



**T. C.**

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**FİNGOLİMOD TEDAVİSİ ALAN MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA  
B LENFOSİT ALT GRUPLARININ İZLEMİ VE KLİNİK KORELASYONU**

**Dr. Cansu Sarıkaya**

**Nöroloji Anabilim Dalı**

**Uzmanlık Tezi**

**2021**



**T. C.**

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**FİNGOLİMOD TEDAVİSİ ALAN MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA B  
LENFOSİT ALT GRUPLARININ İZLEMİ VE KLİNİK KORELASYONU**

**Dr. Cansu Sarıkaya**

**Nöroloji Anabilim Dalı**

**Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Hüsnü Efendi**

**19.02.2019/ KİA-2019/70**

**2021**

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	I
TEŞEKKÜR.....	III
KISALTMALAR .....	IV
TABLO VE RESİM LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ .....	IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XII
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. EPİDEMİYOLOJİ.....	2
2.2. ETİYOLOJİ.....	2
2.3. PATOLOJİ VE İMMÜNOLOJİ.....	4
2.3.1. PATOLOJİ .....	4
2.3.2. İMMÜNOLOJİ .....	5
2.3.2.1. T HÜCRELERİ.....	5
2.3.2.2. B HÜCRELERİ.....	7
2.3.2.3. NATURAL KİLLER HÜCRELERİ .....	12
2.3.2.4. SİTOKİNLER VE KEMOKİNLER.....	13
2.3.3. KLİNİK ÖZELLİKLER.....	15
2.3.4. KLİNİK FENOTİPLER .....	18
2.3.4.1. KLİNİK İZOLE SENDROM .....	19
2.3.4.2. RELAPSİNG REMİTTİNG MS .....	20
2.3.4.3. PRİMER PROGRESİF MS.....	20
2.3.4.4. SEKONDER PROGRESİF MS .....	20
2.3.5. TANI .....	21
2.3.5.1. TANIYA YARDIMCI TESTLER .....	24
2.3.5.1.1. MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEME .....	24
2.3.5.1.2. BEYİN OMURİLİK SIVISI İNCELEMELERİ .....	24
2.3.5.1.3. UYARILMIŞ POTANSİYELLER.....	25

2.3.5.1.4. OPTİK KOHERENS TOMOGRAFİ .....	25
2.3.5.2. AYIRICI TANI .....	26
2.3.5.3. PROGNOZ.....	27
2.3.6. TEDAVİ.....	27
2.3.6.1. AKUT ATAK TEDAVİSİ .....	27
2.3.6.2. DÜZENLEYİCİ TEDAVİLER.....	28
2.3.6.2.1. BİRİNCİ BASAMAK TEDAVİLER.....	28
2.3.6.2.1.1. INTERFERON BETA.....	28
2.3.6.2.1.2. GLATİRAMER ASETAT .....	28
2.3.6.2.1.3. TERİFLUNOMİD .....	29
2.3.6.2.1.4. DİMETİL FUMARAT .....	29
2.3.6.2.2. İKİNCİ BASAMAK TEDAVİLER.....	30
2.3.6.2.2.1. FİNGOLİMOD.....	30
2.3.6.2.2.2. NATALİZUMAB.....	31
2.3.6.2.3. ÜÇÜNCÜ BASAMAK TEDAVİLER.....	32
2.3.6.2.3.1. ALEMTUZUMAB.....	32
2.3.6.2.3.2. OKRELİZUMAB.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	33
3.1. HASTA SEÇİMİ.....	33
3.1.1. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ .....	33
3.1.2. ÇALIŞMADAN DIŞLAMA KRİTERLERİ.....	33
3.2. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	34
3.3. FLOW SİTOMETRİ .....	34
3.4. GENİŞLETİLMİŞ ÖZÜRLÜLÜK DURUM ÖLÇEĞİ (EDSS).....	35
3.5. İSTATİKSEL ANALİZ .....	36
4. SONUÇLAR .....	37
4.1. DEMOGRAFİK VE KLİNİK VERİLER .....	37
4.2. İMMÜNOLOJİK VERİLER.....	39
5. TARTIŞMA .....	50
KAYNAKLAR .....	56

## TEŞEKKÜR

Tıp fakültesi öğrenciliğimden itibaren nörolojiyi benimseyerek ihtisas alanı olarak seçmemde en büyük katkısı olan, uzmanlık eğitimim süresince de engin bilgi ve tecrübeleri ile her zaman rehberlik etmiş saygıdeğer hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Hüsnü Efendi'ye,

İhtisasım boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Faik Budak'a, Prof. Dr. H. Macit Selekler'e, Prof. Dr. Pervin İşeri'ye, Prof. Dr. Ayşe Kutlu'ya, Doç. Dr. Aybala Neslihan Alagöz'e, Dr. Öğretim Üyesi Serap Mülayim'e ve Uzm. Dr. Sena Destan Bünül'e,

Tezim kapsamında katkılarını ve danışmanlığını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Gülçin Gacar'a,

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma,

Tezimdeki hastaların organizasyonunda özveri ile çalışan Şenay Tıknaç'a,

Hayattaki her adımında yanımda olan, sevgisi ve desteğini hiç esirgemeyen, bugünlere ulaşmamda en büyük rolü olan canım aileme,

Bu zorlu süreçte desteği, sevgisi ve sabrı ile her zaman yanımda olan yol arkadaşım, hayat eşim Dr. Caner Sarıkaya'ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Cansu Sarıkaya

2021

## KISALTMALAR

**1,25 (OH)2D:** 1,25-dihidroksivitamin D

**ACTH:** Adrenokortikotropik hormon

**ALT:** Alanin aminotransferaz

**AST:** Aspartat transaminaz

**BOS:** Beyin omurilik sıvısı

**CADASIL:** Serebral otozomal dominant subkortikal enfarkt ve lökoensefalopati

**CCR:** Kemokin Reseptör

**CD:** Cluster Of Differentiation

**CXCL:** Kemokin (C-X-C Motif) Ligand 1

**DMF:** Dimetil fumarat

**DOE:** Deneysel otoimmün ensefalomyelit

**EBNA-1:** EBV nükleer antijen 1

**EDSS:** Expanded Disability Status Scale (Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği)

**EBV:** Epstein-Barr virüsü

**FLAIR:** Fluid-attenuated inversion recovery

**GA:** Glatiramer asetat

**Gd:** Gadolinyum

**GM-CSF:** Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör

**HHV-6:** Human herpes virüs

**HIV:** İnsan immün yetmezlik virüsü

**HLA:** İnsan lökosit antijeni

**HTLV-1:** İnsan T hücreli lenfotropik virüs tip 1 enfeksiyonu

**ICAM-1:** İntrasellüler adezyon molekülü-1

**IFN-  $\beta$ :** İnterferon-beta

**IFN $\gamma$ :** İnterferon Gamma

**Ig:** İmmunglobulin

**IL:** İnterlökin

**IL2RA:** İnterlökin-2 reseptör alfa geni

**IL7RA:** İnterlökin-7 reseptör alfa geni

**INO:** İnternükleer oftalmopleji

**IVMP:** İntravenöz metilprednizolon

**JCV:** John Cunningham Virüsü

**KBB:** Kan-beyin bariyerinin

**KİS:** Klinik izole sendrom

**LFA-1:** Lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1

**MAC-1:** Makrofaj antijen-1

**MACFIMS:** Minimal Assessment of Cognitive Function

**MAG:** Miyelin associated glikoprotein

**MAGNIMS:** Multipl Sklerozda Avrupa Manyetik Görüntüleme Grubunun

**MAPK:** MAP kinaz

**MBP:** Miyelin basic protein

**MHC:** Majör Histokompatibilite Kompleksi

**MLF:** Medial longitudinal fasikulus

**MMP:** Matriks metalloproteinazları

**MOG:** Miyelin oligodendrosit glikoprotein

**MR:** Manyetik rezonans

**MRG:** Manyetik rezonans görüntüleme

**MS:** Multipl Skleroz

**NK:** Natural killer

**NKT:** Doğal öldürücü T

**OCT:** Optik koherens tomografi

**OKB:** Oligoklonal bantların

**PLP:** Proteolipid protein

**PML:** Progresif multifokal lökoensefalopati

**PPMS:** Primer progresif MS

**PRMS:** Progresif relapsing MS

**RaoBRNB:** Rao Brief Repeatable Neuropsychological Battery

**RIS:** Radyolojik izole sendrom

**RNFL:** Retina sinir lifi tabakası

**RRMS:** Relapsing remitting MS

**S1P:** Sfingozin-1-fosfat

**S1PR:** Sfingozin-1-fosfat reseptörü

**SEP:** Somatosensoriyel uyarılmış potansiyeller

**SphK1 / 2:** Sfingosin kinaz-1 veya -2



**SPMS:** Sekonder progresif MS

**SSS:** Santral sinir sistemi

**TCF-1:** T-hücre faktörü 1

**TCR:** T hücresi reseptörü

**Th-1:** T helper-1

**Th-17:** T helper-17

**Th-2:** T helper-2

**TNF $\alpha$ :** Tümör Nekroz Faktör alfa

**UV:** Ultraviyole

**VCAM:** Vasküler adezyon molekülü

**VEP:** Görsel uyarılmış potansiyeller

**VLA-4:** Alfa 4-integrin

## TABLO VE RESİM LİSTESİ

Sayfa No

<b>Tablo 1:</b> Revize (2017) Mc Donald tanı kriterleri .....	23
<b>Tablo 2.</b> Hastaların demografik verilerinin ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması.....	38
<b>Tablo 3.</b> Tedavi öncesi ve tedavinin altıncı ayında Fingolimod ve kontrol grubunun hücre alt tiplerinin değerleri .....	47
<b>Resim 1.</b> B hücresi alt tipleri ve yüzey markerları.....	7
<b>Resim 2.</b> MS immünopatogenezi .....	8
<b>Resim 3.</b> Enflamatuvar yanıt ve miyelin ve aksonların harabiyeti.....	10
<b>Resim 4.</b> MS immünopatogenezinde B hücreleri.....	11
<b>Resim 5.</b> Doğal immün hücreler tarafından salınan sitokinlerin MS'e potansiyel katkısı ve insan veya hayvan model verilerinde hücre farklılaşmasındaki rolleri.....	15
<b>Resim 6:</b> BD FACS Calibur akım sitometri cihazı.....	35
<b>Resim 7.</b> Lenfosit ve B hücre alt tiplerinin akım sitometrisinde kapı alma işlemi.....	41

## ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

<b>Şekil 1:</b> MS fenotipleri .....	19
<b>Şekil 2.</b> Fingolimod ve kontrol gruplarında tedavi sonrası lenfosit sayısının değişimi ...	39
<b>Şekil 3.</b> CD45 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	40
<b>Şekil 4.</b> CD19 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	42
<b>Şekil 5.</b> CD20 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	42
<b>Şekil 6.</b> CD22 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	43
<b>Şekil 7.</b> CD3 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	44
<b>Şekil 8.</b> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	45
<b>Şekil 9.</b> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması.....	45

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Multipl Skleroz (MS), santral sinir sisteminin (SSS) en yaygın izlenen kronik inflamatuvar, demyelinizan hastalığıdır. MS etiyolojisi net olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin tetiklediği otoimmün bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Tarihsel olarak Multipl skleroz T hücre aracılı otoimmün hastalık olarak sınıflandırılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar B hücrelerinin önemli bir katkısı olduğuna dair kanıtlar ortaya çıkarmaktadır. Relaps ve remisyonlarla seyirli MS hastalarında atak sıklığını azaltmak ve hastalığın ilerleme hızını yavaşlatmaya yönelik kullanılan Fingolimod lenfositler üzerinde eksprese edilen sfingozin-1-fosfat (S1P) reseptörleri üzerinden etki göstermektedir. Aktif şekli olan fingolimod-fosfat, antagonist rol oynayarak T hücre yüzeyinde S1P1'e bağlanır ve hücrenin lenf nodlarından dolaşıma çıkmasına engel olur. Fingolimod ile ilgili şimdiye kadar ki yapılan çalışmalarda, Fingolimod etki mekanizması ağırlıklı olarak T lenfositler üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır. Bu çalışma ile Fingolimod tedavisi alan hastalarda B lenfosit alt gruplarının, diğer tedavi modalitelerini alan hastalar ile karşılaştırılması ve bu kapsamda Fingolimod'un B lenfositler üzerindeki etkilerinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Hastalar, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi MS polikliniğinde yeni koruyucu tedavi başlanması planlanan hastalar arasından seçilmiştir. Fingolimod ve kontrol grubu olarak birinci basamak tedavilerin başlanmasının planlandığı hastalardan tedavi öncesi ve tedavinin altıncı ayında kan örnekleri alınarak Flow Sitometri Labaratuvarı'nda lenfosit alt grup analizleri yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamıza Fingolimod başlanması planlanan 48 hasta ile birinci basamak tedavilerin başlanmasının planlandığı 33 hasta dahil edildi. İki grup arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark saptanmadı. Akım sitometri analizlerinde B hücre alt tipleri açısından incelendiğinde CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> ve CD22<sup>+</sup> hücre sayısı ve yüzdelerinde her iki grup arasında başlangıçta anlamlı fark yok iken tedavi sonrası Fingolimod grubunda bu parametrelerin tümünde belirgin düşüş izlendi. T hücre alt tipleri açısından incelendiğinde CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> yardımcı T hücre ve CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> sitotoksik T hücre sayılarında tedavi sonrası Fingolimod grubunda anlamlı düşüş izlendi. CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> hücre yüzdesinde azalma izlenirken CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> hücre yüzdesindeki artış dikkat çekmiştir. Fingolimod tedavisi

sonrası CD4/CD8 oranının CD8 lehine değiştiği gözlendi. CD3<sup>-</sup> CD16/56<sup>+</sup> NK hücrelerinde ise Fingolimod grubunda tedaviden sonraki analizlerde hücre yüzdesinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. Ancak hücre sayısında anlamlı farklılık izlenmedi.

**Tartışma:** Çalışmamızdaki bulgular neticesinde Fingolimod'un total lenfosit sayısı beraberinde lenfosit alt gruplarını da belirgin etkilediği; sadece periferdeki oтореaktif lenfositlerin sayısını azaltmakla kalmadığı, aynı zamanda B hücre alt kümelerinin bileşimini de değiştirdiği izlenmiştir. B lenfositlerin MS'de artan önemi göz önünde bulundurulduğunda Fingolimod'un B lenfositler üzerindeki bu etkisinin etkinliğine katkı sağladığı düşünölmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Multipl Skleroz, İmmünoloji, Fingolimod, B lenfosit

**Yazar Adı:** Dr. Cansu Sarıkaya

**Danışman Öğretim Üyesi:** Prof. Dr. Hüsnü Efendi

## ABSTRACT

**Background and Aim:** Multiple Sclerosis (MS) is the most common chronic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system (CNS). Although the etiology of MS is not known clearly, it is thought to be an autoimmune disease triggered by genetic and environmental factors. Historically, Multiple sclerosis has been classified as a T cell mediated autoimmune disease. However, studies reveal evidence that B cells make an important contribution. Fingolimod, which is used to decrease the frequency of attacks and slow down the progression rate of the disease in MS patients, acts through the sphingosine-1-phosphate (S1P) receptors expressed on lymphocytes. The active form of fingolimod-phosphate plays an antagonist role and binds to S1P1 on the T cell surface and prevents the cell from leaving the lymph nodes. So far, studies on Fingolimod have focused mainly on T lymphocytes. In this study, we aimed to compare B lymphocyte subgroups in patients who received Fingolimod treatment with patients who received other treatment modalities, and to observe the effects of Fingolimod on B lymphocytes in this context.

**Method:** The participants were selected among the patients who were planned to start new treatment in the MS outpatient clinic of Kocaeli University Medical Faculty Hospital. Before treatment and in the sixth month of treatment, blood samples were taken from patients who planned to start Fingolimod and other treatments as a control group. Lymphocyte subgroup analyses were performed in Flow Cytometry Laboratory.

**Results:** 48 patients who were planned to start Fingolimod and 33 patients who were planned to start first-line treatments were included in our study. There were no significant differences between the two groups in terms of age and gender. Flow cytometry analyzes showed there was no significant difference between the two groups in terms of the number and percentages of CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> and CD22<sup>+</sup> cells at the beginning, while a significant decrease was observed in all of these parameters in Fingolimod group after treatment. A significant decrease was observed in the number of CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> helper T cells and CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> cytotoxic T cells in the Fingolimod group after treatment. While a decrease in the percentage of CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> cells was observed, the increase in the percentage of CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> cells was remarkable.

After fingolimod treatment, we observed the CD4 / CD8 ratio changed in favor of CD8. In the analysis after treatment in the Fingolimod group, a statistically significant increase in the cell percentage was found in CD3<sup>+</sup> CD16 / 56<sup>+</sup> NK cells. However, there was no significant difference in cell number.

**Discussion:** As a result of the findings in our study, Fingolimod significantly affects lymphocyte subgroups as well as total lymphocyte count. It has been observed that it not only decreases the number of autoreactive lymphocytes in the periphery, but also changes the composition of the B cell subgroups. Considering the increasing importance of B lymphocytes in MS, it is thought that this effect of Fingolimod on B lymphocytes contributes to its effectiveness.

**Keywords:** Multiple Sclerosis, Immunology, Fingolimod, B lymphocyte

**Author Name:** Dr. Cansu Sarıkaya

**Counsellor:** Prof. Dr. Hüsnü Efendi

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Skleroz (MS), santral sinir sisteminin (SSS) en yaygın izlenen kronik inflamatuvar, demyelinizan, otoimmün hastalığıdır <sup>1</sup>.

Tarihte çok daha eskilere dayandığı düşünülen MS'li ilk vaka, 1824 yılında Charles Prosper Ollivier d'Angers tarafından bildirilmiştir. MS'in neden olduğu patolojik beyin hasarı ilk kez 1838'de Robert Carswell tarafından yayınlanmıştır. 1841'de Jean Cruveilhier, MS'in patolojik tutulumunu kitabında sunmuştur. Edme Vulpian ve Jean-Martin Charcot, genç erişkin paralizi ile izlenen hastaların otopsi serilerinde beyin, beyin sapı ve spinal kordda gri plakları not etmişlerdir. 1866 yılında Vulpian yayınladığı serilerde ilk kez sclerose en plaque disseminee tanımını kullanmıştır <sup>2</sup>.

Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik, çevresel faktörler ile otoimmün mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Genç erişkinlerde ve kadınlarda daha sık izlenmektedir <sup>3</sup>. Son açıklanan verilere göre dünyada 2.3 milyon hasta olduğu bilinmektedir <sup>4</sup>.

Tarihsel olarak Multipl skleroz T hücreli aracılı otoimmün hastalık olarak sınıflandırılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar B hücrelerinin önemli bir katkısı olduğuna dair kanıtlar ortaya çıkarmaktadır. B hücrelerinin MS patogenezinin katkısı, B hücresi bazlı immünoterapilerin başarısı ile de desteklenmiştir <sup>5</sup>.

Relaps ve remisyonlarla seyirli Multipl Skleroz hastalarında atak sıklığını azaltmak, hastalığın ilerleme hızını yavaşlatmaya yönelik; interferon- $\beta$ , glatiramer asetat, teriflunomid ve dimetilfumarat birinci basamak tedavileri oluşturmaktadırlar. İkinci basamak tedavilerden biri olan Fingolimod'un etki mekanizması lenfositler üzerinde eksprese edilen sfingozin-1-fosfat (S1P) reseptörleri üzerinden gerçekleşmektedir. Aktif şekli olan fingolimod-fosfat, antagonist rol oynayarak T hücre yüzeyinde S1P1'e bağlanır ve hücrenin lenf nodlarından dolaşıma çıkmasına engel olur. Böylece merkezi sinir sistemine göç eden enflamatuvar hücrelerin sayısını azaltır <sup>6,7</sup>.



Fingolimod ile ilgili şimdiye kadar ki yapılan çalışmalarda, Fingolimod etki mekanizması ağırlıklı olarak T lenfositler üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır. Bu çalışma ile Fingolimod tedavisinin diğer tedavi modalitelerini alan hastalar ile karşılaştırılarak Fingolimod'un B lenfositler üzerindeki etkilerinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. EPİDEMİYOLOJİ**

Multipl Skleroz, 25 ila 40 yaş arası genç erişkinlerde ve kadınlarda sık görülmektedir<sup>8</sup>. Kadın/erkek oranının çoğu gelişmiş ülkelerde 3/1' e yükseldiği izlenmiştir<sup>9</sup>. Beyaz ırkta, sarı ve siyah ırka oranla daha sık izlenmektedir. Genellikle 15-50 yaş aralığında görülmekle birlikte, 15 yaşından önce ve 50 yaştan sonra da izlenebilmektedir<sup>10</sup>.

Multipl sklerozun global medyan prevalansı, 33/100.000'dir. İnsidans ve prevalans oranları, dünya genelinde artmaya devam etmektedir. En yüksek prevalans değerleri Kuzey Amerika'da 140/ 100.000 ve Kuzey Avrupa'da 108/ 100.000 olarak izlenmektedir. Asya ve Sahra altı Afrika ülkeleri en düşük prevalansa sahiptir (Sırasıyla 2.2/100.000 ve 2.1/100.000)<sup>11,12</sup>.

Türkiye' de ulusal prevelans çalışması bulunmamakla birlikte, bölgesel küçük çaplı çalışmalar mevcuttur. 2017 yılında yayınlanan bir çalışmada Orta Karadeniz bölgesinde MS prevalansı 43.2/100.000 olarak saptanmıştır<sup>13</sup>. 2018 de yayınlanan başka bir çalışmada Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinde yer alan 3 kıyı kenti karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda Artvin'de 18.6 / 100.000, Ordu'da 55.5 / 100.000, Gazipaşa'da 52.00 / 100.000 olarak bulunmuştur. Enlem farkı izlenmemiştir<sup>14</sup>.

