C., Naldini L. Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nature Medicine*, 2001;7(1):33-40.
 13. Corbel S. Y., Rossi F. M. V. Latest developments and in vivo use of the Tet system: ex vivo and in vivo delivery of tetracycline-regulated genes. *Current Opinion in Biotechnology*. 2002;13:448-452.
 14. Lundstrom K. Latest development in viral vectors for gene therapy. *Trends in Biotechnology*. 2003;21(3):117-122.
 15. Schmidt-Wolf G. D., Schmidt-Wolf I. G. H. Non-viral and hybrid vectors in human gene therapy: an update. *Trends in Molecular Medicine*. 2003;9(2):67-72.

OTURUM IV

16.30-17.15

Oturum Başkanı

Dr. Gülşen Akman DEMİR

Role of The IL-12/IL-23 System in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

Abdolmohamad ROSTAMI, MD, PhD

Department of Neurology,
Thomas Jefferson University
Philadelphia, Pa. USA

Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in rodents has been used as an experimental model for multiple sclerosis (MS). EAE can be induced in susceptible mouse or rat strains by active immunization with myelin, myelin proteins such as myelin basic protein (MBP), myelin-oligodendrocyte glycoprotein (MOG) or proteolipid protein (PLP), or encephalitogenic peptide fragments of these proteins, with appropriate adjuvants. MOG induces EAE in C57BL/6 mice, which is the background for most available knockout mice. Passive EAE can be induced by adoptive transfer of MBP, PLP-or MOG-reactive T cells from immunized animals or by encephalitogenic clones with Th1 helper phenotype.

Interleukin-12 (IL-12) is a heterodimeric cytokine composed of a heavy chain or p40 and a light chain or p35. Together they form a covalently linked p70 heterodimer which is secreted and biologically active. At least in the mouse system, a p40 homodimer may be a physiological downregulator of the biological effects of the IL-12 p70 heterodimer. IL-12 acts on antigen-specific T cells, directly and through the induced IFN- μ , determining differentiation and generation of Th1 cells. Phagocytic cells and professional antigen-presenting cells are the most important physiological producers of IL-12.

The primary target cells for IL-12 effects are T cells, both CD4 and CD8, and NK cells.

The receptor for IL-12 (IL-12R) is composed of two chains, IL-12R β 1 and β 2. IL-12R is primarily expressed on activated T and NK cells. It is also expressed on antigen-presenting cells.

IL-23. IL-23 is a recently discovered cytokine which is composed of a large subunit, IL-12p40, and a smaller p19 subunit. The IL-12p40 subunit is shared with IL-12. The p19 subunit was identified by a computational search as a distant homologue of human and murine IL-12p35.

The active IL-23 heterodimer is formed when IL-12p40 and IL-23p19 are co-secreted by the same cell. An interchain disulfide bond stabilizes the p40p19 heterodimer. IL-23 is mainly produced by antigen-presenting cells, particularly by peripheral blood monocytes-derived dendritic cells. The receptor for IL-23 (IL-23R) is composed of two chains, IL-12R β 1 and a recently described IL-23R β chain (5). The fact that IL-12R 1 is part of functional receptors for both IL-12 and IL-23 provides a molecular rationale for the finding that IL-12 and IL-23 show overlapping functions.

IL-23 does not bind IL-12R2. Consistent with a stronger functional response of memory T cells to IL-23, the expression of the IL-23R hi chain was higher on CD4+CD45RB memory cells than in CD4+CD45RB naïve cells. The opposite pattern of expression was observed for IL-12R β 2. IL-12 and IL-23 in EAE. Different lines of evidence have involved IL-12 in the pathogenesis of EAE. In a murine monophasic, adoptive transfer model, antibodies against IL-12 prevented the induction of EAE when administered early after cell transfer. In addition, treatment of encephalitogenic PLP-reactive T cells with IL-12 in vitro enhanced their ability to induce EAE. Administration of high doses of IL-12 in the otherwise monophasic EAE model in Lewis rats induced relapse. Microbial agents, which overcome resistance to EAE, were shown to act via IL-12. We previously showed that IL-12 exacerbated EAE relapses, whereas anti-IL-12p40 antibodies suppressed the relapses. However, it is likely that anti-IL-12p40 antibodies neutralize both IL-12 and IL-23. Recently, we and others showed that IL-12 p35-deficient mice develop severe MOG-induced EAE, whereas IL-12p40^{-/-} mice are resistant. We also showed that IL-12R 2^{-/-} mice, which lack responsiveness to IL-12, develop EAE of increased severity, whereas IL-12R β 1^{-/-} mice, which lack responsiveness to both IL-12 and IL-23, are completely b resistant. These data suggest an immunomodulatory role for IL-12 and a critical proinflammatory role for IL-23 in the pathogenesis of EAE. Indeed, we found that administration of exogenous IL-12 during the induction phase of the autoimmune response modulates EAE in an IFN-g dependent manner. Importantly, Cua et al. directly demonstrated a critical role for IL-23 in EAE pathogenesis by demonstrating complete disease resistance in mice lacking IL-23p19. We have also found that APC from IL-12R β 1^{-/-} mice play a key role in inducing EAE resistance. In fact, APC obtained from IL-12R β 1^{-/-} mice were able to strongly polarize MOG-specific CD4⁺ T cells obtained from wild type mice into a Th2 phenotype. In summary, IL-23 is critical for EAE susceptibility, whereas IL-12 can play a suppressive or proinflammatory role depending on the timing and the dose administered.

3 Nisan 2004

OTURUM I

09.00-10.30

Oturum Başkanları

Dr. Neil SCOLDING
Dr. Anthony REDER

09.45-10.25

Remyelination and Multiple Sclerosis

Prof. N.J. SCOLDING FRCP PhD

University of Bristol Institute of Clinical
Neurosciences Dept Neurology Frenchay Hospital

Few areas of emerging technology have commanded as much excitement in the past few years as that of stem cells and their potential in reparative medicine. The defining combination of pluripotentiality and effectively endless proliferative capacity offers the prospect of cell replacement therapy in a wide range of disorders. Neurological disease has classically been limited in conventional therapeutic options, and Alzheimer's and Parkinson's diseases and multiple sclerosis are commonly held out as disorders where stem cell treatments are especially promising. At first glance, multiple sclerosis appears particularly suitable for such therapies a specific cell population is targeted and depleted in the disease; relative axon preservation limits the need for reconnecting neural circuits; partial spontaneous remyelination in multiple sclerosis itself proves that successful repair is feasible, and animal studies have showed that implanted exogenous cells can effectively remyelinate axons. However, serious obstacles remain to be overcome. These include the multifocal nature of the disorder, the continuing tendency towards inflammatory damage, the question of axonal loss, and the identification of the optimal cell type. Here we will see that realistic solutions to all these problems are now beginning to emerge, but we will concentrate on the question of what might be the best option amongst the candidate cell types. These include oligodendrocyte progenitors, Schwann cells, olfactory glia and, perhaps most excitingly, stem cells. Stem cells from a variety of sources can yield myelinating glia, but they differ, often substantially, in their availability, potential hazards, associated ethical issues and speed of applicability. Safety, both in relation to the therapeutic procedure itself and the longer term consequences, must remain a paramount consideration, but approaches to translating stem cell therapy from laboratory to clinic have already commenced in a number of other diseases and are likely to begin in multiple sclerosis in the foreseeable future.

11.00-11.40

Signal Transduction in MS

Dr Anthony REDER

Neurology MC -2030, S 229
The University of Chicago

Signaling abnormalities in MS are evident in the neuroendocrine and autonomic nervous systems, as well as at the cellular level. The abnormalities get worse as the disease progresses, and by doing this may disrupt immune regulation.

I. Neuro-Endocrine

MS plaques can interrupt control of estrogen, testosterone, prolactin, and steroid hormones. This affects immune regulation. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) axis controls serum cortisol levels. Corticotrophin Releasing Hormone (CRF) activates adrenocorticotrophic hormone (ACTH) production by the anterior pituitary, which stimulates glucocorticoid production by the adrenals. Cortisol can be suppressed with a small 1 mg dose of dexamethasone the dexamethasone suppression test (DST).

However, during active MS, the dexamethasone is ineffective. Dexamethasone resistance is also present in cultured immune cells—they are not inhibited by steroids. This disrupted signaling feedback may contribute to inflammation in MS. In later stages of MS, cultured immune cells are poorly responsive to steroids, and attacks are less likely to respond to steroid infusions. One obvious cause for this disrupted feedback is the presence of MS plaques within the hypothalamus. Thus, disruption of one brain pathway has consequences for the endocrine and immune systems, and possibly the course of MS. In addition, immune cells can make ACTH, which may suppress the HPA axis.

Similarly, Lewis rats develop experimental allergic encephalomyelitis (EAE), but Fisher rats do not. Fisher rats are able to suppress inflammation because they have much higher corticosterone levels. Here, the rat's genetic background influences whether it will develop and autoimmune disease.

II. Sympathetic Nervous System

Neurons in the hypothalamus are activated during an immune response. Immune cells in the blood also secrete factors such as IL-1, IL-6, interferon- α , and prostaglandins that / trigger fever by acting through circumventricular organs.

In the other direction, the brain is an immunologically privileged site" which means that brain inflammation is suppressed, but not completely. Endogenous prostaglandins, TGF- β , and catecholamines inhibit immune functions. Cells in the brain express beta-adrenergic receptors. (In Alzheimer's disease, these receptors decrease, possibly leading to microglial activation and slow neurodegeneration.) In the periphery, the autonomic nervous system (ANS) secretes catecholamines, neuropeptides, and neurotrophins that change immune responses. The spleen, thymus, and gut are bathed in products of the sympathetic (SNS) and parasympathetic nervous systems (PNS). Products that activate

cAMP such as prostaglandins and noradrenalin/norepinephrine generally suppress immune cell function, especially Th1 cells and monocytes. If a mouse's SNS is destroyed early in life, the mouse will be small (low trophic factors) and will have a hyperactive immune system (low inhibition by catecholamines). EAE and EAMG (experimental myasthenia gravis) are worse in these mice. Patients with more advanced MS often have cold purple feet and absent sympathetic skin responses, probably from plaques in spinal cord sympathetic pathways. They also have increased beta2-adrenergic receptors on immune cells, and the cells are excessively responsive to catecholamines. (This is denervation supersensitivity in immune cells, similar to when denervated neurons upregulate their receptors.) The consequences 1) loss of SNS inhibition should lead to more inflammation overall, and 2) there may be increased sensitivity to bursts of catecholamines

III. Cellular Level

Immune cells in MS are overactive. They secrete multiple cytokines and have excessive antibody responses to multiple antigens.

Interferon-beta reduces attacks of MS, likely through multiple effects on immune cells. Surprisingly, during active MS, there are defects in IFN signaling. Immune cells make low levels of the antiviral proteins that are induced by interferons alpha and beta. RNA and protein for MxA and 2',5'-oligoadenylate synthetase (2,5-OAS) are low in immune cells and are poorly induced by interferon.

IFNs cause phosphorylation of transcription factors (STAT proteins) that then bind to DNA and turn on hundreds of genes. Phosphorylation of STAT1 on tyrosine allows DNA binding, and this is normal in MS. However, phosphorylation on serine is low during active MS. P-Ser-STAT1 doubles the IFN signal. If this extra push is missing, immune cells are hyporesponsive to IFNs. Low P-Ser-STAT1 correlates with low resting levels of MxA, with poor induction of MxA and 2,5-OAS, and with low levels of interferon regulatory factors.

One consequence, untested, is that much higher levels of IFN-b would be needed to activate MS cells in vivo . The underlying cause of this defect is unknown. Since the problem is present only during active and progressive MS, it suggests there is activation of another immune pathway that has compromised IFN signaling.

11.45-12.25

SSS'de Toll-Like Reseptör Biyolojisi

Prof. Dr. Selim BADUR

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD.

Son yıllarda bağışık sistemin moleküler düzeyde incelenmeye başlanması, yanıtın işleyiş mekanizmasının ayrıntılarıyla ortaya konmasını sağlamış; bu bağlamda, hücreler arası iletişimde rol oynayan bir dizi yapısal özellik tanımlanmıştır. Çalışmaların bir bölümü, bağışık yanıtın önemli özelliklerinden: kendinden olanı-olmayan (self-nonself) ayırma konusunda yoğunlaşmış; sistemin yabancıyı nasıl algıladığı ve sonuçta bu istenmeyen konuğu organizmadan bir an önce uzaklaştırmada hangi yolların kullanıldığı sorusunun yanıtı bulunmaya çalışılmıştır.

Klasik olarak yabancı immünojeni ilk karşılayan savunma mekanizmasının doğal direnç olduğunu biliyoruz; bu engeli takılmamayı başaran yabancı molekül, ikinci aşamada kendisine karşı oluşacak özgül bağışıklık ile karşılaşmakta; B ve T hücrelerinin yüzeylerindeki antijen reseptörleri aracılığı ile, peptid yapısına dönüştürülmüş antijeni tanıyan özgül bağışıklık, lenfositlerin proliferasyonu ile harekete geçen bir süreç sonunda farklı kollardan yabancıyı yıkıma uğratmaya çalışmaktadır. Sadece omurgalılarda gözlenen özgül bağışıklığın ayrıntıları ile ilgili araştırmalar uzun yıllardan beri sürdürülmekte ise de, daha eskiden beri bilinen ve tüm çok hücreli canlılarda bulunan doğal direncin yabancıyı nasıl algılandığı sorusunun yanıtı, ancak son yıllardaki bulgular ile ortaya konmaya başlanmıştır. Örneğin, Toll-like reseptör (TLR) şeklinde isimlendirilen yapıların, doğal direncin yabancı istilacıları tanımada kilit rolü oynadıkları; bu reseptörlerin, patojen mikroorganizmalar yüzeyindeki bazı özel bölgeleri tanıyarak, doğal direncin yanısıra, özgül bağışıklığın aktivasyonunda da devreye girdikleri anlaşılmıştır. Bu yazıda TLR'lerin çeşitli özellikleri, işleyiş mekanizmaları ve immün yanıtta üstlendikleri görevlere değinilecek ve MSS'de ne tür roller oynadıkları anlatılacaktır.

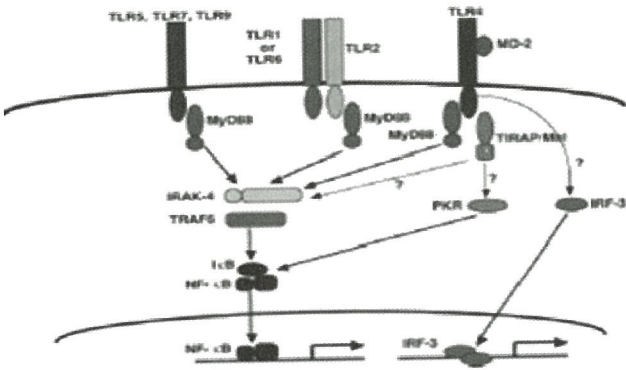
TLR'lerin öyküsü

Drosophila'da olup bitenler:

a) Toll sistemi: TLR'lerin bağışıklık isteminde oynadığı rol, ilk kez Drosophila'larda (sirkesineği) yapılan çalışmalar sırasında ortaya konmuştur. Bu sineklerin larvalarının gelişiminde dorsal-ventral oryantasyonda rolleri olduğu saptanan hücre yüzey reseptörleri TOLL olarak isimlendirilmiş; sonraki yıllarda, aynı molekülün anti-fungal savunmada da devreye girdiği saptanmış; Drosophila genomunun dizi analizleri sonucunda TOLL ailesinde yer alan ve her biri patojenlere karşı savunmada rolleri olan dokuz proteinin varlığı gösterilmiştir(1-3) . Drosophila modelinde, TOLL ligandı olan spatze faktörü uyarısı ile harekete geçen TOLL sistemi adaptör protein (TUBE) yoluyla, sitoplazmik serin-treonin kinaz (PELLE) aktivasyonuna yol açar; bunun sonucunda CACTUS proteini yıkıma uğrar ve serbest kalan transkripsiyon faktörü (DORSAL) çekirdeğe geçerek, spesifik genlerin transkripsiyonunu başlatır. Söz konusu modelin işleyişi, memelilerde bulunan ve bir dizi inflamatuvar olaydan sorumlu transkripsiyon faktörünün (NF-kB) aktivasyonunu gerçekleştiren IL-1 sisteminin çalışmasına çok benzemektedir; Toll /IL-1 reseptör (TIR) bölgesi olarak tanımlanan bu ortak yapı nedeniyle, TOLL sisteminin de bağışık yanıtın düzenlenmesinde rolü olduğu düşünülmüş; bu yaklaşımın

doğruluğu TOLL sisteminin yapıtaşlarından (Toll, Spatzle, TUBE, PELLE...) herhangi birindeki noksanlığın, savunma sisteminde aksaklığa yol açtığına gösterilmesi ile kanıtlanmıştır. Drosophila'da DORSAL dışında öncelikle anti-fungal ve anti-Gram negatif bakteri özelliğindeki peptid genlerini indükleyen iki ayrı transkripsiyon faktörü daha saptanmıştır: Dorsal tip immun faktör ve Relish. TOLL sistemi harekete geçtiğinde TOLL ve Pelle moleküllerinin birleşmesinde DmMyD88 proteini adaptör rolü oynar ve bu molekülün eksikliği Drosophila'ların mantar enfeksiyonlarına direncini arttırır. Bu arada, TOLL sisteminin direkt olarak mikroorganizmalar tarafından değil, indirekt yoldan spatzle aracılığı ile harekete geçirildiği saptanmıştır. Söz konusu sistemin aktivasyonunda öncelikle Spatzle proteinin prekürsör maddesinin serin proteaz tarafından uyarılması gerekir; bu uyarılma, Gram pozitif bakteriler için, peptidoglikanları tanıyan proteinin (PGRP-SA); mantarlar için ise serin proteazı kodlayan Persephone geninin devreye girmesi ile gerçekleşir(4).

b) IMD sistemi: Drosophila'ların Gram negatif bakterilere karşı yanıt oluşturması ise, tamamen farklı bir yoldan, immune deficiency (IMD) genindeki bir mutasyon ile ilintili olarak; DmIKK-β, DmIKK-γ, dTAK1, Relish 7 gibi moleküllerin devreye girdiği ve antibakteriel bir peptid olan dipterinin ekspresyonu sonucunda, farklı bir yoldan gerçekleşir; IMD sisteminin harekete geçici, transmembran bir protein olan PGRP-LC molekülünün rol oynadığı ve ayrıntıları tam olarak bilinmeyen bir mekanizma ile başlar. Sistemin son aşamalarında, ise Relish adı verilen komponentin, memelilerdeki kaskazları andıran Dredd molekülünün etkisi ile parçalanması söz konusudur. Bu arada, IMD sisteminin, sadece Gram negatif bakterilere karşı oluşacak yanıtın hareket noktası olmadığı; apoptozisin indüksiyonunda da rolü olduğu saptanmıştır (4) (Şekil 1).

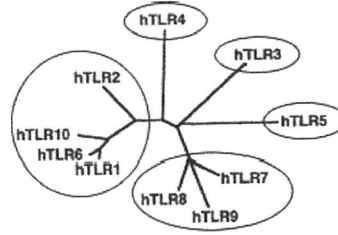


Şekil 1: Drosophila da TLR sinyal iletimi (Kaynak 4)

Gerçek (!) TLR'ler Memelilerde durum:

Drosophila'nın TOLL sisteminin gösterilmesinden kısa bir süre sonra memelilerde de benzer bir mekanizmanın varlığı saptanmış ve yapısal benzerlikleri nedeniyle bu protein grubu Toll-like receptors (TLR) olarak isimlendirilmiştir (5). Bugün için TLR ailesinin en az 10 üyesi olduğu (TLR1-TLR10) ve bu sayının ileride artabileceği kabul edilmektedir; ancak yapısal olarak bakıldığında, TLR'lerin her birinin, lüsenca zengin bir hücre dışı bölgeye sahip olduğu; hücre içi kısmının ise TIR alanı olarak değerlendirildiği bilinmektedir. Farklı yapıların aminoasit dizileri ve

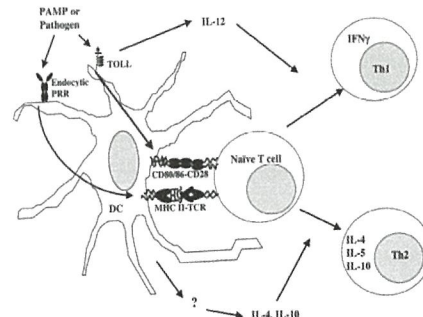
genomik yapıları incelendiğinde, TLR ailesinin beş alt aileye bölünmesi söz konusu olur: TLR1, TLR2 TLR6 ve TLR10'u içeren TLR2 grubu; TLR7, TLR8 ve TLR9'u kapsayan TLR9 grubu; TR3, TR4, TR5 grupları (Şekil 2).



Şekil 2: TLR in gruplandırılması (Kaynak 4)

TLR'lerin mikroorganizmaları tanıma mekanizmaları

Tüm savunma sisteminde olduğu gibi, doğal direncinde işlevini yerine getirebilmesi için ilk aşamada yabancıyı tanıyabilmesi gerekmektedir; özellikle patojen mikroorganizmaların pathogen associated molecular patterns (PAMP-patojenle ilişkili moleküler yapılar)'lerinin, immüno-kompetan hücrelerce algılanması, bir dizi reaksiyonun harekete geçmesi için gerekli bir ön koşul olarak değerlendirilir (6). Doğal direncin işleyişinde, mikroorganizmaların PAMP bölgelerinin, pattern recognition receptors (PRR-Patern tanıyıcı reseptörler) tarafından tanındığı; bu grupta yer alan TLR'lerin ise, özellikle akut inflamatuvar yanıtın harekete geçmesinde rolleri olduğu saptanmıştır. İnfeksiyon söz konusu olduğunda makrofajlar ya da dendritik hücreler (DC) gibi antijen sunan hücreler, yüzeylerindeki TLR'ler ile, PAMP'lara bağlanırlar; bu birleşme, reaktif oksijen ve azotun indüksiyonu ile (ROI ve RNI) karakterize olan savunma sisteminin uyarısını sağlar. Ayrıca söz konusu birleşme sonucu proinflamatuvar sitokinlerin sentezi ve kostimülasyon moleküllerinin devreye girişi gerçekleşir ve böylece ASH aktivasyonu olur: artık özgül bağışıklık harekete geçecektir. Bu aşamada özgül bağışıklıkta rol oynayan hücrelerin aktivasyonu için, kostimülasyon moleküllerinin indüksiyonu ve doğal direnç yapıtaşlarının (özellikli DC'lerin) üreteceği çeşitli sitokinlerin sentezlenmesi gerekmektedir. TLR uyarısı, DC'lerin olgunlaşmalarında ve göç etmelerinde rol oynar; bu uyarı sonrası DC'lerin eksprese ettiği kemokin reseptörleri, hücre trafiğini yönlendirirler. TLR ile ilişiyen giren PAMP'lardan birisi olan LPS, kemokin reseptörleri (örneğin CCR5 yada CCR7) ekspresyonunu etkiler; sekonder lenfoid organlarda ise, MHC eşliğindeki peptidlerin yanısıra, CD80/86 gibi kostimülasyon moleküllerinin sağlayacağı ikincil uyarılar aracılığı ile, DC'ler T hücrelerini uyarırlar. Kostimülasyon uyarısında rol oynayan TLR'ler, Th hücrelerin aktivasyonu aşamasında, bu hücrelerin Tr hücrelerce baskılanmalarını da engellerler. Ayrıca, bir dizi başka kemokin üreten DC'ler, NK hücrelerinin yanısıra naif T hücrelerinin ortama çekilmesini sağlarlar. Hayvan modellerinde, bakteri enfeksiyonlarının



Şekil 3: DClerin immün yanıtındaki rolleri (Kaynak 7)

TLR aracılığı ile DC'leri aktive etmeleri, IL-12 gibi Th-1 grubu sitokinlerin sentezine yol açmaktadır. Sonuçta, TLR yoluyla uyarılan DC'lerin, T hücrelerini Th-1 hücre tipine doğru farklılaştırdıkları; Th-2 yönüne doğru gelişimin ise, bazı

özel TLR'ler, örneğin TLR4 aracılığı ile gerçekleştiği kabul edilmektedir (7). Bu bulgular, TLR'lerin doğal direnç aşamasının yanısıra, daha sonra devreye girecek olan, doğal direnç-özgül bağışıklık işbirliğinde de rolleri olduğunu göstermektedir (8) (Şekil 3).

Memelilerde tanımlanan ilk TLR, bir dizi inflamatuvar sitokin ve kostimülator molekül genlerinin indüksiyonunda rolü olduğu saptanan TLR4'dür (5). Bu bulgudan hareketle, sonraki yıllarda bir dizi başka TLR'ün, doğal direncin aktivasyonunda önemli roller oynadıkları; ayrıca bağışık yanıtın farklı aşamalarında devreye girdikleri, otoimmün reaksiyonların yanısıra, nöroimmünolojide de etkili oldukları kanıtlanmıştır.

Bu bölümde, belli başlı TLR'lerin, mikroorganizmalarla ilişkilerine ait bazı örnekler verilecektir.

a) TLR-4: İlk bulguların elde edildiği TLR-4 ile ilgili çalışmalarda, LPS'e yanıtız iki farklı fare suşunda TLR-4'e başlı sinyal iletiminin aksamasına yol açan mutasyonlar saptanmış; sonuçta LPS'in tanınmasında ve bu moleküle karşı yanıt gelişiminde TLR-4 'ün etkili olduğu saptanmıştır (9). LPS'lerin, TLR-4 tarafından algılanması direkt olarak gerçekleşmez; herşeyden önce, bu molekülün LPS-binding protein (LPS başlayan protein) ile birleşmesi; ve son aşamada bu kompleksin, monosit/makrofaj ve nötrofiller yüzeyinde bulunan ve TLR-4 ile işbirliği yapan CD14 ile ilişkiye girmesi gerekir. TLR-4'ün hücre dışı bölgesinde bulunan MD-2 ve B lenfositlerinde eksprese olan RP105 molekülleri, LPS ile birleşmede önemli rolleri olan yapıtaşlarıdır; nitekim MD-2 genlerindeki mutasyonların, ya da MD-2 eksikliğinin, LPS'lere yanıtı aksatan özellikler olduğu gösterilmiştir (4,10).

TLR4, LPS dışındaki başka ligantlar ile de ilişkiye girer; antitümör ve antimikotik etkinliğe sahip Taxol ve RSV başda olmak üzere bir dizi virus ve nihayet heat shock proteinleri (örneğin HSP60) gibi bazı endojen ligandlar da TLR4'e bağlanma özelliğine sahiptirler; ayrıca hücre dışı matrix komponentlerinden, örneğin fibronektin, hiyalüronik asit, heparan sülfat gibi yapıtaşlarının da TLR 4 ile bağlandıkları ve bu birleşme sonunda DC'lerin olgunlaşması ya da makrofajlardan kemokin üretimi aşamalarının başladığı saptanmıştır (5). Bu örnekler, inflamasyon sırasında oluşan bir dizi endojen ligantın TLR'e bağlandığını; ve inflamatuvar yanıtın oluşumunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

b) TLR 2, TLR 1 ve TLR 6: Gram negatif bakterilerin lipoproteinleri, Gram pozitiflerin peptidoglikan ve lipoteikoik asit kısımları, mikobakterilerin lipoarabinomannan bölgesi, mantarların zimozan tabakası ve Treponema maltophilium'un glikolipid maddeleri gibi bir dizi önemli mikroorganizma yapıtaşı TLR2 için ligand oluştururlar. Ancak TLR 2 reseptörünün bağlanacağı maddelerle ilişki kurmasında, başka iki molekülün, TLR6 ve TLR1'ün katkısı gereklidir (11). Örneğin, TLR 6 eksikliği olan fare makrofajlarının, makrofajları aktive eden lipopeptitlere (MALP) inflamatuvar cevaptan yoksun oldukları ve TLR 6 kazandırımının, bu farelerde TLR 2' ün işlevini gerçekleştirmesi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (12).

c) TLR 5: Bakterilerin konak hücreye tutunmasına ve invazyona neden olarak patojen mikroorganizmaların virülansında rolü olan flagellin maddesi, TLR5 reseptörünün önemli bir ligantıdır. Bu durum özellikle kültür üst sıvılarında Listeria monocytogenes bakterileri ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (13).

d) TLR 3: Antiviral ve immünoregulator aktiviteye sahip olduğu bilinen tip 1 interferon sentezinin, bir çok virusun replikasyon sürecinin belirli bir aşamasında oluşan çift zincirli RNA (ds.RNA) molekülünce indüklendiği bilinir. Doğal veya sentetik (örneğin poli I:C) ds.RNA'lara karşı yanıt, TLR3 reseptöründen yoksun farelerde aksamaktadır; ve bu bulgu TLR 3'ün, ds.RNA için bağlanma bölgesi olduğunu gösterir (14). Bu durum, diğer bazı reseptörlerin yanısıra, TLR 3 molekülünün dolaylı yoldan interferon- α/β üretimi için gerekli olduğunun kanıtıdır. Bu reseptör, diğer TLR moleküllerinin sahip olduğu prolin bölgesinden yoksundur ve olgun DC yüzeyinde bol miktarda eksprese edilir.

e) TLR 9 ve TLR 7: Bakteri DNA'sı ve özellikle metillenmemiş CpG bölgesi, güçlü bir immünokompetan hücre uyarıcısıdır; örneğin Listeria monocytogenes gibi bir hücreyi patojene karşı güçlü yanıt oluşumu, CpG-DNA uyarısı ile elde edilebilir. Ayrıca CpG DNA, DC'leri uyararak, Th-1 tipi yanıtın oluşumunda; hatta adjuvan özelliğine benzer tipte etkinliğe sahiptir. İşte bu önemli yapıtaşının reseptörü TLR-9 molekülüdür ve bu durum hayvan deneyleri ile kanıtlanmıştır (15). TLR9 homologu olan TLR7 ve TLR8 reseptörleri ise, sentetik moleküllerle yapılan deneysel çalışmalarda, farklı nükleik asitlerin ve lipoproteinlerin ayırımında rol oynadıkları gösterilen yapıtaşlarıdır.

TLR ekspresyonu:

TLR ailesinin üyelerinin farklı hücrelerde varlıkları gösterilmiştir; örneğin monosit/makrofaj serisi hücrelerde, TLR3 hariç tüm diğer TLR'lerin m.RNA ekspresyonu saptanmıştır. DC'lere bakıldığında ise miyeloid seriden gelenler (MDC): TLR 1,2 ,4,5 ve 8; plazmasitoid DC'ler (PDC) ise: TLR 7 ve TLR 9 taşırlar; bu arada, söz konusu reseptörlerin yoğunluğu, DC'nin evrim aşamalarında değişkenlik gösterir; örneğin TLR3, sadece olgun DC'lerde bulunur (16). Fagositoz etkinliğinin yanısıra, antijeni işleme ve inflamatuvar sitokin üretme gibi özellikleri olan mast hücreleri TLR 2, 4, 6 ve 8 moleküllerine sahiptirler. Mukozal bağışıklıkta rolleri olan epitel hücreleri, buldukları bölgenin özelliğine göre, TLR5 ya da TLR4 gibi reseptörler taşırlar (5). Farklı hücre tiplerinde, değişik TLR ekspresyonunun düzenlenmesi, ortamdaki mevcut mikroorganizma popülasyonu, mikroorganizmaların komponentleri ve çevredeki sitokinlerin tipi gibi, bir dizi etkene bağlı olarak değişkenlik gösterir. Örneğin Mycobacterium avium infeksiyonu, makrofajların TLR2 m.RNA ekspresyonunun arttırırken, TLR 4 m. RNA ekspresyonunu baskılar (17). Ortamdaki sitokinlerin TLR ekspresyonu üzerine etkilerine bir örnek olarak makrofaj migrasyonunu inhibe eden faktörü (MIF) gösterebiliriz; MIF'den yoksun farelerin, LPS'e yanıtlarının aksaması, TLR4 ekspresyonunun düzenlenmesinde rolü olduğunu gösterir (18). Benzer şekilde IFN- χ 'nın, monosit / makrofaj yüzeyinde TLR4 ekspresyonunu arttırdığı kanıtlanmıştır (19).

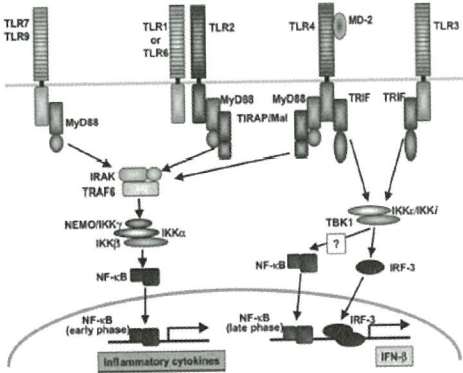
TLR'ler ve sinyal iletim mekanizması

TLR'lerin memelilerde sinyal iletim mekanizması, Drosophila'da görüldenden bazı farklılıklar içerir. Memelilerde izlenen iletim yolu, IL-12 ailesinde olup bitene çok benzer ve TLR'lerin ortak TIR bölgesinden harekete çalışmaya başlar. Hem TLR, hem de IL-1R mekanizmaları, adaptör protein olan ve C-terminal ucunda TIR bölgesi taşıyan MyD88'i kullanırlar. Uyarı alan MyD88 molekülü, serin / treonin kinaz taşıyan IL-1R'ye bağlı kinazı (IRAK) kendine çeker; fosforilasyon sonucu aktive olan IRAK, TRAF6 molekülü ile birleşir ve iki ayrı sinyal iletim mekanizmasını (JNK ve NF- κ B) uyarır.

a) MyD88'e bağımlı mekanizma: Bu molekülün önemi, MyD88 noksanlığı olan farelerde IL-1 ve LPS'lere yanıtın aksadığının gösterilmesi ile kanıtlanmıştır (20); ayrıca benzer noksanlığı olan farelerin makrofajlarının, peptidoglikan, lipoproteinler, CpG DNA, dsRNA, gibi önemli uyarıcılara karşı inflamatuvar sitokin üretimini gerçekleştirememektedirler (5); bu tip immünojenlere karşı, söz konusu özellikteki deney hayvanlarının makrofajlarında, NF- κ B veya JNK aktivasyonunda aksar ve bu modellerde *S. aureus* duyarlılığı çok artmıştır. Benzer bulgular, TRAF6 ve IRAK'ların eksikliğinde de söz konusudur.

b) MyD88'den bağımsız mekanizma: yukarıda belirtilen uyarıcılar dışında, örneğin LPS molekülleri, MyD88 eksikliğinde bile, daha uzun sürede gerçekleşse bile NF- κ B ve JNK aktivasyonunu gerçekleştirir (20). Bu tip bir uyarı mekanizması kısaca TIRAP / Mal olarak tanımlanan, TIR domain-containing adaptor protein (TIRAP) / MyD88 adaptor like (Mal) molekülü üzerinden gerçekleşir. Bu molekül özellikle TLR4 aktivasyonunda söz sahibidir (21). Son olarak IRF-3 ve Tollip adı verilen iki başka önemli molekülün, MyD88 noksanlığı olan hücrelerdeki sinyal iletiminde rolleri olduğu savunulmuştur (5).

c) TLR üzerinden gerçekleşen sinyal iletiminde transkripsiyon faktörleri: B hücresinde immünoglobülin hafif zincirinin transkripsiyonunda rol oynayan NF- κ B molekülü, bir çok hücre tarafında eksprese edilir. Örneğin bu yapı, DC'lerin olgunlaşmasında ve işlevsel özelliklerinin gerçekleşmesinde etkin iken, diğer transkripsiyon faktörleri olan AP-1, NF-IL6, IRF, STAT ailesinden üyeler ve nihayet Sp1, çeşitli genlerin ekspresyonunda etkili molekülüdür (şekil 4)



Şekil 4: Memelilerde TLR sinyal iletimi (Kaynak 8)

TLR immün yanıtı ilişkisi

Çeşitli TLR'lerin mikroorganizmalarla ilişkiye girerek antimikrobiyal savunma sistemini (örneğin antimikrobiyal peptidlerin epitel hücrelerinden üretim) harekete geçirdiğine yukarıda değinmiştik. Patojenlerin farklı bölgeleri ile kurdukları bağlantı sonucu, bir yandan immünokompetan hücrelerin bu mikroorganizmalara karşı savaşını başlatan TLR'ler, öte yandan bir dizi antiviral gen programlarının harekete geçmesini de sağlarlar. Örneğin B hücrelerindeki TLR'in, CD40L ve LPS ligandları ile ilişkiye geçmeleri sonucu bu hücrelerin proliferasyonuna ve izotip değişimine neden olurlar; ayrıca LPS uyarısı sonucu örneğin influenza virusuna dirençten sorumlu Mx1 geninin, ya da IFN α/β yanıtını arttıran transkripsiyon faktörünün (IRF7) uyarılmasını gerçekleştirirler (22). Bu arada, TLR4'ün özellikle LPS'leri, TLR2'nin lipoproteinler ve glikolipidleri, TLR5'in flagellini, ve TLR9'un bakteri CpG DNA'sını tanıması dışında, TLR ailesinin, nekroza

uğramış hücreler, HSP'ler ve ekstraselüler matris komponentleri gibi endojen ligandlarca da uyarıldıkları ve immün yanıtı bu yoldan da kamçıldıkları gösterilmiştir (23).

Sonuçta, TLR başlatışı yoluyla uyarı alan immün sistem, bir yandan antimikrobiyal proteinlerin ve akut inflamatuvar yanıtı düzenleyecek sitokinlerin üretimi ile doğal direnci yönlendirirken; öte yandan DC olgunlaşmasına, T hücre yanıtının harekete geçmesine, kostimülatör sistemin aktivasyonuna yol açarak özgül bağışıklığa da katkıda bulunmaktadır. Son yıllarda, özgül bağışıklığın aktivasyonu için gerekli sinyallerin, özellikle DC'ler tarafından sağlandığı görüşü ağırlık kazanmaktadır. Güçlü endositoz kapasitesine sahip olan olgunlaşmamış DC'ler, mikroorganizmaların farklı yapıtaşlarıncı (LPS, CpG DNA, peptidoglikan v.s) uyarıldıklarında, olgunlaşma aşamasına geçerler ve yüzeylerinde çeşitli TLR'leri ekspresyonu olur (24); bu aşamadan sonra, olgun DC'lerin mikroorganizmalarla birleşmesi, CD80/CD86 kostimülatör moleküllerinin devreye girmesi ile gerçekleşecek ve IL-12 gibi inflamatuvar sitokin üretimi başlayacaktır. Bu evrede, DC'lerin endositoz kapasiteleri azalır ve lenf nodüllerine doğru göçleri başlar; karşılaştıkları naif T hücrelerine, MHC-II olduğunda taşıdıkları peptid yapıdaki antijenleri sunacaklardır: sonuçta antijene özgül bağışıklık çalışmaya başlar. Özgül bağışıklığın işleyişinde, TLR'ün önemi, MyD88 eksikliği olan fare modellerinde gösterilmiştir; bu özellikteki hayvanlarda adjuvan eşliğinde verilen bir antijene karşı, CD4+T hücrelerinin IFN- γ üretimi ya da spesifik IgG2a sentezi aksar; ayrıca yine aynı grup hayvanda Th1 tipi yanıtın bozulduğu gösterilmiştir; tüm bu bulgular, Th1 tipi yanıtın, MyD88'e bağımlı sinyal iletimi ile düzenlendiğinin kanıtıdır (4). Bu arada farklı DC'lerin, Th1 ve Th2 yanıtını düzenledikleri; bu yönde, çevredeki mikroorganizma florasının da rol oynadığı; DC'lerin TLR4 veya TLR9 aracılığı ile uyarılmalarının, IL-12 üretimine yol açtığı ve sonuçta T hücre farklılaşmasının, Th1 yönünde ilerlediği gösterilmiştir. Buna karşın MyD88'den bağımsız yolun çalışması ile gerçekleşen sinyal iletimi, Th2 yönünde bir gelişmeyi harekete geçirecek DC'lerin aktivasyonuna neden olur. DC'lerdeki TLR'lerin aktivasyonu tip 1 IFN üretimini kamçılar; bu sitokin, DC olgunlaşmasını ve bazı Th1 tipi kemokin genlerinin uyarılmasını sağlar; ayrıca her izotipten immünoglobulin sentezini uyarır; bu özellikler, tip 1 IFN'ların özgül bağışıklık ile doğal direnç arasında köprü görevini gerçekleştirdiğini kanıtlar. Miyeloid seriden gelen DC'ler (MDC), LPS gibi maddelerin uyarısı ile IL-12 üretimi yaparken, plazmasitoid seriden gelenler (PDC) CpG DNA'ya yanıt sonucu IFN- α sentezlerler (4). Ancak yüzeylerindeki TLR'ler bakarak, DC alt gruplarının patojenlere nasıl yanıt vereceklerini öngörmek olası değildir; örneğin MDC'ler yüzeyinde yer alan TLR7 reseptörü, IL-12 üretimine yol açarken, aynı molekül, PDC'lerden IFN- α sentezine neden olur; bu durum oluşacak yanıt türünü belirlemede, TLR tipi yanında, DC'nin özelliğinin de belirleyici olduğunu gösterir (25).

SSS 'de TLR'lerin işlevleri

Canlıların SSS dışında kalan tüm bölgelerinde, doğal direnç ve özgül bağışıklıktan oluşan savunma sisteminin, patojen mikroorganizmalar gibi istenmeyen yabancılar karşı karmaşık ancak etkili bir mekanizma uyarınca koruma işlevini yerine getirdiğini biliyoruz. Ancak SSS bu genellemenin dışında kalarak, ayrıcalıklı bir bölge özelliği göstermekte; örneğin beyin, immün denetim dışında tutulmuş bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu özel durum, başta nöronlar olmak üzere, MSS komponentlerinin hassas yapısının immün yanıtın saldırgan özelliğinden zarar görmemesi için ortaya çıkan evrimsel uyum mekanizması sonucudur.

Söz konusu özellik özgül bağışıklık için geçerliliğini korurken, doğal direnci oluşturan birçok yapıtaş (kompleman sistemi, scavenger reseptörleri, TLR'ler gibi), SSS'ne sorun yaratacak patojenlere, ya da amiloid fibriller, miyelin veya apoptotik hücre kalıntıları gibi toksik artıklara karşı, güçlü biçimde etkinlik gösterirler. PAMP'ların yanısıra, apoptotic cell-associated molecular pattern (ACAMP-apoptotik hücrelerle ilişkili moleküler paternler)'lerin doğal direnç yapıtaşları ile birleşmeleri sonucu, fagositler gibi savunma elemanlarının bölgeye çekilmesi için gerekli sinyaller oluşur. PAMP/ACAMP' lar, PRR grubunda yer alan reseptörlere bağlandıklarında, oluşacak sinyallerin yönlendirmesi sonucu, etkili inflamatuvar yanıt ortaya çıkacaktır. Ancak vücudun diğer bölgelerinden farklı olarak, bu kez daha hassas bir ortam söz konusu olduğundan, inflamasyon bölgesini çevreleyen hücrelerin zarar görmesini önlemek amacıyla, self-associated molecular pattern (SAMP-kendinden olanla ilişkili moleküler paternler) ve kompleman sisteminin regülatör proteinleri gibi yapıların, anti-inflamatuvar yanıtı ve doku onarımını sağlayacak sinyaller göndermeleri; nöronların, doku onarımı için gerekli anti-inflamatuvar özellikteki sitokinleri sentezleyecek makrofajları harekete geçirmeleri söz konusudur (28). Son yıllarda, doğal direncin önemli yapıtaşlarından olan aktive olmuş makrofajların SSS'deki bazı tip hasarları onarmada rol oynadıkları; miyeline özgü otoimmün T hücrelerinin ise, nöronları çeşitli nedenlere bağlı dejenerasyondan korudukları gösterilmiştir (27). Yakın zamanda gerçekleştirilen çalışmalarda periferde aktive olan T lenfositlerinin kan-beyin bariyerini aşarak beyinde oluşacak herhangi bir enfeksiyon ya da MS gibi, SSS'nin inflamatuvar hastalıklarında etkili olabileceği; T hücre yanıtının başlamasında ve düzenlenmesinde, DC'lerin önemli rolleri olduğu savunulmuştur (29). Ayrıca derin servikal lenf nodüllerinde T hücresine bağımlı antikor üretiminin gösterilmesi, önceki yıllarda kabul edilen aksine, özgül bağışıklık açısından da, beyinin sahip olduğu kabul edilen ayrıcalıklı bölge özelliğinin kesin olmadığını düşündürmektedir. Tüm bu reaksiyonların harekete geçmesi, normal koşullarda beyin parenkim bölgesinde bulunmayan, ancak bir enfeksiyon ya da otoimmün inflamasyon söz konusu olduğunda bu ortamda beliren DC'lerin katkısı ile gerçekleşir. Bu arada, öncelikli olarak Th hücrelerinin aktivasyonundan sorumlu olan DC'lerin belirli koşullarda, miyelin antijenlerine karşı var olan immün toleransı kırarak MS tablosunun oluşumuna katkıda buldukları; bu durumun ortaya çıkmasında, DC'lerinde, miyelin antijenlerine özgü MHC moleküllerinin ekspresyonundaki artışın, beyin omurilik sıvısında bu hücrelerin olması gerekenden daha fazla oranda yığılmasının, buna bağlı olarak kemokin reseptörlerinin sayısındaki artışın, IL-10 gibi olgunlaşmalarını engelleyen anti-maturasyon faktörlerinin baskılanmasının ve TNF- α gibi pro-maturasyon faktörlerinin çoğalmasının rolleri olabileceği ileri sürülmüştür (29). Sonuç olarak, SSS'de, DC'lerin hem olumlu, hem de olumsuz bir dizi gelişmeden sorumlu hücreler olarak değerlendirilmesi olasıdır. Buraya kadar özetlemeye çalıştığım SSS immünolojisine ait yeni bazı yaklaşımlarda, TLR'lerin yadsınmaz önemi bulunmaktadır. Örneğin TLR4 aracılığı ile gerçekleşecek olan doğal direnç aktivasyonu nörodejenerasyondan sorumludur; SSS'de, LPS uyarısına yanıt verecek olan başlıca hücrelerin mikroglialar olduğu; bunların, TLR4 aktivasyonuna bağlı yoğun nöron yıkımından sorumlu olduğu gösterilmiştir (30). SSS enfeksiyonlarında TLR mRNA ekspresyonunu inceleyen bir çalışmada ise, söz konusu aktivasyonunun, etkenin RAMP bölgelerine spesifite göstermediği ve oluşacak doğal direnç uyarısının daha karmaşık reaksiyonlar zinciri sonunda gerçekleştiği savunulmuştur (31).

KAYNAKLAR

1. Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* 52: 269, 1988.
2. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA: The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle* / *TOLL*/*cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86: 973, 1996.
3. Tauszig S, Jouanguy E, Hoffmann JA, Imler JL. TOLL-related receptors and the control of antimicrobial peptide expression in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 10520,2000.
4. Takeda K, Kaisho T, Akira S: Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 21: 335, 2003.
5. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388: 394, 1997.
6. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity : the virtues of a non-clonal system of recognition. *Cell* 21: 295,1997.
7. Werling D, Jungi TW: TOLL like receptors linking innate and adaptive immune response. *Vet Immunol Immunopathol* 21: 1, 2003.
8. Pasare C, Medzhitov R: Toll-like receptors and acquired immunity. *Sem Immunol* 16: 23, 2004.
9. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T et al. Cutting Edge: Toll-like receptor 4 (TLR 4) deficient mice are hyporesponsive to lipopolisaccharide: evidence for TLR 4 as the *Lps* gene product. *J Immunol* 162: 374; 1999.
10. Miyake K, Yamashita Y, Ogata M, Sudo T, Kimoto M. RP105, a novel B cell surface molecule implicated in B cell activation, is a member of the leucine rich repeat protein family. *J Exp Med* 154: 3333, 1995.
11. Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 13766, 2000.
12. Takenchi O, Kawai T, Muhlradt PF, et al. Discrimination of bacterial lipopeptides by Toll like receptor 6. *Int Immunol* 136: 933, 2001.
13. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, et al . The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 410: 1099, 2001.
14. Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA. Recognition of double stranded RNA and activation of NF-kB by Toll like receptor 3. *Nature* 412: 732, 2001.
15. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T et al. A Toll like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 408:740, 2000.
16. Muzio M, Bosisio D, Polentarutti N et al. Differential expression and regulation of Toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *J Immunol* 164: 5998, 2000.
17. Wang T, Laufuse WP, Zwilling BS. Regulation of Toll-like receptor 2 expression by macrophages following *Mycobacterium avium* infection *J Immunol* 165: 6308, 2000.
18. Roger T, David J, Glauser MP, Calandra T. MIF regulates innate immune responses through modulation of Toll-like receptor 4. *Nature* 414: 920, 2001.
19. Bosisio D, Polentarutti N, Sironi M et al. Stimulation of Toll-like receptor 4 expression in human mononuclear phagocytes by

-
- interferon-gamma: a molecular basis for priming and synergism with bacterial lipopolysaccharide. *Blood* 99: 3427, 2003.
20. Kawai T, Adachi O, Ogawa T, Takeda K, Akira S. Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin. *Immunity* 12:115, 1999.
 21. Hornig T, Barton GM, Medzhitov R. TIRAP: an adapter molecule in the Toll signaling pathway. *Nat Immunol* 2: 835, 2001.
 22. Vaidya SA, Cheng G: Toll-like receptors and innate antiviral responses, *Curr Opin Immunol* 15: 402, 2003.
 23. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunol* 2: 675, 2001.
 24. Visintin A, Mazzoni A, Spitzer JH, et al. Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J Immunol* 166: 249, 2001.
 25. Ito T, Amakawa R, Kaisho T et al. Interferon-and interleukin-12 are induced differentially by Toll-like receptor 7 ligands in human blood dendritic cell subsets. *J Exp Med* 195: 1507, 2002.
 26. Takeda K, Akira S: TLR signaling pathways. *Sem Immunol* 16:3, 2004.
 27. Schwartz M, Moalem G, Leibowitz-Amit R, Cohen IR. Innate and adaptive immune responses can be beneficial for CNS repair. *Trends Neurosci* 22: 295, 1999.
 28. Elward K, Gasque P. "Eat me" and "don't eat me" signals govern the innate immune response and tissue repair in the CNS: emphasis on the critical role of the complement system. *Mol Immunol* 40: 85, 2003.
 29. Pashenkov M, Teleshova N, Link H. Inflammation in the central nervous system: the role for dendritic cells. *Brain Pathol* 12: 23,2003.
 30. Lehnardt S, Massillon L, Follett Pet al. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 8514, 2003.
 31. Böttcher T, Von Mering M, Ebert S et al. Differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in experimental murine central nervous system infections. *Neuroscience Lett* 344: 17, 2003.