### **2.2. ETİYOLOJİ**

MS etiyojisi net olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin tetiklediği otoimmün bir hastalık olduğu düşünülmektedir<sup>15,16</sup>.

MS hastalarının birinci derece akrabaları arasında MS riski, genel popülasyondan 10-50 kat daha yüksektir (mutlak risk % 2-5). Monozigotik ikizlerde konkordans oranı yaklaşık üçte biri kadardır<sup>17</sup>.

Genom çalışmaları sonucunda birçok gen lokusu risk faktörü olarak ortaya koymuştur. İnsan lökosit antijeni (HLA) alt tiplerinden HLA- DRB1\*15:01 /HLA-DQB1\*06:02 haplotipleri, en güçlü genetik risk ile ilişkilendirilmiştir<sup>18, 19</sup>.

Daha yakın zamanlarda, interlökin-2 reseptör alfa geni (IL2RA) ve interlökin-7 reseptör alfa geni (IL7RA) alelleri de kalıtsal risk faktörleri olarak tanımlanmıştır<sup>20</sup>.

Çevresel faktörler arasında MS’de birçok enfeksiyöz ajan araştırılmıştır. Epstein-Barr virüsü (EBV) başta olmak üzere bazı virüslerin MS ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. MS gelişme riski çocukluk çağında EBV enfeksiyonu öyküsü olan kişilerde yaklaşık 15 kat, adeosan dönemde veya daha sonraki yaşlarda EBV ile enfekte olanlar arasında yaklaşık 30 kat daha yüksek saptanmıştır. EBV'nin MS riskini artırdığı mekanizma ile ilgili kanıtlar heterojendir; moleküler benzerlik tarihsel olarak popüler bir teoridir. Daha yakın zamanlarda, EBV'nin indüklediği B hücre ölümsüzleşmesi ve/ veya transformasyonunun hastalık gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir<sup>21</sup>. MS başlangıcından yıllar önce EBV nükleer antijen 1 (EBNA-1) titrelerinin serumda yükseldiği, kontrol grubuna göre anlamlı derecede MS hastalarında yüksek seyrettiği izlenmiştir<sup>22</sup>.

Human herpes virüs (HHV-6), patolojik çalışmalarda MS plaklarında ortaya konulmuştur. MS hastalarını serum ve beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde HHV-6 DNA’ları yüksek oranda saptanmıştır<sup>23</sup>.

Multipl sklerozda D vitamini eksikliği yoğun şekilde araştırılmıştır. İn vitro ve MS hayvan modellerinde aktif form olan 1,25-dihidroksivitamin D [1,25 (OH) 2D]’nin, aktive lenfositlerde, miyeloid hücrelerde ve glialarda anti-enflamatuar role sahip olduğu gözlenmiştir<sup>30,31</sup>. Yeterli güneş ışığı alan ve vitamin D den zengin besin ürünleri tüketen toplumlarda MS gelişim riski daha düşük izlenmiştir<sup>16</sup>. Relapsing remitting MS tanısı alan hastalarda düşük 25 (OH) D seviyelerinin, sekonder progresif MS’e erken dönüşümle ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar ortaya konulmuştur<sup>24</sup>.

Hastalığın coğrafi dağılımında başlıca bölgesel ultraviyole (UV) ışınları seviyelerindeki farklılıkların rol oynadığı düşünülmektedir. UV ışınlarının T helper tip 1 aracılı otoimmün hastalıklarda koruyucu rolü üzerinde durulmaktadır. Çocukluk ve erken ergenlik döneminde daha fazla güneşe maruz kalma ve daha yüksek aktinik hasar, multipl skleroz

riskinde azalma ile ilişkilidir. UV ışınları D vitamininin aktifleşmesini sağlayarak progresyonu baskılamaktadır <sup>25</sup>.

Göç çalışmaları, çevresel maruziyetin etkisine kanıt oluşturmaktadır. Batı Hint adaları gibi düşük riskli ülkelerden Avrupa'ya yapılan yetişkin göçlerde, MS gelişme riski düşük saptanmıştır. Ancak, Avrupa'da göçmen olarak doğan çocuklar yüksek risk altındadır <sup>26</sup>.

Sigara ile ilgili çalışmalar yapılmış olup, sigara içenlerde MS gelişim riskinin daha yüksek olduğu izlenmiştir <sup>27</sup>. Klinik izole hastalarda MS'e dönüşüm riskinin artırdığı ve relapsing remitting MS hastalarında sekonder progresif MS'e geçişi hızlandırdığı gözlenmiştir <sup>28, 29</sup>.

Bunlar dışında Varicella zoster virüsü, Chlamydia Pneumoniae, Cytomegalovirus, antibiyotik maruziyeti, östrojen, oral kontraseptifler, antioksidanlar, toksinler, psikolojik stres, travma araştırılan risk faktörleri arasındadır <sup>30, 31</sup>.

## **2.3. PATOLOJİ VE İMMÜNOLOJİ**

### **2.3.1. PATOLOJİ**

MS'in tanısal özelliği, santral sinir sisteminin beyaz ve gri maddesinde demyelinize lezyonların varlığıdır. Multipl sklerozdaki doku hasarı; immün sistem, glia ve nöronlar arasındaki karmaşık ve dinamik bir etkileşimin sonucudur.

Beynin eksternal gros incelemesinde sıklıkla atrofi ve ventriküler dilatasyon izlenir. Spinal korddaki plaklar inspeksiyon ile izlenebilir. Beynin kesitsel incelemesinde aktif plaklar sınırları net olmayan, beyazımsı sarı ve pembe renkte izlenirler. Daha eski plaklar keskin sınırlı, mavi-gri renkte izlenirler.

Akut MS lezyonlarının en erken özelliklerinden biri kan-beyin bariyerinin (KBB) bozulmasıdır. İnflamatuar reaksiyon postkapiller venül ve venlerin çevresinde başlamaktadır. Gadolinyum (Gd) kullanılarak yapılan nörogörüntüleme çalışmaları ve postmortem incelemeler ile kan beyin bariyerindeki bozulmanın MS patogenezinde erken bir basamak olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, lezyonların ilk evrelerinde, perivenöz demiyelinizasyon izlenmektedir <sup>32</sup>.

Aktif demyelinizasyon veya doku hasarı, aktive mikroglia veya makrofajlardan oluşan fagositik hücreler ile bağlantılıdır. Mikroglia aktivasyonu en aktif olarak demiyelinizan lezyonların kenarında belirgindir. Fakat aynı zamanda plak çevresinde, hatta normal görünümlü beyaz maddede de izlenmektedir. Plaklardaki infiltrasyon, reaktif T hücreleri (ağırlıklı olarak CD8 + ), aktive makrofajlar / mikroglia, plazma hücreleri ve B hücreleri ile ilişkilidir <sup>33</sup>.

Aksonlar hastalığın erken evrelerinde nispeten korunur; ancak hastalık ilerledikçe geri dönüşü olmayan aksonal hasar gelişir <sup>34</sup>.

Kortikal plakların yerleşim yerlerine göre üç ayrı lezyon tipi tanımlanmıştır: subpial, intrakortikal ve lökokortikal. MS'in erken dönemlerinde görülen kortikal lezyonlar genellikle yüksek derecede inflamatuardır ve kognitif bozulma ile koreledir <sup>35,36</sup>.

### **2.3.2. İMMÜNOLOJİ**

MS'in immünopatogenezi hakkındaki hipotezlerin çoğu, miyelin protein bileşenlerine karşı immünizasyon sonucu oluşturulan deneysel otoimmün ensefalomyelit (DOE) çalışmalarından türetilmiştir. Miyelin basic protein (MBP), miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), proteolipid protein (PLP), miyelin associated glikoprotein (MAG) ve S-100 gibi miyelin kılıftaki bazı protein hedefler kullanılarak hem hücreSEL hem de humoral immün yanıt gözlemlenmiştir <sup>37,38</sup>.

#### **2.3.2.1. T HÜCRELERİ**

Deneysel otoimmün ensefalomyelit çalışmalarından kaynaklanan veriler ile birlikte MS araştırmaları çoğunlukla CD4 + T hücrelerinin hastalık patogeneziindeki rolüne odaklanmıştır.

T hücresi sensitivitesi, SSS içinde veya servikal lenf düğümlerindeki miyelin antijenlerine ya da moleküler taklit olarak adlandırılan myelin proteinleri ile benzer yapısal özellik gösteren eksojen ajanlara maruziyet ile meydana gelebilir.

Miyelin ve diğer SSS antijenlerine karşı self toleransın kaybı, otoreaktif T hücrelerinin periferik aktivasyonu ile sonuçlanır <sup>39,40</sup>. Periferde aktive olan immün hücreler matriks metalloproteinazları (MMP) salgılayarak kan beyin bariyerini aşarlar. Transmigasyon sürecinde endotel üzerindeki intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler

adezyon molekülü (VCAM); immün sistem hücrelerinden salınan alfa 4-integrin (VLA-4), selektinler (E-, L-, P-selektin), lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) ve makrofaj antijen-1 (MAC-1) gibi diğer integrinler rol oynar <sup>41</sup>.

SSS'e geçtikten sonra, periferik aktive edilmiş otoreaktif T hücreleri, beyin parankiminde otoantijenik peptitler ile karşılaştığında tekrar reaktif hale gelerek inflamasyon kaskadının tetiklenmesine yol açar. Bu durum sitokin ve kemokinlerin salınması, T hücrelerinin yanında monositler ve B hücreleri de dahil olmak üzere ek inflamatuvar hücrelerin katılması, miyelin hasarına yol açan mikroglia ve makrofajların sürekli aktivasyonu ile sonuçlanır <sup>42, 43</sup>.

Aktive olan naif T hücreleri, farklı efektör fonksiyonları olan çeşitli T hücresi popülasyonlarına farklılaşır. MS ve DOE'deki inflamatuvar durumlar başlıca CD4+ T helper-1 (Th-1) hücrelerine atfedilir. Bu hücreler Tümör Nekroz Faktör alfa (TNF-alfa), İnterferon Gamma (IFN- $\gamma$ ) ve İnterlökin -12 (IL-12) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımına katkıda bulunarak, inflamasyonda anahtar rol oynamaktadır.

MS'de relaps sırasında CD4+ T helper-2 (Th-2) hücreleri baskın hale gelerek; IL-5, IL-13 ve IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinler üretimine aracılık ederler.

Bir başka T hücre alt grubu CD4+ T helper-17 (Th-17) hücrelerinin, otoimmün doku hasarında önemli bir role sahip olduğu açıklanmıştır. Makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından üretilen IL-23, proinflamatuvar sitokinler IL-17A ve IL-17F'yi sentezleyen Th17 hücrelerine dönüşüm için kritik rol oynar. Yapılan çalışmalar Th-17: Th1 oranının, SSS inflamasyonunun kritik bir belirleyicisi olduğunu ortaya koymuştur. Yüksek Th17: Th1 oranları, beyin parankimindeki T hücresi infiltrasyonu ve inflamasyonu ile ilişkili bulunmuştur <sup>44</sup>. Patolojik çalışmalarda da, IL-17 veya IFN-gama eksprese eden hücrelerin kan beyin bariyerini etkili bir şekilde geçtiğini ve beyinde birikimini gösterilmiştir. MS hastalarının kan, BOS ve beyin dokularında artmış IL-17 ekspresyonu bildirilmiştir. Hastalarda BOS'taki Th-17 hücrelerinin, relapslarda remisyon evrelerine göre anlamlı derecede yüksek seviyede bulunduğu bildirilmiştir <sup>45</sup>.

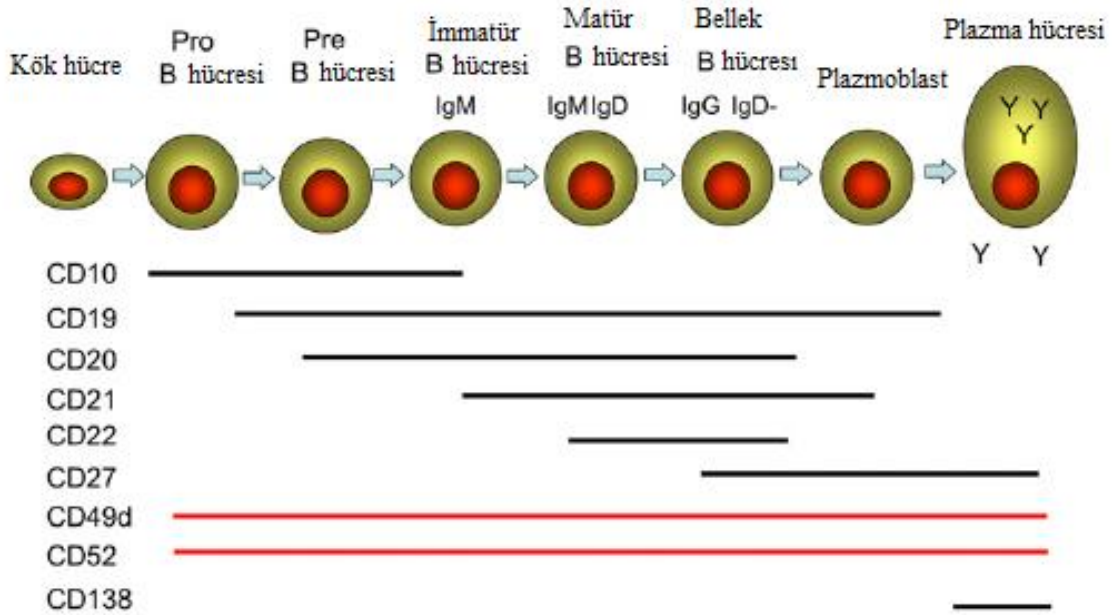
Düzenleyici T hücreleri (Treg) olarak adlandırılan (CD4+, CD25+) küçük bir T hücre alt grubu da, MS patogenezindeki rolü gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar inflamasyonu baskılamada rol oynayan Treg hücrelerinde fonksiyon bozukluğunu göstermiştir <sup>46</sup>.

CD8+ T hücrelerinin de SSS lezyonlarında inflamasyonda varlığı ortaya konulmuştur. SSS vasküler geçirgenliği artırdığı, aksonal hasarın lezyonlardaki CD8+ T lenfosit sayısı ile korele olduğu gösterilmiştir<sup>47</sup>. CD4 + T hücreleri aktif plakların periferinden beyaz maddeye uzanırken, CD8 + T hücreleri perivasküler bölgelerde baskın izlenmektedir

### 2.3.2.2. B HÜCRELERİ

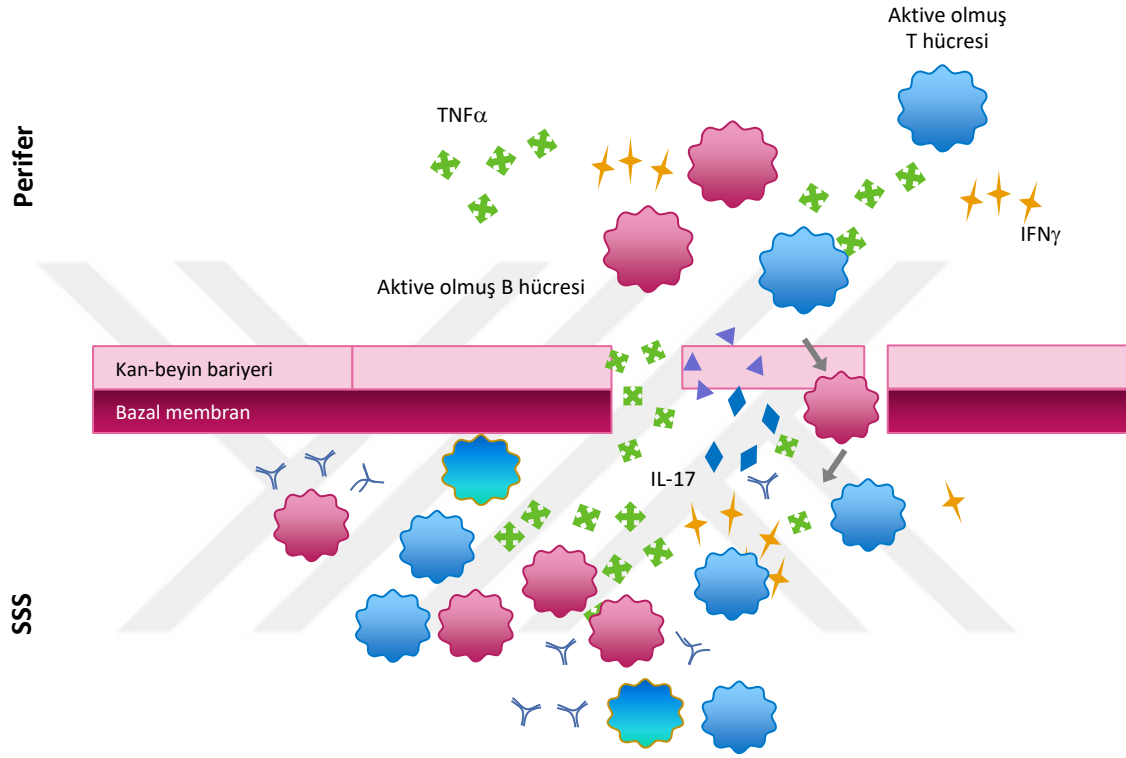
MS patogenezinde B hücrelerinin ve antikorların rolü üzerine araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır.

MS'deki klasik bulgulardan biri, hastaların% 95'inde görülen ve immunglobulin (Ig) sekrete eden hücrelerden kaynaklanan oligoklonal bantların (OKB) varlığıdır. OKB'ler tipik olarak IgG izotipindedir, ancak IgM OKB'ler de tarif edilmiştir. Genel olarak hastaya özgü IgG-OKB paterni, tedavilere rağmen bazı minör değişiklikler dışında stabil olarak kalmaktadır. Klinik izole sendromlu hastalarda, IgG-OKB'lerin varlığı MS gelişme riskini artırmaktadır<sup>48</sup>.



**Resim 1.** B hücresi alt tipleri ve yüzey markerları<sup>49</sup>

Yapılan çalışmalar ile BOS'da ve beyin lezyonlarında B hücre klonal proliferasyonu gösterilmiştir. Bellek B hücreleri ve plazmablastlar, MS'li hastaların BOS'unda baskın B grubu hücreleridir; sayıları hastalık aktivitesi ile ilişkilidir. B hücreleri oligodendrositleri hedefleyen patojenik antikörleri salgılayarak demyelinizasyon sürecine doğrudan katılabilmektedir <sup>50</sup>.

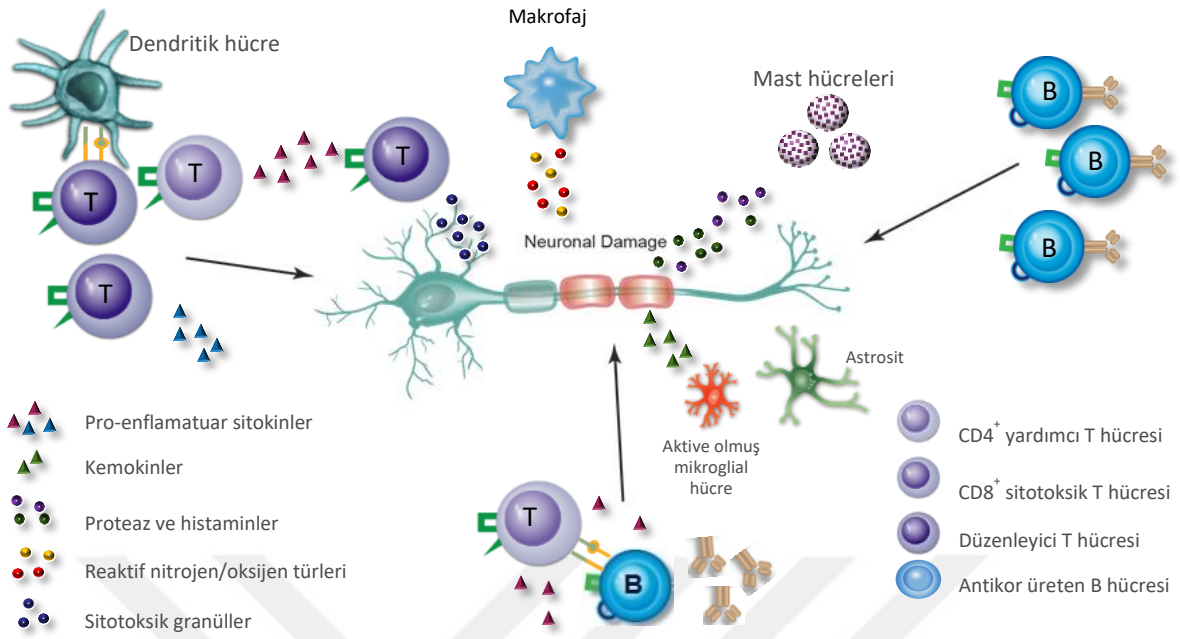


**Resim 2. MS immünoopatogenezi.** Periferdeki otreaktif ve proliferen lenfositler, KBB' nin yüzeyindeki moleküllerle etkileşime giren enzimleri ve sitokinleri üretmektedir. Bu etkileşim KBB' nin bütünlüğünü bozmakta ve aktive olmuş lenfositlerin SSS' ye göç etmesine olanak sağlamaktadır. Aktive olmuş T hücreleri SSS' de, lenfosit reaktivitesini arttıran ve KBB' yi daha fazla parçalayan pro-enflamatuvar sitokinleri salmaktadır. Bu parçalanma, MSS'ye toplu lenfosit göçüne olanak sağlayarak lokal enflamasyona neden olmaktadır.