OTURUM III

14.00-16.00
Oturum Başkanları

NÖROİMMÜNOLOJİDE SON GELİŞMELER

Dr. Tülay KANSU
Dr. Ersin TAN

14.00-14.20

Multipl Skleroz

Prof. Dr. Ayşe KOCAMAN SAĞDUYU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.

Santral Sinir Sistemi'nin (SSS) prototipik inflamatuvar demyelinizan hastalığı olan Multipl Skleroz (MS) konusunda geçtiğimiz 10 yılı aşkın süre içinde çok sayıda çalışma yapılmış ve MS'in bilinmezleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Ancak bu konuda bilgi birikimi arttıkça MS'in sanıldığından çok daha komplike bir hastalık olduğu, hatta farklı klinik özellikleri nedeniyle tek bir hastalık olmayıp bir grup hastalığı kapsadığı konusunda veriler ortaya çıkmaktadır. Geleneksel olarak genetik ve çevresel faktörlerin oluşturduğu zemine ortaya çıkan otoimmün doğada inflamatuvar demyelinizan bir hastalık olarak bilinen MS'in immün histokimyasal ve patolojik çalışmalar ile manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve MR spektroskopik incelemelerin korelasyonu sonucunda akson ve nöron kaybının da söz konusu olduğu nörodejeneratif yönü ortaya çıkmıştır.

MS'in immün patogenezinde henüz yanıtlanmamış önemli sorular olsa da, son yıllarda önemli gelişmeler olmuştur. Bilimsel verilerin ışığı altında MS'in farklı alt gruplarında farklı inflamasyon mekanizmaları ve doku yıkımı olduğu düşünülmektedir. Inflamatuvar yanıtın yıkıcı etkileri yanı sıra koruyucu, onarıcı etkilerinin gözlenmesi inflamasyonun MS patogenezindeki yerini daha karmaşık hale getirmiştir.

MS'de otoantijenler ve otoreaktif T hücreleri

Otoreaktif proinflamatuvar T hücrelerinin kan-beyin bariyerini aşarak SSS'ne geçişi MS'de inflamatuvar sürecin başlamasında temel mekanizma olarak görülmektedir. MS'li olguların periferik kanlarında saptanan myelin reaktif T hücrelerinin nasıl oluştuğu, immünoloji toleransın nasıl bozulduğu halen tam anlaşılamamış olsa da, bu konuda çeşitli hipotezler bulunmaktadır. Güncel olarak kabul gören görüş; bir enfeksiyöz ajana ya da süperantijene karşı oluşan T hücre yanıtının, "moleküler benzerlik" nedeniyle çapraz reaksiyonla myelin antijenine yönelmesidir. Yapılan çalışmalara göre T hücrelerinin reaktif olduğu myelin antijenlerinin başlıcaları myelin basic protein (MBP), myelin-associated glycoprotein (MAG), myelin oligodendrosit glycoprotein (MOG) ve proteolipit protein (PLP) dir. Myelin reaktif T hücrelerin normal sağlıklı bireylerde de, MS hastalarındaki benzer oranda bulunması bu konuda yapılan çalışmaların derinleşmesine yol açmıştır. T lenfosit aktivasyonunun önemli bir bulgusu olan IL-2 reseptörünün MBP reaktif T hücreleri üzerinde ekspresyonu MS'li olgularda gözlenirken, normal bireylerde gözlenmemiştir. Genetik olarak MS'e yakınlığı olan bireylerde, normalde periferik kanda bulunabilen myelin antijenlerini tanıyan T lenfositler çevresel faktörlerin de (viral enfeksiyonlar) etkisiyle aktive olup çeşitli immünolojik mekanizmalarla kan beyin bariyerini yıkılmasına neden olarak SSS'ne geçmektedir.

Otoreaktif T hücrelerinin SSS' ne geçişi ve immün aktivasyon;

Vasküler endotel üzerinde adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1) ekspresyonu ile periferik kandaki otoreaktif aktive T lenfositler üzerinde bu adezyon moleküllerinin ligandları (LFA-1 ve VLA-4) belirir. Yine endotelden ürünlenen

kemokinler inflamatuvar hücrelerin ve T lenfositlerin endotele yaklaşmasını sağlar. Vasküler endotel ve aktive T lenfositler üzerindeki adezyon molekülleri ve kemokinlerin ligand ve reseptörleriyle birleşmesi sonucu T hücreler endotele yapışır. Endotelden üretilen matrix metalloproteinazlardan (MMP) özellikle MMP-9 ekstraselüler matrix makromoleküllerinin yıkılmasına neden olur. MMP' ler ayrıca myelin komponentlerinin proteolizinde yer alır, sitokin ürünlenmesini düzenler. MMP'lerin hücre-matrix ilişkisinin bozulmasıyla integrin sinyal kaybı sonucu apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde de rolü olabileceği düşünülmektedir. Kan beyin bariyerinin hasarlanması ve yıkılmasıyla inflamatuvar hücreler ve otoreaktif T hücreler SSS parankimine geçerek inflamasyonu başlatır.

Antijen spesifik T hücrelerin aktivasyonu ve inflamatuvar kaskadın genişleyebilmesi için antijenik peptidlerin MHC molekülleri ile birlikte T hücrelerine sunulması gereklidir. SSS' de antijen sunan hücreler perivasküler monositler, mikroglyalar, makrofajlar, parankimal lenfositler ve belki olasılıkla da astrositlerdir. Antijen sunan hücreler üzerinde eksprese olan MHC Class II molekülü hedef antijeni CD4+ otoreaktif T hücrelerine sunar, T hücre reseptörü antijene kilitletlenir ve trimoleküler kompleks ortaya çıkarak T hücre aktivasyonunu başlatır. Bu aktivasyon kostimulatör moleküllerle desteklenir. T hücreleri üzerindeki CD28 molekülünün ve bazen CTLA-4'ün, antijen sunan hücreler üzerindeki B7.1 veya B7.2 molekülleriyle birleşmesi kostimulatör sinyalleri başlatır. T hücreleri aktive olduktan sonra üretildikleri sitokinlere göre sınıflandırılır. Th1 hücreler sitotoksik T hücreleri ve makrofajları aktive ederek proinflamatuvar sitokinleri (TNF α , IFN γ , IL-2, -12) ürünlerken, Th2 hücreler B hücre proliferasyonunun ve immünglobulin oluşumunu artırır, antiinflamatuvar (IL-4,-5,-6,-10,-13) sitokinleri ürünler. Th2 yanıtları Th1 hücre yanıtlarını baskıladığı için de anti-inflamatuvar etkili görülmektedir.

Demyelinizan Antikorlar

Son yıllarda miyelin kılıflar ve oligodendrositler üzerinde eksprese olan epitoplara karşı oluşmuş demyelinizan antikorların varlığı üzerinde durulmaktadır. Kan beyin bariyerinin yıkılmasından sonra dolaşımdaki demyelinizan antikorların ve kompleman elemanlarının SSS'ne girmesi ve kompleman aktivasyonu ile antikor bağımlı hücre sitotoksik reaksiyona yol açarak miyelin yıkımına neden olduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Bu bulgular aktif MS lezyonlarında Ig ve litik terminal kompleman kompleksinin (C9neo), anti-MOG antikorlarının ve myelinin makrofajlar tarafından reseptör aracılı fagositozunun gösterildiği in vivo insan çalışmalarıyla da desteklenmiştir.

Sitotoksik T hücreler

MS patogenezinde MHC Class I CD8+ T hücre yanıtlarının rolü olabileceğine ait çok sayıda veri bulunmaktadır. IFN ile uyarılan oligodendrositler MHC Class I antijenleri eksprese etmeye başlarlar. Bu sinyallerle ortamda CD8+T hücreler upregüle olur ve MHC Class I molekül ekspresyonu nedeniyle oligodendrositler potansiyel hedef haline dönüşür. Sitotoksik CD8+T hücrelerin perforin gibi eriyebilir ürünleri oligodendrositlerde nekroz oluşturabilecek sitotoksikite sahiptir. MS lezyonlarında sitotoksik T hücre reaksiyonu için hedef antijenler tam bilinmemekle birlikte, oligodendrositlerin eksprese ettiği HSP60 ve HSP 70 "heat shock protein" gibi stres proteinlerinin sitotoksik T hücrelerini uyardığı düşünülmektedir. Demyelinizasyon, oligodendrosit, akson, nöron kaybı ve rejenerasyon immünolojik, nörobiyolojik ve genetik araştırmalar sonucunda MS patogenezinde farklı genetik ve immünolojik mekanizmaların rolü olduğu ve bu farklılıkların gerek hastalık seyirinde, gerek tedavi yanıtlarındaki heterojeniteye neden olduğu düşünülmektedir.

Güncel görüşe göre MS patogenezinde 4 farklı demyelinizasyon paterni bulunmaktadır:

- 1-Makrofaj aracılı demyelinizasyon
- 2-Makrofajla birlikte antikor ve kompleman aracılı demyelinizasyon
- 3-Distal oligodendrogliopati ve oligodendrosit apoptozu
- 4-Primer oligodendrogliyal dejenerasyon

I. ve II. demyelinizasyon paterni küçük ven ve venüllerin çevresindeki iyi sınırlı plaklarda gözlenir, aktif lezyonlar kenarında oligodendrositler sayıca az bulunur ancak plakların santralinde yeniden artar ve yaygın remyelinizasyon görülür. Patern III lezyonlarında inflamatuvar infiltrat makrofaj, aktive mikroglialar ve T hücrelerden oluşur. Oligodendrosit hücre gövdesinin en distal bölümünde lokalize olan MAG ekspresyonunda belirgin azalma ve buna sekonder myelin proteinlerinden MAG'ın selektif kaybı vardır. İleri düzeyde apoptotik oligodendrosit kaybı ve minimal remyelinizasyon vardır.

Patern IV lezyonlarda selektif MAG kaybı olmaz, periplak normal görünümdeki beyaz cevherde non-apoptotik oligodendrogliyal hücre ölümü gözlenir. Bu paterndeki oligodendrosit ölümünden öncelikle glutamat sorumlu tutulmaktadır. Primer oligodendrosit dejenerasyonu olarak tanımlanan bu patern daha çok primer progresif olgularda tanımlanmıştır.

Akut aksonal hasarlanmanın aktif demyelinizasyon sırasında olduğu ve hastalığın çok erken döneminde gözleendiği artık iyi bilinmektedir. İmmünohistokimyasal araştırmalarda erken dönem akson hasarının göstergesi olarak amyloid precursor protein (APP) in ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. MS lezyonlarındaki akson hasarının derecesinin ortamdaki makrofaj ve Class I CD8+T hücreleri ve onların toksik ürünleri (NO radikaller, proteazlar) ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Kronik inaktif lezyonlarda aksonal patoloji tipik olarak daha azdır ancak az da olsa sürmektedir. Kimi yazarlar akson yıkımının yaygın oligodendrosit kaybı sonucunda aksonların oligodendrositlerden salgılanan aksonal trofik faktörlerden yoksun kalmasıyla da ilişkili olabileceğini belirtmektedirler.

Oligodendrosit progenitör hücrelerde kimi zaman immünolojik atağa hedef olabilmektedir. Remyelinizasyonun yetersiz kaldığı kimi MS lezyonlarında oligodendrosit progenitör hücrelerin ve immatür oligodendrositlerin bulunduğu ve bu hücrelerin matür oligodendrositlere dönüşemediği gözlenmiştir. Bu matürasyonun tamamlanması için oligodendrositlerin büyüme ve gelişmesinde önemli rolü olan cilier neurotrophic factor (CNTF), leukemia inhibitory factor (LIF) gibi nörotropik faktörlerin ekspresyonu gereklidir. MS olgularında astrositler üzerinde büyüme inhibitör ligandı Jagged-1 ekspresyonunun arttığı, bunun sonucunda da büyüme faktör ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. MS' in deneysel modelinde oligodendrosit rejenerasyonu ile ilişkili tirozin fosfataz proteinin upregule olduğu gösterilmiştir. Oligodendrosit hasarında rolü olan TNF'nin farklı reseptör üzerine (p75 TNFR2) etki ettiğinde oligodendrosit rejenerasyonunu artırıcı rolü olduğunun gözlenmesi sitokinlerin farklı reseptörlerde farklı etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Oligodendrositlerin remyelinizasyonu başlatabilmesi için kompleks bir matriks sinyalinin gerekli olduğu, akson yüzeyinde eksprese olan PSA-NCAM (polysialized form neuronal cell adesion molecule)'ün myelinizasyonda negatif düzenleyici olduğu düşünülmektedir. Bu ana başlıklar yanı sıra MS' in klinik ve tedaviye yönelik son gelişmelerinden de kısaca söz edilecektir.

14.20-14.40

Myastenia Gravis

Prof. Dr. Ersin TAN

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Nöroloji AD. Nöromusküler Hastalıklar
Araştırma Laboratuvarı

Myastenia Gravis (MG) yorgunlukla ortaya çıkan kas güçsüzlüğü ile karakterize bir nöromusküler kavşak hastalığıdır. Herhangi bir yaşta ortaya çıkabilen bu hastalığın prevalansı 2-14/100.000 arasındadır.

Myastenia Gravis bugün için patogenezi en iyi bilinen otoimmün hastalıktır. Çoğu hastada kas nikotinik asetil kolin reseptörüne (AChR) karşı bir otoimmün saldırı söz konusudur. Postsinaptik membrandaki asetil kolin reseptörlerine bağlanan otoantikolar sonucu reseptör kaybı olur ve nöromusküler transmisyon bozulur. Jeneralize MG'li hastaların %80-90'ında otoantikolar mevcuttur. Geri kalan %10-20 jeneralize MG'li vakada ve oküler myastenili %50 vakada asetil kolin reseptör antikoru bulunmaz. Bu seronegatif vakaların %70'sinde ise diğer bir nöromusküler kavşak molekülü olan MuSK'a (Muscle Specific Receptor Kinase) karşı antikolar vardır. Antikoların patogenezdaki rolü hastaların IgG'sinin sıçanlara pasif transferi ile desteklenmiştir. Ayrıca plasenta yoluyla bebeğe geçen antikoların neonatal myasteniye yol açması, AChR immünizasyonu ile eksperimental otoimmün myasteni oluşturulması ve tedavide plazma değişiminin etkili olması otoimmün bozukluğu destekleyen diğer bulgulardır. Otoimmün hasar sonrası asetil kolin reseptör sayısında azalma, postsinaptik katlantılarda komplemana bağlı hasar oluşması sonucu düzleşme, ve asetil kolinin reseptöre bağlanmasında engellenme görülür.

Myastenia Gravis'in en önemli klinik bulgusu fiziksel aktivite sonrası ortaya çıkan kas güçsüzlüğü ve yorgunluktur. İstirahat ile şikayetler azalır. Hastaların %60'ında ilk klinik belirtiler göz kaslarında ortaya çıkar ve %60 vakanın başlangıç semptomları pitoz ve/veya diplopidir. Hastaların %85'inde güçsüzlük yüz, bulber ve ekstremitelerde kaslarında da görülür. Solunum kaslarının ve orofarengial kasların tutulumu da myastenik krize yol açar.

Myastenia Gravis'in teşhisinde edrophonium testi (tensilon), tekrarlayıcı sinir stimülasyonu, tek lif elektromiyografisi ve antikor düzeylerinin bakılması önemlidir.

Hastalığın semptomatik tedavisinde Kolinesteraz inhibitörleri kullanılmaktadır. Aşırı kullanımda kolinerjik kriz olabileceği akılda tutulmalıdır. İmmünsüpresif tedaviler içerisinde steroidler, azathioprin, siklosporin, mycophenolate mofetil, siklofosfamid tercih edilen ilaçlardır. Ayrıca intravenöz immünglobulin G, plazma değişimi de günümüzde geçerliliği kanıtlanmış tedavi yöntemlerindedir. Ayrıca timomasi olan hastalarda timektomi yapılması mutlak endike olup, timomasi olmayan MG'li hastalarda timektomi uygulanması iyileşmeyi çabuklaştırmakta ve remisyon sürelerini uzatmaktadır.

Guillain-Barre Sendromu ve Kronik İnflamatuvar Demiyelinizan Polinöropati

Doç. Dr. Yeşim GÜLŞEN-PARMAN

İstanbul Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Nöroloji A.D.

Guillain-Barré Sendromu

Guillain-Barré Sendromu (GBS) her yaş grubunda görülebilen ve akut felce neden olan oto-immun bir hastalıktır. Hastaların çoğunun öz geçmişinde birkaç hafta önce geçirilmiş üst solunum yolu enfeksiyonu, gastroenterit olabilir. Epstein-Barr virüsü, sitomegalovirüs, Mycoplasma pneumoniae ve Campylobacter jejuni GBS ile ilişkisi kanıtlanmış ajanlardır. Beyin-omurilik sıvısı (BOS) incelemesinde hücre artışı olmaksızın protein yükselmesi (albuminositolojik disosiyasyon) görülür. Vücuda giren mikroorganizmaların antijenik özellikleri sinir dokusunda var olan bazı yapı maddeleriyle (özellikle gangliozidler) benzerlik gösterebileceğinden, söz konusu mikroorganizmalara karşı gelişen antikorların hastalık sürecini başlattığı düşünülmektedir (moleküler taklit mekanizması). Oto-immün atak Schwann hücresine veya aksone karşı olup duysal, motor, otonomik periferik ve kranyal sinirleri kapsayabilmektedir. Bu nedenle GBS'nun bazı varyantlarından söz edilebilir:

Akut inflamatuvar demiyelinizan polinöropati (AIDP):

Günümüzde akut inflamatuvar polinöropati GBS ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. En sık rastlanan GBS formudur. Bu formda Schwann hücresi yüzeyindeki epitoplara bağlanan antikorların kompleman aktivasyonuna yol açtığı, bunun da demiyelinizasyon sürecini başlattığı kabul edilmektedir. Klinik tabloda saatler ya da günler içinde yerleşen ilerleyici kas zaafı ön plandadır. Kranyal sinir tutulumu eşlik edebilir, solunum kasları tutulabilir. Otonomik belirtiler olabilir. İlimli oranda sekonder akson kaybının eşlik ettiği demiyelinizan bir polinöropatidir.

Akut motor aksonal nöropati (AMAN):

İlk kez Çin'de ortaya çıktığı bildirilen, genellikle Campylobacter jejuni enfeksiyonunu takiben çocuk ve genç erişkinleri tutan bir GBS formudur. Otoimmün süreç, Ranvier nodlarında aksonal membranda yer alan gangliozid yapısındaki antijenlere bağlanan antikorların, kompleman aktivasyonu ile akson hasarına yol açmasıyla oluşmaktadır. IgG anti-GM1 antikorlarına GBS'nun bu formunda daha sık rastlanmaktadır. Duysal yakınma yoktur, tabloda alt ekstremitelerden başlayarak yukarı çıkan kas zaafı görülür. Kranyal sinir tutulumu olabilir. Elektromiyografide (EMG) motor aksonopati bulguları vardır.

Akut motor-duysal aksonal nöropati (AMSAN):

GBS'nun ağır bir formudur. İmmünolojik süreç AMAN'daki gibidir. Yine AMAN'da olduğu gibi, IgG anti-GM1 antikorlarına daha sık rastlanır. Klinik tablo hızla kötüleşir. Mekanik ventilasyona gerek duyulur. Prognoz oldukça kötüdür. Genellikle ölümlü sonlanır. Uzun sürede, sekelle iyileşen olgular bildirilmiştir. Elektrofizyolojik incelemelerde bazı sinirler uyarılamaz, motor ve duysal sinirlerin amplitüdüleri düşüktür.

Miller-Fisher Sendromu:

Klinik tablo genellikle oftalmopleji, ataksi, arefleksi semptom üçlüsünden oluşur. Anti-gangliozid antikorlardan IgG anti-GQ1b varlığı Miller-Fisher Sendromu'nda tanı koydurucu olabilir. Tanı açısından anti-gangliozid antikorlarıyla diğer GBS formları arasındaki ilişki buradaki kadar belirleyici değildir. EMG'de demiyelinizan özelliklerle birlikte akson tutulumuna ait bulgular da bulunur.

GBS'nun diğer klinik formları:

Oftalmoplejisiz pitoz, paraparezi, Miller-Fisher sendromuna faringo-serviko-brakiyal zaafın eklendiği klinik tablolar görülebilir. Günümüzde GBS ve benzeri sendromlarının tedavisinde plazmaferez ve intravenöz immunglobülin uygulanmaktadır. Söz konusu tedavilerin seçimi klinik tablodaki progresyona ve tablonun ciddiyetine göre yapılır.

Kronik inflamatuvar Demiyelinizan Polinöropati

Kronik inflamatuvar Demiyelinizan Polinöropati (CIDP), multifokal demiyelinizasyonla seyreden, immun kökenli olduğu düşünülen bir hastalıktır. GBS'na benzemesi, immunsupressif tedaviden yarar görmesi, bu polinöropatinin oto-immun natürde olduğunu telkin etmekle birlikte, bu yönde kesin veriler mevcut değildir. GBS'nun ortaya çıkma sürecinde sıklıkla görülen, geçirilmiş enfeksiyon, aşılama vb gibi durumların CIDP'de daha az görüldüğü gözlenmektedir. GBS olguları hastalık başlangıcından itibaren ilk 4 haftada progresyon gösterirken, CIDP de bu süre 8 haftaya uzayabilir, hatta bu süreyi aşabilir. Söz konusu iki hastalığı ayırmada, özellikle tekrarlayıcı GBS ile CIDP'yi ayırmada bu kriter göz önüne alınmalıdır.

Klinik tabloda genellikle proksimal ve distal, oldukça simetrik bir zaaf görülür. Duysal yakınmalar da (parestezi) sıktır, muayenede ayrıca refleks azalması, sıklıkla da kaybı görülür. Hastalık progressif veya remisyon - kötüleşme süreçleriyle seyreder. GBS'dan farklı olarak kranyal sinir tutulumu ve otonomik belirtiler daha nadirdir. Solunum yetersizliğine neden olan interkostal kas ve diyafram tutulması seyrekdir. BOS incelemesinde çoğunlukla albumino-sitolojik disosiyasyon görülür. Elektrofizyolojik incelemede demiyelinizan özellikler ön plandadır; distal latanslar uzamış, ileti hızları yavaşlamıştır, ileti bloklarına rastlanabilir. Sinir biyopsisinde de de-/remiyelinizasyon bulguları, akson kaybı ve bazen de Schwann hücre proliferasyonu görülebilir. Günümüzde geçerli olan bir görüşe göre, edinsel demiyelinizan nöropatiler herhangi bir etyolojik faktör kanıtlanmadığı sürece CIDP'nin bir formu olarak kabul edilmektedir.

Klinik ve elektrofizyolojik özelliklerine göre şu alt gruplar sıralanabilir:

- Motor ağırlıklı (duysal bulgular geri planda), simetrik, proksimal-distal nöropati
- Mülfokal motor nöropati (MMN)
- Mülfokal duysal nöropati
- Distal edinsel duysal-motor demiyelinizan nöropati (DADS)
- Mülfokal edinsel duysal-motor demiyelinizan nöropati (MADSAM-Lewis Sumner Sendromu)
- Sıralanan tüm CIDP formları immunoterapiye yanıt verirler.

Paraneoplastik Hastalıklar

Prof. Dr. Tülay KANSU

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.

Paraneoplastik Nörolojik sendromlar (PNNS) kanserin metastatik olmayan ve sinir sistemini etkileyen uzak komplikasyonlarıdır. Kanserli hastaların yaklaşık %1 - %0.01'inde görülmekte ve % 50 si kanser tanısı konmadan önce ortaya çıkmaktadır. Şimdiye kadar tanımlanmış olan nörolojik sendromlar Tablo 1'de sıralanmıştır.

Primer tümör ile etkilenen sinir sistemi yapısı arasında benzer antijenik özellikleri paylaşma sonucu gelişen bir otoimmün yanıt bu sendromların ortaya çıkmasından sorumlu tutulmaktadır. Sinir sistemi dışında bir tümör nöronal bir protein (antijen) yapmakta ve immün sistem bunu tanımamaktadır. Apoptotik tümör hücreleri dendritler tarafından fagosite edilip lenf noduna geçerek antijen spesifik CD4, CD8 ve B hücrelerini aktive etmektedirler. B hücreleri plazma hücrelerine dönüşerek tümör antijenlerine özgül antikörleri oluşturmaktadır. Antikörler ve/veya sitotoksik CD8+T hücreleri tümör büyümesini durdurarak, kan beyin bariyeri dışındaki sinir sistemi ile de reaksiyona girmektedir (örn: LEMS). Bazı durumlarda T hücreleri kan beyin bariyerini geçerek tümörle aynı antijeni taşıyan nöronları atake ederek santral sinir sisteminde belirtilere yol açmaktadır. PNNS ile birlikte tanımlanmış ve hastaların isimlerinin baş harfleri ile adlandırılan antinöronal antikörler Tablo 2'de özetlenmiştir.

PNNS ile birlikte olan ve antikörleri saptanan tümörlerin daha selim seyrettikleri, hatta primer tümörün regresyonuna neden oldukları bilinmektedir. Tedavide hedef, tümörü tedavi ederek antijen kaynağını yok etmek ve immün cevabı baskılamaktır. Bu amaçla immünsupresif ilaçlar ve plazmaferez kullanılmaktadır.

Tablo 1. Sinir sisteminin paraneoplastik sendromları

Beyin ve kranial sinirler	Arka kök ganglia
Limbik ensefalit	Sensori nöronopati
Beyin sapı ensefaliti	Periferik sinirler
Serebellar dejenerasyon	Otonom nöropati
Opsoklonus - myoklonus	Akut sensorimotor nöropati
Kore	Poliradikülopati (GBS)
Parkinsonizm	Brakial nörit
Vizüel sendromlar	Kronik sensorimotor nöropati
Kanser asosiyete retinopati (CAR)	Vaskülitik nöropati
Optik Nörit	Nöromiyotoni
Spinal kord	Kas-sinir kavşağı
Nekrotizan miyelopati	Lambert Eaton Myastenik sendrome (LEMS)
İnflamatuar miyelit	Myasthenia Gravis
Motor nöron hastalığı (ALS)	Kas
Subakut motor nöropati	Polimiyosit veya dermatomiyosit
Stiff-person sendromu	Nekrotizan miyopati
	Myotonia

KAYNAKLAR

- Bataller L, Dalmau J. Paraneoplastic neurologic syndromes. *Neurol Clin.* 2003 ; 21:221-47.
- Darnell RB, Posner JB. Mechanisms of Disease: Paraneoplastic syndromes involving the nervous system. *N Engl J Med* 2003; 349: 1543-1555.
- Darnell RB. Paraneoplastic Neurologic Disorders: Windows Into Neuronal Function and Tumor Immunity. *Arch Neurol* 2004;61 30-32.
- Lieberman FS, Schold SC. Distant effects of cancer on the nervous system. *Oncology* 2002 ;16:1539-48.
- Matthew LA, Darnell R. Paraneoplastic Neurological degenerations: Keys to tumor Immunity. *Nature* 2004; 4:36-43 Siva A. Paraneoplastik nörolojik sendromlar. *Aktüel Tıp Dergisi* 1999; 4 :587-94.

Tablo 2. Antinöronal antikörler, kanser tipi ve Paraneoplastik nörolojik sendromlar

Antikör	Tümör	PNNS
Anti Hu	KHAK nöroblastoma, prostat	Ensefalomyelit, sensori nöropati serebellar dejenerasyon, otonom disfonksiyon
Anti Yo	Over, meme, akciğer	Serebellar dejenerasyon
Anti Ri (Nova-1, Nova-2)	Meme, jinekolojik, akciğer, mesane	Ataksi, opsoklonus-myoklonus
Anti Tr	Hodgkin lenfoma	Serebellar dejenerasyon
Anti VGCC	KHAK	LEMS
Antiretinal (Recoverin)	KHAK, melanoma, jinekolojik	Karsinoma asosiyete retinopati (CAR), Melanoma asosiyete retinopati (MAR)
Anti amphishysin	Meme, KHAK	Stiff person, ensefalomyelit
Anti CRMP5	KHAK, timoma	Ensefalomyelit, serebellar dejenerasyon, kore, sensori nöropati
Anti PCA-2	KHAK	Ensefalomyelit, serebellar dejenerasyon, LEMS
Anti Ma 1	Akciğer, diğer	Beyin sapı ensefaliti, serebellar dejenerasyon
Anti Ma2 (anti-Ta)	Testis	Limbik ensefalit
ANNA-3	Akciğer	Sensori nöropati, ensefalomyelit
AntimGluR1	Hodgkin lenfoma	Serebellar dejenerasyon
Anti VGKC	Timoma, KHAK	Nöromiyotonia
Anti-MAG	Waldenström makroglobulinemi	Periferik nöropati

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri, LEMS: Lambert Eaton Miyastenik Sendrom

Vaskülitler

Yrd. Doç. Dr. Münire KILINÇ

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroloji AD.

Vaskülit, kan damarlarının inflamasyon ile beraber yapısal olarak hasarlanması ve genellikle vasküler nekrozu şeklinde tanımlanır. Kan damarlarının veya perivasküler alanların enfeksiyöz organizmalar tarafından direkt invazyonu, ilaçlar veya heterolog proteinlere karşı gelişen immünolojik yanıtlar, altta yatan otoimmün, enfeksiyöz veya neoplastik süreçler (örneğin ilaçla tetiklenen vaskülitler, SLE zemininde gelişen vaskülit, hepatit B enfeksiyonuna sekonder gelişen PAN veya paraneoplastik vaskülitler) sonucu veya tanımlanabilen bir hastalık olmaksızın immünolojik zeminde (örneğin Wegener granülomatözü, temporal arterit) gelişebilir. Sistemik vaskülitlerin insidansı yılda 3.86/100.000 vakadır.

Vasküler-immün etkileşim bir çok fizyolojik ve patolojik sürecin merkezinde yer alır. Endotelial hücreler ve lökositler üzerindeki bazı hücre yüzey molekülleri, lökositlerin kan damarlarına tutunmaları, yapışmaları ve damarın içine geçebilmelerini mümkün kılar. Normal olarak vasküler ve perivasküler inflamasyonun geçici doğası, hem proinflamatuvar sitokinler ve adhezyon moleküllerinin zamansal olarak sınırlı ekspresyonu hem de doku parenkimi ve dolaşımdan gelen anti-inflamatuar moleküllerin otostimulasyonu ile belirlenir. Ancak bir antijenin sürekli olarak varlığı, damar duvarının hasarlanması veya otoimmün hastalıklarda olduğu gibi immün regülasyon bozukluklarında inatçı bir inflamasyona neden olabilir. Vasküler duvardaki inflamasyon ile beraber bir çok sistemik ve lokal fizyolojik süreç de hastalık patogeneze katkıda bulunur. Lokal değişiklikler, koagülasyon ve vazomotor tonüs değişikliklerini içerir. Ayrıca santral sinir sistemi (SSS) inflamasyonu ile beraber, bölgesel kan akımını etkileyebilecek beyin sapı noradrenerjik ve trigeminovasküler yanıtlarında da aktivasyon olur. Bunun yanı sıra, hem intrakranial hem de sistemik proinflamatuvar sitokinler, hipotalamik-pitüiter-adrenal (HPA) aksı aktive ederek kortikotropin releasing hormon ve arjinin vazopressin hormonlarının erken salınımını aktive eder. HPA aksının aktive olması sonucunda kortizol salgı; bu da beyin, endokrin sistem, vasküler ve immün sistem üzerinde etkili olarak inflamasyonu azaltır. Ancak kortizolün uzamış stimülasyonu, vasküler yapı ve beyin gibi bir çok organda hasar gelişmesine de katkıda bulunur. İnflamatuar yanıtın adaptif veya maladaptif olması, henüz tanımlanmamış bir çok faktöre bağlıdır. İnflamasyonun boyutu, lokalizasyonu ve nedeni, bunun yanı sıra hedef damar sisteminin (mikrovasküler veya orta çaplı damarlar) boyutu kritiktir. Ayrıca pek çok çalışma inflamatuvar hastalıklara karşı genetik bir yatkınlığın olduğunu göstermiştir. Bazı çalışmalar bunu belirli molekül ve hormonların ekspresyon kolaylığı ile ilişkilendirmiştir. Hastalığın kronik seyri ve sonradan eklenen hastalıklar da inflamasyonun kontrolünde etkili olur. Örneğin hipokampüs ve singulat girus, HPA aksın düzenleyicileridir. Bu bölgeler eksitotoksik hasara duyarlı olduğu için bazı hastalıkların ileri evrelerinde HPA aksı üzerindeki normal kontrol bozulabilir. Serebral vasküler yapı SSS içeriğini korumaya yönelik olarak benzersiz özelliklere sahiptir. SSS damarlarının fizik karakteristikleri fonksiyonel olarak iki farklı sisteme bağlıdır: Kanbeyin bariyeri (sıkı bağlantı ve parenkimal vasküler yapının yüksek elektrik direnci) ve kan serebrospinal sıvı bariyeri (fenestre kapillerleri ve belirgin transport

sistemi ile koroid pleksus). Bir çok beyin hasarı tipi, diğer dokulara karşı doğal veya deneysel yollarla gelişen akut inflamatuvar yanıtın farklılık gösterir. Nötrofillerin hasar bölgesine hızlı göçü hemen hiç gerçekleşmez, monosit yanıtı da birkaç gün geç gelişir. Ancak meningesler, koroid pleksus ve ventriküler sistem, nötrofilleri toplar ve bazen bunu hasarın bir uzak etkisi şeklinde yapabilir. Bu, non-spesifik olarak gelişen meningeal reaksiyonu açıklamak için bir yol olabilir. Ayrıca damar duvarına lökosit adhezyonu ve parankime migrasyonu, SSS'inde diğer dokulara oranla daha azdır. Serebral endotel üzerinde adhezyon molekülleri yapısal olarak daha az eksprese edilir, serebral endotelial hücrelerin T lenfositlere antijen sunum yeteneği daha azdır ve SSS'inde potansiyel olarak inflamasyonu azaltacak anti-inflamatuar moleküller vardır. Çalışmalar serebral endotelial hücrelerde P selektin aracılı nötrofil adhezyon yollarından birinin serebral endotelial hücrelerde bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca SSS parenkiminde koroid pleksus ve meningeslerde, yerleşik doku makrofajları ve mikrogliya'nın diğer doku makrofajlarına göre daha hareketsiz ve downregüle olduğu görülmüştür. Yine bu, koroid pleksus, meningesler ve ventriküllerde SSS parenkimine göre inflamasyonun tetiklenmesinin neden daha hızlı olduğunu açıklamaya yardımcı olabilir. Lokal faktörlere ek olarak inflamasyon söz konusu olduğunda, serebrovasküler akım regülatörlerinin aktivasyonu daha belirgin olarak gerçekleşir. Hem santral noradrenerjik sistem hem de trigeminovasküler sistem serebrovasküler inflamasyona eşlik eder, inflamasyonun klinik semptomlarını artırır ve immün regülasyonda rol alır. Devamlı vasküler inflamasyonun geliştiği geniş bir hastalık grubu vardır. Kan damarlarının inflamasyonu ve sonuç olarak gelişen doku iskemisi ile karakterize olan vaskülit, hastalığın major bulgusu olabileceği gibi inflamatuvar reaksiyon ile ilişkili göreceli olarak daha minor bir bulgu da olabilir. Vaskülitler klinik manifestasyonları, etyolojileri, histolojik şekilleri ve immünopatogenik mekanizmaları açısından büyük farklılıklar gösterir. Nöroloji ile ilgili olarak sistemik vaskülitlerin nörolojik komplikasyonları, dev hücreli arterit, enfeksiyonlar, ilaçlar, maligne sekonder vaskülitler, Behçet hastalığı ve SSS vaskülitleri üzerinde duracağız. Poliarteritis nodosa (PAN) grubu sistemik nekrotizan vaskülitler. Bu grupta PAN, mikroskopik polianjitis, allerjik granülomatöz (Churg-Strauss sendromu), overlap sendrom ve mukokutanöz lend nodu sendrom (MLNS, Kawasaki sendromu) bulunur. Bu gruptaki hastalıkların en önemli özelliği küçük ve orta çaplı arterleri etkileyen nekrotizan bir arterit tablosu olmalarıdır.

PAN

PAN'daki lezyonlar tipik olarak etkilenen damarların üç tabakasının da polimorfonükleer hücrelerden (PMN) oluşan bir inflamatuvar infiltrat ile infiltrat olması ve beraberinde hyalin veya fibrinoid nekroz ile sıklıkla tromboz gelişmesidir. Lezyonlar arteriyel dallanma noktalarında oluşma eğilimindedir ve oluşan anevrizmalar 1 cm çapa kadar büyüyebilir. Lezyonlar kronikleştikçe lenfositler ve monositler ağırlık kazanır ve fibrozis ile belirgin endotelial proliferasyon görülür. PAN'da akciğer ve dalaktaki folliküler arterler dışındaki herhangi bir organ sistemi de etkilenebilir. Beyinde en belirgin değişiklik küçük meningeal arterler ve daha az oranda parenkimal damarlarda gerçekleşir. Periferik nörolojik tutulum genellikle kraniyal ve periferik sinirlerin tutulumuna bağlıdır. Nörolojik manifestasyonlar hastaların %50'sinde görülebilir. En sık görülen bulgu mononöritis multipleks tablosudur, genellikle hızlı gelişen fokal nöritik ağrı ve beraberinde sensorimotor defisit ile karakterizedir. Tipik olarak hastalığın erken bir bulgusu olarak ortaya çıkar ve tanı için

majör bir ip ucu oluşturur. Kraniyal nöropatiler (genellikle III ve VIII) görülebilir. SSS manifestasyonları vakaların %3-41'inde görülebilir ve iskemi, enfarkt veya kanamalar şeklinde olabilir. Fokal nörolojik defisitler, ensefalopati veya nöbetler gelişebilir. İskemik inme, erken dönemde vaskülit sonucu veya hastalığın remisyon döneminde daha önceki inflamasyon alanlarının ateromatöz hastalığı sonucu gelişebilir. PAN hastalarının %15 ila %79'unda simetrik polinöropati oluşabilir, kalanlarda ise mononöritis multipleks tablosu söz konusudur. Her iki grupta da ağrı ve progresif motor kayıp olur. Klinik olarak hastaların %80'inde sessiz kas tutulumu olabilir. ESR %70 vakada normal bulunabilir. Altta yatan en önemli etyolojik faktörler hepatit B, hepatit C (genellikle beraberinde esansiyel kriyoglobülinemi), okült neoplazi ve nadiren HIV enfeksiyonudur. PAN tablosu ayrıca aslında vaskülitik orijinli olan ancak genellikle sadece geçici bir disabiliteye yol açan, kendi kendini sınırlayan, lumbosakral radikülönöritten de ayrılmalıdır. 1930'lara kadar uzanan çalışmalar PAN ve diğer nekrozitan vaskülitlerin patogenezinde, dolaşan immün komplekslerin arteriyel depolanmasının yeri olduğunu göstermiştir. Nitekim hepatit B için yaygın bir açıklama yapılmadan önceki dönemlerde PAN vakalarının üçte birinin bu virüs nedeniyle geliştiği bilinmektedir. Ancak son 10 yılda daha karmaşık bir tablo gelişmiş; PAN'ı da içerecek şekilde vaskülitlerin bir kısmında antiendotelial hücre antikorlarının oluştuğuna dair bulgular elde edilmiştir. Ayrıca sinir biyopsi çalışmaları, sinir ve kasa sınırlı PAN'da hücre aracılı sitotoksik mekanizmaların etkili olduğunu düşündürerek şekilde T hücre infiltrasyonunun ön planda olduğunu göstermiştir. Tanı esas olarak karakteristik klinik tablonun tanınmasına dayanmaktadır. Major laboratuvar anormallikleri arasında ESR yüksekliği, anemi, lökositoz sayılabilir. Hepatit B ve C virüsleri, HIV, kriyoglobülinler ve ANCA rutin olarak bakılmalıdır. Santral sinir sistemi (SSS) hastalığının karakteristik radyolojik görünümü multipl, küçük, derin ve yüzeysel enfarktlar şeklindedir. Visseral anjiyografi sistemik ve SSS PAN'ın tanınmasında yardımcı olabilir. Pek çok durumda tedavi ile ilgili potansiyel morbidite nedeniyle doku biyopsisi gereklidir. En fazla bilgi sural veya yüzeysel peroneal sinir biyopsisinden elde edilebilir. Kas biyopsisi de değerli olabilir. PAN, kötüleşme iyileşmelerle seyreden kronik bir hastalıktır. Tedavi görmeyen hastalarda 5 yıllık yaşam %13 dolayındadır, ölüm %40-50 ilk 3 ay içerisinde olur. Hepatit B enfeksiyonu ile ilişkili PAN tablosunda 2 hafta süreyle 1 mg/kg/gün dozunda prednizon ve takiben interferon gamma-2b ile antiviral tedavi, ek olarak 1 yıl süreyle veya oluşursa eğer serokonversiyon olana kadar ribavirin ile tedavi önerilmektedir. Steroid tedavisinden sonra plazma değişimi bir seferde 60 mL/kg, haftada 3-4 kez, toplam 30 kez olacak şekilde önerilmektedir. Hepatit C ile ilişkili PAN tablosu da aynı şekilde tedavi edilebilir ancak burada plazmaferezin yararı konusunda daha az şey bilinmektedir. HIV ile ilişkili PAN da agresif antiviral tedavi gerektirir. İdyopatik PAN'da temel tedavi siklofosfamid kullanımıdır. Çoğu vakada bir yıl süreyle aylık iv pulsler (0.6 g/m², nötrofil sayısı 1500/mm altına inmeyecek şekilde) önerilmektedir. Bu şekilde uygulama oral günlük siklofosfamid uygulamasına göre daha az enfeksiyöz morbiditeye neden olduğu için oral günlük kullanımın ancak refrakter hastalar için kullanılması önerilmektedir. Mesane toksisitesini minimuma indirmek için mesna da kullanılmalıdır. İzole nöropati sistemik PAN'dan daha hafif bir seyir gösterdiği için bu hastaların çoğu sadece steroid ile izlenebilir.

Mikroskopik polianjitis (MPA)

MPA PAN'ın bir alt tipi olarak yeni tanımlanmıştır ancak klasik PAN'a göre daha sık görülür. PAN'a göre daha küçük çaplı damarları tutma

eğilimindedir, arteriyoller, kapillerler ve postkapiller venülleri tutar. Anjiyografiler tipik olarak normaldir, major organ enfarktları nadir görülür, glomerülonefrit ise tüm vakalarda vardır, pulmoner kanamalar da sık görülür. Hepatit B enfeksiyonuna ait bulgular genellikle bulunmaz. Vakaların %80'inde dolaşan ANCA'lar vardır ve bunlar genellikle p-ANCA oluşumuna neden olan myeloperoksidaz antikorlarıdır. Polinöropati vakaların sadece %10-20'sinde vardır. MPA'lu hastalarda akciğer ve böbrek yetmezlikleri nedeniyle yüksek oranda erken dönemde ölüm olabilmekte ve bu hastalar tedavi sonrası relapsa da daha yatkın olmaktadır.

Allerjik granülomatöz (AG)

AG veya daha sık kullanılan ismi ile Churg Strauss sendromu, pek çok açıdan PAN'a benzer ancak en önemli fark AG'da pulmoner tutulumun mutlaka var olmasıdır. AG, PAN'nın beşte biri sıklıkta görülür. PAN'a göre küçük damarlar daha fazla tutulur, PAN'da inflamatuvar infiltrat polimorfonükleer hücrelerden oluşurken burada eozinofiller hakimdir, patolojik süreç ilerlediğinde vasküler ve ekstrasvasküler granülomlar oluşur. Periferik nörolojik özellikler mononöritis multipleks ve polinöropatidir. SSS tutulum, enfarkt ve parenkimal veya subaraknoid kanamalar şeklindedir; fokal defisitler, ensefalopati ve nöbetler gelişebilir. Laboratuvar anormallikleri eozinofili (30000/mm³'e kadar), yüksek Ig E seviyeleri ve vakaların üçte ikisinde görülebilen p-ANCA pozitifliğidir. Ayırıcı tanıda enfeksiyöz akciğer hastalıkları (özellikle fungal olanlar), MPA, WG ve eozinofili ile karakterize değişik hastalıklar özellikle de idyopatik hipereozinofili sendromu bulunur. Tedavi seçeneği kortikosteroidler ve buna ek olarak aylık iv siklofosfamid kullanımıdır. Prognozu PAN gibidir.

Overlap sendromu

Sistemik vaskülit hastalarının yaklaşık %40'ı birbirinin içine giren bir tablo sergiler ve genellikle PAN, AG, hipersensitivite anjitis ve bazen WG, temporal arterit veya Takayasu arteriti'nin bazı klinik veya patolojik özelliklerini birarada gösterebilirler. Bu hastaların klinik seyirleri PAN'a benzer ve uzun süreli remisyon sağlanmasında siklofosfamid ile beraber prednizon başarılı olur.

Hipersensitivite anjitis

Hipersensitivite anjitis klinik olarak özellikle arteriyoller, kapillerler ve postkapiller venülleri etkileyen, hemen her zaman en tipik olarak palpable purpura şeklinde cilt lezyonları ile karakterize heterojen bir grup hastalıktan oluşur. İnflamatuvar infiltrat PMN veya mononükleer hücrelerden oluşabilir. Bazı hastalarda hipersensitivite anjitis PAN gibi agresif bir multisistem hastalığı şeklinde ilerler; yüksek fatalite hızı ile tedavisi de güçlükler gösterir; ancak çoğunlukla iyi prognozlu, kendi kendini sınırlayan bir tablodur.

İlaçla ilişkili vaskülitler

En sık görülen ilaçla ilişkili vaskülit, cilde sınırlı, makülopapüler veya veziküler döküntü, daha az oranda palpable purpura ile karakterizedir. İlacın kesilmesi ile hemen sönme eğilimindedir. Daha nadiren ateş, halsizlik, artraljiler, kalp, karaciğer ve böbrek tutulumu, eozinofili ile beraber sistemik bir vaskülit tablosu da gelişebilir. Bu vaskülitin altında yatan mekanizmanın bir ilaç veya metabolitlerinin immünojenik olan haptenler oluşturmak üzere proteinlere bağlanması olduğu düşünülmektedir. Bu proteinler, dolaşan (dolaşan antijen ve antikor immün komplekslerini oluşturacak şekilde) veya membranöz (antikor aracılı

sitotoksik reaksiyonu oluşturacak şekilde) olabilirler. İlaç ile ilişkili vaskülitlerde yaklaşık 100 ilaç suçlanmakta. Bu konuda penislinler ön sırada ancak listede başka antibiyotikler (sefalosporinler, florokinler ve aminoglikozidler), antitüberküloz, antiherpetik, antiretroviral ilaçlar, çoğu antikondülsanlar, bazı non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, beta blokerler, ACE inhibitörleri, bazı antiaritmikler ve nöroleptikler de bulunur. Tedavi, sorumlu ilacın mümkün olduğu kadar çabuk kesilmesi ve bir aya kadar 1 mg/kg/gün dozunda prednizon uygulanması şeklindedir.

Serum hastalığı

Serum hastalığı ateş, ürtiker, artralji ve sıklıkla ciddi lenfadenopati ile karakterize akut bir tablodur. Heterolog serum enjeksiyonunu takiben gelişebileceği gibi parenteral veya oral belirli bazı ilaçların özellikle beta laktamların, bazen sulfonamidler, streptomisin, tiourasil, fenilbutazon, aminosalisilik asit, hidantoin birleşikleri, streptokinaz, kolesistografik boyaların kullanılmasını takiben gelişebilir. Botulizm profilaksisi, gazlı gangren, yılan sokması için kullanılan heterolog serumlar, aynı zamanda antitimosit globulin ve botulinum toksini uygulaması sonrası gelişebilir. En sık görülen nörolojik lezyon brakial pleksus nöritidir, ancak radyal nörit, optik nörit, diğer mononöritisler ve kranial nöropatiler de görülebilir. GBS bildirilmiştir. BOS'da düşük oranda bir pleositoz olabilir, ancak SSS manifestasyonları nadirdir. Serum hastalığı genellikle kendi kendini sınırlayan bir hastalıktır.

Enfeksiyonlar

Enfeksiyöz ajanlar bakteriler, spiroketler, riketsiyalar, mikoplazma, lepra, malarya, parazitik enfeksiyonlar, viral enfeksiyonlar (hepatit B, C, EBV, sitomegalovirus, HIV, HTLV-1), özellikle kronikleştiklerinde vaskülit tablosuna yol açan immünolojik reaksiyonlara neden olabilirler. En sık görülen klinik manifestasyonlar döküntü ve glomerulonefrittir. Nörolojik manifestasyonlar nadir olmakla beraber gelişebilirler. Seröz otitis media, hepatit B ve HIV enfeksiyonları PAN gelişimine neden olabilir. Hepatit C ise, sinir ve kasa sınırlı vaskülitlerin en sık görülen nedenlerinden biri olan essansiyel miks kriyoglobulineminin en başta gelen nedenidir. Herpes zoster bazı SSS vaskülitlerine neden olmak açısından kuvvetle suçlanmaktadır. Bartonelle henselae (kedi tırmığı hastalığının etkeni) ensefalit ve serebral arterite neden olabilmektedir. Eritema nodozum leprosum, sıklıkla ağırlı nöritlerle seyreden fulminat sistemik bir hastalık ve lepromatöz lepralı hastaların %70'inde tedavinin ilk yılında görülebilen, muhtemelen de mikobakteriyel antijenlerin salınımına sekonder olarak gelişen bir tablodur. Eritema nodozum leprosum dışındaki enfeksiyona bağlı olarak gelişen vaskülitler, genellikle enfeksiyonun elimine edilmesine iyi yanıt verirler.