Sekonder progresif MS hastalarında meninkslerde ektopik B hücre folikülleri izlenmiş olup progresif fazlarda meninks inflamasyonun devamlılığından sorumlu tutulmuştur. Burdan kaynaklanan sitotoksik faktörler ile kortikal demyelinizasyonun gerçekleştiği ve sonuç olarak özürülük artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu folikül benzeri yapıların varlığı, B hücrelerinin intratekal çoğalmasını ve SSS'nde plazmablastlara ve plazma hücrelerine farklılaşmaya uğradığını göstermektedir <sup>51,52</sup>. Leptomeningeal B hücre birikimleri progresif MS'de izlenmekle birlikte, erken relapsing remitting MS (RRMS)'de de not edilmiştir <sup>53</sup>.

SSS'deki B hücrelerinin, otoantikor üretme potansiyellerinin ötesinde, kemokinleri/ sitokinleri salgılayarak ve T hücrelerine antijen sunarak MS'de rol oynadığı gösterilmiştir. B hücresi antijen sunumunun hastalık patolojisinin merkezinde olabileceği hipotezi, DOE fare modelinde hastalığın indükleme kapasitesinin B hücresi ekspresyonunu gerektirdiği gösterilerek güçlendirilmiştir <sup>54</sup>. RRMS'de B hücreleri, patojenik T hücrelerini yönlendiren primer antijen sunan hücreler olarak işlev görürler. Progresif MS'de B hücreleri, lenfoid foliküller ve salgılanan faktörler ile SSS yanıtlarını arttırır.

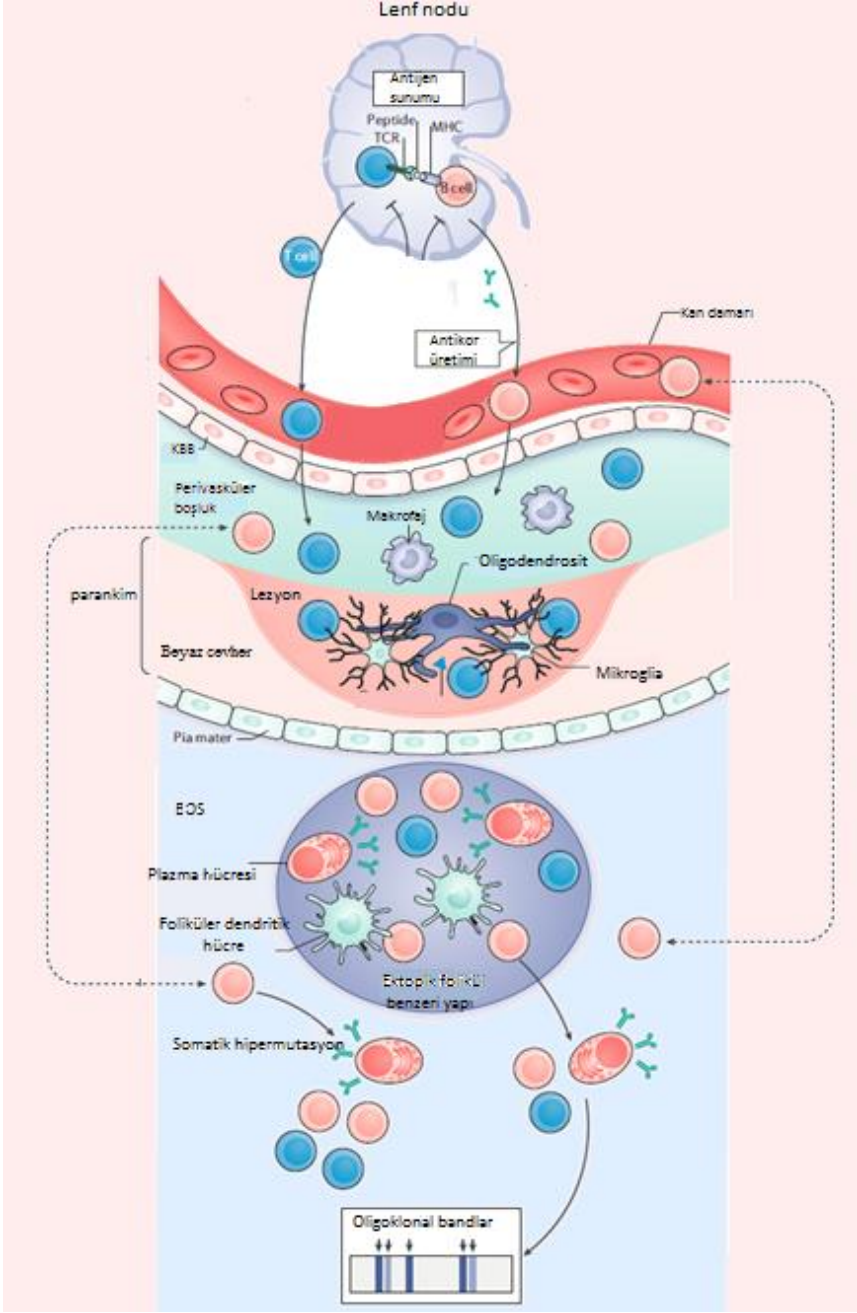




**Resim 3. Enflamatuvar yanıt ve miyelin ve aksonların harabiyeti.** Doğal ve adaptif immün hücreler MS'teki hasara katkıda bulunur.

Olayların sıralaması;

- 1) Aktive olmuş otoreaktif B hücreleri, T hücrelerini aktive etmek üzere antijen sunmaktadır.
- 2) Aktive olmuş antijen sunan hücreler, sitokinleri salgılamakta ve T hücresi proliferasyonunu ve sitokin sekresyonunu yönlendirmeleri için miyelin fragmanları (antijenler) taşıyan otoreaktif T hücrelerini stimüle etmektedir.
- 3) Aktive olmuş T hücreleri, miyelin kılıfa doğrudan zarar veren sitokinleri salmakta ve miyeline saldıran makrofajları aktive etmektedir.
- 4) T hücrelerinin saldırdığı enflamatuvar sitokinler B hücrelerini aktive ederek enflamasyonun artmasına ve antikor üretimine yol açmaktadır.



**Resim 4. MS immünotopatogenezinde B hücreleri.** B hücreleri, periferik ikincil lenfoid dokuda T hücrelerine antijen sunar. Bu T hücreleri karşılıklı olarak B hücrelerini aktive ederek IL-6, granülosit-makrofağ koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve tümör nekroz faktörü gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına yol açar. Aktive B ve T hücreleri, kan-beyin bariyerini geçerek merkezi sinir sistemine gider. Perivasküler boşluğa girdikten sonra, bu aktive edilmiş B ve T hücreleri makrofağlarla etkileşime girer ve daha sonra SSS parankimine girebilir. Mikroglia, normal görünen beyaz cevhere bitişik aktif olarak demiyelinizan lezyonların ön ucunda yer alan bağışıklık hücresidir. B hücre kümeleri,

MS'nin tüm alt tiplerinde korteksi örten pia materde bulunur. Sekonder progresif MS'de, meningeal pia mater boyunca B hücreleri, plazma hücreleri, T hücreleri ve foliküler dendritik hücreleri içeren ektojik folikül benzeri lenfoid yapılar bulunur. MS'li hastalarda BOS'da antikor üreten bellek B hücreleri ve plazma hücreleri, oligoklonal bantlara yol açar. MS'li hastaların beyin omurilik sıvısındaki B hücreleri, periferdeki ve SSS parankimindeki B hücreleri ile klonal olarak ilişkilidir <sup>55</sup>.

B hücrelerinin MS patogeneziğine katkısı, B hücre bazlı immünoterapilerin başarısı ile desteklenmiştir <sup>56</sup>. CD20 çoğu B hücresinde eksprese edilir ve plazma hücresi haline gelmeden hemen önce matür B hücrelerinde bulunur. Anti-CD20 tedavileri (Ritüksimab ve Okrelizumab) ile izlenen dramatik etkiler patogenezi B hücrelerinin merkezi rolünü göstermektedir <sup>57</sup>.

### **2.3.2.3. NATURAL KİLLER HÜCRELERİ**

MS hayvan modeli olan DOE ve birçok MS çalışması, natural killer (NK) hücrelerinin koruyucu rolünü vurgulamıştır. NK hücreler MS lezyonlarında gösterilmiştir <sup>58</sup>.

MS hastalarında NK hücre sayısı ve fonksiyonlarının azaldığı bildirilmiştir. Klinik relapslar sırasında MS hastalarında dolaşımdaki NK hücrelerinin sitolitik fonksiyonlarının azaldığı çalışmalarla gösterilmiştir <sup>59</sup>. İnterferon-beta, Siklofosamid, Daklizumab ile tedavi edilen MS hastalarında NK hücre sayısının arttığı bilinmektedir <sup>60, 61</sup>.

Doğal öldürücü T (NKT) hücreleri ise, T hücresi reseptörü (TCR) ve NK hücresi soy reseptörlerini eksprese eder. MS hastalarında NKT hücre sayısının da azaldığı, bu hücrelerin hastalarda farklı sitokin üretim profilleri sergilediği bilinmektedir <sup>62, 63, 64</sup>. Yapılan bir çalışmada, CD4 + NK hücreleri tarafından IL-4 üretiminin RRMS hastalarında progresif MS hastaları ve kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür <sup>65</sup>.

#### 2.3.2.4. SİTOKİNLER VE KEMOKİNLER

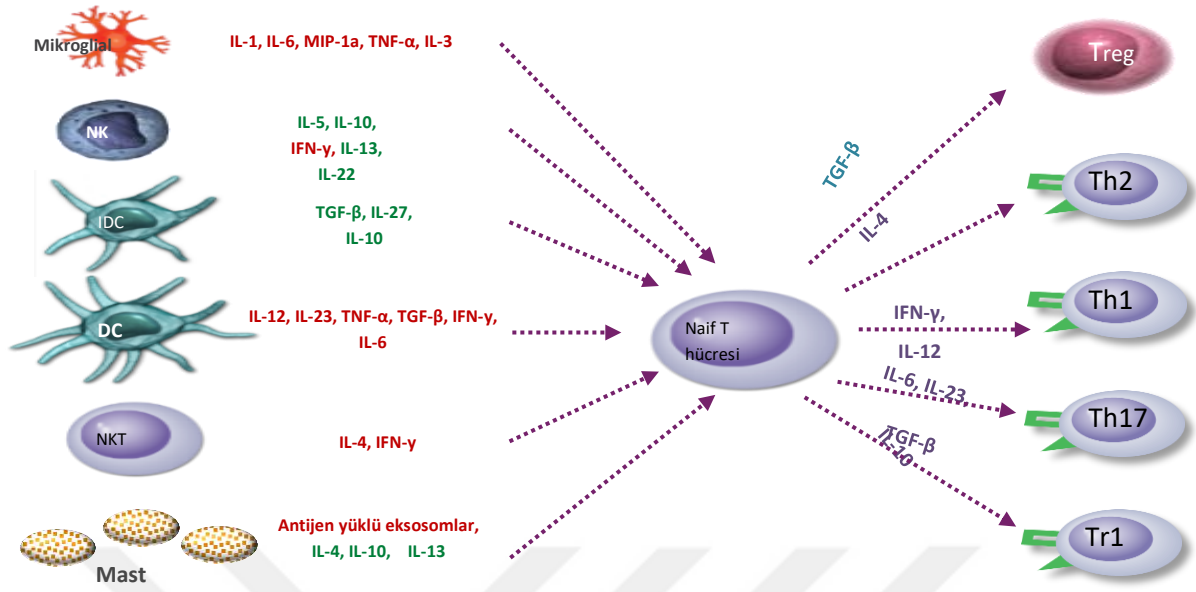
Sitokinler, hücreler arasındaki iletişim ve etkileşim üzerinde spesifik bir etkiye sahip olmak için farklı hücre tipleri tarafından salınan küçük salgılanabilir polipeptitlerin heterojen bir ailesidir. Makrofajlar, lenfositler ve mast hücreleri dahil olmak üzere bir dizi farklı immün hücre tarafından salgılanırlar. MS hastalarında Th1 ilişkili proinflamatuvar sitokinler artarken, Th2 ilişkili anti-inflamatuvar sitokinler azalmıştır.

TNF- $\alpha$  seviyelerinin, MS hastalarının serum ve beyin omurilik sıvısında, SSS içindeki aktif lezyonlarda arttığı gösterilmiştir. BOS'ta TNF- $\alpha$  artışı, kliniğin şiddeti ve progresyonu ile ilişkili saptanmıştır<sup>66</sup>. Tüm bu kanıtlara rağmen TNF-a blokerleri İnfliksimab ve Lenercept (rekombinant TNFR1 füzyon proteini) ile klinik deneyler olumsuz sonuçlanmıştır. Hastalarda TNF blokajının kliniği kötüleştirdiği izlenmiştir. Bu durum hem proinflamatuvar etkileri hem de koruyucu işlevleri olan TNF-a'nın selektif olmayan blokajına bağlanmıştır<sup>67,68</sup>.

Interferon-beta (IFN-beta), immün aracılı demiyelinasyonu baskıladığı ortaya konulduktan sonra MS için ilk onaylanmış ilaç olmuştur. IFN-beta'nın esas olarak miyeloid hücreler üzerinde etkili olduğu ve diğer sitokinlerin üretimini sınırladığı bilinmektedir<sup>69</sup>.

Anti-inflamatuvar etkili IL-10 sekresyonunun relapslarda azalıp, remisyonunda düzeyinin arttığı gösterilmiştir<sup>70</sup>.

Kemokin ve kemokin reseptörlerinden oluşan kompleks bir ağ, immün hücrelerinin dokular içinde ve arasında hareketini düzenler. Özellikle CCL2 / CCR2, CXCL10 / CXCR3 ve CCL5 / CCR5 etkileşimleri MS patogenezi ile ilişkilendirilmiştir<sup>71</sup>. Aktif MS lezyon kenarlarında, CCL5 artış gösterir<sup>72</sup>. CXCL12 (SDF-1) ve CXCL13 (BCA-1) kemokinlerinin, santral sinir sistemine B hücresi göçünün düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir<sup>73</sup>. MS hastalarının BOS incelemelerinde kontrollere göre CCL5 ve CXCL10 seviyeleri artmıştır<sup>74</sup>.



**Resim 5. Doğal immün hücreler tarafından salınan sitokinlerin MS'e potansiyel katkısı ve insan veya hayvan model verilerinde hücre farklılaşmadaki rolleri.**

Doğal immün hücreler tarafından salınan enflamatuar sitokinler (kırmızı) enflamasyonun veya immünomodülasyonun yönlendirilmesinde rol alan Th1, Th2 ve Th17 gibi efektör T hücre popülasyonlarının farklılaşmasına yol açar. Doğal immün hücreler tarafından salınan anti-enflamatuar sitokinler (yeşil) hastalık sırasında tolerojenik fonksiyonu yönlendirebilen düzenleyici T hücrelerinin indüksiyonunda önemli bir rol oynar. Dendritik hücreler antijen sunan hücre davranışı göstererek otoreaktif T hücreleri aktive eder ve NK hücrelerle etkileşerek selektif NK CD56 parlak hücre çoğalmasını indükleyebilir.

### 2.3.3. KLİNİK ÖZELLİKLER

MS'in klinik prezentasyonu çok çeşitlidir. Omurilikten serebral kortekse kadar santral sinir sisteminin herhangi bir yerinin tutulumu sonucu her türlü nörolojik semptom izlenebilir.

En sık görülen semptom ve bulgular arasında görme kaybı, duysal yakınmalar, kas güçsüzlüğü, ataksi, nistagmus, mesane fonksiyon bozukluğu, yorgunluk ve kognitif tutulum sıranılabilir. Bilateral intranükleer oftalmopleji, Lhermitte belirtisi ve Uhthoff fenomeni MS için patogonomik olmasa da karakteristik bulguları arasındadır.

Optik nöropati; MS hastalarının %20' sinde başlangıç belirtisidir ve MS hastalarının yaklaşık yarısını hastalık seyrinin bir noktasında etkilemektedir. Optik nevrit, tipik olarak göz çevresinde ağrının eşlik ettiği subakut gelişen görmede bulanıklaşma veya görme kaybı ile karakterizedir. Renkli görme ve düşük kontrastlı görme en belirgin şekilde etkilenir.

Görme alanı haritalamasında santral veya sekosantral skotom saptanabilir. Optik nevitin akut fazı sırasında, vakaların üçte ikisinde, optik disk funduskopik muayenede normal görülür. (Retrobulbar optik nörit). Olguların diğer üçte birinde papillit ortaya konabilir <sup>75</sup>.

İnternükleer oftalmopleji (INO), MS hastalarında diplopinin en sık nedenidir. Medial longitudinal fasikulus (MLF) lezyonlarına bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Lezyon tarafındaki gözde addüksiyon kusuru, karşı gözde ise abdüksiyon esnasında ortaya çıkan nistagmus ile karakterizedir. Bilateral INO, MS'i destekleyen bir bulgudur.

Fasiyal duyu bozukluğu, beyin sapı, servikal kord gibi lokalizasyonlardan kaynaklanabilir. MS'te nispeten yaygın bir bulgu olup, izole ya da hemisensoriel sendromun bir parçası olabilmektedir. Trigeminal nevralsi, nadir bir semptom olmakla birlikte genç hastada geliştiğinde MS akılda tutulmalıdır.

Tek taraflı fasiyal parezi izlenebilir. Hemifasiyal spazm, MS de nadir izlenen ancak tipik paroksizmal bozukluktur <sup>76</sup>. Vestibülökohlear sistem tutulumuna bağlı vertigo ortaya çıkabilir. Tek taraflı işitme kaybı nadir olarak izlenir. Tat duyusu kaybı beyin sapına

lokalize bir bulgu olmakla birlikte seyrek izlenen bir tablodur. Disfaji ve dizartri 9,10 ve 12. kranial sinirlerinin tutulumuna bağlı görülebilir.

Kas güçsüzlüğü, MS hastalarında en sık görülen bulgudur. Genellikle kortikospinal yolakların tutulumuna sekonder üst motor nöron bulguları eşlik eder. Bunu dışında kortikobulber, serebellar patolojiler nedeniyle de ortaya çıkabilir. Alt ekstremitelerde zaaf üst ekstremitelere göre daha sık izlenmektedir. Fizik muayenede kas tonusunun arttığı, derin tendon refleksi canlılığı ve ekstansör plantar yanıt gözlenir. Serebellar lezyonlara bağlı bazen hipotoni eşlik edebilir <sup>77</sup>.

Spastite; spazm, kramp ve yürüyüş bozukluğu ile ilişkilidir. Zaaf yokluğunda da ortaya çıkabilir. Kortikospinal, vestibulospinal veya retikülospinal yolakların tutulumu sonucunda ortaya çıkmaktadır. İlerlemiş vakalarda paralizi ve ağır spastite, kontraktürlere yol açabilmektedir <sup>78</sup>.

Paroksizmal tonik spazmlar, bazen ritmik olabilen ekstremitelerdeki istemsiz kontraksiyonlardır. Sıklıkla omurilik ve beyin sapı lezyonları ile birlikte görülür. Tonik spazmlar yaklaşık 30 saniye ile 1 dakika arasında sürer ve günde çok sayıda (genellikle>15) ortaya çıkabilmektedir. Spazm esnasında elektroensefalogram kayıtlarının her zaman normal olması nedeniyle kortikal nöbetlerden ayrı tutulur <sup>79</sup>.

Duysal belirtiler, MS'in sık görülen bir başlangıç özelliğidir ve hastalık seyri sırasında hemen hemen her hastada bulunur. Spinotalamik, posterior kolon veya dorsal kök lezyonlarına bağlı meydana gelebilir. Sıklıkla karıncalanma, uyuşma, yanma, iğnelenme gibi parestezik yakınmalar ile hastalar başvurur. Hastalık ilerledikçe vibratuar algılama sıklıkla etkilenir.

Oppenheim'in kullanılmayan el sendromu, MS hastalarında tanımlanmış duysal bir tablo olup nadiren diğer nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Servikal spinal kord ya da beyin sapı lemniskal yolların tutulumuna sekonder olarak ortaya çıkabilir. Bu sendromlu hastalar elde işlevsizlik veya fonksiyon kaybından yakınır. Duysal semptomlar veya istemsiz hareketler eşlik edebilir. Ağır sensorial defisit sıklıkla eşlik eder. Proprioseptif ve diskriminatif işlev kaybı izlenir <sup>80</sup>.

Serebellar yolakların tutulumuna bağlı tremor, dismetri, disdiadokinezi, koordine hareketlerde güçlük, titubasyon, dizartri ve ataksi izlenebilir. Tremor en sık izlenen serebellar bulgudur <sup>81</sup>. Hastalık seyirinin erken dönemlerinde serebellar belirtileri olan hastalar, daha yüksek özürllük ve daha agresif bir seyir gösterme eğilimindedir.

Kognitif bozukluk, MS hastalarının yaklaşık yarısında izlenen önemli bir semptomdur. Hastalığın tüm evrelerinde ve tüm alt tiplerinde ortaya çıkabilmektedir. Bilgi işlem, dikkat, yürütme fonksiyonları ve uzun dönem sözel-verbal bellek, MS'de nöropsikolojik testlerde en çok etkilenen alanlardır <sup>82</sup>. Bilişsel bozukluk beyaz cevher tutulumu, beyin atrofisi ve kortikal demiyelinizan plaklarla ilişkilidir <sup>83</sup>. Yapılan çalışmalar düşük fiziksel özürllük gösteren hastalarda ciddi kognitif tutulumun eşlik edebileceğini göstermiştir <sup>84</sup>.

Afazi, apraksi gibi kortikal sendromlar oldukça nadir izlenir. Rao Brief Repeatable Neuropsychological Battery (RaoBRNB) ve Minimal Assessment of Cognitive Function (MACFIMS) kognisyonda en yaygın kullanılan tarama bataryalarıdır <sup>85</sup>.

Mesane işlev bozukluğu, MS'de bir başka önemli özürllük nedenidir. En yaygın şikayet detrüör kasının hiperaktivitesine bağlı olarak meydana gelen sık idrara çıkma, inkontinansdır <sup>86</sup>.

Barsak işlev bozuklukları arasında konstipasyon en sık görülen şikayettir. Fekal inkontinans genellikle ciddi spinal kord hasarına bağlı olarak meydana gelir <sup>87</sup>.

Cinsel işlev bozuklukları sıklıkla göz ardı edilmesine rağmen, MS hastalarının% 40-80'inde görülür <sup>88</sup>. Erkeklerde erektil disfonksiyon ve kadınlarda libido kaybı en sık izlenen patolojilerdir. Cinsel işlev bozukluğu spinal motor, duyuşal ve otonom yolakların tutulumu veya libidoyu etkileyen psikolojik faktörlerden kaynaklı olabilir.

Yorgunluk, MS hastalarının yaklaşık %80'nini etkilemektedir. Fiziksel aktiviteye bağlı kolay yorulma veya mental çabaya bağlı ortaya çıkabilir. Yorgunluk şikayetlerini motor zaaftan ayırmak önemlidir. Yorgunluğun şiddeti, hastalığın şiddeti ve MRG bulguları ile korelasyon göstermez <sup>89</sup>.

Duygulanım bozuklukları çok sık olarak izlenmektedir. MS hastalarında yaşam boyu majör depresyon riski % 50'e ulaşabilmektedir. Depresyonun MS lezyonlarına bağlı frontotemporal ağların etkilenmesi ve ayrıca kronik hastalığa sekonder geliştiği



düşünülmektedir. Bazı veriler, bipolar hastalık ile MS arasında genetik bir birliktelik olduğunu göstermektedir. MS hastalarında intihar oranları genel popülasyona ve diğer kronik hastalıkları olan hastalara göre daha yüksek izlenmiştir<sup>90</sup>. Öfori, patolojik gülme ve ağlama atakları ( psödobulber bulgular) da izlenebilmektedir.

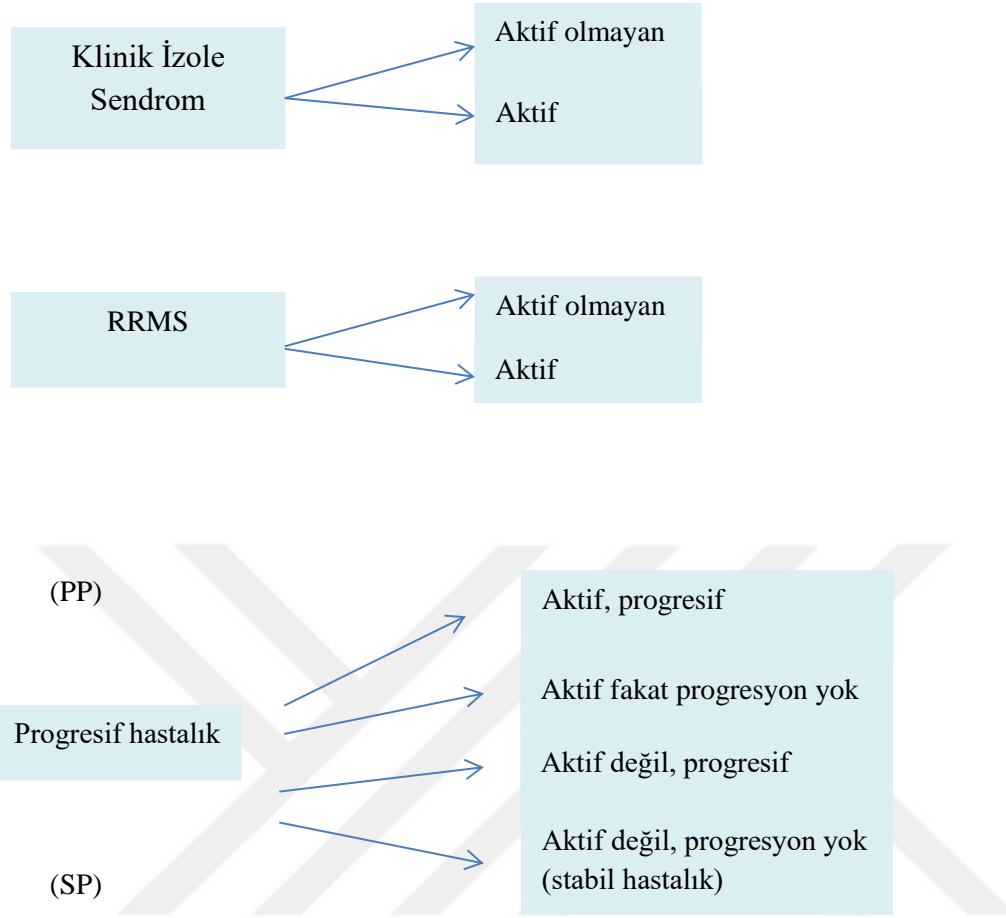
#### **2.3.4. KLİNİK FENOTİPLER**

MS'in en karakteristik özelliklerinden biri relapslardan oluşmasıdır. Relaps veya atak tanımı, tipik olarak saatler ile günler arasında gelişen, ardından kısmi ya da tam remisyonun izlendiği nörolojik işlev bozukluğu için kullanılır.

İlk olarak 1996 yılında ABD Ulusal Multipl Skleroz Derneği tarafından MS fenotipleri, relapsing remitting MS, primer progresif MS (PPMS), sekonder progresif MS (SPMS) ve progresif relapsing MS (PRMS) olarak tanımlanmıştır<sup>91</sup>. 2013 yılında sınıflama yeniden revize edilmiştir. Klinik izole sendrom (KİS), relapsing MS ve progresif MS olarak üç başlık altında tanımlanmıştır. Relapsing ve progresif grupları kendi içinde aktif olan ve aktif olmayan olarak sınıflandırılmıştır.

Aktif hastalık; klinik olarak tam ya da kısmi düzelen atakların olduğu ve/ veya MR incelemesinde T1 sekanslarda kontrast tutan ve/ veya T2 incelemelerde hiperintens yeni lezyon gelişmesi olarak tanımlanmaktadır. Yeni sınıflamada progresif relapsing MS tanımı kaldırılarak, bu hastalar progresif-aktif grubuna dahil edilmiştir<sup>92</sup>.

İlk olarak 2009'da tanımlanan Radyolojik izole sendrom (RIS) terimi, klinik bulgu veya semptomların yokluğunda yüksek olasılıkla demiyelinizasyonu düşündüren MRG anormallikleri olan hastaları tanımlar<sup>93</sup>. RIS grubu sınıflamaya dahil edilmemiştir.



**Şekil 1: MS fenotipleri (2013 revizyonu)**

### 2.3.4.1. KLİNİK İZOLE SENDROM

Klinik izole sendrom, santral sinir sistemi demyelinizasyonunu düşündüren ilk klinik prezentasyondur. Semptomlar genellikle monofokaldır, günler-haftalar içinde akut veya subakut olarak gelişir.

KİS ile başvuran hastaların %50-70'inde, ilk beyin MR görüntülemeye demiyelinizan lezyonlarla uyumlu olarak asemptomatik T2 beyaz cevher anormallikleri saptanmaktadır. Yapılan gözlemsel çalışmalar sonucunda bu hastalarda 20 yıllık takip döneminde MS'e dönüşme oranının %80'e ulaştığı izlenmiştir. Lezyon sayısı, dönüşüm riski ile korele bulunmuştur<sup>94</sup>. BOS'da OKB varlığının da MS'e dönüşüm riskini artırdığı ortaya konulmuştur<sup>95</sup>.

#### **2.3.4.2. RELAPSİNG REMİTTİNG MS**

RRMS en yaygın MS formudur ve tüm MS hastalarının yaklaşık % 85'inde görülür. Ataklar ve remisyonlar ile seyreder. Relapslarda, enfeksiyon veya ateş olmadan en az 24 saat süren çeşitli nörolojik semptomlar izlenir. Relaps sonrası hastalarda kısmi düzelmeye bağlı sekel bulgular kalabilmektedir <sup>96</sup>.

#### **2.3.4.3. PRİMER PROGRESİF MS**

MS hastalarının yaklaşık % 10-20'sinde hastalık başlangıcından itibaren ilerleyicidir <sup>97</sup>. Bireysel hasta düzeyinde progresyon tek düze değildir ve relapsların yanı sıra göreceli hastalık stabilite dönemleri mümkündür.

#### **2.3.4.4. SEKONDER PROGRESİF MS**

Relapslar ve iyileşmeler ile seyreden hastaların çoğu ilerleyen dönemde özür lülüğün giderek arttığı sekonder progresif faza geçiş gösterirler. Çeşitli çalışmalar sonucunda sekonder progresyona geçiş süresi ortalama 19 yıl olarak belirlenmiştir <sup>98</sup>. Klinik başlangıç yaşı daha büyük olduğunda sekonder progresyon gelişme süresinin daha kısa olduğu izlenmiştir <sup>99</sup>.

### 2.3.5. TANI

MS tanısında temel belirleyici klinik tablodur. Klinisyenin doğru teşhisi yapabilmesi ve çalışmalar için ortak bir tanımlama sağlamak amacıyla yıllar boyunca kullanılan çeşitli tanı kriterleri oluşturulmuştur. Tüm MS tanı kriterleri arasındaki ortak özellik, semptom ve bulguların zaman ve mekanda yayılım ölçütlerini karşılaması gerektirir.

MRG öncesi dönemde, MS tanısı sadece klinik öykü ve incelemeye dayanıyordu. İlk kez 1965 yılında Schumacher ve arkadaşları tarafından belirlenen kriterlere göre zaman ve mekanda yayılım gösteren en az iki klinik atak gözlenmesi gerekliydi <sup>100</sup>. 1983 yılında Poser başkanlığında bir çalışma grubu, “klinik olarak kesin” MS tanısı için nörogörüntüleme, elektrofizyoloji, laboratuvar bulguları gibi “paraklinik” kanıtların yer aldığı yeni kriterler oluşturulmuştur. Bu kriterlere göre kesin MS, klinik kesin MS, laboratuvar destekli MS, olası MS ve laboratuvar destekli olası MS olarak gruplandırılmıştır <sup>101</sup>.

2001 yılında McDonald ve arkadaşları, takip MRG'lerinde yeni aktivitenin, alanda ve zamanda yayılmayı karşılamak için ikinci bir klinik atak yerine geçmesine izin veren yeni tanı kriterleri önererek MS teşhisinin modern çağını başlattılar.

2005 yılında tanı kriterleri revize edilmiş, ilk klinik olayda yapılan referans taramadan en az 1 ay sonra çekilen MRG'de yeni ortaya çıkan subklinik T2 hiperintens lezyonunun gösterilmesi, MRG'de zamansal yayılım ölçütü olarak düzenlenmiştir <sup>102</sup>.

2010 yılında yapılan revizyonla MS teşhisi için alanda ve zamanda yayılıma yönelik görüntüleme gereksinimlerini basitleştirmek amacıyla Multipl Sklerozda Avrupa Manyetik Görüntüleme (MAGNIMS) Grubunun çalışması kullanılmıştır <sup>103</sup>.

Alanda yayılım kriterleri; periventriküler; juktakortikal; infratentoryal ve spinal bölgerinden en az ikisinden  $\geq 1$  T2 hiperintens lezyon olması olarak sadeleştirilmiştir. Zamanda yayılım kriterleri; zamandan bağımsız olarak bazal MR ile karşılaştırıldığında yeni ortaya çıkan T2 ve/veya gadolinyum tutan lezyon(lar) ya da herhangi bir zamanda gadolinyum tutan ve tutmayan lezyonların birlikte bulunması olarak düzenlenmiştir.

Son olarak tekrar güncellenerek 2017 revizyonu yayınlanmıştır. MRG alanda yayılım kriterlerine kortikal lezyonlar juktakortikal lezyonların eşdeğeri olarak girmiştir. Zamanda yayılım kriterlerinde semptomatik ve asemptomatik ayrımı kaldırılmıştır.



**Tablo 1:** Revize (2017) Mc Donald tanı kriterleri

<b>Klinik Bulgu</b>	<b>MS Tanısı İçin Gerekli Ek Veriler</b>
<b>≥2 atak; objektif klinik bulgulu ≥2 lezyon</b>	Yok
<b>≥2 atak; 1 lezyona ait objektif klinik bulgu + öyküde başka bir alandaki lezyona ait atak</b>	Yok
<b>≥2 atak; 1 lezyona ait objektif klinik bulgu</b>	Farklı bir alandaki lezyona ait yeni bir atak veya MRG <sup>a</sup> ile alansal yayılımın gösterilmesi
<b>1 atak; objektif klinik bulgulu ≥2 lezyon</b>	Ek bir klinik atak veya MRG <sup>b</sup> ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS'da OKB varlığı
<b>1 atak; 1 lezyona ait objektif klinik bulgu</b>	SSS'de farklı bir alandaki lezyona ait yeni bir atak veya MRG <sup>a</sup> ile alanda yayılımın gösterilmesi ve ek bir klinik atak veya MRG <sup>b</sup> ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS'da OKB varlığı
<b>Sinsi nörolojik ilerleme (PPMS)</b>	1 yıl klinik progresyon ve aşağıdakilerden en az ikisi;  <b>1.</b> Periventriküler, kortikal/jukstakortikal veya infratentoryal alanlarda ≥1 T2 lezyon <b>2.</b> Spinal kordda ≥2 T2 lezyon <b>3.</b> Pozitif BOS (Oligoklonal bant varlığı ve/veya artmış IgG indeksi)
<p><sup>a</sup>· MRG'de alanda yayılım; MS tipik (periventriküler, kortikal/jukstakortikal, infratentoryal ve spinal kord) 4 alanın ≥2'sinde ≥1 lezyon olması.</p> <p><sup>b</sup>· MRG'de zamanda yayılım; herhangi bir zamanda çekilen MRG'de kontrast tutan ve tutmayan lezyonların aynı anda bulunması veya takip MRG'sinde ilk MRG (çekildiği zamandan bağımsız olarak) referans alındığında yeni bir T2 hiperintens lezyonun ya da kontrast tutan lezyonun olması.</p>	

### **2.3.5.1. TANIYA YARDIMCI TESTLER**

#### **2.3.5.1.1. MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEME**

MRG, MS tanısında ve takibinde ilk seçenek görüntüleme tetkikidir. MS hastalarının % 95'inden fazlasında T2 ve fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) görüntülemelerinde anormallik izlenir. MRG'de izlenen plakların tipik yerleşim yerleri periventriküler, jukstakortikal, kortikal, infratentoryal ve spinal kord bölümleridir. Posterior optik radyasyon lezyonları sıklıkla izlenmektedir. Posterior fossa lezyonları serebellumda, orta serebral pedinküllerde ve dördüncü ventriküle bitişik bölgelerde bulunur. Karakteristik olarak lezyonlar, fokal ve ayrıktır. Oval bir görünüme sahiptir ve lateral ventriküllerin düzlemine dikey yerleşimlidirler. Bunlar klasik olarak Dawson parmakları olarak adlandırılır ve MS plaklarında patolojik olarak görülen perivenüler inflamasyonu temsil ettiği düşünülür.

Akut lezyonlarda sıklıkla T1 ağırlıklı sekanslarda Gd kontrast tutulumu izlenir, bu da inflamasyon ve kan beyin bariyerinin bozulmasının göstergesidir. Subakut MS plakları kontrast tutulumu göstermeyebilir, ancak difüzyon ağırlıklı görüntülemelerde sinyal artışı göstermeye devam edebilir. Kronik MS plakları ise T2 veya FLAIR sekanslarında hiperintens görülür, genellikle daha küçüktür ve daha keskin sınırlara sahiptir. T1 hipointensiteler (kara delikler) genellikle aksonal kayıp ve kalıcı demiyelinizasyon gibi geri dönüşümsüz doku hasarını yansıtır<sup>104</sup>.

Volumetrik MRG ile izlenen beyin atrofisi, lezyon yükü ile birlikte değerlendirildiğinde klinik özüllülük ile güçlü korelasyon göstermektedir<sup>105</sup>.

#### **2.3.5.1.2. BEYİN OMURİLİK SIVISI İNCELEMELERİ**

Artmış IgG indeksi ve OKB pozitifliği, MS hastalarında tanıyı destekleyen BOS parametreleridir. 2017 McDonald kriterlerine göre zamanda yayılımı destekler olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

Plazma hücre klonları tarafından yapılan IgG, BOS elektroforetik analizinde oligoklonal bantlar olarak izlenmektedir. Tanısal olarak anlamlı olması için iki veya daha fazla sayıda bant izlenmesi, serumda ise buna karşılık hiç izlenmemesi veya BOS'dakinden

düşük konsantasyonda izlenmesi gerekmektedir. Patern 2’de BOS’da izole bantlar vardır, serumda bantlar izlenmez. MS’de en sık izlenen paterndir. Patern 3’de BOS’a izole bantlar yanı sıra, BOS ve serumda eş bantlar izlenir. Patern 2 ve patern 3, SSS’de immünolojik aktivasyon olduğunu göstermektedir. Klinik olarak kesin MS hastalarının %90’dan fazlasında OKB izlenir. Oluştuktan sonra süreklilik gösterir.

IgG indeksi, BOS ve serum IgG oranının, BOS ve serumdaki albumin düzeyi oranına bölünmesi ile saptanır. İndeks  $< 0,70$  normal olarak kabul edilmektedir. İntratekal artmış IgG üretimi, MS hastalarının %70-90’ında izlenmektedir.

BOS rutin incelemesi de ayırıcı tanı açısından değerlendirilmelidir. MS hastalarında BOS berrak renkli, renksizdir. Açılış basıncı, glukoz düzeyi normaldir. Hücre sayımı sıklıkla normaldir. Ağırlıklı olarak T lenfosit izlenir. BOS proteini 2/3 hastada normal, 1/3 hastada hafif yüksek olarak izlenebilir.

BOS’da myelin basic protein, doku hasarının bir belirtecidir. Ancak özgüllük ve duyarlılığı düşüktür <sup>106</sup>.

### **2.3.5.1.3. UYARILMIŞ POTANSİYELLER**

Klinik bulgulara yansımamış lezyonların saptanmasında uyarılmış potansiyeller önem taşımaktadır. Görsel uyarılmış potansiyeller (VEP), MS tanısında kullanılan en yaygın elektrofizyolojik testtir. P100 latansında uzama tipik olarak demiyelinizasyonun göstergesidir.

Somatosensoriyel uyarılmış potansiyeller (SEP), merkezi duyu yollarındaki demiyelinizasyonu göstermede fayda sağlamaktadır. Motor uyarılmış potansiyeller, özellikle diğer uyarılmış potansiyeller ile kombinasyon halinde, MS’de prognostik olarak yardımcı olabilir <sup>107</sup>.

### **2.3.5.1.4. OPTİK KOHERENS TOMOGRAFİ**

Optik koherens tomografi (OCT) ile, ultrason görüntülemeye benzer bir işlem kullanarak ses yerine ışıkla retina sinir lifi tabakası (RNFL) ölçülebilmektedir. RNFL miyelinden yoksundur ve optik siniri oluşturmak için aksonlar içerir. OCT, optik nevrit olayını takiben aksonal hasarı noninvaziv olarak ölçmek için kullanılabilir. RNFL’nin incelenmesi MS’de özellikle temporal peripapiller sinir lifi bölgesinde yaygındır.



Retinal aksonal kayıp, hastalığın erken dönemlerinde dahi tespit edilebilmektedir. Bu kapsamda erken tanıda, prognozu öngörmede ve nörodejenerasyonu göstermede katkı sağlamaktadır <sup>108</sup>.

### 2.3.5.2. AYIRICI TANI

MS'nin ayırıcı tanısında birçok birçok otoimmün, enfeksiyöz, inflamatuvar, metabolik, vaskülitik, paraneoplastik ve nörodejeneratif hastalık mevcuttur. Atipik klinik ve radyolojik prezentasyonu olan olgularda bu hastalıklar akılda bulundurulmalıdır <sup>31</sup>.

#### İnflamatuvar Hastalıklar

- Granülomatöz angiit
- Sistemik lupus eritematozus
- Sjögren hastalığı
- Behçet hastalığı
- Poliarteritis nodosa
- Paraneoplastik ensefalomiyelopatiler
- Akut dissemine ensefalomiyelit

#### Enfeksiyöz Hastalıklar

- Nöroborrelyoz
- İnsan T hücreli lenfotropik virüs tip 1 enfeksiyonu (HTLV-1)
- İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV)
- Progresif multifokal lökoensefalopati
- Nörosifiliz

#### Granülomatöz Hastalıklar

- Sarkoidoz
- Wegener granülomatozu

#### Myelin Hastalıkları

- Metakromatik lökodistrofi
- Adrenomyelolökodistrofi

CADASIL (serebral otozomal dominant subkortikal enfarkt ve lökoensefalopati)

Vitamin eksiklikleri (B12, folat )

Spinocerebellar sendromlar

Arnold-Chiari malformasyonu

Neoplastik/lenfoproliferatif hastalıklar

Paraneoplastik hastalıklar

Mitokondriyal hastalıklar

### **2.3.5.3. PROGNOZ**

Hastalık prognozu ile ilgili bireysel değişkenlik mevcut olmasına rağmen, olası prognostik göstergeler olarak çeşitli faktörler tanımlanmıştır.

- Cinsiyet: MS, kadınlarda erkeklerden daha az şiddetli bir seyir izleyebilir.
- Başlangıç yaşı: 35 yaşın altında başlangıç iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir.
- Başlangıç hastalık seyri: Hastalığın ataklar ile giden formu progresif formdan daha iyi bir prognoz ile ilişkilidir. İlk atak sonrası düzelme oranının yüksek olması, ikinci atak ile arasında uzun zaman olması yine iyi prognoz göstergesidir.
- Başlangıç belirtileri: Duysal belirtiler veya optik nörit çeşitli çalışmalarda iyi prognoz göstermekteyken; buna karşın piramidal ve özellikle beyin sapı, serebellar semptomlar kötü prognoz taşımaktadır.