Malignensi

Vaskülitler bazı malignensiler özellikle de lenforetiküler sistem orijinli olanlarla ilişkili olarak ortaya çıkabilirler. Örneğin lösemi, B ve T hücreli lenfoma, Hodgkin hastalığı, myelofibrosis, miyelodisplastik sendromlar, malign histyositozis, multiple myeloma, plazmasitoma ve premalign durumlar örneğin anjiyoimmünoblastik lenfadenopati ile görülebilirler. Tipik olarak bu durumlarda gelişen vaskülitler, lökositoklastik vaskülit şeklindedir ve cilde sınırlı kalır, ancak AG, WG veya PAN gelişimi de bildirilmiştir. Vaskülit, neoplazm manifest hale gelmeden önce de gelişebilir.

Bağ doku hastalıkları

Bağ doku hastalıkları sonucu oluşan vaskülitler, en sık SLE ve RA'de bildirilmiştir ancak Sjögren sendromu, çocukluk çağı dermatomyoziti, skleroderma, miks bağ doku hastalığı, Behçet hastalığı ve relapsing polikondrit sonrasında da gelişebilir. Tipik olarak birkaç organa sınırlı, yavaş seyreden bir inflamasyon şeklindedir ancak jeneralize ve fulminan bir seyir de gösterebilir. Ülseratif kolit, çöliak hastalığı, retroperitoneal fibrozis, primer biliyer siroz ve Goodpasture sendromu ile ilişkili olarak da vaskülitik bir süreç gelişebileceği bildirilmiştir.

Henoch Schönlein Purpurası

Tablo trombositopenik olmayan bir purpura, artralji ve karın ağrısı triadı ile karakterizedir. Ateş, halsizlik ve ödem de sık görülür, nefrit vakaların %40'ında gelişir. Hastalık en çok erken çocukluk çaığında görülür ancak erişkinlerde de gelişebilir. Altta yatan vaskülit lökositoklastiktir. En sık görülen nörolojik anormallik baş ağrısıdır ancak bir çok hastada vaskülit ile ilişkili intraserebral kanama veya MR ile belirlenmiş serebral iskemik lezyonlar gelişebildiği de bildirilmiştir. Fokal ödeme bağlı olarak tuzak nöropatileri gelişebilir. Tanı genellikle klinik bulgulara dayanır. Serumda yüksek IgA düzeyi, damar duvarı veya böbrekte IgA depolanmasının gösterilmesi tanıyı destekler. Ayırıcı tanıda SLE, esansiyel miks kriyoglobulinemi, meningokoksemi, trombotik trombositopenik purpura, DIC, enfeksiyöz endokardit, riketsiyal hastalıklar ve Waldenström hiperglobulinemik purpurası düşünülmelidir. Erişkinde hastalık o kadar benign seyretmeyen ve kendini kenidini sınırlayıcı olmayan diğer hipersensitivite anjitislerinden ayrılmalıdır. Henoch Schönlein Purpurası genellikle bir aylık bir seyir gösterir, ancak rekürrensler sıktır. Tedavide genellikle kısa süreli kortikosteroid kürleri yeterli olur.

Kriyoglobulinemi

Kriyoglobulinler 37°C altında, geri dönüşlü olarak çöken serum proteinleridir. Esas olarak immunglobulinlerden oluşurlar ancak az miktarda kompleman komponentleri, B-lipoprotein ve değişik antijenik protein grupları da bulundurulabilirler. Vakaların çoğunda kriyoglobulinler altta yatan hastalıktan daha fazla oranda patolojiye neden olmazlar. Dört tip patolojik lezyon tanımlanmıştır:

- 1) Tüm vücutta olabilecek küçük ve büyük çaplı damarların tıkanması,
- 2) küçük arter ve arteriyollerin bant trombozu,
- 3) entoteliyal şişme, proliferasyon ve bazal membranda kalınlaşma,
- 4) lökositoklastik vaskülit.

Klinik manifestasyonlar kriyoglobulinin tipi ile ilişkilidir. Purpura, artiküler ve nörolojik bulgular, böbrek, karaciğer tutulumu, soğuğa karşı duyarlılık, Raynaud fenomeni, akrosiyanoz, arteriyel trombozlar, gingival kanama, epistaksis, hiperviskozite sendromu, sağırılık, vertigo, görme bozuklukları görülebilir. En sık görülen nörolojik manifestasyonlar esas olarak essansiyel miks kriyoglobulinemi (EMC) ile ilişkilidir. EMC'li vakaların çoğunda tablonun hepatit C virüs enfeksiyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Vakaların %57'sinde vaskülitik bir sensorimotor polinöropati görülebilir. Nöropati tipik olarak rahatsız edici, batan tarzda bir parestezi veya asimetrik ancak esas olarak distal yayılımı olan yanmalar şeklindedir. Motor tutulum genellikle intrinsik ayak kaslarında erime ile sınırlıdır, bacak ve intrinsik el kaslarında akut veya kronik denervasyon bulguları da olabilir. Bazı hastalarda sensorimotor mononöritis multipleks gelişebilir. Nöropati ilk bulgu olabilir ve cilt lezyonları olmaksızın kronik bir hastalık olarak prezente olabilir. Bu nedenle kriyoglobulinler ve hepatit C,

mononöritis multipleks veya karakteristik bir nöropati tablosu ile gelen her hastada bakılmalıdır. Lenfoproliferatif hastalıklara sekonder olarak gelişen kriyoglobulinemi, genellikle asemptomatik seyrederek ve altta yatan hastalığın tedavisiyle yanıt verir. Plazmaferezin yararı olabilir. EMC'de tedavi seçeneği hepatit C'ye karşı antiviral tedaviyi içerir. Progresif nörolojik disabilitesi olan hastalarda sitotoksik tedavi veya kortikosteroid tedavisi gerekebilir.

Wegener Granülomatözü (WG)

WG'ü üst ve alt solunum yollarının granülomatöz lezyonları, fokal segmental glomerülofrit ve disemine nekrotizan vaskülit triadı ile karakterize sistemik bir hastalıktır. Çoğu hasta üst solunum yollarına ait semptom ve bulgularla başvurur ve çoğunda bazen subklinik de olabilen alt solunum yolları tutulumuna ait bulgular saptanır. Bu evre, başlangıç evresi veya sınırlı hastalık olarak tanımlanır. Ortalama 5 aylık bir süreden sonra hastalığın, küçük arteriyoller, kapillerler ve postkapiller venülleri daha çok etkileyen bir sistemik nekrotizan vaskülit ve hızla böbrek yetmezliğine götüren kresentik glomerülofrit ile karakterize sistemik fazı başlar. Nörolojik tutulum hastalığın herhangi bir evresinde olabilir. Paranazal ve para-aural dokuların granülomatöz süreç tarafından direkt invazyonu, granülomatöz sürecin SSS içerisinde havayolları ile komşuluğu olmayan bölgelere metastazı ve nekrotizan vaskülit, nörolojik bulguların ortaya çıkmasına yol açar. Orbita ve temporal kemiğin direkt invazyonu, orbital psödötümör gelişimine; labirent tutulumu veya yedi ve sekizinci sinirlerin destrüksiyonu sağırılığa neden olabilir. Ancak kraniyal sinir paralizilerinin çoğu ve pitüter hasarı, daha çok metastatik hastalığa bağlı granülomatöz menenjitte sekonder olarak gelişir. Bu pakimeningit, serebral konveksite veya falks ve tentorium boyunca yayılabilir ve nöbetler, fokal nörolojik defisitlerle ilişkili serebrit tablosuna neden olabilir. Spinal kanal da tutulabilir ve myelopati gelişebilir. Periferik nöropati, PAN'da olduğu gibi karakteristik olarak mononöritis multipleks şeklindedir ve gelişimi için en olası mekanizma vaskülitir. Vaskülit yine iskemik inme ve nadiren gelişebilen intraserebral veya subaraknoid kanamalar için de olası bir açıklama sunmaktadır. Hastalığın etyolojisi halen bilinmemektedir. Ancak bazı gözlemler araya giren enfeksiyonlarla beraber ANCA'nın patogeneze sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Önerilen mekanizma, enfeksiyonların IL 1, 8 ve TNF- α gibi sitokinlerin üretimini artırması, bunların nötrofillerin adhezyon molekülü ekspresyonunu artırması ve bunun sonucu nötrofillerin vasküler endotele yapışması, ANCA için hedef oluşturan proteinler ekspresyonuna yol açmaları şeklindedir. Dolaşan ANCA'lar bu proteinlere bağlanarak nötrofillerin degranülasyonuna, serbest oksijen radikallerinin oluşmasına ve endotel hasarına yol açar. ANCA'ların varlığı altta yatan spesifik hastalıktan bağımsız olarak HLA antijeni DQB*0301 ile kuvvetle ilişkilidir. Bu mekanizma aracılığıyla WG'unda enfeksiyonlar, hastalık aktivitesini potansiyalize edebilir. başlangıç evresinin uzun olması nedeniyle geniş bir ayırıcı tanı akılda tutulmalıdır, relapsing polikondrit, letal orta hat granülomu, sistemik lenfomatoid granülomatöz, sarkoidoz, eozinofilik pnömoni, tüberküloz, fungal hastalıklar, sifilis, rinosklerom ve lepra gibi. Rutin laboratuvar anormallikleri (anemi, lökositoz, trombositoz, düşük titrede RF) non-spesifiktir. En çok yardımcı olan serolojik test, c-ANCA'dır (serin proteazlar ile ilişkili antikor, proteinaz-3) %98 spesifiktir ve aktif jeneralize WG'da sensitivitesi %96'dır. Hastalığın başlangıç evrelerinde ve inaktif dönemde sensitivite %65'e düşer. Tersine antiperinökleer p-ANCA (esas olarak myeloperoksidaza karşı olan antikorlarla ilişkili) tipik olarak MPA ve AG ile ilişkilidir. Doku tanısı (akciğer, böbrek veya sural sinir biyopsisi) da genellikle gerekir. Tedavi edilmeyen WG vakalarında 2 yıllık

ölüm hızı %93'dür. Optimal tedavi günlük iv veya oral siklofosfamid kullanımıdır. Bir yıllık stabil bir remisyon sağlanana kadar tedaviye devam edilmelidir. Genellikle günlük steroid kullanımı da ilk 6-12 ay boyunca gerekir. MTX daha hafif seyirli vakalarda remisyon indüksiyonu veya remisyon idamesinde kullanılabilir. Siklofosfamid rejiminde ek olarak TMP-SMX kullanımının da relaps oranını azalttığı belirtilmektedir.

Dev hücreli arteritler

İki major dev hücreli arterit tablosu vardır: Hemen tamamen benzer histopatolojilere sahip bu tablolar yaş spektrumunun tamamen iki farklı ucundaki ve farklı etnik gruptaki hastaları etkiler.

Temporal arterit (TA)

Dev hücreli arterit (temporal arterit) en sık görülen inflamatuvar vaskülopatidir, daha çok orta ve büyük çaplı arterleri etkiler, özellikle de aortadan dallananları. Hastalığın sistemik yapısı, proksimal kaslarda ağrı ve sertlik ile karakterize polimyalji romatika ile yakın ilişkisinden de anlaşılabilir. Klinik manifestasyonlar hastalık tarafından sıklıkla tutulan arterlerle ilişkilidir; oftalmik ve posteriyör siliyer arterler, eksternal karotid arter ve dalları, özellikle superfisiyal temporal arterler tutulur; oksipital, fasiyal ve internal maksiller arter de tutulabilir. Ancak hem klinik hem de otopsi çalışmaları aslında tüm vücutta büyük çaplı arterlerde yama tarzı bir tutulum olduğunu; özellikle aorta, iliak, femoral, subklaviyen ve karotid arterde tutulum olduğunu göstermiştir. Patolojik süreç internal elastik laminada (IEL) yoğunlaşır. Başlangıçtaki inflamasyon mikst bir inflamatuvar infiltrat şeklindedir, zamanla granülomatöz olur ve yabancı veya Langhans' tipi dev hücrelerle ilişkilidir. Sonuç olarak IEL fragmente olur, media yoğun bağ doku ile yer değiştirir ve masif intimal proliferasyon, beraberinde arteriyel stenoz veya obliterasyon gelişir. İnsidansı 50-59 yaş arasında 6.6/100000/yıl, 80 yaş üzerinde ise 70/100000/yıl'dır. 50 yaş altında nadir görülür. İskandinav ırkından olan insanlarda daha sık görülür. Nörolojik manifestasyonlar nadirdir. En korkulan komplikasyonu posterior siliyer damarların etkilenmesi sonucu gelişen iskemik optik nöropatiye sekonder körlüktür. İlk başlarda yapılan serilerde oran %50 lere iken son yıllarda yapılan taramalarda %1'in altına indiği görülmüştür. Tüm spektrumu ile nörolojik manifestasyonlar, sadece üçüncü dünya ülkelerinden ve ileri evre hastaları içeren büyük vaka raporlarında bildirilmiştir. Tanı, esas olarak ileri yaşta hastalarda yüksek düzeyde şüpheli olmak ve değişik klinik tabloları tanıyabilmekle konabilir. En belirgin laboratuvar anormalliyi normokromik, normositer anemi, hafif karaciğer transaminaz ve alkalik fosfataz yüksekliği ve yüksek sedimantasyon (ESR) değerleridir (sıklıkla 100 mm/saat'ten uzun), ancak normal ESR'li hastalar da bildirilmiştir. TA'deki baş ağrısı devamlı olma eğilimindedir ve genellikle tek taraflıdır. Bu nedenle ayırıcı tanıda kronik günlük baş ağrısı, pretrigeminal sendrom, servikal spondilozla ilişkili baş boyun ağrısı, kafa kaidesine kanser metastazı ve vasküler diseksiyon da yer almalıdır. Temporal arter biyopsisi %70 sensitivite taşır. Bu nedenle klasik presentasyonla gelen hastalarda (baş ağrısı, çene klaudivasyonu, iskemik optik nörit, sistemik semptomlar, polimyalji romatika ve yüksek ESR) ampirik olarak tedavi başlamak ve temporal arter biyopsisini daha düşük klinik olasılıklı durumlara saklamak temkinli bir yaklaşım olabilir. Yine de kortikosteroid rejiminin toksisitesinin fazla olması nedeniyle temporal arterit ile ileri yaşlarda görülebilecek ve daha düşük dozlarda prednizon veya alternatif tedavilere yanıt verebilecek inflamatuvar hastalıkların ayırımının yapılması önemlidir. Tanı için alternatif bir metod renkli dopler USG olabilir. Temporal arter USG'sinde arteriyel lümenin

etrafında vaskülitte bağlı, arteriyel duvardaki ödeme sekonder olarak geliştiği düşünülen bir halonun izlenebildiği belirtilmektedir. TA kortikosteroid tedavisine çok duyarlıdır bu nedenle hızlı bir yanıt da tanıyı destekleyici bir bulgu olarak alınabilir. Biyopsi, steroid tedavisinin yan etkilerinin yüksek oranda morbidite yaratabileceği hastalar için saklanmalıdır. Tedavide, 40 mg/gün prednizon hemen başlanmalıdır. Bir ay sonra doz ilk ay %50, daha sonra 1 mg/ay'dan daha hızlı olmayacak şekilde düşürülmelidir. Bu rejime rağmen geç relapslar olabilir. Steroid kullanımına sakınca oluşturan bir durumda azatiyopurin kullanılabilir.

Takayasu arteriti

Klinik özellikler sistemik inflamatuvar hastalık ve aortadan çıkan proksimal damarlar ve aortayı ilgilendiren postinflamatuvar stenozu ile ilişkilidir. Bir çok fokal manifestasyon son organ hipoperfüzyonuna bağlıdır, çünkü stenozu neden olan inflamatuvar süreç, kollateral dolaşımın gelişmesine engel olur ve örneğin renal arter stenozu sonucu sistemik HT; total serebral kan akımında karotid ve vertebral arterlerdeki ileri stenozu bağlı ciddi azalma, buna bağlı senkop ve presenkop gelişebilir. Etiyoloji ve patogenez bilinmemektedir. Hastalık Uzak Doğu'da yaygındır, 1-50 yaş arası gelişebilir, hastaların %75'inde ilk semptomlar 11-30 yaş arası bağlar. Hastaların %80 veya daha fazlası kadındır. Klinik seyir sistemik faz ve obliteratif faz olarak ayrılır. Sistemik fazda ateşi, gece terlemeleri, halsizlik, artraljiler, yaygın ağrılar, anoreksi ve kilo kaybı vardır. Obliteratif fazda klinik manifestasyonlar inflamatuvar lezyonların yayılımına bağlıdır. Nörolojik özellikler jeneralize serebral hipoperfüzyonu yansıtır. Sık olan laboratuvar anormallikleri normokrom normositer anemi, orta seviyede bir lökositoz, yüksek ESR ve hiper gamaglobülinemidir. Aort arteriyografisi tanının kesinleşmesi için gereklidir. Arteriyel değişiklikler karakteristiktir ve uzun stenotik segmentler, poststenotik dilatasyon, anevrizma oluşumu, oklüzyon ve kollateral dolaşım gözlenebilir. MR, MRA ve USG takipte yardımcı olabilir. Arteriyel biyopsi erken atheromatöz hastalığı dışlamak için gerekebilir. Günümüzdeki tedavi imkanları ile hastalık nadiren fatal seyretmektedir. Optimal tedavi kesin değildir. NIH'in halihazırda önerdiği protokol 1 mg/kg/gün 3 ay süreyle prednizon kullanımı ardından gün aşırı kullanım şeklindedir. Bu, remisyonu sağlamakta başarısız kalırsa siklofosamid, azatiyopurine veya MTX denenebilir. Hastalık çok uzun, relaps ve remisyonlarla seyreden bir seyre sahiptir. Cerrahi tedavi semptomatik stenoz durumunda önerilebilir ancak günümüzde cerrahinin hastalık remisyona girene kadar geciktirilmesi önerilmektedir. Serebrovasküler cerrahi konusunda oldukça az görüş birliği vardır. Karotid arter bypas cerrahisi sadece refraktör senkop, presenkop ve hemodinamik oküler iskemiye bağlı progresif vizüel semptomlar söz konusu olduğunda önerilmektedir.

Behçet hastalığı

Behçet hastalığı idiyopatik, tekrarlayıcı oral, genital aftlar ve üveit ile karakterize, bir çok sistemi etkileyen, inflamatuvar bir hastalıktır. Artrit, tromboflebit ve başka nörolojik anormallikler gibi bir çok inflamatuvar bulgu da ortaya çıkabilir. Önde gelen histopatoloji, küçük ve orta çaplı arterleri etkileyen bir vaskülit tablosudur. Tanı, klinik bulgulara dayanır. İnsan lökosit antijeni ile ilişkisi ve Akdeniz ile Japon popülasyonunda daha sık görülmesi genetik yatkınlığın göstergeleridir. Nörolojik anormallikler hastaların %10 ila 40'ında görülür. Son çalışmalar klinik ve nöroradyografik bulguların korelasyonu üzerinde durmaktadır. Seri olarak tetkik edilen hastalarda T2 kesitlerde beyin sapı, periventriküler beyaz cevher ve bazal ganglionlarda ortalama 5 lezyon olduğu; lezyonların

çoğunun transiyent olduğu, asemptomatik hastalarda bile yeni lezyonların geliştiği gözlenmiştir.

SSS'nin izzole anjitisi (PACNS)

SSS'inde idiyopatik vaskülitler nadiren gelişebilir. Bunlar arasında en sık görülen ve en iyi tanımlananı izole SSS anjitisi'dir. Baş ağrısı ve ensefalopati tipik özelliklerdir, ancak inme, kranial nöropatiler ve myelopati de gelişebilir. Hastalığın erken evrelerinde granülomlar olmadığı veya nadiren geliştiği için hastalık artık granülomatöz anjitis olarak tanımlanmamaktadır. Primer anjititis de aslında olayın altında bir neden olduğu için aslında çok uygun bir tanım değil. Bu konuda yapılan histolojik çalışmaların sayısının giderek artmasına karşın ilerleme, dikkatli bir şekilde dokümente edilmiş az sayıda vakadan nadiren doku elde edilebilmesi nedeniyle yavaş olmaktadır. Histolojik olarak hem arter hem de venler etkilenir. Beyin ve kord küçük ve orta çaplı leptomeningeal damarları, altta kalan kortikal ve subkortikal alanlarda kalanlara göre daha fazla etkilenir ancak aslında SSS'nin bütün bölümleri etkilenebilir. PAN'nin tersine dallanam bölgelerine karşı bir yatkınlık yoktur ve anevrizma oluşumu da nadirdir. Damar duvarının tüm kısımları çevre adventisyası da dahil olmak üzere infalma olabilir ancak media ve intima daha az etkilenir. Bu da inflamatuvar yanıtın hematojen olarak yayılmasından ziyade damar dışından, intrakranial dokudan başladığını düşündürmektedir. PACNS genellikle segmentaldir, damarın sadece küçük bölgelerini etkiler. Farklı histolojik ve klinik sendromları açıklamak üzere enfeksiyöz, otoimmün, immünolojik ve toksik değişik etyolojiler öne sürülmüştür. Vasküler endotel, teorilerin çoğunda merkezdedir. PACNS'de vasküler lezyonların gelişiminden daha çok hücre aracılı süreçlerin sorumlu olduğu düşünülmekte, immün kompleks aracılı veya antikor aracılı vasküler hasar olduğuna dair bir veri bulunmamaktadır. Patognomonik klinik veya serolojik, radyolojik bulgu olmadığından tanı sıklıkla klinik temellere ve altta yatan olası bir bağ doku, enfeksiyon veya malignensi gibi durumun ekarte edilmesine dayanmaktadır. Anjiyografi vakaların ancak %35'inde anormal bulunmakta, biyopsisi pozitif vakalarda ise %40 oranında normal bulunabilmektedir. Kesin tanı için biyopsi gerekli; ancak parenkim ve leptomeningslerden alınan biyospinin de spesifitesi %87 dolayındadır. Ancak başka tanıların ekarte edilmesi açısından da yardımcı olacağından önemli. Tedavide steroid (1 mg/kg/gün prednizon) ve sitotoksik ajanlarla (1.5 -2.5 mg/kg/gün siklofosamid) kombine tedavide önerilmekte. Gün aşırı kullanım nadiren yeterli olduğundan günlük steroid kullanımı önerilmekte. Optimum tedavi süresi bilinmemekle beraber MR, LP ve hatta anjiyografi tekrarları ile hastalığın monitorize edilmesi, hasta bir yıl asemptomatik olana kadar devam etmesi (ancak bunu sağlamak 3-4 yıl da sürebilir) önerilmektedir. Bunda başarılı olunursa prednizon ve siklofosamidin 3-6 ay içerisinde azaltılarak kesilebileceği belirtilmektedir.

4 Nisan 2004

OTURUM I

09.00-10.30

Oturum Başkanı

Dr. Giancarlo COMI

09.45-10.25

Neuroprotection in Multiple Sclerosis: The Role Of Neural Stem Cells

Stefano PLUCHINO
Gianvito MARTINO

Neuroimmunology Unit, Dept. of Neuroscience,
San Raffaele Hospital, via Olgettina 58, 20132
Milan, Italy

Widespread demyelination and axonal loss are the pathological hallmarks of multiple sclerosis (MS). Although spontaneous remyelination occurs in the central nervous system (CNS) of MS patients, this process is not robust enough to promote a functional and stable recovery of the myelin architecture. The development of cell-based therapies, aimed at promoting multifocal remyelination, is therefore foreseen. Several experimental cell-based strategies aimed at replacing damaged myelin-forming cells have been developed in the last few years. However, most of these therapeutic approaches although consistently able to form new myelin sheaths at the transplantation site are unfeasible owing to the multifocality of the demyelinating process in MS patients and the inability to grow and produce large numbers of differentiated myelin-forming cells in vitro. Stem cell-based therapies, partially overcoming these limitations, have been recently proposed. We transplanted intracerebroventricularly (i.c.) and intravenously (i.v.) syngenic adult neural precursor cells (aNPCs) into an elective animal model of MS, i.e. experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). Significant numbers of transplanted cells were found in close proximity to CNS areas of tissue damage, where they differentiated into mature neural cells. Within these areas, the number of oligodendrocyte progenitors was significantly increased, 13-20% being derived from transplanted aNPCs and actively remyelinating injured axons. Furthermore, significant reduction of reactive astrocytosis as well as of the extent of demyelination and axonal loss were observed in transplanted mice. Most importantly, most of aNPC-treated mice recovered completely from EAE-related clinical deficits, the amelioration being accompanied by functional neurophysiological improvement of myelin conduction velocities. Thus, intrathecal and systemic injection of syngenic aNPCs promoted multifocal remyelination and functional/neurophysiological recovery in a chronic model of MS.

OTURUM II

11.00-12.30

Oturum Başkanı

Dr. Rana KARABUDAK

11.00-11.30

Neuroimmuno Modulation in MS

Dr. Anthony REDER

Neurology MC-2030, S 229
The University of Chicago

After 15 years of experience with interferon-beta, where are we? In 1988, the Cyclosporine A trial had just ended. There was a modest benefit in MS, but it damaged kidneys. Cyclophosphamide plus ACTH was effective in Boston, but not in other areas of North America or the world. Azathioprine had slight benefit in relapsing-progressive MS. High dose steroids were used for acute attacks of MS, but had no long-term benefit. A small study with interferon dose ranging up to 16 Million Units of IFN-1b (Betaseron) every other day showed a dose-dependent reduction in attack rate. IFN-1b was first marketed in 1993 after it demonstrated fewer MRI lesions, fewer attacks, and slowing of progression in MS. Since then, IFN-1a (Avonex and Rebif), Copaxone, and Novantrone have been approved. All of these drugs reduce the attack rate (by ~33%), and tend to slow progression of early MS. All reduce MRI lesions, although weekly Avonex does not work as quickly. Copaxone is less potent in reducing gadolinium+ MRI lesions, because it has a different mechanism of action. None of them is effective in later, progressive forms of MS. How do these drugs work? Suspected mechanisms include-IFN-b-rapidly closes the blood-brain-barrier, reduces IFN-g induction of MHC molecules, reduces costimulatory molecule expression on B cells, induces apoptosis of activated cells, and improves the weak function of suppressor cells. Copaxone-causes a shift from Th1 to Th2 in some patients. It binds strongly to MCH molecules, possibly interfering with "bad" antigens such as myelin proteins, or possibly causing death or tolerance of the T cells. Copaxone inhibits EAE immediately, different from MS. Chemotherapy includes mitoxantrone/Novantrone as well as azathioprine, cyclophosphamide, methotrexate, and Cladribine. It suppresses the immune system. Surprisingly, chemotherapy is not very effective in an "inflammatory" disease. Autologous stem cells/bone marrow transplants have minimal effects in later phases of MS. Mortality is 5%, expense is high, but trials in earlier MS are contemplated. MBP-like peptides can bind to the T cell receptor and delete the reactive T cells. In small studies this reduced or triggered MS lesions. Vaccination of humans with MBP caused EAE in the early 1980's. Trials with anti-TCR peptides are in progress. This type of treatment is very effective in EAE, suggesting that EAE and MS are different. Antegren-reduces attacks by 50% and MRI lesions by 90%, making it more effective than IFN-b. A phase III trial is in the final year. This antibody binds VLA-4 and blocks adhesion of

memory T cells to brain endothelial cells, making it the only MS drug with a clear mechanism of action.

Issues in therapy:

What are we treating?

MS is an inflammatory, demyelinating, neurodegenerative disease. However, 1) MS is inflammatory at the beginning and more neurodegenerative later on, 2) Lucchinetti, Brück, and Lassmann find 4 patterns of brain pathology with different degrees of inflammation, different types of inflammation, and different rate of oligodendroglial death, and 3) the pathology varies in different parts of the world.

Should we treat early?

Axonal loss is far higher in the first year of symptoms than at any other time. With definite, active MS, treatment should be started.

Should we treat clinically isolated symptoms?

If there are multiple old and new lesions on MRIyes.

If the MRI shows lesions of only one agetherapy is debatable. If the drug is given to someone with post-infectious encephalomyelitis, therapy will appear to have worked.

Why do IFNs and Copaxone have different effects on the blood-brain-barrier (BBB)?

Gd+ lesions are essentially gone within days of starting IFN-b therapy. There may be a direct effect of IFNs on endothelial cells (reduction of adhesion molecules, release of soluble adhesion molecules, or less pinocytosis by activated endothelial cells). Activating feedback between T cells and endothelial cells may also be blocked. Copaxone does not directly affect the BBB, but it changes the balance of Th1 and Th2 cells. Again this may reduce brain inflammation and endothelial cell activation through similar mechanisms. The reduction in Gd enhancement with Copaxone is approximately the same as the reduction in relapses.

Do neutralizing antibodies (NABs) matter?

NABs block IFN induction of MxA protein in serum. Groups of patients that develop NABs do worse, especially on MRI. This seems clear-cut. However, Nabs usually go away after 1-2 years, there is little effect on relapse rate, and even suggestions that NAb+ patients have slower progression. Moreover, the subgroup that develops NAB's might have had a different immune system from the beginning, and this subgroup was destined to do worse, regardless of NAB status.

Why are IFNs and Copaxone less effective in progressive MS?

The disease evolves, and is be less inflammatory and more degenerative with time. The immune system changes, and is less responsive to steroids and less dependent on costimulation, almost becoming leukemic. The brain lesions also change as the macrophage/T cell ratio increases. IFN-b induces IL-10 in activated T cells, but it lowers the amount of IL-10 made by macrophages. Since IL-10 inhibits Th1 immunity, lower IL-10 in MS might be detrimental.

Are any of these drugs neuroprotective?

Copaxone, injected in Freund's adjuvant, induces T cells that make neurotrophic factors. Regular Copaxone injections shrink T1 MRI "black holes". However, a 3-year trial in primary progressive MS failed. IFN-b prevents the black holes from appearing. It also induces leukemia inhibitory factor (LIF) and nerve growth factor (NGF); both are neurotrophic factors. Other neurotrophic factors have not been evaluated.

A case:

A 28 year-old woman develops loss of central vision in her left eye over several days, associated with retro-orbital pain on eye movement. Spinal

tap shows one oligoclonal band, MRI shows one small lesion in the centrum semiovale. Treat or repeat MRI in several months? She starts taking evening primrose oil and yoga, and returns 5 years later with mild tingling in a "band" around her chest. MRI shows one new, but non-enhancing, periventricular lesion. She takes more evening primrose oil, has become a yoga instructor, and adds Vitamin D. She returns 6 months later with an internuclear ophthalmoplegia, fatigue, and trouble climbing stairs because of iliopsoas weakness. She starts IFN-b and has no attacks for 1 year. She then has arm weakness for 2 weeks, followed by ataxia of the other arm and fatigue one month later. NAB titers are sent. She returns 12 months later with bladder urgency, cold purple feet, slowly worsening memory problems, and progressively spastic gait. What to do?

11.30-12.00

Multiple Skleroz'da Mitoxantrone Tedavisinin Değerlendirilmesi

Prof. Dr. Rana KARABUDAK

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Nöroloji AD. Nöroimmunoloji Ünitesi

Multiple Skleroz klinik gidiş, immüno-patolojik ve MRI özellikleri açısından çok farklı alt-gruplara sahiptir. En sık karşılaştığımız alt-grubu RRMS olup, erken dönemde başlangıç özellikleri açısından hastaların yaklaşık %85'i bu gruba girmektedir. İlk tanıdan ortalama bir on yıl sonrasında bu grup hastaların % 50'si ikincil ilerleyici tip SPMS formuna dönüşmektedir. Son on yıl içinde erken dönem RRMS hastalarının tedavisinde hastalığın doğal seyrini kısmen olumlu yönde etkileyen immun-modulator ilaçları belirli endikasyonlarla kullanılmaktadır. Ancak bu grup hastalar içinde takiplerinde bu tedavilere yanıt vermeyen, standart RRMS hastalarından daha agresif gidiş ve klinik özellikler taşıyan hastalar, veya beklenen ortalama süreden daha hızlı SPMS'e dönüşmekte olan hastalar mevcuttur. Bu sonuçta MS tedavisinde immunomodulator ilaçların ötesinde; ilerleyici ve agresif gidişli hastalar için tedavi seçenekleri arasında olan mitoxantron ile ilgili gelişen bilgiler ve merkezimizin tecrübeleri aktarılacaktır.

MS hastalarının gidişinde ilerleyici dönemi erken evrelerde tespit etmemize yarayacak objektif laboratuvar ölçütleri henüz 2004 yılı itibarı ile geliştirilememiştir. Bu nedenle hiçbir tek başına istatistik olarak sağlam olmamakla birlikte dermografik-fenomenolojik değerlendirmeleri göz önüne almak durumundayız. Özellikle ilk iki yıldaki atak sayısı, ilk iki atak arası sürenin kısalığı ve polisemptomatik başlangıcın erken dönemde progresif gidiş için prediktif özellikle olduğu genel kabul görmektedir. Bu grup hastalar yanında; polisemptomatik başlangıçlı olup, motor, mesane ve serebellar klinik özellikler gösteren hastaların da yakın takip edilmesi erken dönemde tedavi monitorizasyonu ve gereğinde immunsüpresyon alternatiflerini başlatmak yönünden önem taşımaktadır. Mitoxantrone sitotoksik bir ajandır. B ve T lenfositleri üzerinde immünsüpresif etkilere sahip olup; proliferen olan ve olmayan hücrelere etkili bulunmuştur. MS dışında akut non-lenfositik lösemi, prostat kanseri, non-Hodgkin lenfoma, meme kanseri ve hepatomada kullanılmaktadır. mitoxantrone MS'te Avrupa ve ABD'de sekonder MS için uygun görülmüş ve FDA tarafından da bu endikasyon için ilk kez onay almış bir ilaçtır.

ilaçla ilgili yürütülen çalışmalar 1985-87 yıllarına dek gitmektedir. İlk pilot çalışmalar 1990-92 de yürütüldükten sonra 1994'te ilk Randomize-PC-DB MS çalışması ayda bir 8mg/m2 bir yıl süreli olarak yapıldı. Bu çalışma ilacın klinik atak hızını düşürdüğüne dair ilk " Class II " veri kabul edildi. 1997'de ilacın etkinliği 20mg/IV/ay Mitoxantrone ve Igm metilprednizolon /IV birlikte; ve kontrol olarak Igm/IV metilprednizolon grupları şeklinde bir başka çalışmada takip edildi. Bu çalışmada da ilacın MRI lezyon aktivitesi üzerinde olumlu etkisi Class II veri olarak kabul gördü. 1997'de çok merkezli R, SB, PC çalışma ile hastalara Mitoxantrone 8mg/m2 aylık bir yıl süreli verilerek 2 yıl takip yapıldı. Burada da ilacın atak sıklığı üzerine etkinliği tekrarlanıyordu. 1998 de faz III çok merkezli, DB, kontrollü 188 hastayı kapsayan RR ve SPMS grubu hastanın değerlendirildiği bir çalışma yürütüldü. Burada artık ana amaç hastalığın gidişine olan etkiyi değerlendirmektir. Birincil hedef EDSS, Ambulasyon Indexi, SNS, ilk steroid gerektiren atağa kadar geçen süre ve ilk atağa kadar geçecek ortalama süreyi içeren çoklu bir ölçek idi. Bu çalışma ilacın atak sıklığını klinik ve MRI ölçütlerinde düşürdüğüne dair Class II, özürüllük açısından ise Class III değerlendirilmesiyle sonuçlandı. Çalışmaların veri analizleri sonuç sırasında ayrıca değerlendirilecektir.

SONUÇ

Bugüne dek mitoxantrone ile ilgili yürütülmüş çalışmalar ve merkezimizin verileri çerçevesinde ilacın uygulanması ile ilgili pratik şu sonuçlara varılabilir.

1. İlaç sitotoksik kemoterapötik ajanlarla tecrübesi olan bir uzman gözetiminde:
 - hızlı ilerleyen Sekonder Progresif,
 - immunmodulator ilaçlara yanıt vermeyen Relapsing Remitting;
 - baştan itibaren PRMS alt-grubunda olan MS hastalarında yararlı olabilir.
2. Belirlenmiş endikasyon çerçevesinde seçilmiş hastalarda potansiyel yan etkiler ve özellikle kardiyak sistemin titizlikle ön değerlendirilmesi (Ekokardiyografi ve ejeksiyon fraksiyonu) ve tedavi süresince monitorizasyonu gereklidir.
3. Kardiyak toksisiteyi azaltabilecek stratejiler geliştirilmektedir.
4. Farklı doz rejimleri arasında karşılaştırmalı çalışmalar henüz bulunmamaktadır.

Konuyla ilgili ileri Okuma Önerileri · Lublin FD, Lavasa M, Viti C, Knobler RL. Suppression of EAE with mitoxantrone. Clin Immunol Immunopathol.1987;45:122-28 · Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the AAN Neurology 2003;61:1332-38 The use of mitoxantrone for the treatment of Multiple Sclerosis · Briefing document on Novantrone for the Treatment of MS: on file with the FDA
www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/00/backgrd/3582b1k.pdf · Hartung HP, Gonsette R, König N, et al. Mitoxantrone in progressive MS: a placebo controlled double-blind randomised multicenter trial. Lancet 2002;360:2018-25

Hasta adı	Gidiş	Yaş	Cinsiyet	İlk EDSS	Son EDSS	EDSS Değişimi	Süre	Kümülatif Doz	Yan etki	Eş zamanlı tedavi
A N	SPMS	35	K	5.0	5.0	0	14 ay	80 mg	Yok	GA
AA**	SPMS	25	K	4.0	2.5	-1.5	16 ay	71,2 mg	Yok	GA
BS	SPMS	36	K	6.0	5.5	-0.5	5 ay	55 mg	Yok	GA
FE	SPMS	28	K	7.0	6.0	-1.0	5 ay	52 mg	Yok	GA
GK	SPMS	27	E	5.5	6.0	0.5	10 ay	72 mg	Yok	GA
HY	SPMS	41	E	7.5	7.5	0	22 ay	130 mg	Yok	
MA	SPMS	42	K	6.0	5.5	-0.5	6 ay	34,5 mg	Nötropeni	CS
MB	SPMS	29	E	3.0	4.0	1.0	3 ay	40 mg	Yok	GA
NY	SPMS	39	E	7.5	-		24 ay	149 mg	Yok	GA
SA**	SPMS	35	K	5.0	6.0	1.0	15 ay	84 mg	Bulantı-kusma Sekonder amenore	GA
İE	SPMS	53	E	6.0	6.0	0	7 ay	57 mg	Yok	

** Ulaşılan kümülatif dozun artırılmadığı hastalar

OTURUM III

14.30-15.45

Oturum Başkanları

Dr. Nihal IŞIK

Dr. Yaşar ZORLU

14.30-14.45

Statinler ve Multipl Skleroz

Dr. Nihal IŞIK

SSK Göztepe Eğitim Hastanesi, Nöroloji Kliniği

Son yıllarda etkin lipit düşürücü ilaçlar olan statinlerin pek çok immün aracılı hastalıkta potent immünmodulator etkilerinin olduğuna dair bilgiler hızla artmaktadır (1,2).

HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) redüktaz inhibitörleri ya da statinler, tıbbi pratikte çok yaygın kullanılan aterogenesis ve kardiyak morbiditeyi azaltan etkili lipid düşürücü ajanlardır. Kolesterol metabolizmasında değişiklikler yaparak, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oluşumunu azaltırlar (3). Statinler bu etkilerini Asetil-CoA'nın L-Mevalonat'a dönüşümünü bloke ederek yaparlar. L-mevalonat katabolizmasının inhibisyonu sonucunda, birtakım ara ürünler ortadan kalktığı için, kolesterol senteziyle birlikte hücre proliferasyonu -değişimi -migrasyonunda gerekli bazı özel proteinlerin yapısı da etkilenmektedir (2).

Statinlerin yalnızca kolesterol düşürücü ajanlar olmayıp moleküler düzeyde başka önemli etkilerinin de olabileceği, 1995 yılında pravastatinin, kardiyak transplantasyon yapılan hastalarda, kolesterol düşürücü etkisinden bağımsız olarak rejeksiyonu epizodlarını azalttığı ve yaşam süresini uzattığının belirlenmesiyle anlaşıldı (4).

Bu saptamadan sonra statinlerin anti-inflamatuar ve immünmodulator etkilerini tanımlamak için pek çok araştırma yapıldı. Bu çalışmalarda statinlerin önemli bir grup pro-inflamatuar mediatörün sekresyonunu etkilediği gösterildi. Örneğin lovastatinin, IFN-gama (interferon-gama) aktivasyonu ile sekresyonu artan TNF-alfa (tumor necrosis factor-alfa) ve iNOS (inducible nitric oxide synthase) yapımını azalttığı saptandı (5). Her iki mediatör de MS'in inflammatuar yapısında önemli rol oynamaktadırlar. Statinlerin etki gösterdiği, immün sistemle ilgili bir başka önemli molekül grubu ise MHC-II (Major histocompatibility complex class II)dir. MHC-II moleküllerinin, T-lenfositlerinin aktivasyonu ve immün yanıtın kontrolü ile ilişkili olduğu bilinmektedir. MHC-II yi kendiliğinden sunan spesifikleşmiş az sayıda hücre varken, IFN-gama indüksiyonu ile çok sayıda hücre MHC-II sunar duruma geçmektedir. Statinlerin, IFN-gama tarafından indüklenen bu durumu direkt olarak inhibe ettiği ve MHC-II ye bağlı T-hücre aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (1,6). İndüklenen MHC-II molekülleri, MS patogenezinde; SSS de oluşan ve ak madde ile akson yapısını tahrip eden inflammatuar olaylar dizisinde en önemli basamaklardan biridir.

Statinlerin, IFN-gamanın indüklediği bazı hücre yüzey molekülleri (CD40, CD80 gibi) üzerine de direkt inhibitör etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etki T-hücre aktivasyonunu bloke etmektedir (6). LFA-1, (Lymphocyte function-associated antigen) lökositlerin yüzeyinde yer alan ve endotel hücrelerinde bulunan adezyon molekülüne (ICAM-1) bağlanan bir proteindir. Bu hücre-hücre bağlantısı SSS parankimine infiltre olabilmek için damar dışına çıkması gereken T-hücrelerin endotele yapışması için gerekli en önemli basamaklardan biridir ve statinlerin bu adımı LFA-1 e bağlanarak inhibe ettiği gösterilmiştir (7). Yine lovastatinin, fare EAE (eksperimental allejik ensefalomyelit) modelinde endotelial adezyonu

azaltarak mononükleer hücrelerin santral sinir sistemi (SSS) infiltrasyonunu engellediği saptanmıştır (8,9).

Statinlerin inflammatuar olaylardaki etkinliğini gösteren en önemli çalışmalardan birinde atorvastatin kronik ve relapsing EAE de oral olarak kullanılmış ve hastalığı engellediği gösterilmiştir. Bu çalışmada atorvastatin; Th2 grup sitokinleri (IL-4, IL-5, IL-10 ve TGF-transforming growth factor-beta) indüklerken, Th1 grup sitokinlerin (IL-2, IL-12, IFN-gama ve TNF-alfa) salınımını inhibe etmektedir. Ayrıca atorvastatin, Th0-Th2 dönüşümünü arttırmaktadır (6). Bilindiği gibi Th1 sitokinleri akut atak döneminde artmakta ve kliniğin ciddiyetiyle bağlantı göstermektedir. Th2 sitokinleri ise atağın düzelmesi ile bağlantılıdır.

Değişik statinlerin immünmodulator etkilerini birbirleriyle ve IFN-beta1b ile kıyaslamak için planlanan bir çalışmada; tedavi görmeyen ve IFN-beta1b tedavisi alan ataklı MS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin periferik kan mono nükleer hücreleri indüklenerek lovastatin, simvastatin ve mevastatinin etkisi araştırıldı. Tüm statinlerin T-hücresi çoğalmasında simvastatin en etkin olmak üzere doza bağlı olarak inhibe ettiği gözlemlendi. Bu, IFN-beta1b ninkine benzer bir etkiydi. Ayrıca, T-hücresindeki adezyon moleküllerinin, MMP-9 (Matrix metalloproteinase) enziminin salınımını azalttığı, Th1/Th2 sitokin dengesini değiştirdiği ve güçlü anti-inflamatuar etkilerinin yanı sıra bazı pro-inflamatuar etkilerinin de olduğu gösterildi (10). 2003 yılında sunulan ve RR-MS hastalarında simvastatinin etkisini araştıran bir çalışmada; ilacın gadolinium(+) lezyon sayısını tedavi öncesi döneme göre anlamlı olarak azalttığı ve 80mgr/gün simvastatinin ciddi bir yan etkisinin görülmediği belirlendi (11).

Statinlerin etkisini araştırmak için hayvan modelleriyle yapılan çalışmalardan yoğun bilgi aktarımı olmasına rağmen, MS hastalarına yararlılığı ile ilgili henüz az sayıda kanıt vardır. Statinlerin kolesterol düşürücü etkileri nedeniyle kullanıldıkları hasta grubunun yaş ortalaması hayli yüksektir. Bu nedenle, yüksek kolesterol nedeniyle statin kullanan MS hastalarının klinik gidişleri retrospektif olarak incelense bile yeterli bilgi elde edilemez. Ayrıca hayvan modellerinde ve Neuhaus'un çalışmasında, statinlerin etkisinin doza bağlı olduğu gösterildiği için kolesterol düşürücü minimum etkin doz, immünmodulator etki göstermeyebilir.

Bugün MS tedavisinde kullanılan interferonlar, glatiramer asetat ve mitoksantron, kısmen etkili, parenteral kullanılan ve yan etkileri olabilen ajanlardır. Yeni, etkin ve kullanım kolaylığı olan ilaçların hızla ortaya çıkması en büyük beklentilerdendir. Böyle bir durumda MS'in patogenezinde çok önemli olan immün basamaklardan büyük bir kısmına, en azından EAE modellerinde gerçekten etkili olan statinlerin, klinik etkinliğinin büyük ölçekli, iyi planlanmış, güvenilir, çok merkezli çalışmalarla kanıtlanması şarttır.

1. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S et al. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000;6(12):1399-1402.
2. Stuve O, Youssef S, Dunn AJ et al. The potential therapeutic role of statins in central nervous system autoimmune disorders. *CMLS, Cell Mol Life Sci* 2003;60:2483-2491.
3. Vaughan CJ, Delanty N. Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke* 1999;30:1969-1973.
4. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995;333:621-627.
5. Pahan K, Sheikh FG, Namboodiri AM et al. Lovastatin and phenylacetate inhibit the induction of nitric oxide synthase and cytokines in rat primary astrocytes microglia, and macrophages. *J Clin Invest* 1997;100:2671-2679.

6. Youssef S, Stuve O, Patarroyo JC et al. The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune diseases. *Nature* 2002;420:78-84.
7. Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med* 2001;7:687-692.
8. Stanislaus R, Sibgh AK, Singh I. Lovastatin treatment decreases mononuclear cell infiltration in the CNS of Lewis rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurosci Res* 2001;66(2):155-162.
9. Greenwood J, Walters CE, Pryce G et al. Lovastatin inhibits brain endothelial cell Rho-mediated lymphocyte migration and attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *FASEB J* 2003; (8):905-907
10. Neuhaus O, Strasser-Fuchs S, Fazekas F et al. Statins as immunomodulators: Comparison with interferon-beta1b in MS. *Neurology* 2002;59:990-997.
11. Vollmer T, Durkalski V, Tyor W et al. An Open-Label, Single Arm Study of Simvastatin as a Therapy for Multiple Sclerosis (MS). 2003 AAN 55th Annual Meeting Program S11.004 (Abstr.)

14.45-15.00

Klinik İzole Senromlar

Dr. Jale AĞAOĞLU
Dr. Nilüfer KALE
Dr. Gülten ÖNDER

SSK Okmeydanı Eğitim Hastanesi, Nöroloji Kliniği

İzole Optik Nörit (ON), fokal inflamasyona bağlı demyelinasyonla ortaya çıkan optik sinirin akut nöropatisidir.

• MS yada herhangi bir sistemik hastalık bulguları yada öyküsünün olmadığı durumlarda ON monosemptomatik yada izole olarak kabul edilir.

• ON MS'de sıklıkla başlangıç semptomudur.

ON tipik profili:

- 25-35 yaşlar arası
 - Bayanlarda sıklıkla
 - Göz hareketleri ile ortaya çıkan oküler ağrı (%95)
 - Akut unilateral vizyon kaybı.
 - Azalmış görme netliği
 - Bozulmuş renkli görme, kontrast duyarlılığı
 - Vizuel görme alan defekti
 - Relatif afferent pupil defekti
 - Optik disk normal görünümde (retrobulber optik nörit) yada başlangıçta ödemli görünüm (papillit)
 - Vizuel disfonksiyon 1-2 hafta progresse olur, 5-6 hafta içinde düzelme gözlenmeye başlar.
 - Haftalar sonra retinal lif seviyesinde atrofi ve soluk optik disk gözlenebilir.
 - Renkli görmeye ve görme alanında kalıcı defektler olabilir.
- ON ile MS arasında ortak özellikler:
- Başlangıç yaşı: her iki hastalık için 30 lu yaşlar
 - Cinsiyet oranı: bayan oranı yüksek
 - Coğrafi dağılım paralellik gösterir.
 - Etnik risk faktörleri HLADRI5
 - Genetik faktörler: HLADR15, HLA DQ6, HLADW2
 - MRG ve BOS bulguları, ON 'le MS'de yüksek paraklinik bulgu oranı
 - Monosemptomatik ON'li hastalarda ortalama %50-%70 oranında kranial MRG'de MS ile uyumlu lezyonlar saptanabilir.
 - Monosemptomatik ON'li hastaların %60-70'de IgG band pozitifliği gözlenir.
 - ON'in MS'e dönüşüm oranı %8-85 oranındadır.