MS'in kendisine bağlı ölüm nadirdir. Bronkopnömoni en sık ölüm nedenidir. Diğer nedenler arasında septisemi, kardiyak hastalıklar, kanser, serebrovasküler hastalıklar ve intihar bulunmaktadır<sup>109</sup>.

### **2.3.6. TEDAVİ**

MS tedavisi akut atak tedavisi, düzenleyici tedavi ve semptomatik tedavi olarak 3 başlık altında toplanabilir.

#### **2.3.6.1. AKUT ATAK TEDAVİSİ**

Yüksek doz kortikosteroid tedavisi, MS atak tedavisinde en sık kullanılan ve etkinliği kanıtlanmış tedavidir. Nörolojik kötüleşmenin objektif kanıtı tedavi endikasyonunu oluşturur. Hafif duysal ataklar tedavi edilemeyebilir. Tipik olarak 3 ila 10 gün boyunca günde 1000 mg intravenöz metilprednizolon (IVMP) kullanılmaktadır.

### **2.3.6.2. DÜZENLEYİCİ TEDAVİLER**

Hastalık düzenleyici tedavilerin sayısı ve etkinliği arttıkça, uzun dönem özürüllüğü önlemek için MS'de erken tedavinin önemi artmıştır.

MS tedavisinde en güncel yaklaşım ise hastalık aktivitesinin olmaması (no evidence of disease activity, NEDA) durumudur. NEDA, klinik parametreler (NEDA-1 ve 2, relapslarınve klinik progresyonun olmaması), inflamatuvar MRI aktivitesi (NEDA-3) , MRI atrofisi ve BOS nörofilament seviyeleri (NEDA-4 ve 5) ile tanımlanır.

#### **2.3.6.2.1. BİRİNCİ BASAMAK TEDAVİLER**

##### **2.3.6.2.1.1. INTERFERON BETA**

RRMS için ilk tedavi Interferon-beta (IFN-  $\beta$ ) olarak, 1993 yılında kullanıma sunulmuştur. Etki mekanizması, IL-10 ve IL-4 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin indüklenmesinin yanı sıra IFN- $\gamma$ , IL-17, TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinleri azaltılması üzerinedir. Ayrıca T regülatuar hücre aktivitesini düzenliği izlenmiştir <sup>110</sup>.

IFN- $\beta$  1b ve IFN- $\beta$  1a olmak üzere  $\beta$ -interferonlar 3 preparatta kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucunda klinik relaps ve kontrast tutan lezyon sıklığını azalttığı, yeni T2 lezyon yükünü etkilediği izlenmiştir. Uzun dönem kullanım için güvenli gösterilmiştir.

Yan etki profili tüm interferonlar arasında benzerdir ve genellikle haftalar ile aylar içinde azalan grip benzeri semptomları içerir. Enjeksiyon yerinde reaksiyon yaygın olarak izlenir. Karaciğer enzimlerinde yükselme, lökopeni ve anemi görülebilir ve her 3 ile 6 ayda bir kan izlenmesi önerilir. Ayrıca, değişken sayıda hasta, ilacın klinik etkinliğini azaltabilecek interferonlara karşı nötralize edici antikolar geliştirir <sup>111</sup>.

##### **2.3.6.2.1.2. GLATİRAMER ASETAT**

Glatiramer asetat (GA), subkütan enjeksiyon yoluyla uygulanan sentetik bir polipeptittir. RRMS'de 251 randomize hastayı içeren büyük bir çift kör çalışmada, GA alan hastalarda 2 yılda relaps oranında% 29'luk bir azalma görülmüştür. MRG incelemelerinde yeni gelişen T2 lezyon, kontrast tutan lezyon ve T1 hipointens lezyon sayılarında azalma izlenmiştir <sup>112</sup>.

Etki mekanizmasının antijen sunumunun inhibisyonu ve regülatuar hücre indüksiyonu (TH2) üzerinden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca nörotropik faktörlerin sekresyonunu indükleyerek nöroprotektif özelliği mevcuttur <sup>113</sup>.

#### **2.3.6.2.1.3. TERİFLUNOMİD**

Teriflunomid, romatoid artrit tedavisi için onaylanmış bir leflunomid metabolitidir. Bu ajan, lenfositlerin çoğalması için önemli bir yol olan de novo pirimidin sentezinde hız sınırlayıcı adım sağlayan mitokondriyal enzim dihidroorotat dehidrojenazı geri dönüşümlü olarak inhibe eder. Prolifere olan lenfositlerin azalmasına neden olur <sup>114</sup>.

Teriflunomid ile daha yaygın görülen advers olaylar arasında ishal, bulantı ve saç dökülmesi bulunur. Diğer yan etkiler arasında lenfopeni, karaciğer enzimlerinde yükselme, hipertansiyon, periferik nöropati ve çok daha nadir olarak akut böbrek yetmezliği bulunur. Oldukça uzun yarılanma ömrüne sahiptir. Hızlandırılmış bir eleme protokolü uygulanmadığı sürece tamamen ortadan kaldırılması birkaç aydan 2 yıla kadar sürebilir. Hızlı eliminasyon için aktif kömür veya kolestiramin uygulanmaktadır <sup>115</sup>.

#### **2.3.6.2.1.4. DİMETİL FUMARAT**

Fumarik asit esterlerinin formulasyonu olan Dimetil fumarat (DMF), 2013 yılında FDA tarafından RRMS'de birinci basamak ajan olarak onaylanmıştır.

Etki mekanizması net değildir. Dimetil fumarat, hızla ana aktif metaboliti monometilfumarata metabolize olur. Monometilfumarat Nrf-2 transkripsiyon faktörünü salgılayarak enflamatuar sitokinler, kemokinler ve adezyon moleküllerinin azalmasına yol açmaktadır. Nükleer faktör kappa B'nin hücre çekirdeğine translokasyonunu azaltarak antiinflamatuar rol oynamaktadır <sup>116</sup>. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, DMF'nin, oksidatif stresin azaltılması yoluyla oligodendrositler, miyelin ve aksonların korunması üzerinde olumlu etkileri olan nöroprotektif özelliklere sahip olabileceğini düşündürmektedir <sup>117</sup>.

## 2.3.6.2.2. İKİNCİ BASAMAK TEDAVİLER

### 2.3.6.2.2.1. FİNGOLİMOD

Fingolimod, *Isaria sinclairii* mantarından türetilen lipofilik bir sfingosin benzeri ajandır. Sfingosin-1-fosfat reseptör modülatörü olarak görev yapmaktadır.

S1P, sfingosin kinaz-1 veya -2 (SphK1 / 2) ile sfingozinin fosforilasyonunun ürünü olan aktif bir fosfolipiddir. İmmünite, kalp atış hızı, düz kas tonusu ve endotel bariyer fonksiyonunda yer alan çeşitli hücrel yanıtı düzenler. Eritrositler, beyin, dalak ve gözlerde bol miktarda bulunur. S1P reseptörleri yedi transmembran segmente sahiptir ve eylemlerini gerçekleştiren G-proteinlerine bağlanır. Beş alt tipi vardır. S1P1-3 alt tipleri birçok yerde bulunurken, S1P4 lenfoid dokularda, S1P5 dalak ve oligodendrositlerde eksprese edilir. B ve T lenfositleri ağırlıklı olarak S1P1 ve S1P3, daha az olarak da S1P4'ü eksprese ederler.

Fingolimod, sfingosine benzer bir yapıya sahiptir ve bir S1P analogu fingolimod-P olmak için SphK1 / 2 tarafından fosforile edilir. S1P'ye benzer şekilde fingolimod-P, S1P1 reseptörüne bağlanır, hücreyi S1P'nin çıkış sinyaline yanıt vermez hale getirir. Fingolimod gibi S1P reseptör modülatörleri, S1P reseptörünün fonksiyonunun dolaylı antagonizmine neden olur. Otoreaktif T lenfositleri, sekonder lenfoid organlarından ayrılamaz ve bu da SSS'e lenfosit akışının azalmasına yol açar. S1PR'ye ek olarak, diğer S3PR ve S5PR tipleri de fingolimod tarafından aktive edilir ve bunun terapötik etkinliğine katkıda bulunup bulunmadığı henüz çözülememiştir <sup>118, 119</sup>.

Naif T ve bellek T hücrelerinin lenf düğümlerinden çıkması, CC-kemokin reseptörü 7 (CCR7) aracılı retansiyon sinyalini aşmak için S1P1'in yeterli bir S1P konsantrasyonu ile aktivasyonunu gerektirir. Fingolimod böylece CCR7-pozitif lenfositler üzerinde spesifik bir etkiye sahip olarak otoreaktif T bellek hücrelerini lenfoid organda tutar, ancak CCR7-negatif T bellek hücrelerini dolaşıma ayırır. Kandaki CCR7<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> naif T hücreleri ve CCR7<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup> santral bellek T hücrelerinin sayısını azaltmış olur <sup>120</sup>.

Fingolimod yapısal olarak sfingosine benzer olduğu için lipofiliktir ve bu nedenle kan-beyin bariyerini kolayca geçer. Miyelinde birikebilir. İn vitro veriler, fingolimodun SSS içindeki çok çeşitli hücreler üzerindeki etkilerini göstermiştir. DOE modelinde Fingolimod'un oligodendrosit aracılı remiyelinasyonu artırdığı, demiyelinizasyonu

azalttığı görülmüştür. Ayrıca, gelişen nöronların büyümesine ve hayatta kalmasına yardımcı olan beyin kaynaklı nörotropik faktör üretimini uyararak nörorejenerasyonu teşvik ettiği düşünülmektedir <sup>121</sup>.

Fingolimod'un mikroglia üzerinde de etkileri olduğu gösterilmiştir. Mikroglia, S1P1 reseptörlerini eksprese eder ve fingolimod ile tedavi, TNF-a, IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi proenflamatuar sitokinlerin salınımının azalmasına yol açar <sup>122</sup>. Fingolimod, mikroglia da p38 MAP kinaz (MAPK) stres sinyal yolunu hedefleyerek eksitotoksisiteyi azalttığı için nöroprotektif etkilere sahiptir <sup>123</sup>.

Serebral iskemi modelleri gibi diğer nörodejeneratif modellerde yapılan çalışmalar, Fingolimod'un nöroprotektif etkilerini desteklemiştir. Serebral arter oklüzyonunun kemirgen modellerinde, Fingolimod ile mikroglial / makrofaj aktivasyonunun azaldığı ve enfarktüs boyutunun küçüldüğü saptanmıştır <sup>124</sup>. Nöroprotektif etkisinin anti-enflamatuar mekanizmalar yoluyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Dolaşımdaki lenfositlerdeki azalma doza bağımlıdır. Tedavinin ilk haftası içinde% 20-30 oranında azalma izlenir. Yarılanma ömrü 6-9 gündür, dozun yaklaşık % 81'i idrarda inaktif metabolitler olarak atılır <sup>125</sup>.

#### **2.3.6.2.2.2. NATALİZUMAB**

Natalizumab, lenfositlerin ve monositlerin yüzeyinde eksprese edilen bir hücre adezyon molekülü olan a4 $\beta$ 1 ve a4 $\beta$ 7 integrinlerine bağlanan hümanize monoklonal antikordur. Böylece, inflamatuvar hücrelerin kan-beyin bariyerinden migrasyonunu engeller. 28 günde 1, 300 mg infüzyon olarak uygulanır <sup>126</sup>.

#### **2.3.6.2.2.3. KLADRİBİN**

Kladribin, adenozin deaminaz inhibisyonu yapan bir purin nükleozid analogudur. Kladribin ön ilaç formu hücrelere purin nükleozid taşıyıcıları yoluyla girer ve hücreye girdikten sonra deoksisitidin kinaz tarafından ilk fosforilasyona uğrar. Aktif kladribin trifosfat nükleotidler hücreler içinde hapsoldüğünden, hücre içi birikimi önlemek için 50-nükleotidaz ile defosforilasyon gereklidir. Diğer hücre tipleriyle karşılaştırıldığında, lenfositler yüksek seviyelerde deoksisitidin kinaz içerir, ancak düşük seviyelerde 50-nükleotidaz içerir ve bu nedenle özellikle kladribini etkili bir şekilde metabolize

edemezler. Kladribin nükleotidlerinin birikimi DNA sentezini ve onarımını bozar ve nihayetinde lenfositlerde sürekli azalmaya yol açar. Kladribin KBB' i geçebilir. Bu nedenle, hem periferdeki hem de SSS'deki hücreler üzerinde etki edebilmektedir <sup>127</sup>.

### **2.3.6.2.3. ÜÇÜNCÜ BASAMAK TEDAVİLER**

#### **2.3.6.2.3.1. ALEMTUZUMAB**

Alemtuzumab, CD52 proteinini hedef alan hümanize monoklonal antikordur. Başlıca T ve B lenfositlerinde bulunmakta olduğu gibi CD52+ hücreleri deplese eder. Tedavi 1 yıl sonra bir kez tekrarlanır. İki farklı çalışmada IFN-1a'ya kıyasla yaklaşık % 50 relaps hızında azalma ile etkinliğinin yüksek olduğu gösterilmiştir <sup>128</sup>.

#### **2.3.6.2.3.2. OKRELİZUMAB**

CD20 molekülüne karşı etkinlik gösteren Okrelizumab, İnterferon beta 1a ile karşılaştırmalı yapılan çalışmalarda yıllık relaps oranının daha düşük olduğu, Okrelizumab'ın yeni MRG lezyonu ve disabilite progresyonunu azalttığı gösterilmiştir. PPMS'li hastalarda plasebo karşılaştırmalı yapılan çalışmada da progresyonu en az 12 hafta boyunca % 24 oranında önemli ölçüde azalttığı izlenmiştir.

Yan etkiler arasında infüzyon ile ilişkili rekasiyonlar ve enfeksiyonlar yer almaktadır. Şimdiye kadar bildirilmiş PML vakası yoktur <sup>129</sup>.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. HASTA SEÇİMİ**

Çalışmaya Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda McDonalds Kriterlerine uygun RRMS tanısı ile takipli hastalar alınmıştır. MS polikliniğinde yeni tedavi başlanmış olan hastalar dahil edilme kriterleri kapsamında değerlendirilerek çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş ve aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

Çalışmaya yeni Fingolimod tedavisi başlanacak 51 hasta ile kontrol grubu olarak birinci basamak tedavilerin başlanmasının planlandığı 38 RRMS takipli hasta dahil edilmiştir. Hastaların varsa önceki almakta olduğu ilaca uygun wash-out süresi beklenmiştir. Hastalardan venöz kan örneği ilaç başlanmadan önce alınarak eş zamanlı klinik ve nörolojik muayeneleri yapılmış, nörolojik özürülük oranı (EDSS) hesaplanmıştır. 6 aylık tedavi sonrasında tekrar venöz kan örnekleri alınarak EDSS ve atakları kayıt edilmiştir. Venöz kan örneklerinde lenfosit alt grup tayini için Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Laboratuvarı'nda flow sitometri yöntemi uygulanmıştır.

#### **3.1.1. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ**

- a. McDonalds kriterlerine göre kesin Multipl Skleroz kriterlerini karşılayan, relaps ve remisyonlar ile giden MS ( RRMS) tanısı almış olması
- b. 18-65 yaş arası kadın veya erkek olmak
- c. T ve B lenfositleri etkileyebilecek immünsupresif tedavi almamış olmak
- d. Daha önceden başka ilaç kullanan hastalarda uygun wash out süresinin geçmiş olması

#### **3.1.2. ÇALIŞMADAN DIŞLAMA KRİTERLERİ**

- a. Progresif MS hastası olması
- b. Malignite öyküsü olması
- c. Sistemik veya metabolik hastalık olması
- d. Aktif sistemik bakteriyel, viral veya mantar enfeksiyonu varlığı
- e. Akut atak olması veya son 1 ay içinde steroid tedavisi almış olmak



### 3.2. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Hastalardan onam formu alındıktan sonra venöz kan örnekleri, iki adet mor kapaklı 2 ml'lik EDTA'lı tüplere sabah saatlerinde alınarak toplanmıştır. Hastaların demografik özellikleri, varsa almakta olduğu tedavisi, nörolojik muayeneleri, atakları, Expanded Disability Status Scale (EDSS) skorları kayıt edilmiştir. Başlangıçta ve 6. ayda toplanan EDTA'lı tüpteki numuneler aynı gün içerisinde akım sitometrisi için Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Flow Sitometri Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Her örnek alımı ile birlikte kan sayım cihazında hücre sayısı (lenfositler) belirlenmiştir.

### 3.3. FLOW SİTOMETRİ

Tam kan yüzey boyama için EDTA'lı tüpe alınan 2 ml kan, 5 ml'lik tüplere (BD Falcon Biosciences) 100 mikrolitre olacak şekilde paylaştırıldı. Üzerine özel Fluroscein isothiocyanate (FITC), phycoerythrin (PE), APC, PerCp 5.5 ile konjuge monoklonal antikolar; CD3 (T cell receptor, FITC), CD4 ( T-helper cell receptor, PerCp 5.5), CD8 (Cytotoxic T cell receptor, FITC), CD5 (T1, ly-1 signaling molecule, PerCp 5.5), CD10 (N-cadherin, common lymphocytic leukemia antigen, CALLA, PE), CD19 ( co-stimulatory receptor on mature B cell, APC), CD20 (type III transmembrane protein, pre-B phase, PE), CD22 (SIGLEC family of lectins, mature B cells protein, PerCp 5.5), CD16 ( Natural killer cell protein, FcγRIII), CD56 (Neural cell-adhesin molecule, NCAM, natural killer cells marker, FITC), CD45 ( protein tyrosine phosphatase, receptor type C, PTPRC, leukocyte common antigen, cells marker of hematopoietic origin, APC) ve uygun izotip kontrollerden 2,10-20 mikrolitre ilave edilerek vortekslendi. Oda ısısında, karanlıkta, 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre bitiminde eritroistleri patlatmak amacıyla 2 mililitre lysis buffer (BD FACS Lysing solution 10x concantrate katalog no: 349202, distile su ile 1x konsantrasyona getirildi) konuldu. Örnekler tekrar vortekslendikten sonra 8 dakika boyunca oda ısısında inkübe edildi. Süre bitiminde 1800 rpm de 5 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj sonrası supernatant döküldü. Üzerine cell wash yıkama solüsyonu (%0,1 sodyum azid içeren PBS) eklenerek tekrar vortekslendi ve santrifüj edildi. (1800 rpm, 5 dakika). Santrifüj sonrası supernatant uzaklaştırıldıktan sonra 500 mikrolitre cell wash ile resüspanse edildi. Tüm örnekler bu şekilde hazırlandıktan sonra, hücre süspansiyonları BD FACS Calibur akım sitometri cihazında okutuldu.

Örneğin analizi BD Cell Quest Tm Software programı kullanılarak sorumlu hoca tarafından gerçekleştirildi. Yapılan değerlendirmede tüm veriler total lenfositlere oranlanarak hem yüzde hem sayısal olarak hesaplandı.



**Resim 6:** BD FACS Calibur akım sitometri cihazı

### **3.4. GENİŞLETİLMİŞ ÖZÜRLÜLÜK DURUM ÖLÇEĞİ (EDSS)**

Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği, MS hastaları için en yaygın kullanılan özürlülük ölçeğidir. Hastalığın her aşamasında etkili ve güvenilir değerlendirme sağlar. Esas olarak fonksiyonel sistemlerin değerlendirilmesine dayanır. 0 ile 10 puan arasında değerlendirilir. 0 puan normal nörolojik muayeneyi, 10 puan MS'e bağlı ölüm vakalarını göstermektedir.

Çalışma esnasında hastaların başlangıç ve 6. Ay sonrasındaki EDSS skor hesaplamaları, EDSS sertifikasına sahip araştırıcı tarafından yapılmıştır.

### 3.5. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (25.-75. persentil) olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler ise frekans (yüzde) şeklinde özetlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar bağımsız örneklem t testi ve Mann Whitney U testi ile yapıldı. Değişkenler içindeki zamana bağlı değişimler eşleştirilmiş t testi ve Wilcoxon işaretli sıralar testi ile incelendi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare analizi ile değerlendirildi. İki yönlü hipotezlerin testinde  $p < 0.05$  istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.

## 4. SONUÇLAR

### 4.1. DEMOGRAFİK VE KLİNİK VERİLER

Çalışmaya Kocaeli Üniversitesi MS polikliniği'nde takip edilmekte olan toplam 89 hasta dahil edilmiştir. Fingolimod başlanması planlanan hastalar ve Fingolimod dışı tedavi planlananlar olarak iki ayrı grup oluşturulmuştur. Çalışmanın sonunda Covid-19 pandemisi nedeniyle kontrole gelemeyen 5 hasta çalışma dışı kalmıştır. Fingolimod grubu 48 hasta, Fingolimod dışı kontrol grubu 33 hasta ile sonlandırılmıştır. Kontrol grubunun %54,5'ini (n=18) Teriflunomid, %24,2'sini (n=8) Glatiramer asetat, %21,1'ini (n=7) Interferon beta 1a tedavisi planlanan hastalar oluşturmaktadır.

Fingolimod grubunun % 79,2' si (n=38) kadın, % 20,8'i (n=10) erkekti. Kontrol grubunun % 72,7'si (n=24) kadın, % 27,3'ü (n=9) erkekti. Fingolimod grubunda yaş ortalaması 35,92±9,98 (± Standart sapma) yılı. Kontrol grubunda yaş ortalaması 32,39±8,93 yılı. İki grup arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark saptanmadı ( Cinsiyet için p=0,685, yaş için p=0,108).