ON'ın MS'e dönüşümü

- ON'ın MS'e dönüşüm oranı %8-85 arasında değişir.
- Görsel netliğin retrobulber nörite karşı papillitin ve de oküler ağrının olup olmaması risk faktörü olarak kabul edilmemektedir. (mcdonald noseworthy blue books 2003)
- Hastalığın başlangıç yaşı, cinsiyet, bilateral ON varlığı, ON rekürrensi, HLA fenotipi, ON başladığı mevsim, cdms gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmiştir.
- Monosemptomatik ON vakalarında cdms gelişim riski beyin MRG'deki lezyonların varlığı ile yakın ilişkilidir.
- Benzer yüksek cdms gelişim riski bos'da oligoklonal band varlığı ile ilişkilidir.
- ON' nin cdms'e dönüşüm oranı

Henry 1986	n82	7 yıl sonra	%42
Francis 1987	n101	11.6 yıl 15 yıl	%57 %75
Rizzo ve Lessell 1988	n60	14.9 yıl	k %74 e %34
Sandberg-Wollheim 1990	n86	15 yıl	%45
Rodriguez 1995	n95	10 yıl 20 yıl 30 yıl 40 yıl	%39 %49 %54 %60
ONTT 1997	n388	5 yıl	%30
Soderstrom 1998	n147	6 yıl	%36
O'riordan 1998	n81	10 yıl	%59
Ghezzi 1999	n102	2 yıl 4 yıl 6 yıl 8 yıl 10 yıl	%13 %30 %37 %42 %42

- 18-46 yaşlar arası

ONTT(north american optic neuritis treatment trial)

- Bu çalışmanın amaçları ON tedavisinde KS'nin yeri ve on MS arasındaki ilişkidir.
- 5 yıl süre ile
- 8 gün yada daha kısa sürede gelişen akut unilateral ON'li 388 hasta tedavi protokollerine göre 3 gruba ayrılarak takip ediliyor.
- Hastalar plasebo, oral prednol ve 3 gün IVMP tedavi protokollerine göre sınıflandırıldı.

SONUÇLAR

- 5 yıl sonunda cdms %27
probable ms %9

- Kümülatif cdms olasılığı %30

MS gelişimini öngören faktörler

ON başlangıç MRG bulguları (tek en önemli belirteç) (büyüklük 3mm küçük-büyük periventrikuler, şekil ovoid-nonovoid)

- MRG lezyon (-)%16
- 3-fazla lezyon %51

MRG'den bağımsız nonspesifik norolojik semptomlar (özellikle kısa süreli parasteziler) cdms ile ilişkili bulunmuştur. Öncesinde norolojik semptom varlığı ve MRG lezyon(-) olduğundan cdms gelişim riski %44, semptom (-) ve MRG (-) olduğunda gelişim riski %15. Öncesinde nonspesifik nörolojik semptomu olan MRG'de 1-2 lezyon varlığında 5 yıllık cdms %43 3 ve fazlasında %66 cdms riski.

Ghezzi 1999

- Bir başka çalışmada cdms gelişim risk belirteçleri arasında T2 lezyonların sayısı ve miktarı (paty kriterleri) boş bulguları ile gecikmiş uyarılmış potansiyeller (EP)
- 143 hasta, 10 yıllık takip sonunda 102 hasta
- Akut izole ON
- Klinik şikayetlerin ilk 6 ayında kranial MRG, BOS ve EP uygulanmış.

Ghezzi 1999

2 yıl	%13
4 yıl	%30
6 yıl	%37
8 yıl	%42
10 yıl	%42 cdms gelişimi.

Başlangıç KR MRG'deki lezyon sayısı ile cdms gelişimi arasında güçlü ilişki saptanmıştır. 1 veya daha fazla lezyonlu hastaların 37/71'inde (%52.1) MS gelişmiştir. MRG'si normal olan hastalarda gözlenmedi. MRG değerlendirmesi BOS ve EP'e göre daha güçlü prediktör.

- Kranial MRG'de 3 veya daha fazla lezyonu olan hastalarda cdms gelişim süresi 2 veya daha az olanlara göre daha kısa sürede olmaktadır.
- BOS IgG sentez artışı kranial MRG pozitifliği ile birlikte cdms gelişim riskini artırmaktadır.
- Diğer çalışmalardan farklı olarak yaş ve ON başlangıç mevsiminin MS gelişimi için risk faktörü kabul edilmemektedir.
- BOS incelemesinin yüksek prediktif değeri kimi yazarlarca belirtilmesine karşın (Soderstrom 1994-98 Jacobs 1998) bu çalışmada doğrulanmamıştır. Yine de MRG pozitif ve birlikte BOS pozitifliği cdms gelişim riskini hafif artırmaktadır.
- Bu çalışmada diğer çalışmalarda olduğu gibi EP prognostik değeri düşük bulunmuştur.
- Tibial SEP dahil edildiğinde beyin MRG'den düşük olmakla birlikte riski artırmaktadır.
- VEP gecikmesi asemptomatik gözde %25 oranında olup cdms dönüşüm ile ilişkili bulunmamıştır.
- Bu çalışma MRG'nin teşhis ve takip açısından duyarlı olduğunu göstermektedir. Yine de anormal MRG'li hastaların takiplerinde çoğu hastada cdms gelişmemiş, MS gelişenlerde ise hafif dizabilite gözlenmiştir.

Neurology 2003;61:596-597

- Alternatif tanılar elendikten sonra, klinik izole sendromlu bir hastada bahsedilen bu MRG bulgularından herhangi birinin varlığı gelecek cdms gelişim riskini gösterir.
- izole bir sendrom sonrası, MRG'de yeni lezyon varlığı ms tanısının konmasına yeterlidir.

Neurology 2003;61:596-597

- Klinik izole sendromlardan sonra 2. atak gelişim riskini, dizabilite ve subklinik olayları tahminde MRG en faydalı yöntemdir.

- Önerilen: -3 yada daha fazla T2 ağırlıklı beyaz madde lezyonu -2 yada daha fazla kontrast tutan lezyon -Klinik izole sendromdan 3 ay yada daha fazla süre sonrası yeni T2 lezyonu yada kontrast tutulumu.

Neurology 2003;61:596-597

cdms dönüşüm riskini göstermede MRG'nin önemi büyük olduğundan dolayı, MRG yorumlanması, kullanılan teknik ve kesit kalınlığı, uygulanan kontrast madde miktarı, kontrast madde uygulanması ile çekim arası süre önem kazanmaktadır.

MS ve ON:

- MS'in ilk olarak ON ile presente olma oranı %8-35 arasında değişir.
- MS seyri sırasında ON gelişim oranı %27-66 arasında değişir.
- Cdms tanısı ile takip edilen hastaların %90'da elektrofizyolojik olarak gösterilen geçirilmiş ON mevcuttur.
- Genetik markerlar: HLA çalışmaları Genetik çalışmalar HLA-DW2 varlığının sağlıklı kontrol vakalarından yüksek, cdms tanısı ile takip edilen vakalardan düşük olduğu saptanmıştır.

Diğer klinik izole sendromlar:

- ON yanında akut beyin sapı sendromları, parsiyel transvers myelit MS'in sık ilk başlangıç bulguları arasında yer almaktadır.
- Beyin sapı ve serebellumda demyelinizan lezyonlar sonucu, INO, dismetrik sakkadlar, kranial sinir parezileri, primer bakışta nistagmus gibi çeşitli oküler hareket bozuklukları ortaya çıkabilir.
- İnkomplet yada parsiyel transvers myelit imbalans, asendan pareteziler, sensorial kayıp ve hafif üriner problemler gibi değişen bulgularla presente olabilir.
- Komple yada ağır transvers myelit MS'in daha nadir bir komponenti olarak gözlenir.
- Çalışmalar izole sendromlarda cdms gelişim riskini en iyi gösteren bulgunun MRG'de disseminasyon olduğunu göstermiştir.
- Beyin MRG'de sessiz lezyonları olan hastaların 3-5 yıl içinde cdms dönüşüm riski MRG normal olan izole sendromlarla kıyaslandığında %50 oranında artmıştır.
- 10 yıllık takiplerde izole sendromlu hastalardan MRG anormallikleri olan hastaların %80'de cdms gelişmiştir.

Akut parsiyel transvers myelopati

- Spinal kordun parsiyel veya inkomplet tutuluşuna bağlı nörolojik semptomlar MS'in başlangıç bulguları olabilir.
- Akut gelişen kompresyonun ekarte edildiği izole parsiyel transvers myelopati başlangıçta değerlendirildiğinde MS tanısı konamaz.
- Çünkü MS tanısı için gerekli olan lezyonların zaman ve konum olarak disseminasyon kriteri dolmamıştır.
- Daha önce sağlıklı olan bir kişide tek bir akut, parsiyel myelopati epizodundan sonra MS gelişme riski bilinmemektedir.
- Miller ve ark.nın çalışmasında komplet ve parsiyel transvers myelopati olmak üzere akut, izole spinal kord sendromlu hastalarda ortalama 14.1 aylık takip süresinden sonra %42 oranında klinik definit MS gelişmiştir. Ann.neurol 1989; 26: 635-639
- Blair Ford ve ark.nın çalışmasında daha önceden nörolojik septomu olanlar, spinal kord dışında nörolojik bulgusu olanlar ve sistemik kanser, nutrisyonel eksiklik, sifiliz veya HIV gibi sistemik hastalığı olanlar dışlanarak çalışmaya alınmıştır.

- Çalışmaya 15 hasta, 22-44 yaş aralığında, myelopati kliniği ile alındı.
- Bu hastalarda en az 1 spinal segmentte inkomplet veya yama tarzı tutulum, hafif-orta derecede güçsüzlük, dağınık duysal semptomlar ve nadiren mesane disfonksiyonu saptandı.
- Ortalama 38.5 ay takip süresi sonunda tüm hastalarda klinik değerlendirmeler, kranial-spinal kord MRG'leri tekrarlandı.
- * 12 hastada myelopatinin başlangıcında kranial MRG de MS ile uyumlu SSS ak maddesinde multifokal lezyonlar saptandı.
- Bunlardan 11'inde takip sırasında klinik definit MS veya laboratuvar destekli definit MS gelişti, duyarlılığı %93 oranında belirlendi.
- 1 hastada başlangıçta patolojik kranial MRG bulguları vardı. Ancak yeni nörolojik bulgu gelişmedi ve MRG değişmedi.
- Başka bir hastada ilk başvuru sırasında kranial MRG normalken 15.ayda periventriküler ak maddede MS ile uyumlu lezyonlar gelişti.
- Kranial MRG, BOS IgG oligoklonal bantları %78 duyarlılıkta, evoked potansiyel incelemeleri ise %30 duyarlılıkta saptandı.

SONUÇ

- Bu çalışma grubunda etiyojisi bilinmeyen akut parsiyel transvers myelopati ile başvuran hastalarda klinik veya laboratuvar destekli definit MS gelişme oranı %80 ve ortalama takip süresi 38.5 aydı.
- Eğer ilk başvuru sırasında çekilen kranial MRG de periventriküler ak madde lezyonu varsa MS gelişme riski %90 dır.
- Akut parsiyel transvers myelopatide, akut transvers myelopatiden farklı olarak MS gelişme riski daha yüksektir.
- Sonuç olarak; 3-5 yıllık takipte MS ile uyumlu kranial MRG'si olanlarda MS gelişimi %60-90 iken kranial MRG'si normal olanlarda %10-30 oranındadır.
- Başka bir çalışmada (45 hastanın retrospektif incelendiği) akut transvers myelitin ayırıcı özellikleri:
- Akut Transvers Myelitli (ATM) 45 hastanın (rastgele ardiğık hasta) retrospektif olarak klinik prezentasyon kan, BOS bulguları, MRG ve nörofizyolojik bulgular incelendi.
- Vakaların %38'i parainfeksiyöz, %36'sı idiopatik, %22'si de olası MS in ilk bulgusu idi. (ATM-MS).(7 hastanın 2 yıllık takibinde 5 olguda cd-MS gelişmiştir). %96'sının da spinal MRG'si (+) idi.
- ATM de %27 pns tutulumu vardı.
- ATM-MS'de monosegmental, ATM'de 1-2 segmentte spinal kord tutulumu saptandı.
- Etiyolojik olarak
- 1-enfeksiyöz nedenler: viral, bakteriyel
- 2-sistemik otoimmün hastalık:
 - sle sjögren s.
 - mixt konn. Doku hastlığı romatoid art.
 - skleroderma atopik dermatit
 - Pr. Ürtikerial vask. İmmun komp. All. Vaskül.
 - antifosfolipit antib. S.
- 3-ms
- 4-adem
- 5-devic send.
- 6-behçet (nadir) görülür.
- Dışlama kriterleri:
 - 1-bası
 - 2-travma
 - 3-spinal meningeal malignensi
 - 4-ant. Spinal arter trombozu

- 5-spinal kord radyasyonu
- 6-cd-ms tanısı olanlar
- Laboratuvar ve BOS bulguları
- 1-rutin biokimya, hemogram, crp, rf, ana,anca antikardiolipin antifosfolipit antikoları, immun fiksasyon ile monoklonal ıg'ler ve ıg hafif zinciri idrarda enfeksiyon-proteinüri taraması, 2-serum ve BOS da; herpes, vzv, ebv, hepatit b vir, hiv, cmv, enterovirus, chlamidya, legionella, kızamık, kızamıkçık ve kabakulak vir, coxsackie, t.pallidum, b.burgdorferi ve m.pneumoniae incelendi.

3-BOS da hücre , protein, glukoz, laktik asit, ıgg sentezi, ocbs bakıldı.

- %66 vakada patolojik (en sık lökosit ve crp yüksekliği)
- Serum IgM ve IgE yüksekliği (RA+ vaskulit, hipersensitivite vaskuliti: 1'er vaka)
- ANA (+): 2 hasta
- Monoklonal gammopati: 1 hasta
- %84'ünde BOS patolojik (37/44)
 - 27 vakada bos ocbs (+) (atm-ms lilerin 9 unda, atm lilerin 18'inde)
 - B.burgdorferi ıgg ve m antikoru 1 hastada (+)
 - Tpha (+) : 1 hasta
 - BOS kültüründe s.aerus 1 hastada (+). Bulunmuştur.

• MRG bulguları:

- %96 (43/45) spinal kord MRG da T2 sinyal değişiklikleri saptandı.
- 35 hastada 1 spinal segmentte tek lezyon
- 20 hastada 1 spinal segmentte sınırlı lezyon
- 15 hastada birden fazla segmentte lezyon vardı.
- 8 hastada dissemine lezyon

• Kranial mr %76 hastada yapıldı (34/45). (20'si kontrast tutulumu (gd-dtpa) vardı) -34'ü servikal kord -14'ü torakal kord -4'ü serviko-toraksik -2'si distal toraksik kord

• Tartışma ve sonuç: 1-paraenfeksiyöz etioloji atm'nin en sık kaynağı fakat altta yatan ajan çok azında saptanabiliyor. 2-atm-ms'de spinal korda mrı öncelikle monosegmental ve servikal korda sınırlı 3-önemli bir ayırıcı özellik olarak atm'de pns tutulumu siktir. 4-%22 olguda en son yayınlanan göre olası ms (atm-ms) olarak sınıflandırıldı. 5-fischer ve ark'nın bildirdiğine göre atm'nin ms'in ilk klinik bulgusu olma olasılığı çok nadirdir (yaklaşık%1.5). Buna karşın hastalığın seyri sırasında %60 oranında spinal kord lezyonu olabilir. 6-bu çalışmada takipte %11 hastada cdms gelişmiş, bu daha önceki çalışmalar ile uyumludur. Atm den sonra cdms oranı %13-43. 7-bu çalışmada idiopatik atm oranı %36 idi. (literatürde %9-60) 8-%27 hastada nörofizyolojik olarak saptanan pns tutulumu vardı 9-atm-ms li hastalarda pns tutulumu saptanmadı. 10-atm-ms de mr bulguları tek bir segmentte sınırlı ancak atm de 1-2 segment tutulabilir 11-atm deki klinik tablo atm-ms den ağır 12-atm daha çok servikal ve toraksik kordu tutar. 13-sadece 2 hastada spinal mrı normal. (1'i nöroboreliosis, 1'i idiopatikti). Bu da mırın spinal kord lezyonunu saptayamadığı durumlarda myelitik lezyonun ekarte edilemeyeceğinin göstergesidir.

- Diğer çalışmalarda ise MS'in ilk bulgusu myelopati olan hastaların %57-72'sinde MS ile uyumlu kranial MRG bulgusu saptanmıştır.
- BOS çalışmalarında monosemptomatik hastaların ocbs (+) olmasının MS riskini arttırdığı, ancak MRG'a göre tek başına prognoza yardımcı olmadığı öne sürülmüştür.
- MRG çektilerilemeyen hastalarda bos ocbs tanıda yardımcıdır.

ON ve tedavi:

Yapılan çalışmalar hastalığın erken döneminde gelişen inflamatuvar ataklar sonucu irreversible MSS hasarlanmasının erken başladığını ve ilkeri dönemlerde saptanan nörolojik defisitlerin bunların sonucu olduğunu göstermiştir.

ON ve kortikosteroid tedavisi:

ONTT (north american optic neuritis treatment trial)

- 18-46 yaşlar arası 5 yıl süre ile
- 8 gün yada daha kısa sürede gelişen akut unilateral ON'li 497 hasta tedavi protokollerine göre 3 gruba ayrılarak takip ediliyor.
- Hastalar plasebo, oral prednol ve 3 gün IVMP tedavi protokollerine göre sınıflandırıldı.
- Yapılan takiplerde ilk 6 ayın sonunda IVMP tedavisinin vizüel fonksiyonda iyileştirmeyi hızlandırdığı gözlemlendi.
- Oral prednol tedavisi sonrası takiplerde on rekürrensinde artış saptandı.
- 2 yıllık takiplerde IVMP tedavisi alan hastalarda cdms gelişim riskinde azalma tespit edildi.
- 3 ile 5 yıllık takipler sonunda tedavi gruplarında cdms gelişim riskinde belirli bir farklılık saptanmamıştır.(plasebo gr %31 ivmp %27 oral pred. %32)
- 2 yıllık takiplerde IVMP tedavisinde cdms gelişim riskinde azalma gözlemlendiğinden dolayı klinisyenlerin tercihi ON ile başvuran hastalara yüksek doz prednol IV uygulayımı yönünde olmaktadır.

İmmun modülasyon ve ON:

CHAMPS (controlled high risk subjects avonex ms prevention study)

- 18-50 yaşlar arası
- 383 hasta,
- İzole sendrom epizodu ile ba vuruyor (ON, beyinsapı, serebellar sendrom, spinal kord sendromu)
- 3 gün IVMP tedavisi ve sonrasında 11 gün oral steroid tedavisi ile takip edilen hastalar şikayetlerinin başlangıcından itibaren 27 gün içinde IFNB1A 30 mcgr tedavisine alındı.
- Tedaviye alınan hastalarda cdms dönüşüm riskinde %44 oranında azalma saptandı.
- MRG değerlendirmelerinde beyin lezyon volümünde, yeni lezyon gelişiminde, gadolinium tutan lezyon sayısında azalma saptandı.

ETOMS (early treatment of MS)

- 308 polisemptomatik presentasyonla başvuran hastaya IFNB1A sc formu haftalık 22 ugr uygulanıyor.
- Çalışma verileri champs'le uyumlu bulunuyor.
- * Farklılıklar sc forma bağlı olarak IFN serum seviyesi IM uygulanan hastalarda daha yüksek seviyede bulunuyor.

Tartıılacak noktalar:

İzole on yada diğer izole semptomlarla başvuran hastalarda tedavi protokolü oluşturmak.

İzole semptomların cdms dönüşüm riskini ve takip parametrelerini belirlemek

- Kortikosteroid tedavi protokol düzenlenmesi
- Hastalar immunmodülasyon tedavisi ile korunmaya alınmalı mı?
- Takipler ne sıklıkta olmalı
- Cranial MRG'nin takipteki yeri

15.00-15.15

MS ve Yorgunluk

Dr. Serkan ÖZAKBAŞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD.

Tanım:

Yorgunluk, hem bilinen bir sağlık sorunu olmayan birçok kişide hem de birbirinden farklı bedensel ve ruhsal hastalığı olan kişilerde sıklıkla yakınılan bir semptomdur. Belirli bir güç üretiminde başarısızlık ve zamana göre güç üretiminde azalmayla gider. Hastalar fiziksel ya da mental çaba sonucunda ortaya çıkan bezginlik ve tükenmişlikten yakınırlar. Yorgunluk kılavuzu Geliştirme Paneli'nin tanımına göre yorgunluk "Alıçılmış ve yapılması istenen aktivitelere katılımda birey ve bireye bakım verenlerce hissedilen fiziksel ve / ya da mental enerjinin öznel azlığıdır".

Nörolojik Hastalıklarda Yorgunluk:

Çeşitli nörolojik hastalıklarda yorgunlukla ilgili çalışmalar son yıllarda artmıştır. Yorgunluğa en fazla odaklanılan nörolojik hastalıkların başında multipl skleroz (MS) gelmektedir. Ayrıca kafa travmaları, Parkinson hastalığı, postpolio sendromu ve son yıllarda strok sonrası gelişen yorgunlukla ilgili çalışmalar vardır.

Multipl Skleroz:

Yorgunluk MS'te çok geniş bir hasta grubunun önemli yakınmalarından birini oluşturur. Sıklığı, çeşitli çalışmalarda %50-90 arasında bildirilmiştir. Hastaların yaklaşık yarısında da özürüllüğe en çok neden olan semptomdur. Kliniğimiz hastalarının dahil olduğu bir çalışmada hastaların %78'inin yorgunluktan yakındığı, %24'ünde yorgunluğun en çok rahatsızlık veren yakınma olduğu ve %69'unda en çok rahatsızlık veren ilk üç yakınmadan biri olduğu saptanmıştır. Yorgunluk, MS hastalarında sıklıkla diğer semptomlara öncülük ya da eşlik eder. Dinlenme sırasında bile ortaya çıkabilir ve dinlenmekle düzelmez. MS'te yorgunluğun patofizyolojik temeli çok iyi saptanamamış olmasına karşın santral sinir sistemi (SSS) başlantılı bir fenomen olduğu ve aksonal hasarın yanı sıra demiyelinizasyon ve enflamasyonla başlantılı olduğunu düşündüren kanıtlar vardır. Tedavi çalışmaları da göstermiştir ki MS'te yorgunluk beynini kompleks nörokimyası ile ilgilidir. Tedavi yaklaşımları da ya SSS'nin global aktivasyonu ya da bedenin uyanıklık için kullandığı yolların taklidi temeline dayanır. MS'te yorgunluk, stres ve sıcaklık artışı ile belirginleşir, ancak yaş, nörolojik tutulum ve uyku bozuklukları ile bağlantı göstermez.

Kafa Travması:

Kafa travmasına ilişkin çalışmalar, birçok kişide travmanın şiddetinden bağımsız bir biçimde yorgunluğun geliştiğini göstermiştir. Bir çalışmada, minör kafa travması geçiren hastaların %70'i travmayı izleyen 2 hafta içinde yorgunluktan yakındıklarını belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada da hastaların yarısı yorgunluğu en çok rahatsızlık veren semptom olarak bildirmişlerdir.

Kafa travmasında yorgunluğun uyku bozuklukları ile bağlantılı olduğunu kanıtlayan çalışmalar vardır. Bu hasta gruplarında uyku bozukluğu ile yorgunluk birlikteliği hastaların %50-80'inde saptanmıştır. Ne var ki, bu birlikteliği destekleyen laboratuvar bulgularına gereksinim vardır.

Parkinson Hastalığı:

Parkinson hastalarının %40'ı yorgunluğu ana semptom olarak

bildirmektedir. Depresyon, demans ve uyku bozukluğu dışlandığında Parkinson hastalığındaki yorgunluk hala normal kontrollerden yüksek orandadır. Yine de depresyon ve mental etkilenmenin hastalıkta saptanan yorgunluğa sıklıkla eşlik ettiği saptanmıştır. Parkinson hastalığına bağlı yorgunluk, şaşırtıcı olmayan biçimde kronikleşme eğilimi gösterir. Longitudinal bir çalışmada bu hastalıkta yorgunluk hastaların önemli bir bölümünde 9 yılın sonunda hala devam ediyor olarak bulunmuştur.

Postpolio Sendromu:

Postpolio sendromunda yorgunluk hastaların çok büyük bir bölümünde bildirilen bir semptomdur. Her ne kadar nöromusküler bileşke ya da kas lifinin kendisindeki sorunların nöromusküler yorgunluğun nedeni olabileceği bildirilmiş olsa da, postensefalitik hasar gibi santral nörolojik etkilenmenin yaygın bedensel yorgunluğun nedeni olabileceği bildirilmiştir.

Poststrok Yorgunluk:

Yorgunluk, strok sonrası sık görülen bir semptomdur. Hastaların %30-68'inde bildirilmiştir. Strok sonrası yorgunluğu depresyon ve bilişsel işlevlerde etkilenmenin bir parçası olduğuna ilişkin kanıtların yanı sıra, bu durumlardan bağımsız ortaya çıktığını bildiren çalışmalar da vardır. Yorgunluğun varlığı, şiddeti, süresi ve sıklığının strokla ilişkili değişkenlerden (strokta sonra geçen süre, strok tipi, şiddeti) bağımsız olduğu bildirilmiştir. Küçük bir hasta grubunda yapılan çalışmada; strok lateralizasyonun yorgunluk gelişmesi ile bağlantılı olmadığı bildirilmesine karşın, en ağır yorgunluğun beyin sapı enfarktı ve daha az sıklıkta subkortikal enfarktta gerçekleştiği saptanmıştır.