Tüm hastaların başlangıç EDSS'leri 0 ile 6 arasında değişmekte olup Fingolimod grubunda medyan değeri 1,5 (1,00-2,00), kontrol grubunda medyan değeri 1,0 (1,00-2,00) idi. İki grup arasında başlangıç EDSS skorları açısından anlamlı farklılık izlenmedi (p=0,116). Altıncı ay EDSS ortalamaları incelendiğinde her iki grupta anlamlı özürülük artışı izlenmedi (Fingolimod grubu için p=0,317, kontrol grubu için p=0,705).

Altı aylık izlem sonrasında toplam 6 hastada akut atak izlenmiştir. %92.6 (n=75) hasta ataksız izlenmiştir. Atak geçiren hastaların %50'si (n=3), Fingolimod grubunda, %50'si (n=3) kontrol ( 1 hasta Interferon beta 1a, 1 hasta Teriflunomid, 1 hasta Glatiramer Asetat kullanımında) grubundadır.

**Tablo 2.** Hastaların demografik verilerinin ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması

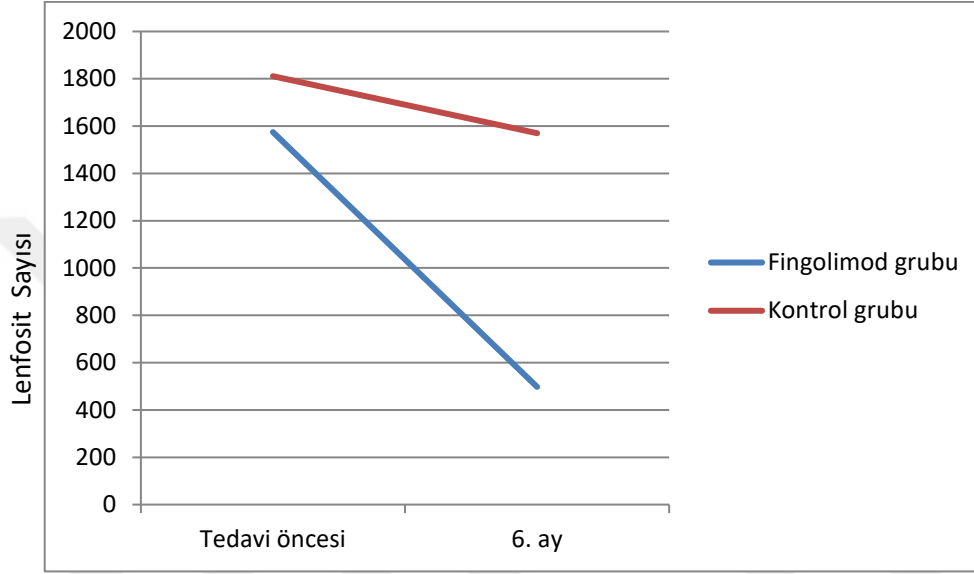
<b>Değişkenler</b>	<b>Fingolimod grubu (n=48)</b>	<b>Kontrol grubu (n=33)</b>	<b>p</b>
<b>Yaş<sup>a</sup></b>	35,92±9,98	32,39±8,93	0,108*
<b>Cinsiyet, n (%)</b>			0,685**
<b>Kadın</b>	38 (79,2)	24 (72,7)	
<b>Erkek</b>	10 (20,8)	9 (27,3)	
<b>Başlangıç EDSS<sup>b</sup></b>	1,5 (1,00-2,00)	1,0 (1,00-2,00)	0,116***
<b>Altıncı ay EDSS<sup>b</sup></b>	1,5 (1,00-2,00)	1,0 (1,00-2,00)	0,215***
<b>Atak, n (%)</b>			0,683**
<b>Var</b>	3 (6,3)	3 (9,1)	
<b>Yok</b>	48 (93,8)	33 (90,9)	

<sup>a</sup> Ortalama± standart sapma , <sup>b</sup> Medyan (25-75. persentil)

\* Bağımsız örneklem t testi, \*\* Ki-kare testi, \*\*\* Mann-Whitney U testi

## 4.2. İMMÜNOLOJİK VERİLER

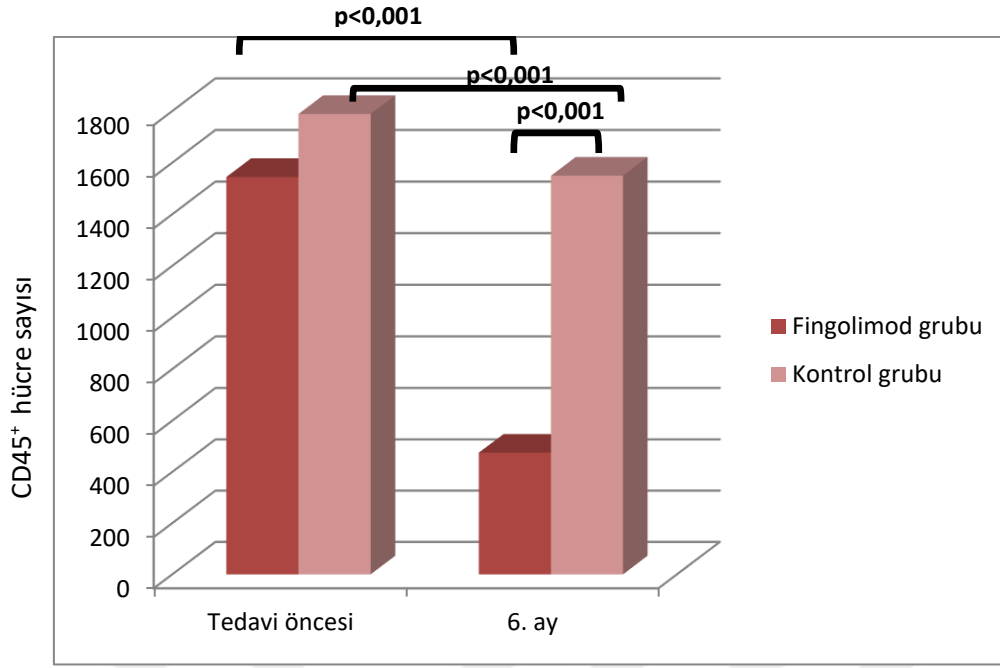
Akım sitometri incelemeleri sonrasında Fingolimod ve kontrol grubunun tedavi öncesi lenfosit sayıları ve yüzdeleri arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Ancak her iki grupta da 6. ay sonrası bakılan lenfosit sayı ve yüzde değerlerinde anlamlı düşüş olduğu görüldü. Fingolimod grubunda bu düşüşün kontrol grubuna göre daha belirgin olduğu saptandı ( $p<0,001$ ).



**Şekil 2.** Fingolimod ve kontrol gruplarında tedavi sonrası lenfosit sayısının değişimi

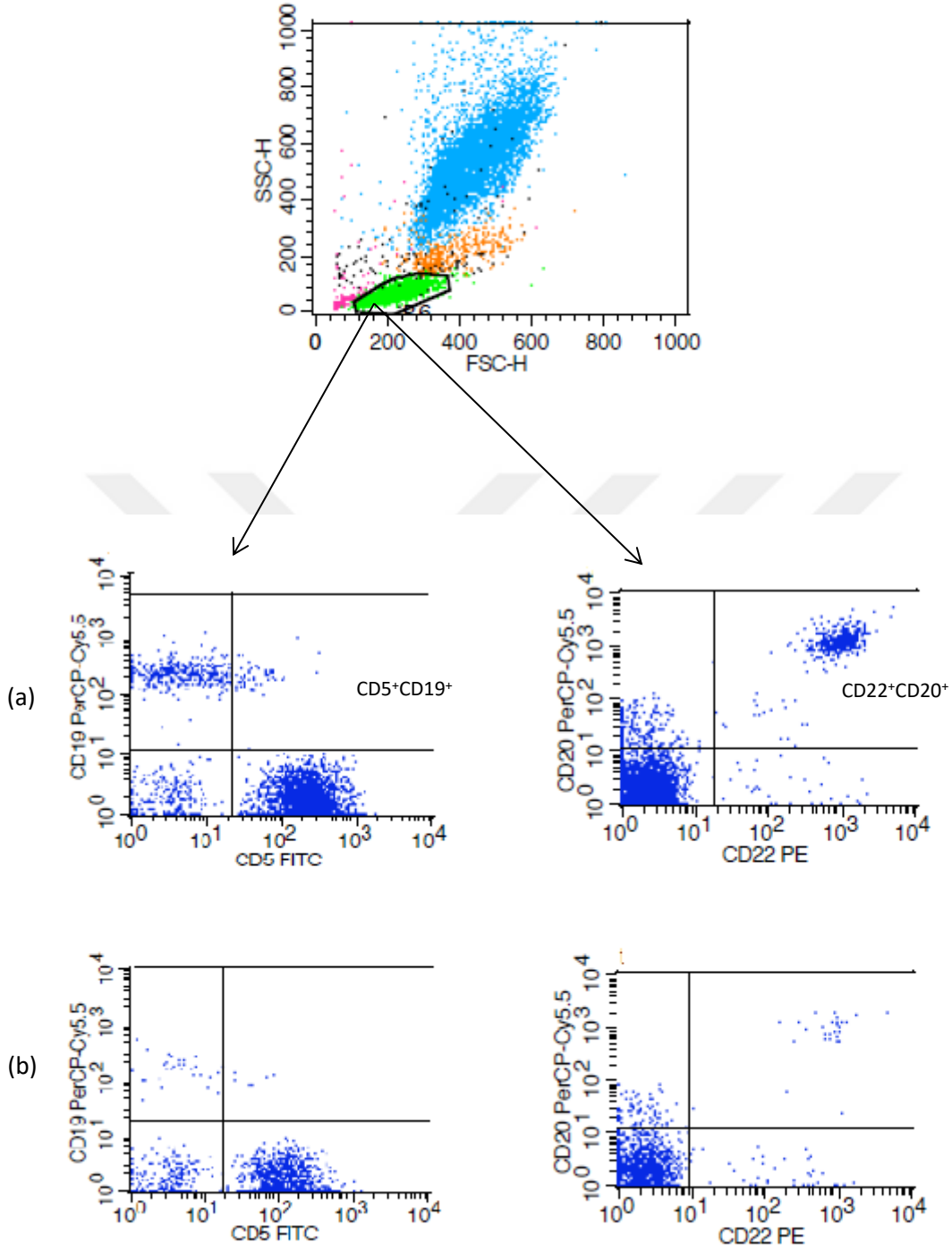
Myeloid ve monosit yüzdelerinde tedavi öncesi her iki grup arası anlamlı farklılık göze çarpmazken tedavi sonrası Fingolimod grubunda myeloid ve monosit yüzdelerinde artış olduğu izlendi (Myeloid için  $p< 0,001$ , monosit için  $p=0,010$ ).

Tüm çekirdekli hücreleri gösteren  $CD45^+$  hücre sayısı ve yüzdesine bakıldığında ilk analizlerde benzer oranlarda saptandı. Tedavinin altıncı ayı sonrası yapılan değerlendirmelerde Fingolimod ve kontrol gruplarında  $CD45^+$  hücre sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı izlendi.  $CD45$  yüzdesi sadece Fingolimod grubunda belirgin düşme gösterdi. Her iki grup karşılaştırıldığında Fingolimod grubundaki azalmanın kontrol grubuna göre daha büyük oranda olduğu görüldü ( $p< 0,001$ ).



**Şekil 3.** CD45<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması

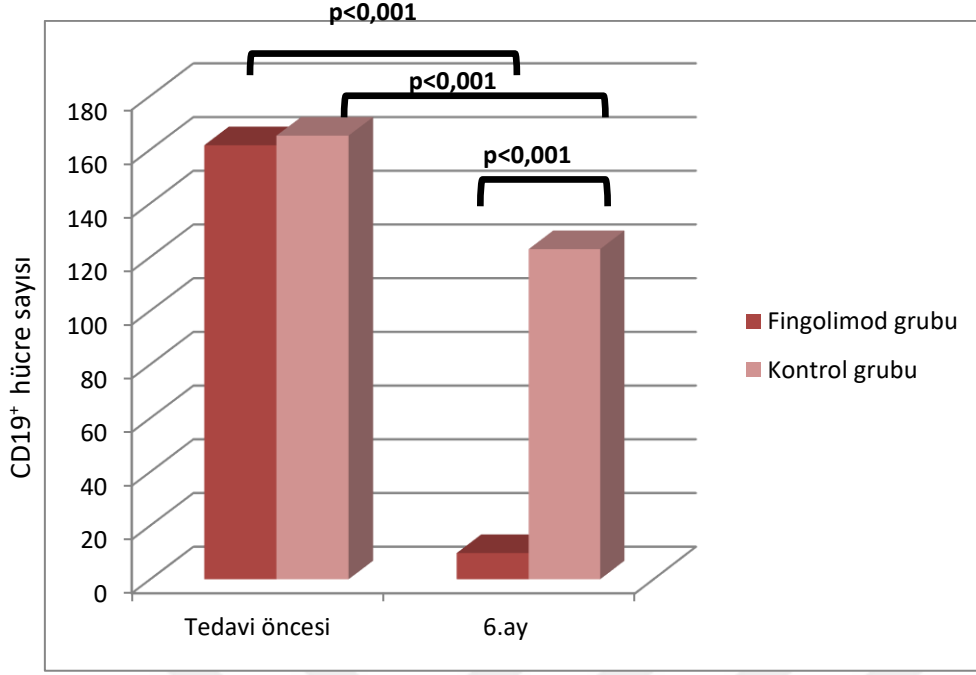
B lenfosit yüzey belirteçlerinden CD19, CD20 ve CD22 analizlerinde sayı ve yüzdeler bakımından her iki grup arasında başlangıçta anlamlı fark izlenmedi. Tedavinin altıncı ayı sonrası yapılan analizlerde Fingolimod grubunda CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> ve CD22<sup>+</sup> hücre sayıları ve yüzdelerinde kontrol grubuna göre belirgin düşüş izlendi ( $p < 0,001$ ).



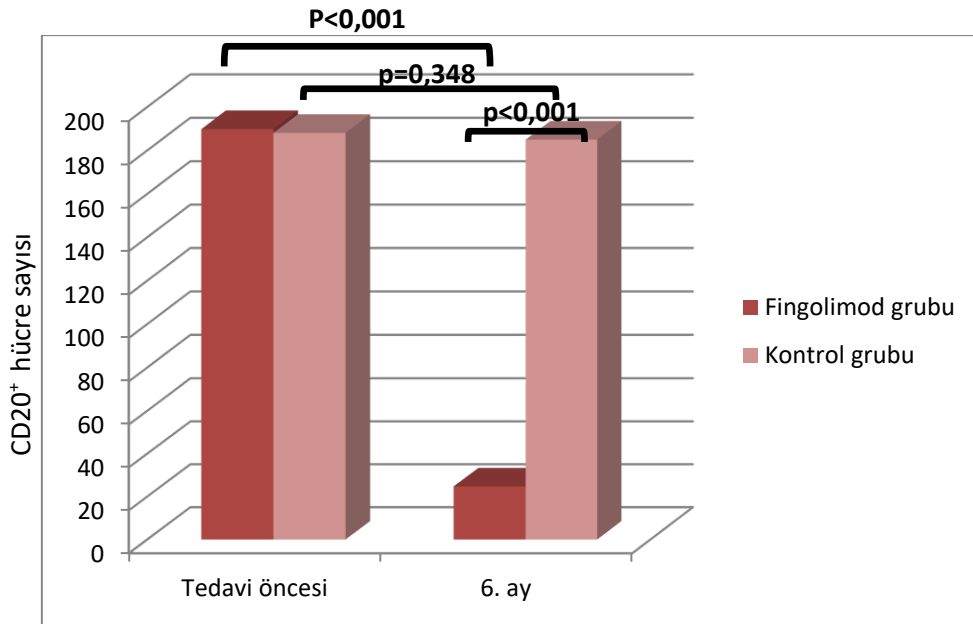
**Resim 7.** Lenfosit ve B hücre alt tiplerinin akım sitometrisinde kapı alma işlemi.

(a) Tedavi öncesi CD5<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> ve CD22<sup>+</sup> hücre alt tiplerinin dağılımı. (b) Altı aylık Fingolimod tedavisi sonrası hücre alt tiplerinin yeniden dağılımı.

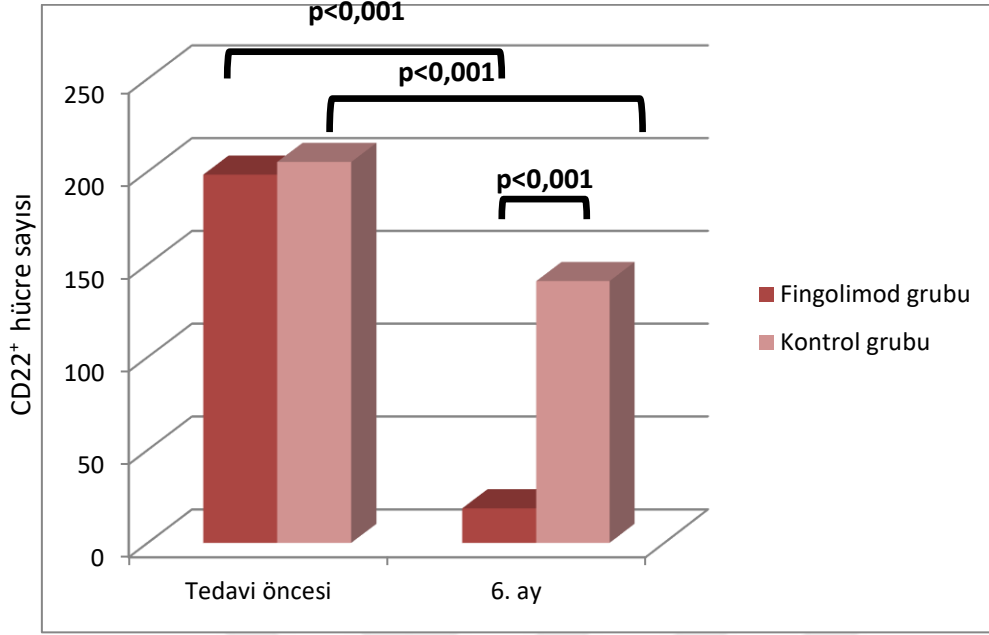




Şekil 4. CD19<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması



Şekil 5. CD20<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması



**Şekil 6.** CD22<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması

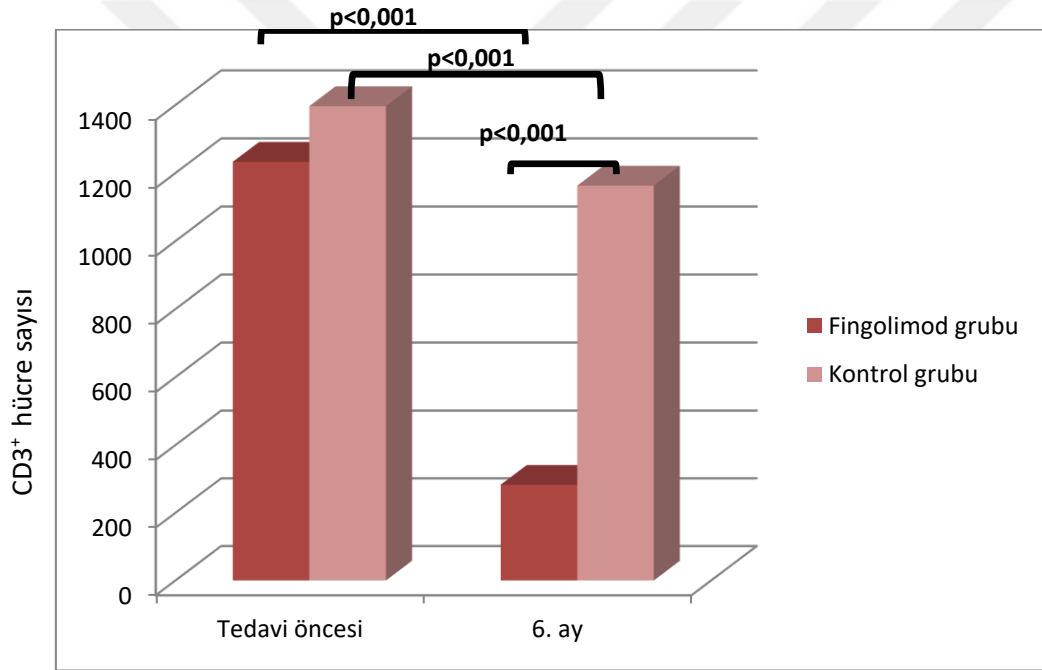
Başlıca immatür B lenfositlerde eksprese edilen CD10<sup>+</sup> hücrelerin ilk analizinde gruplar arası fark izlenmedi. Tedavi sonrası değerlendirmelerde Fingolimod grubunda CD10 sayısındaki düşüş dikkat çekmiştir ( $p < 0,001$ ).

T lenfositler ve B lenfositlerin bazı alt gruplarında bulunan CD5<sup>+</sup> hücre sayısı açısından değerlendirildiğinde tedavi öncesi her iki grup arasında anlamlı fark yok iken; tedavinin altıncı ayından sonra bakılan değerlerde Fingolimod grubunda kontrol grubuna göre CD5<sup>+</sup> hücre sayısında ciddi düşüş saptandı ( $p < 0,001$ ).