Tedavi:

Birçok fizyolojik ve biyokimyasal parametre bozukluğunda (malnutrisyon, hipovolemi, dehidratasyon, hipoglisemi, hipomagnezemi, hipofosfatemi, hipokalsemi, hipopotasemi gibi), endokrin bozukluklarda (hipotiroidizm, diyabet) ve komorbid tıbbi durumlarda (böbrek yetmezliği, konjestif kalp yetmezliği, anemi, enfeksiyonlar, kronik enflamatuvar hastalıklar) yorgunluk ortaya çıkabilir. Bu nedenle başlangıç tedavisi sözü geçen olası etiyolojileri hedef almalıdır. Diyet düzenlemesiyle uygun enerji gereksinimi karşılanmalıdır. Kronik ağrı gibi yorgunluğu artıran nedenler analjeziklerle giderilebilir. Ayrıca kullanılmakta olan ilaçlar yorgunluğa neden olma potansiyelleri açısından değerlendirilmeli ve gerekirse kesilmelidir. Hastalar depresyon açısından taranmalıdır. Çünkü, selektif serotonin geri alım inhibitörleri kimi zaman yorgunluğu azaltabilir. Uyarıcı içeriği olan antidepresanlar (bupropion gibi) yorgunluğu doğrudan etki ile giderebilir. Nörolojik hastalıklara eşlik eden yorgunlukta kullanılan ve etkili olduğu gösterilmiş birkaç ilaç grubu vardır.

Uyarıcılar:

Dekstroamfetamin
Pemolin
Metil fenidat

Modafinil, Amantadin, Antidepresanlar

Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (fluoksetin, sertralin...)
Trisiklikler

Amantadin:

Bir dopaminerjik ajandır. Gerek dopamin salınımını artırarak, gerekse geri alımını baskılayarak etki eder. Ayrıca doğrudan dopamin reseptör

agonisti gibi de davranabilir. Terapotik dozlarda, striatumdan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör bağımlı asetil kolin salınımını inhibe eder. Her ne kadar, genellikle, yan etkileri tolere edilebilir düzeydeyse de bulantı, sersemlik, insomni, daha az olarak psikoz, ür,ner retansiyon ve korneal opasite görülebilir.

Nörolojik hastalıklarda etkinliği orta düzeydedir ve yukarıda sözü edilen tüm hastalıklarda kullanılabilir. .

Pemolin:

Pemolin, kimyasal olarak amfetamin ve metilfenidattan farklı bir SSS uyarıcısıdır. Farmakolojik olarak diğer uyarıcılar gibi dopamin üzerinden etki eder. Amantadinde olduğu gibi tedaviye yanıt veren hastalarda ilaç iyi tolere edilir. Ne var ki; az olmayan sayıda karaciğer yetmezliği bildirilmiştir. Anoreksi, iritabilite, istenmeyen kilo yitimi görülebilir. başka tedavilere yanıt vermeyen hastalarda ilk ilaç olarak kullanılmamalıdır.

Modafinil:

Yorgunluk tedavisinde kullanılan en yeni ajandır. Kimyasal ve farmakolojik olarak SSS uyarıcılarında farklıdır. Normal uyanıklığın düzenlenmesinde görevli Modafinil, tuberomamiller nükleustan gelen eksitatör yolları aktive ederek frontal lobta kortikal aktiviteyi artırır. Narkolepsi, obstruktif uyku-apne ve hipersomni gibi birçok durumda uyanıklığı uyardığı gösterilmiştir. MS'te yorgunluk üzerine en etkili ajan olarak bildiren çalışmalar vardır. MS dışındaki nörolojik hastalıklara eşlik eden yorgunlukta da etkin olarak kullanılabilceğini bildiren çalışmalar vardır.

Spastisite

Dr. Pakize Nevin SÜTLAÇ

Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi

Bir eklem, kişinin kendisini değil bir başkası tarafından hareket ettirilmeye çalışıldığında, artmış olarak bulunan dirence Spastisite denir. Kas tonusunun böyle, eksteremitenin pasif olarak hareket ettirmesi ile (kasların gerilmesi ile) muayene edilmesi anormalliğin niceliğini belirlemekten uzaktır. Klasik nöroloji eğitime göre, Üst MotorNöron Sendromu, kuvvet kaybı, refleks artışı, spastisite ve Babinski gibi belirtilerin bir bütünü olarak değerlendirilir. Bu bütünün parçalarının birbirlerinden ayrılmaz olduğu ve kortikospinal yolun hasarı ile oluştuğunu da kabul edilir. Spastisite konusunda bu klasik yaklaşımın yeterli olmadığını giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Örneğin hemisfer ya da omurilik düzeyinde sadece kortikospinal yolları tutan her hangi bir etkilenmenin ciddi bir spastisite yaratmaya yetmediği anlaşılmıştır. Ayrıca akut bir lezyon sonrasında spastisite gelişimi için değişken bir zaman dilimi söz konusudur. Kuvvetsizlik ve Babinski hemen oluştuğu halde spastisite haftalar, hatta aylar sonra oluşmaktadır. Bu nedenlerle, spastisite gelişimi için kortikospinal yolların etkilenmesi dışında, retikülospinal ve rubrospinal traktların da içinde olduğu diğer inen yolların da etkilenmesi gerekli olduğu bilinir. Spastisitenin akut bir lezyon sonrasında gecikerek gelişmesi ise bir dizi plastik değişimin gerçekleştiği anlamına gelir. Bu değişiklikler, reseptör düzeyinde hipersensitivite, gen uyarımında uzun süren değişiklikler, sağlam kalan diğer inen yollardan yeni dendrit ve akson filizlenmeleri ve yerel döngünün yeniden organize edilmesi şeklindedir. Akut bir olay sonrasında gelişen bireysel spastisite farklılıkları, hasardan geriye kalan gücün ne kadar olduğu kadar, restorasyonun ne kadar yapılabildiği ile de ilgilidir. Denny-Brown'ın (1980) "Spastisite tek bir refleks ya da

sinaptik transmittere yüklenemeyecek kadar karmaşık bir özüllüktür" şeklindeki sözleri hala kabul gören bir gerçeğin altını çizmektedir. Young (1994) "Pasif harekete karşı oluşan dirençte hızla bağlı bir artış" şeklinde yaptığı bir tanımlama ile, bazal ganglion disfonksiyonlarında gelişen ve iskelet sisteminin mekanik özelliklerinde uzun süreli değişiklikler şeklinde oluşan rijidite ile spastisitenin ayırt edilmesini kolaylaştırmıştır. Spastisite tipik olarak hızlı germeye karşı oluşan direnç artışıdır. Spastisitedeki sertlik artmasının asıl nedeninin fazık germe reflekslerinin aşırı artışı olduğuna inanılır. Ama fazık germe reflekslerinin nasıl olup da buna neden olduğunun kanıtlayacak yeterli çalışma yoktur. Her şeye rağmen spastisite konusunda teorik ve pratik zorluklar aşılanmamıştır.

Tedavi

Spastisitenin farklılıklar içeren doğası gereği tedavi yaklaşımları da çeşitlidir. Bazı kişilerde spastisite o kadar fazladır ki istemli hareketi olanaksız kılar. Bu, giderilmesi gerektiği konusunda herkesin fikir birliği içinde olduğu bir durumdur. Kasın kasılmasını sağlamaya yetecek kadar güç olduğunda, istemli hareketi sağlayan gücü mümkün olduğunca etkilemeden spastisitenin neden olduğu bozulma giderilmeye çalışılır. Bazen, istemli hareketleri yapabilecek yeterli güç bulunmaz. Bu durumda spastisiteyi gidermenin işlevsel bir yarar sağlamayacağı düşünülür. Ancak, gücü daha da kötüleştirmekten korkmadan, spastisiteyi yine de tedavi etmek gerekir. Spastisitenin giderilmesi, kas spazmlarına bağlı olan ağrıları yok eder, eklem kontraktürleri ve deri zedelenmelerini (bası yaraları) engeller ve bakıcıların işini kolaylaştırır. Alt eksteremitenin spastisitesi bazen ayakların sertleşmesi ile ayakta durmayı sağlıyor olabilir.

İlaç tedavileri

Spastisiteye bağlı olarak ağrı ve özüllülüğü olan herkes ilaç tedavisine alınmalıdır. Anksite bozukluğu, nöbet veya nöropatik ağrı gibi eşlik eden diğer durumlar ilaç kullanma gerekliliğini artırırlar. Spastisite bir nöronal hipereksitabilite hali olarak kabul edildiğinden, inhibitör nöronların gücünü arttırmak ve eksitatör olanların gücünü azaltmak planlanır. SSS'nin en temel inhibitör transmitteri Gama Amino Bütirik Asit (GABA)'dır. GABA'nın etkisini arttıran ilaçların yararlı olması beklenir:

Baklofen (Lioresal)

İlk başvuru oral ilaç konumundadır. Bir GABA agonistidir. Asıl etkisinin omurilik düzeyinde olması yüzünden intra-tekal kullanımı da vardır. Oral alımı ile beyinde de etkisi çıktığından sersemlik ve kognitif etkiler gibi yan etkileri yüksek doz kullanımı kısıtlıdır.

Etkin dozu kişiye ve duruma bağlı olarak değişebildiğinden farklı miktarlarda kullanılabilir.

Tizanidin (Sirdalud)

Baklofen kadar etkili olan bir diğer ilaçtır. Bir santral alfa 2 adrenerjik reseptör agonistidir. Genellikle eksitatör nörotransmitterlerin salınımını azaltarak nöronal döngüyü etkiler. Baklofen'den farklı bir mekanizma ile inhibisyon sağladığından birlikte kullanılabilirler. Ancak sedasyon ve kognisyon etkilenmesi gibi yan etkilerin de artacağı hesaba katılmalıdır.

Benzodiazepin'ler

Sinaptik GABA salınımını artırarak post sinaptik bölgede etki yaratırlar. Bu grup ilaçların geniş bir kullanım alanları vardır. Klonezepam gibi uzun süreli etkinliği olanlarının kronik tedavilerde yeri çoktur. İlaç kötüye kullanımları, kısa sürede etkinliği oluşmayan ve yarılanma ömrü kısa

olmayan cinslerinin kullanımı ile azaltılabilir. Etki mekanizmaları Baklofen ve Tizanidin'den farklı olduğundan birlikte kullanılabilirler. Diazepam, etkili bir antispastik ilaç olmasına rağmen zor tolare edilmesi ve bağımlılık yaratması yüzünden yeşlenmez. Uzun etkili olduğundan özellikle uykudaki gece spazmlarının giderilmesinde yarar sağlar.

Yeni grup anti-epileptik ilaçlar

Bu ilaçların GABA işleyişini etkileyerek yararlı olması beklenirse de bu konuda bir tavsiye oluşturulmasını sağlayacak yeterli klinik çalışma yoktur. Özellikle ilk basamak ilaç seçeneği oluşturmazlar. Gabapentin ve Tiagabin sinapsta GABA bulunmasını arttırmakta ve spastisite üzerinde sınırlı bir etkinlik göstermektedirler. Benzer şekilde eksitator sodyum ve potasyum kanallarını bloke eden karbamezapin, okskarbamezapin, lamotrijin, zonisamid ve topiramet gibi anti-epileptiklerin de özellikle iyi seçilmiş olgularda tedavide yeri vardır. Nöropatik ağrı varsa veya spastisiteye bağlı olarak hızlı, spazmodik veya klonik bir aktivite varsa bu tür anti epileptik ilaçlar yeşlenebilir.

Dantrolen;

Sarkoplazmik Retikulum'dan kalsiyum salınımını engelleyerek kas aktivitesini azaltır. Myonöral kontraktıl mekanizma üzerindeki bu etki spastisiteyi azaltırken beraberinde kasın gücünü de azaltır. Bu nedenle spastisite tedavisinde ilk aşama ilacı olarak değerlendirilmez.

İntra tekal Baklofen

Baklofen Pompası ağızdan ilaç alımı etkisiz olan yani spastisitesi dirençli olan olgularda kullanılır. Beyin Omurilik sıvısı (BOS) rostro-kaudal doğrultuda aktıktan, beyne ulaşabilen ilaç azdır ve yan etki minimal olur. Belirgin yan etkisi olmayan bir yöntem olmasına rağmen cerrahi bir işlem oluşu sorun yaratır. Genellikle tedavi dozunda çok iyi sonuç alınırken kas gücünde olumsuz bir etkilenme gelişmez. Alt ekstremiteler, ilacın uygulanma yeri yüzünden daha iyi yanıt verirlerse de üst ekstremitelerin hiç yararlanmayacağı düşünülmemelidir. Pompa kateterinin ucunun servikal bölgenin ortalarına denk gelecek şekilde yerleştirilmesi ile hem üst ekstremitede yanıtı elde edilir hem de aşağı doğru BOS akışı ile alt ekstremitede yeterince etkilenir. Pompa yerleştirilmeden önce bir intra-tekal test uygulaması yapılmalıdır. Bu test ile ilacın işe yarayıp yaramayacağı ve yarıyorsa ne kadar ilaç kullanılacağı belirlenir. Bu test çok dikkatli uygulanmalı ve çok dikkatli değerlendirilmelidir. Testin uygulamasından kaynaklanacak sorunlar kadar, işe yaramayacak bir kalıcı pompanın indikasyonsuz implantasyona neden olacağı gereksiz uğraş ve masraflardan da kaçınılmalıdır. Pompanın kendisi ve kullanılan ilacın yanı sıra operasyon maliyeti de düşünülürse oldukça pahalı bir yöntemdir. Bu nedenle en önemli kontrendikasyonu elde edilemeyeceği oluşturur. Türkiye'de bazı sosyal güvenlik kurumları maliyeti üstlenirken bazıları üstlenmemektedir.

Nörotoksin Tedavileri

İlaç tedavileri başarısız kaldığında kimyasal denervasyon yöntemleri kullanılabilir. Nörotoksinler hedefler iyi tanımlandığında yararlı sonuçlar verebilirler. Nörotoksin tedavisi ile spastisite azaltılırken kas gücünü korumak mümkün olmadığından ancak sınırlı bir kas grubunu tutan aşırı aktivite durumları gibi özel durumlarında kullanımlarının mantığı vardır.

Botolinyum toksini

Nöromusküler geçişte blokaj yapar. Kas güçsüzlüğüne neden olur ve nadiren de denervasyon belirtileri yapar. Yarattığı blok hem nikotik hem de muskarinik kolinerjik sinapsları kapsadığı için otonom sinir sistemi üzerinde lokal etkisi de olabilir. Etkilenen kasların spastisitesini azaltarak bir eklemdeki agonist ve antagonist kaslar arasında bozulan dengeyi düzeltme potansiyeli vardır. Tipik olarak üst ekstremitede anormal fleksiyona neden olan, özellikle parmaklar, bilek dirsek ve omuzdaki abduksiyonun tedavisinde işe yarayabilir. Yapılacak uygulamadan önce hedefin iyi belirlenmiş olması gerekir. Enjeksiyonlar sırasında EMG rehberliğinin şart olduğunu düşünenler kadar gerekmediğini ileri sürenler de vardır. Enjeksiyondan bir ay sonra kontrol muayenesi yapılmalıdır. Bu süre en etkin olduğu düşünülen zamandır. Hedefin ne olduğu hatırlanarak değerlendirme yapılmalıdır. Etkinlik yeterli değilse tedavinin devamını planlamamak gerekir. Ticari kullanımda Botolinum Toksin A ve Botolinum Toksin B olarak iki ayrı serotipi vardır. Her ikisi de kolinerjik sinapslardaki sinaptik geçişi durdurur ama moleküler hedefleri farklıdır. Ayrıca etkinlikleri arasında da farklar olduğundan doz hesaplarına dikkat edilmelidir. Ülkemizde bulunan Botox ve Dysport farklı dozda Botolinum Toksin A içerir.

Botolinum Toksin B yurtdışında Myoblock adıyla bulunmaktadır. 50 kat daha potent olmasına rağmen 50'de biri gibi bir doz eşitlemesi ile aynı oranda etkinlik elde edilememektedir. Botolinum Toksin B , komiü kaslara daha çok yayılmakta ve ağız kuruluşu başta olmak üzere sempatik blokaj belirtileri başta olmak üzere daha çok yan etkiye neden olmaktadır. Her iki alt grubun farklılıklarını belirleyecek yeterli çalışma bulunmamaktadır. A daha çok kullanılan ve yeğlenen formdur. Maliyeti yüksek olan bir tedavidir.

Lokal anestetikler

Bunlar sinir iletimini durdukları gibi kas gevşemesi de yaratırlar. Phenol de geçiş blokajına neden olabilir. Asıl sorunu alt ekstremitede spastisitesi olan yürüyen hastalarda önerilmiştir. Yeterince yararlı olduğu düşünülmemektedir.

Diğer Tedavi Denemeleri

Fiziksel egzersizlerin çok yararı vardır. Pasif germe teknikleri oldukça yararlıdır. Fizik tedaviler spastisiteyi azalttığı gibi eşlik eden postür bozuklukları v,b hedefleyerek ek yararlar sağlayabilir. Yüzme ve su içinde yapılan her türlü egzersiz yararlıdır .

Üriner enfeksiyon gibi zararlı uyarıların kesilmesi tedavide önem taşır. Mekanik motor blokaj ve cerrahi kesiler de zorunlu durumlarda yapılabilir. MS'de genellikle uyku öncesinde yoğunlaşan spazmlarda. Baklofen, Tiazidin denenebileceği gibi, Klonezapam ve Diazepam da kullanılabilir. Benzodiazepinlerin antispastik etkisi kadar sedasyon etkisi de yararlı olmaktadır. Gabapentin (Neurontin) çözülmeyen spazmlarda yarar sağlayabilir. Nadiren düşük doz L-Dopa ya da Dopamin agonistleri kullanılır. Bir serotonin antagonistisi olan Siproheptadin de sedasyon yaratacak yüksek dozlarda yararlı olabilir.

Yüzyıllardır ilaç yapımında ve bitkisel tıpta kullanılan bir kannaboid olan Marijuana'dan MS tedavisinde son yıllarda çok söz edilmektedir. Marijuana bir D9-tetrahidrocannabinol'dür. İnsan bedeninde kanaboidler için CB ve CB olmak üzere iki endojen reseptör ve arachadonik12 asit kökenli bir dizi endojen ballayıcı bulunduğu saptanmıştır. Beyinde belli bölgelerdeki nöronların akson ve sinir uçlarında CB reseptörleri bulunur. Marijuana ve diğer kannaboidler CB reseptörlerine agonist etki ile amino asit nörotransmitterlerin ve mono aminlerin salınımını inhibe ederek sinaptik

işleyişi etkilerler. Uzun süredir kullanılmasına rağmen, Marijuana'nın tedavi edici etkisi olup olmadığı konusundaki tartışma bitmemiştir..

Yararlanılabilecek Kaynaklar

1. Aoki KR. Pharmacology and immunology of botulinum toxin type A . Clin Dermatol. 2003;21(6):476-80.
2. Auer C, Siebner HR, Dressnandt J, Conrad B. Intrathecal baclofen increases corticospinal output to hand muscles in multiple sclerosis. Neurology 999;52(6):1298-1299.
3. Barnes MP, Spasticity in multiple sclerosis. Neurorehabil Neural Repair. 2003;17(1):66-70.
4. Beard S, Treatments for spasticity and pain in multiple sclerosis: a systematic review. Health Technol Assess. 2003;7(40):iii, ix-x, 1-111.
5. Brinn MF. Dosing administration, and a treatment algorithm for use of Botulinum toxin A for adult-onset spasticity. Muscle and Nerve 1997 (suppl 6) S208-S220
6. Davis EC, Barnes MP. Botulinum toxin and spasticity. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry 2000;69(2):143-7.
7. de Lago E, Ligresti A, Ortar G, Morera E, et al. In vivo pharmacological actions of two novel inhibitors of anandamide cellular uptake. Eur J Pharmacol. 2004 ;26;484 (2-3):249-57.
8. Douglas Goodin. Marijuana and multiple sclerosis. The Lancet Neurology 2004; 3(2) 81-82
9. Dressnandt J, Conrad B. Lasting reduction of severe spasticity after ending chronic treatment with intrathecal baclofen. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry 1996;60(2):168-173.
10. Dressnandt J, Weinzierl FX, Tolle TR, Konstanzer A, Conrad B. Acute overdose of intrathecal baclofen. Journal of Neurology 1996;243(6):482-483.
11. Dum RP, Strick PL. The corticospinal system: a structural framework for the central control of movement. In Rowell LB, Shepherd JT, editors. Handbook of physiology, section 12: Exercise: regulation and integration of multiple systems. New York: American Physiological Society, 1996: 217-254.
12. Gianino JM, York MM, Paice JA, Shott S. Quality of life: effect of reduced spasticity from intrathecal baclofen. Journal of Neuroscience Nursing 1998;30(1):47-54.
13. Göbel H, Reduction of spastic increased muscle tone in multiple sclerosis by the nonopioid analgesic flupirtine] Schmerz. 1999 ;15;13(5):324-31.
14. Gross RE, Lozano AM. Advances in neurostimulation for movement disorders. Neurological Research 2000;22(3):247-258.
15. Handbook of Multiple Sclerosis. Ed. S.D. Cook. 3th edition 2001. Marcel Decker. Symptomatic Therapy. R. T. Schapiro. 602-603
16. Hawker K, Frohman E, Racke M Levetiracetam for phasic spasticity in multiple sclerosis. Arch Neurol. 2003;60(12):1772-4.
17. Hooper J, Taylor R, Pentland B, Whittle IR. A prospective study of thalamic deep brain stimulation for the treatment of movement disorders in multiple sclerosis. British Journal of Neurosurgery 2002;16(2):102-109.
18. Hyman N, Barnes M, Bhakta B, et al. Botulinum toxin (Dysport) treatment of hip adductor spasticity in multiple sclerosis: a prospective, randomised, double blind, placebo controlled, dose ranging study. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry 2000;68(6):707-712.
19. Ivanhoe CB, Tilton AH, Francisco GE. Intrathecal baclofen therapy for spastic hypertonia. Physical Medicine & Rehabilitation Clinics of North America 2001;12(4):923-938, viii-ix.
20. Jarrett L, Managing severe lower limb spasticity in multiple sclerosis: does intrathecal phenol have a role? J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2002 ;73(6):705-9.
21. Kamensek J. Continuous intrathecal baclofen infusions. An introduction and overview. AXON 1999;20(4):93-98.
22. Killestein J, Uitdehaag BM, Polman CH. Cannabinoids in multiple sclerosis : do they have a therapeutic role? Drugs. 2004;64(1):1-11
23. Killestein J, Hoogervorst ELJ, Reif M, et al. Safety, tolerability, and efficacy of orally administered cannabinoids in MS. Neurology 2002;58: 1404-07
24. Krause P, Straube A. Repetitive magnetic and functional electrical stimulation reduce spastic tone increase in patients with spinal cord injury. Suppl Clin Neurophysiol. 2003;56:220-
25. Li Y, Gorassini MA, Bennett DJ. Role of persistent sodium and calcium currents in motoneuron firing and spasticity in chronic spinal rats. J Neurophysiol. 2004; ;91(2):767-83.
26. Maupas E, Marque P, Roques CF, Simonetta-Moreau M. Modulation of the transmission in group II heteronymous pathways by tizanidine in spastic hemiplegic patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004;75(1):130-5.
27. Miles J, Intrathecal treatment for spasticity. Stereotact Funct Neurosurg. 2001;76(3-4):246-4. 8.
28. Paisley S, Clinical effectiveness of oral treatments for spasticity in multiple sclerosis: a systematic review. Mult Scler. 2002 ;8(4):319-
29. Pistolesi D, Selli C, Rossi B, Stampacchia G. Botulinum toxin type B for type a resistant bladder spasticity. J Urol. 2004;171(2 Pt 1):802-3.
30. Rushton DN; Cost-effectiveness comparison of tizanidine and baclofen in the management of spasticity. Pharmacoeconomics. 2002;20(12):827-37.
31. Salame K, Surgical treatment of spasticity by selective posterior rhizotomy: 30 years experience. Isr Med Assoc J. 2003;5(8):543-6.
32. Shakespeare D , Anti-spasticity agents for multiple sclerosis. Cochrane Database Syst Rev. 2003;4:CD001332.
33. Sommerfeld DK, Eek EU, Svensson AK, Holmqvist LW, von Arbin MH. Spasticity after stroke: its occurrence and association with motor impairments and activity limitations. Stroke. 2004 ;35(1):134-9.
34. Spasticity. The current status of research and treatment. Ed by; Emre M, Benecke R. The Parthenon publishing Group. Inc. 1989. U.K Neurobiology of Spasticity. Oertel W.H. 27-45.
35. Vidal J, Gregori P, Guevara D, Portell E, Valles M. Efficacy of intrathecal morphine in the treatment of baclofen tolerance in a patient on intrathecal baclofen therapy (ITB). Spinal Cord. 2004 Jan;42(1):50-1.
36. Zafonte RD, Munin MC. Phenol and alcohol blocks for the treatment of spasticity. Phys Med Rehabil Clin N Am 2001;12:817-32.
37. Zajicek J, Fox P, Sanders H, et al. Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS Study) :multicentre randomised placebo-controlled trial. Lancet 2003; 362:1517-26