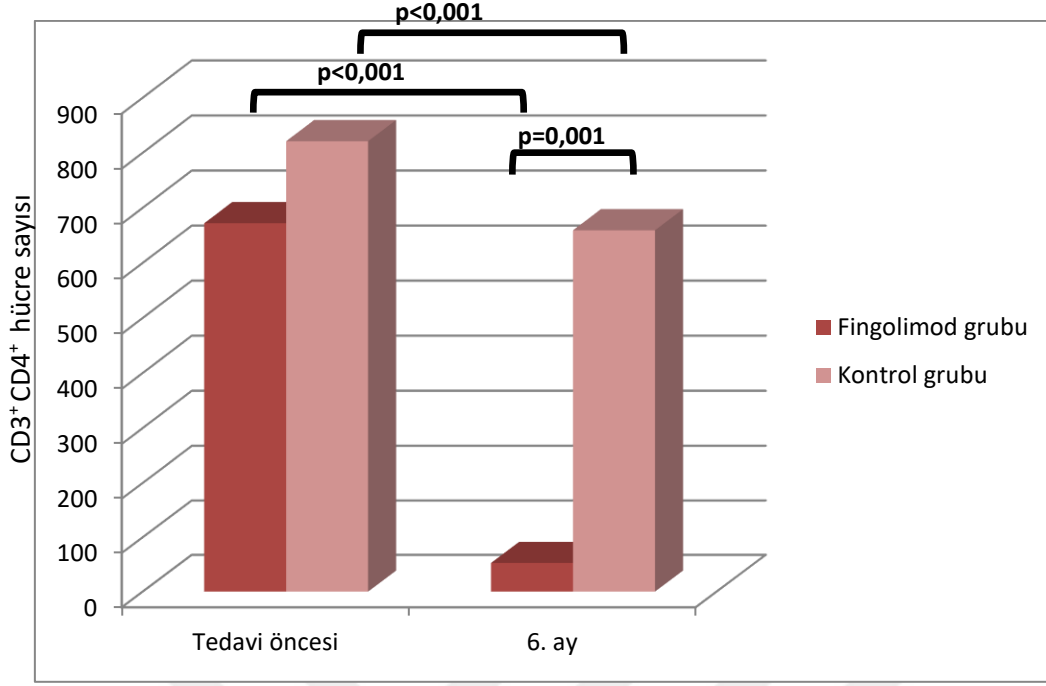
T lenfosit yüzey belirteci olan CD3 analizlerinde başlangıçta Fingolimod ve kontrol gruplarında sayı ve yüzde olarak benzer oranlarda bulundu. Tedavinin altıncı ayı sonrası bakılan değerlerde Fingolimod grubunda kontrol grubuna göre ciddi düzeyde CD3<sup>+</sup> hücre sayısının azaldığı görüldü ( $p < 0,001$ ).

CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> yardımcı T hücre grubuna bakıldığında tedavi öncesi Fingolimod ve kontrol gruplarında benzer oranlarda izlendi. Tedavi sonrası her iki grupta da CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> hücre sayısının azaldığı görüldü. Fingolimod grubundaki azalma kontrol grubuna göre ciddi farklılık göstermekteydi (p<0,001).

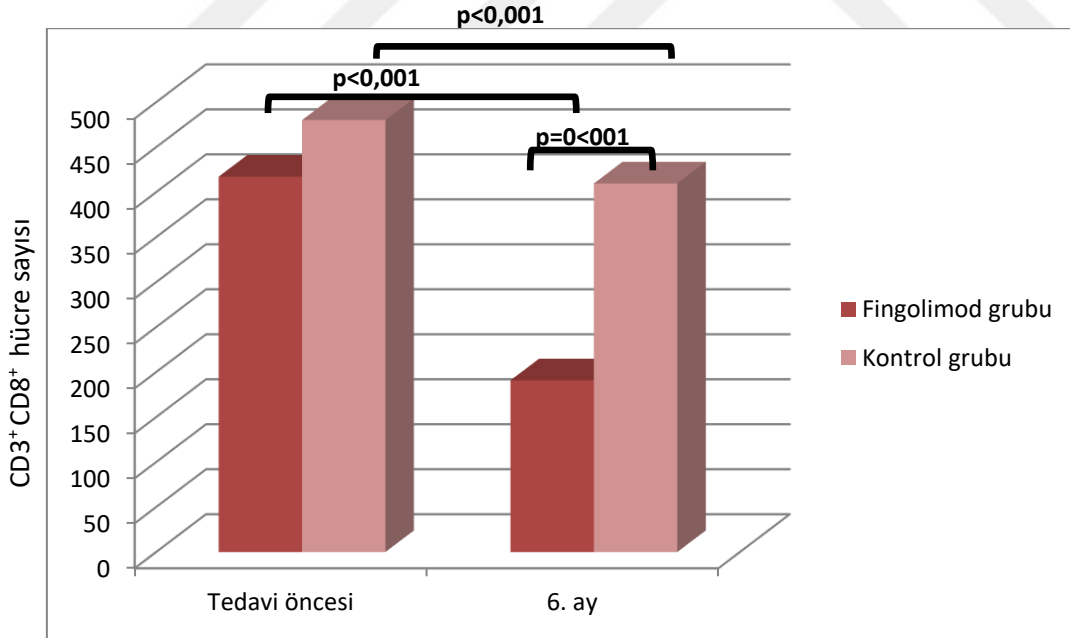
CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> sitotoksik T hücre grubunda sayı ve yüzde cinsinden her iki grupta başlangıçta anlamlı farklılık izlenmezken, tedavinin altıncı ayından sonra bakılan değerlerde Fingolimod grubunda hücre sayısında düşüş dikkati çekmiştir (p< 0,001).



**Şekil 7.** CD3<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması



**Şekil 8.** CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması



**Şekil 9.** CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> hücre sayısının Fingolimod ve kontrol grubunda tedavi öncesi-sonrası karşılaştırılması

Naif T hücre belirteci olan CD45RA analizlerinde ilk vizitte her iki grup arası anlamlı fark yok iken Fingolimod grubunda ilaç başlanmasından sonra CD45RA hücre sayısı ve yüzdesinde anlamlı bir düşüş olduğu gözlemlendi ( $p < 0,001$ ).

CD4/8 oranı incelendiğinde her iki grupta da altıncı ay sonrası bu oranın CD8 lehine bozulduğu, Fingolimod grubunda bu etkilenimin çok daha fazla olduğu izlendi. Fingolimod grubu için tedavi öncesi ve sonrası median değerler 1,45 (1,12-2,17) ve 0,20 (0,20-0,40); kontrol grubu için median değerler 1,40 (1,10-1,80) ve 1,60 (1,20-1,90) olarak saptandı ( $p < 0,001$ ).

CD3<sup>-</sup> CD16/56<sup>+</sup> NK hücrelerinin başlangıçta sayı ve yüzde olarak benzer oranlarda bulunduğu saptandı. Fingolimod grubunda tedaviden sonraki analizlerde CD3<sup>-</sup> CD16/56<sup>+</sup> NK hücrelerinin yüzdesinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ( $p < 0,001$ ). Hücre sayısı olarak ise azalma olduğu gözlemlendi. Ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmadı ( $p=0,126$ ).

**Tablo 3.** Tedavi öncesi ve tedavinin altıncı ayında Fingolimod ve kontrol grubunun hücre alt tiplerinin değerleri [Ortalama±standart sapma, median (25.-75. Persentil)]

	Fingolimod grubu (n=48)		Kontrol grubu (n=33)		p1 <sup>a</sup>	p2 <sup>b</sup>
	Tedavi öncesi	6.ay	Tedavi öncesi	6.ay		
<b>Lenfosit (hücre/μ)</b>	1695,1±659,4	563,8±261,6	1913±548,6	1541,4±457,6	0,122*	<0,001**
	1574,4 (1183-2197)	497,6 (362,5-724,6)	1810,9 (1499,8-2231,8)	1570 (1170,9-1914,7)		
<b>Lenfosit (%)</b>	26,0±8,4	12,3±5,1	26,3±7,5	25,4±5,8	0,985**	<0,001*
	25,8 (21-30,8)	11,5 (8,8-15,2)	24,7 (21,2-30,1)	27,3 (21,3-28,8)		
<b>Monosit (%)</b>	5,4±1,7	9,1±2,8	5,7±1,9	7,6±2,5	0,496*	<0,001**
	5,5(4,6-6,8)	9,0 (7,2-10,7)	5,5 (4,5-7,1)	7,0 (5,61-9,2)		
<b>Myeloid (%)</b>	61,0±10,2	68,1±8,1	61,9±8,8	56,1±9,2	0,682*	<0,001**
	61,4 (55-67)	56,5 (48,9-62,2)	62,6 (55,8-68,9)	56,5 (48,9-62,2)		
<b>CD45<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	1638,4±665,6	540,3±258,0	1853,5±535,4	1487,4±490,8	0,127*	<0,001**
	1544,3 (1143,8-2133,1)	475,2 (349,8-699,3)	1788,6 (1423,0-2167,9)	1549,4 (1112,1-1857,6)		
<b>CD45<sup>+</sup> (%)</b>	95,6±6,4	94,9±4,5	96,8±3,1	95,3±11,1	0,788**	<0,001**
	97,7 (96,2-98,6)	96,0 (94,4-97,2)	97,8 (96,3-98,6)	98,0 (96,1-98,7)		
<b>CD19<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	176,4±75,0	14,3±16,0	196,4±97,1	135,2±58,8	0,377**	<0,001**
	161,6 (118,6-219,0)	9,7 (5,6-18,6)	165,1 (131,9-255,0)	122,9 (87,8-184,4)		
<b>CD19<sup>+</sup> (%)</b>	11,2±4,8	2,5±1,9	10,2±3,7	8,7±2,8	0,683**	<0,001**
	10,4 (7,6-13,2)	2,1 (1,0-3,6)	10,2 (7,8-12,8)	8,9 (6,4-11,2)		
<b>CD20<sup>+</sup> (%)</b>	12,9±5,5	7,3±12,3	11,2±4,1	12,7±3,6	0,129*	<0,001**
	11,6 (9,3-16,3)	5,0 (3,1-8,1)	11,5 (8,6-13,7)	12,3 (9,7-15,2)		
<b>CD20<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	205,3±88,9	41,4±69,4	217,9±112,1	195,5±81,5	0,863**	<0,001**
	189,8 (137,5-279,0)	24,7 (15,6-40,2)	188,0 (147,7-289,3)	184,9 (132,6-227,8)		
<b>CD22<sup>+</sup> (%)</b>	13,4±5,2	4,5±3,9	12,6±4,4	9,5±3,8	0,799**	<0,001**
	12,7 (9,5-16,9)	3,3 (1,6-5,8)	12,3 (10,2-14,3)	10,2 (6,0-11,7)		

**Tablo 3. Devamı**

	Fingolimod grubu (n=48)		Kontrol grubu (n=33)		p1 <sup>a</sup>	p2 <sup>b</sup>
	Tedavi öncesi	6.ay	Tedavi öncesi	6.ay		
<b>CD22<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	214,0±84,9 198,3 (163,5- 279,3)	23,8±21,8 18,5 (7,8-31,0)	244,1±119,8 205,1 (170,6- 281,0)	147,2±71,4 140,9 (93,5- 199,2)	0,317**	<0,001**
<b>CD5<sup>+</sup> (%)</b>	71,6±7,3 72,4 (67,4-76,5)	53,9±16,3 54,3 (44,4-67,8)	69,1±12,2 72,6 (66,0-76,8)	72,6±10,5 75,3 (69,3-78,7)	0,773**	<0,001**
<b>CD5<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	1238,5±553,3 1119,5 (733,5- 1693,2)	310,4±218,6 247,3 (158,7- 406,1)	1323,6±460,7 1349,7 (1008,3- 1566,3)	1136,8±396,2 1176,0 (803,2- 1466,8)	0,470*	<0,001**
<b>CD10<sup>+</sup> (%)</b>	0,5±0,7 0,1 (0,0-0,7)	0,5±0,7 0,3 (0,0-0,8)	0,2±0,2 0,2 (0,0-0,3)	0,7±0,6 0,5 (0,2-0,9)	0,467**	0,035**
<b>CD10<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	9,0±13,0 3,4 (1,4-11,9)	2,9±3,8 1,6 (0,5-3,2)	5,2±6,0 4,1 (1,0-6,4)	10,8±8,0 9,0 (4,0-18,5)	0,541**	<0,001**
<b>CD3<sup>+</sup> (%)</b>	71,7±6,1 71,1 (67,9-75,5)	56,7±17,3 57,7 (44,2-72,0)	72,5±8,5 74,2 (69,8-78,2)	72,8±10,5 76,5 (69,9-78,0)	0,141**	<0,001**
<b>CD3<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	1233,0±534,8 1093,9 (774,5- 1708,4)	334,0±219,1 283,1 (168,8- 436,4)	1396,7±453,3 1387,1 (1046,6- 1647,7)	1136,4±387,8 1163,2 (826,2- 1424,3)	0,154*	<0,001**
<b>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (%)</b>	43,8±7,6 43,8 (37,2-48,8)	14,9±12,8 10,9 (6,4-18,2)	43,4±6,07 43,0 (40,0-47,1)	43,8±8,4 44,4 (40,0-49,7)	0,785*	<0,001**
<b>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	746,3±317,0 671,8 (490,1- 1048,8)	92,1±114,7 52,6 (29,5-112,6)	827,2±257,5 820,8 (602,1- 924,7)	675,8±214,1 658,9 (541,4- 852,8)	0,245**	<0,001**
<b>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (%)</b>	26,7±7,9 26,9 (20,3-31,8)	38,5±15,4 39,2 (26,7-50,8)	27,0±5,6 27,3 (22,6-31,0)	25,5±6,4 24,9 (21,7-30,0)	0,841*	<0,001*
<b>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (hücre/μ)</b>	467,4±271,4 417,2 (257,1- 606,0)	226,4±161,8 190,8 (115,1- 307,7)	526,4±213,1 480,1 (381,0- 638,6)	409,3±199,9 409,6 (259,2- 522,5)	0,122**	<0,001**

**Tablo 3. Devamı**

	Fingolimod grubu (n=48)		Kontrol grubu (n=33)		p1 <sup>a</sup>	p2 <sup>b</sup>
	Tedavi öncesi	6.ay	Tedavi öncesi	6.ay		
<b>CD45RA (hücre/<math>\mu</math>)</b>	760,7 $\pm$ 423,4 671,9 (480,9- 1046,2)	368,1 $\pm$ 179,0 351,5 (237,9- 479,1)	921,6 $\pm$ 386,9 892,5 (578,9- 1261,6)	733,0 $\pm$ 325,5 654,8 (529,8- 887,8)	0,066**	<0,001**
<b>CD3<sup>-</sup> CD16/56<sup>+</sup> NK (%)</b>	9,9 $\pm$ 4,7 9,5 (7,2-11,7)	28,0 $\pm$ 14,5 26,5 (16,1-38,0)	11,4 $\pm$ 5,7 9,2 (8,2-13,1)	8,2 $\pm$ 5,8 7,6 (3,8-11,1)	0,384**	<0,001**
<b>CD3<sup>-</sup> CD16/56<sup>+</sup> NK (hücre/<math>\mu</math>)</b>	170,8 $\pm$ 112,4 135,0 (92,2- 217,0)	153,0 $\pm$ 109,0 124,0 (80,5- 179,1)	218,6 $\pm$ 112,5 192,1 (134,0- 294,2)	134,3 $\pm$ 112,4 87,6 (56,6-185,1)	0,022**	<0,001**

<sup>a</sup> Tedavi öncesi kontrol ve Fingolimod grubu için p değeri, <sup>b</sup> 6.ay kontrol ve Fingolimod grubu için p değeri

\*Bağımsız örneklem t testi, \*\*Mann-Whitney U testi



## 5. TARTIŞMA

Fingolimod, Multipl Skleroz tedavisi için etkinliği klinik deneylerde kanıtlanmış oral ajandır. Fingolimod, G proteini bağlı reseptörlerin aracılık ettiği S1P1 reseptörüne bağlanarak etki göstermektedir. S1P1, lenfoid dokulardan dolaşıma lenfosit çıkışını düzenleyen, bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynayan reseptördür. Fingolimod, T hücrelerinin ikincil lenfoid dokulardan ayrılması için kritik rol oynayan S1P1 reseptörleri üzerine antagonist etki göstererek CCR7<sup>+</sup> lenfositlerin dolaşıma çıkmasına engel olur ve böylece otoreaktif T bellek hücrelerini lenfoid organda tutar<sup>130, 131</sup>. S1P1 reseptörleri ayrıca birçok SSS hücresinde bulunarak hücre çoğalması, morfolojisi ve migrasyonuna aracılık etmektedir. Fingolimod kan beyin bariyerini geçerek, doğrudan SSS etkilerine sahiptir<sup>118</sup>.

Lenfopeni, Fingolimod tedavisinin kendine özgü etki mekanizmasına dayanan ayrılmaz bir parçasıdır. Fingolimod ile ilk klinik deneyler sonucunda, lenfositlerin lenfoid dokuda hapsolmesine bağlı olarak lenfosit sayısında yaklaşık % 70 azalma bildirilmiş ve bireyler arası geniş farklılıklar tartışılmıştır<sup>132</sup>. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde total lenfosit sayısında belirgin düşüş izlenmiştir.

Fingolimod tedavisi başlanan hastalarda myeloid ve monosit yüzdesinde izlenen artış ise lenfosit sayı ve yüzdesindeki düşüşe bağlanmıştır.

Flow sitometri sonuçlarımızda Fingolimod kullanan hastalarda tüm çekirdekli hücreleri temsil eden CD45<sup>+</sup> hücre sayısında anlamlı düşme izlenmiştir. Hastalarda lenfosit alt grupları incelendiğinde, T lenfositleri temsil eden CD3<sup>+</sup> hücre analizlerinde tedavinin altıncı ayı sonrasında Fingolimod grubunda kontrol grubuna göre CD3<sup>+</sup> ve CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> yardımcı T hücrelerinin hücre sayısı ve yüzdesinde ciddi azalma saptanmıştır. CD4<sup>+</sup> T hücrelerine ek olarak, CD4<sup>+</sup> T hücre sayıları kadar güçlü olmasa da, Fingolimod ile tedavi edilen MS hastalarında CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T hücre sayıları da kontrol grubuna kıyasla azalmıştır.

Son veriler, CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin, relapslar sırasında ve kronik fazda SSS hasarına neden olan ikinci bir aşamada yer aldığını göstermektedir. Postmortem çalışmalarda CD8 T hücrelerinin perivasküler kılıf ve parankimal lezyonlarda çok sayıda izlenmesi bu hücrelerin patogenezindeki rolü açısından kanıt oluşturmaktadır. Bu sonuçlar ışığında CD8<sup>+</sup> hücreler üzerindeki bu değişimin, Fingolimod'un etkinliğine katkı sağladığı düşünülebilir<sup>133, 134</sup>.

Yüzde değerlere bakıldığında ise CD8<sup>+</sup> hücrelerin yüzde olarak arttığı ve bu nedenle CD4/CD8 oranının CD8 lehine bozulduğu dikkati çekmiştir. Bu sonuç ile Fingolimod tedavisinin CD8<sup>+</sup> hücreler üzerine de etkili olduğu ancak CD8<sup>+</sup> hücrelerin CD4<sup>+</sup> hücreler kadar lenfoid dokuda hapsolmadığını, bu nedenle yüzde olarak rölatif bir artış olduğu düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda benzer şekilde Fingolimod tedavisinin başlıca CD4<sup>+</sup> T lenfositleri, daha zayıf olarak CD8<sup>+</sup> hücreleri etkilediği izlenmiştir. Bu durumun nedeni ise CD4<sup>+</sup> T lenfositlerinin daha fazla CCR7 pozitifliği içermesine bağlanmıştır. CCR7, lenf düğümünde T hücre tutulmasında rol oynayan bir kemokindir.

Fingolimodun yakın zamanda keşfedilen bir etki mekanizması da, CD4 hücrelerinde T-hücre faktörü 1'in (TCF-1) modülasyonudur. TCF-1, T hücresi gelişiminde rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Th2'ye özgü transkripsiyon faktörünün uyarılması yoluyla Th2 farklılaşmasını teşvik ederken, Th1 ve Th17 farklılaşmasını negatif olarak düzenler. Mazzola ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Fingolimod tedavisinin hastalarda azalmış olan TCF-1 ekspresyonunu yeniden düzenlediği, IFN-gama ve granzim B üretimini azaltarak inflamasyonu azalttığı izlenmiştir <sup>135</sup>.

Çalışmamızda ayrıca CD45RA<sup>+</sup> T hücre sayısında da azalma tespit edilmiştir. Fingolimod'un naif T hücrelerine de etkili olduğu saptanmıştır.

Dominguez-Villar ve arkadaşlarının yaptığı 20 RRMS hastası ile yapılan çalışmada çalışmamıza benzer şekilde Fingolimod tedavisini takiben 3. aydan itibaren CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> hücre sayılarında belirgin düşüş izlenmiştir. Granülosit ve monosit sayılarında ise belirgin etkilenme olmaksızın göreceli bir artış izlenmiştir. Bu çalışmada farklı olarak sitokin grupları ve Fingolimod'un gen üzerindeki etkileri de araştırılmış olup, Th1 ile ilişkili sitokinler olan TNF-alfa ve IL-27 seviyelerinde ciddi düşüş saptanmıştır. Çalışmada gen üzerindeki incelemelerinde de pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonlarının tedavi altında azaldığı görülmüştür <sup>136</sup>.

MS patogenezinde T hücrelerinin baskın rolü sıklıkla vurgulanmasına rağmen, B hücrelerinin önemi gün geçtikçe yeni çalışmalar ile kanıtlanmaktadır. B lenfositlerin antijen sunarak T hücresi kostimülasyonu yaptığı, sitokin salınımı ve antikör sentezi ile demiyelinizasyona ve aksonal hasara katkıda bulunmaları dışında meninkslerinde foliküllere benzer, B hücreleri ve plazma hücreleri içeren ektopik lenfoid dokuların

oluşumunda da rol oynadıkları gösterilmiştir. İntratekal oligoklonal bantların kalıcılığı ve B lenfositleri hedef alan yeni tedavi modalitelerin (Okrelizumab, Rituksimab) başarısı bunu kanıtlar niteliktedir <sup>137</sup>. Anti CD20 tedavileri, lenfoid organlara sınırlı bir şekilde etki etmesine rağmen, dolaşımdaki CD20<sup>+</sup> B hücrelerinin neredeyse tamamını hızlı bir şekilde azaltır. Kemik iliğindeki kök hücreler ve pro B hücrelerden B hücresi oluşumu, hümmoral bağışıklık ve plazma hücrelerinden antikör üretimi korunur.

Yapılan çalışmalar ile mevcut tedavi modalitelerinin de B lenfositler üzerine çeşitli mekanizmalar ile etkili olduğu gösterilmiştir. Alemtuzumab B hücrelerini doğrudan sitoliz ederek, İnterferon-beta ve Dimetil fumarat antijen sunumu için gerekli B hücreleri üzerinde MHC II ekspresyonunun ve kostimülatör moleküllerini azaltarak, Glatiramer asetat düzenleyici B hücrelerini artırarak, Natalizumab SSS'e VLA-4 aracılı B hücresi trafiğinin bloke ederek B lenfositler üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir <sup>138</sup>.

İmmunopatogeneze yola çıkarak T lenfositler üzerindeki etkileri ile onaylanmış Fingolimod'un B lenfositler üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapılan alt grup analizlerinde CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup> hücrelere bakıldığında tedavi öncesi Fingolimod ve kontrol grubunda benzer sayılarda izlenirken, tedavi başlangıcından 6 ay sonra yapılan analizlerde Fingolimod grubunda kontrol grubuna göre oldukça belirgin hücre sayılarında ve yüzdelerinde azalma dikkati çekmiştir. İmmatür B lenfositleri gösteren CD10<sup>+</sup> ve bazı B lenfosit alt gruplarında izlenen CD5<sup>+</sup> hücre sayılarında da belirgin düşme izlenmiştir. Fingolimod'un sadece periferdeki otoreaktif lenfositlerin sayısını azaltmakla kalmadığı, aynı zamanda B hücre alt kümelerinin bileşimini de değiştirdiği izlenmiştir.

Moreno-Torres ve arkadaşları yaptıkları çalışmada MS hastalarında Fingolimod'un lenfosit işlevleri ve bazı alt gruplarındaki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmaya 40 RRMS hastası dahil edilerek hastalar Natalizumab kullanımına göre iki gruba ayrılmıştır. Natalizumab'ın kesilmesinin ardından yüksek reaktivasyon riski nedeniyle bu şekilde bir gruplandırma yapılmıştır. Fingolimod tedavisine başlamadan önce ve başladıktan 6 ay sonra alınan venöz kan örneklerinde lenfosit alt grupları flow sitometre ile değerlendirilmiştir. Fingolimodun tüm lenfosit gruplarında, B lenfosit, T lenfosit ve NK hücrelerinin alt gruplarında etkili olduğunu göstermişlerdir. CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, bellek T hücreleri, naif T hücreleri, bellek B hücreleri, düzenleyici B hücreleri, NK parlak ve sitokin üreten hücrelerin (IFN, IL-17, and IL-2) yüzdesinde tedavi sonrasında belirgin

düşüş izlenmiştir. Efektör bellek hücresi, NK, NK soluk, NKT, naif B, immatür B, CD5<sup>+</sup> B hücresi ve plazmablast hücrelerinde rölatif bir artış izlenmiştir. 6 aylık Fingolimod tedavisi sonrası yardımcı T hücrelerinin, bellek ve düzenleyici B hücreleri ile pozitif korelasyon gösterdiği izlenmiştir. Naif B hücreleri ile NK hücreleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Sitotoksik T hücreleri NKT hücreleri ile pozitif, NK hücreleri ile negatif korele olarak ilişkilendirilmiştir. Çalışmada S1PR1, SELL (CD62L) ve CCR7 gibi Fingolimod'un etki mekanizmalarıyla ilişkili genler ve sfingolipid metabolizması SPHK1 ve SHPK2 ile ilişkili genler incelenmiştir. Bu genlerin tedaviden sonra down regüle olduğu görülmüştür<sup>139</sup>. Bizim çalışmamızda ise Fingolimod tedavisine geçiş öncesi Natalizumab, Okrelizumab, Rituksimab, Alemtuzumab gibi lenfosit alt gruplarında belirgin etkili olabilecek ilaçları kullanan hastalar dahil edilmemiştir. Flow sitometre analizlerimizde benzer şekilde CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> hücre sayıları ve yüzdesinde anlamlı düşüş saptanmıştır. Bu çalışmadan farklı olarak CD45<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>, CD10<sup>+</sup> ve CD5<sup>+</sup> B lenfosit sayılarında da düşüş görülmüştür. Yüzde olarak değerlendirildiğinde CD5<sup>+</sup> hücre yüzdesinde belirgin düşüş izlenirken, CD10<sup>+</sup> hücre yüzdesinde anlamlı değişim izlenmemiştir. Bizim çalışmamızda gen analizleri yapılmamıştır.

MS immünolojisinde NK hücrelerin de rolü olduğu artık bilinmektedir. NK hücrelerinin fonksiyon bozukluğunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>140</sup>. Sonuçlarımızda Fingolimod tedavisi ile mutlak NK hücre sayısında azalma saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Yüzde değerlerine bakıldığında ise anlamlı oranda artış olduğu gözlemlenmiştir. Yüzdedeki bu değişimin rölatif bir artış olduğu düşünülmüş olup Moreno-Torres ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu saptanmıştır.

NK hücre resirkülasyonuna S1PR1 ve S1PR5 aracılık etmektedir. S1PR5'in, diğer lenfosit alt tipleri tarafından kullanılan S1PR1'e göre Fingolimod'a daha az duyarlı olduğu ileri sürülmektedir<sup>141, 142</sup>. Bu da NK hücrelerinde T ve B lenfositlere göre daha az bir etkilenim olmasını açıklar niteliktedir.

Angerer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Fingolimod tedavisinde immün sistem hücrelerinin dolaşıma çıkmasında rol oynayan genetik faktörler incelenmiştir. 3 aylık oral Fingolimod tedavisi sonrası CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, esas olarak naif T hücreleri ve merkezi bellek T hücrelerinde transkripsiyon değişiklikleri görülmüştür. B hücrelerinin sayısı büyük ölçüde

azalmış olsa da Fingolimod tedavisi sonrası MS hastalarının kanında CD19<sup>+</sup> hücrelerinin farklılaşmasında sadece 42 genlik bir grupta ekspresyonda azalma saptanmıştır <sup>141</sup>. Bu çalışma Fingolimod'un sadece hücre düzeyinde kalmayıp genetik olarak da hücre sayı ve fonksiyonları üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. İn vitro çalışmalarda da, daha önce diğer hücre tiplerinde gösterildiği gibi, Fingolimod tedavisinin B hücrelerinde S1PR1 ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır <sup>118</sup>.

Hjorth ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 19 RRMS hastasına Fingolimod tedavisi başlanarak, başlangıçta ve 12 ay sonrasında flow sitometri analizleri yapılmıştır. Başlıca naif, santral bellek T hücreleri ve sitotoksik T hücrelerin azaldığı izlenerek CCR7'yi eksprese eden hücrelerin en çok etkilenen hücreler olduğunu gösteren önceki bulguları doğrulamıştır. Çalışmamıza benzer şekilde Fingolimod tedavisi sonrası CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup> ve CD19<sup>+</sup> hücre sayılarında belirgin düşüş izlenmiştir. CD4/CD8 oranının azaldığı gözlenmiştir. NK hücre analizlerinde ise mutlak sayıda azalma izlenmiş olup, bu popülasyon dramatik olarak etkilenmediğinden yüzdesinde diğer lenfositlere kıyasla artma görülmüştür. Bu bulgular da çalışmamızdaki veriler ile uyumludur <sup>142</sup>.

Grutzke ve arkadaşları, Fingolimod'un kan beyin bariyerini aşarak lenfosit transmigrasyonu üzerine etkili olup olmadığı araştırmışlardır. T lenfosit migrasyonuna etki etmediği görülmüştür. T hücrelerinin aksine B hücrelerinin migrasyonunda selektif bir artış oynadığı dikkat çekmiştir. Bu fark inflamasyonun olmadığı koşullarda daha belirgin izlenmiş olup inflamasyon varlığında da gözlenilmiştir. Fingolimod'un periferdeki B hücre alt popülasyonlarının mutlak sayısını azaltmasına rağmen, BOS incelemelerinde kontrol grubundaki bireylere göre naif, bellek B hücre ve düzenleyici B hücre sayısının BOS'da arttığı izlenmiştir. Bu bulgular Fingolimod tedavisinin tüm B hücresi alt kümelerinde kan beyin bariyeri boyunca migrasyonunu artırdığını desteklemektedir. Ayrıca stabil hasta grubunda aktif hasta grubuna göre daha yüksek düzenleyici B hücre yüzdesi izlenmiştir. Düzenleyici B hücre sayısındaki artışın Fingolimod tedavi etkinliğine katkı sağladığı düşünülmüştür <sup>143</sup>.

Çalışmamızdaki bulgular Fingolimod tedavisinin hem lenfosit mutlak sayıları hem de lenfosit alt grup oranları üzerinde belirgin etkiler yarattığını desteklemektedir. Veriler, Fingolimod'un etki mekanizmasının sadece T lenfositler üzerinden açıklanmasının yetersiz olduğunu; T lenfositler kadar B lenfosit alt gruplarında da etkili olduğunu göstermektedir.

İmmünopatogenez göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızda da göstermiş olduğumuz Fingolimod'un lenfosit alt kümelerinin dağılımındaki yaptığı spesifik değişikliklerin, Fingolimod'un tedavi etkinliğine katkı sağladığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda COVID 19 pandemisi nedeniyle hedeflenenden daha az sayıda hasta alınmış olup buna rağmen istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Hastaların MR görüntülemeleri COVID 19 tedbirleri nedeniyle ertelendiğinden çalışmamıza katılamamıştır. Daha geniş çaplı hasta sayısı ve MR görüntülemeleri eşliğinde yapılacak daha büyük çalışmaların bu konuda katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008;372(9648):1502-1517.
2. Murray TJ. The history of multiple sclerosis: the changing frame of the disease over the centuries. *J Neurol Sci*. 2009;277 Suppl 1:S3-S8.
3. Goodin DS. The epidemiology of multiple sclerosis: insights to disease pathogenesis. *Handb Clin Neurol* 2014;122:231–266.
4. Browne P, Chandraratna D, Angood C ve ark. Atlas of multiple sclerosis 2013: a growing global problem withwidespread inequity. *Neurology* 2014; 83: 1022–1024.
5. Kinzel S, Weber MS. B cell-directed therapeutics in multiple sclerosis: rationale and clinical evidence. *CNS Drugs* 2016;30 (12):1137–1148.
6. Brinkmann V, Billich A, Baumruker T ve ark. Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 883–897.
7. Pelletier D, Hafler DA. Fingolimod for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 366: 339–347.
8. Ascherio A,Munger KL. Epidemiology of multiple sclerosis: from risk factors to prevention-an update. *Semin Neurol* 2016;36(02): 103–114.
9. Orton S-M, Herrera BM, Yee IM ve ark. Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 932–936.
10. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP ve ark. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain*. 1989;112 ( Pt 1):133-146.
11. Federation MSI. Atlas of MS 2013: Mapping Multiple Sclerosis around the World. 2013. Available at: <http://www.atlasofms.org>.
12. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E ve ark. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurol* 2015; 14:263–273.
13. Akdemir N., Terzi M, Arslan N ve ark. Prevalence of Multiple Sclerosis in the Middle Black Sea Region of Turkey and Demographic Characteristics of Patients. *Arch Neuropsychiatry* 2017; 54: 11-4.

14. Türk Börü Ü, Duman A, Kulualp A. Ş.ve ark. Multiple sclerosis prevalence study: The comparison of 3 coastal cities, located in the black sea and mediterranean regions of Turkey. *Medicine* 2018; 97(42):e12856.
15. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol*. 2007;61(4):288-299.
16. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol*. 2007;61(6):504-513.
17. Kantarci, O. H. Genetics and natural history of multiple sclerosis. *Semin. Neurol*. 2008; 28:7–16.
18. Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB ve ark. HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. *Am J Hum Genet*. 2003;72(3):710-716.
19. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Sawcer S ve ark. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*. 2011;476(7359):214-219
20. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler DA, Compston A ve ark. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med*. 2007;357(9):851-862. genome wide study. *N. Engl. J. Med*. 2007; 357:851–862.
21. Ascherio, A. Environmental factors in multiple sclerosis. *Expert Rev. Neurother*. 2013; 13:3–9.
22. DeLorenze GN, Munger KL, Lennette ET ve ark. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: evidence of association from a prospective study with long-term follow-up. *Arch Neurol*. 2006;63(6):839-44.
23. Goodman AD, Mock DJ, Powers JM ve ark. Human herpesvirus 6 genome and antigen in acute multiple sclerosis lesions. *J Infect Dis*. 2003;187(9):1365-1376.
24. Muris AH, Rolf L, Broen K ve ark. A low vitamin D status at diagnosis is associated with an early conversion to secondary progressive multiple sclerosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;164:254-257.
25. Van der Mei IA, Ponsonby AL, Dwyer T ve ark Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study. *BMJ*. 2003;327(7410):316.
26. Kurtzke JF. Epidemiology in multiple sclerosis: a pilgrim's progress. *Brain* 2013; 136: 2904–2917.
27. Poorolajal J, Bahrami M, Karami M, Hooshmand E. Effect of smoking on multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Public Health*. 2017; 1;39(2):312-320.



28. Herna'n MA, Jick SS, Logroscino G ve ark. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain*. 2005;128:1461- 1465.
29. Healy BC, Ali EN, Guttmann CR ve ark. Smoking and disease progression in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009; 66: 858–864.
30. McKay KA, Kwan V, Duggan T, Tremlett H. Risk factors associated with the onset of relapsing-remitting and primary progressive multiple sclerosis: a systematic review. *Biomed Res Int*. 2015;2015:817238.
31. Emre M. Nöroloji Temel Kitabı. 1.Baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri, 2013, 1112-1130.
32. Alvarez JI, Cayrol R, Prat A. Disruption of central nervous system barriers in multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2011;1812:252–64.
33. O'Connor KC, Bar-Or A, Hafler DA. The neuroimmunology of multiple sclerosis: possible roles of T and B lymphocytes in immunopathogenesis. *J Clin Immunol*. 2001;21(2):81-92.
34. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM ve ark. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278–285.
35. Popescu BF, Pirko I, Lucchinetti CF. Pathology of multiple sclerosis: where do we stand?. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2013;19(4 Multiple Sclerosis):901-921.
36. Geurts JJ, Barkhof F. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2008;7(9):841-851.
37. Yong, V. W. Immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Contin. Lifelong Learn. Neurol*. 2004; 10:11–27.
38. Gold R, Linington C, Lassmann H. Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain*. 2006;129(Pt 8):1953-1971.
39. Hafler DA, Slavik JM, Anderson DE ve ark. Multiple sclerosis. *Immunol Rev*. 2005;204:208-231.
40. Selter RC, Hemmer B. Update on immunopathogenesis and immunotherapy in multiple sclerosis. *Immunotargets Ther*. 2013;2:21-30.
41. Gold R, Wolinsky JS. Pathophysiology of multiple sclerosis and the place of teriflunomide. *Acta Neurol Scand*. 2011;124(2):75-84.
42. Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(4):291-301.

43. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med.* 2006;354(9):942-955.
44. Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, Harris RA, Goverman JM. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells. *Nat Med.* 2008;14(3):337-342.
45. Brucklacher-Waldert V, Stuerner K, Kolster M, Wolthausen J, Tolosa E. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain.* 2009;132(Pt 12):3329-3341.
46. Tsaknaris L, Spencer L, Culbertson N ve ark. Functional assay for human CD4+CD25+ Treg cells reveals an age-dependent loss of suppressive activity. *J Neurosci Res.* 2003;74(2):296-308.
47. Medana I, Martinic MA, Wekerle H, Neumann H. Transection of major histocompatibility complex class I-induced neurites by cytotoxic T lymphocytes. *Am J Pathol.* 2001;159(3):809-815.
48. Tintoré M, Rovira A, Brieva L ve ark. Isolated demyelinating syndromes: comparison of CSF oligoclonal bands and different MR imaging criteria to predict conversion to CDMS. *Mult Scler.* 2001;7(6):359-363.
49. Baker D, Marta M, Pryce G, Giovannoni G, Schmierer K. Memory B Cells are Major Targets for Effective Immunotherapy in Relapsing Multiple Sclerosis. *EBioMedicine.* 2017;16:41-50.
50. O'Connor KC, Appel H, Bregoli L ve ark. Antibodies from inflamed central nervous system tissue recognize myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Immunol.* 2005;175(3):1974-1982.
51. Magliozzi R, Howell OW, Reeves C ve ark. A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010;68(04):477–493.
52. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J ve ark. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47(06):707–717.
53. Lucchinetti CF, Popescu BF, Bunyan RF ve ark. Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2011;365(23):2188-2197.
54. Molnarfi, N., Schulze-Topphoff, U., Weber, M.S ve ark. MHC class II-dependent B cell APC function is required for induction of CNS autoimmunity independent of myelin-specific antibodies. *J. Exp. Med.* 2013; 210, 2921–2937.

55. Sabatino JJ Jr, Pröbstel AK, Zamvil SS. B cells in autoimmune and neurodegenerative central nervous system diseases [published correction appears in *Nat Rev Neurosci*. 2020 Jan;21(1):56]. *Nat Rev Neurosci*. 2019;20(12):728-745.
56. Kinzel S, Weber MS. B cell-directed therapeutics in multiple sclerosis: rationale and clinical evidence. *CNS Drugs* 2016;30 (12):1137–1148.
57. Greenfield AL, Hauser SL. B-cell Therapy for Multiple Sclerosis: Entering an era. *Ann Neurol*. 2018;83(1):13-26.
58. Traugott U. Characterization and distribution of lymphocyte subpopulations in multiple sclerosis plaques versus autoimmune demyelinating lesions. *Springer Semin Immunopathol*. 1985;8(1-2):71-95.
59. Kastrukoff LF, Lau A, Wee R ve ark. Clinical relapses of multiple sclerosis are associated with 'novel' valleys in natural killer cell functional activity. *J Neuroimmunol*. 2003;145(1-2):103-114.
60. Bielekova B, Catalfamo M, Reichert-Scriver S ve ark. Regulatory CD56(bright) natural killer cells mediate immunomodulatory effects of IL-2Ralpha-targeted therapy (daclizumab) in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(15):5941-5946.
61. Saraste M, Irjala H, Airas L. Expansion of CD56Bright natural killer cells in the peripheral blood of multiple sclerosis patients treated with interferon-beta. *Neurol Sci*. 2007;28(3):121-126.
62. Illés Z, Kondo T, Newcombe J ve ark. Differential expression of NK T cell V alpha 24J alpha Q invariant TCR chain in the lesions of multiple sclerosis and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Immunol*. 2000;164(8):4375.
63. van der Vliet HJ, von Blomberg BM, Nishi N ve ark. Circulating V(alpha24+) Vbeta11+ NKT cell numbers are decreased in a wide variety of diseases that are characterized by autoreactive tissue damage. *Clin Immunol*. 2001;100(2):144-148.
64. Démoulin T, Gachelin G, Bequet D, Dormont D. A biased Valpha24+ T-cell repertoire leads to circulating NKT-cell defects in a multiple sclerosis patient at the onset of his disease. *Immunol Lett*. 2003;90(2-3):223-228.
65. Araki M, Kondo T, Gumperz JE, Brenner MB, Miyake S, Yamamura T. Th2 bias of CD4+ NKT cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol*. 2003;15(2):279-288.
66. Codarri L, Fontana A, Becher B. Cytokine networks in multiple sclerosis: lost in translation. *Curr Opin Neurol*. 2010;23(3):205-211.

67. van Oosten BW, Barkhof F, Truyen L ve ark. Increased MRI activity and immune activation in two multiple sclerosis patients treated with the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody cA2. *Neurology*. 1996;47(6):1531-1534.
68. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*. 2015;302:2-22.
69. Prinz M, Schmidt H, Mildner A ve ark. Distinct and nonredundant in vivo functions of IFNAR on myeloid cells limit autoimmunity in the central nervous system. *Immunity*. 2008;28(5):675-686.
70. Kwilasz AJ, Grace PM, Serbedzija P, Maier SF, Watkins LR. The therapeutic potential of interleukin-10 in neuroimmune diseases. *Neuropharmacology*. 2015;96(Pt A):55-69.
71. Misu T, Onodera H, Fujihara K ve ark. Chemokine receptor expression on T cells in blood and cerebrospinal fluid at relapse and remission of multiple sclerosis: imbalance of Th1/Th2-associated chemokine signaling. *J Neuroimmunol*. 2001;114(1-2):207-212.
72. Hvas J, McLean C, Justesen J ve ark. Perivascular T cells express the pro-inflammatory chemokine RANTES mRNA in multiple sclerosis lesions. *Scand J Immunol*. 1997;46(2):195-203.
73. Krumbholz M, Theil D, Cepok S ve ark. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain*. 2006;129(Pt 1):200-211.
74. Sørensen TL, Tani M, Jensen J ve ark. Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients. *J Clin Invest*. 1999;103(6):807-815.
75. The clinical profile of optic neuritis. Experience of the Optic Neuritis Treatment Trial. Optic Neuritis Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1991;109(12):1673-1678.
76. Mehanna R, Jankovic J. Movement disorders in multiple sclerosis and other demyelinating diseases. *J Neurol Sci*. 2013;328(1-2):1-8.
77. Swingler RJ, Compston DA. The morbidity of multiple sclerosis. *Q J Med*. 1992;83(300):325-337.
78. Paisley S, Beard S, Hunn A, Wight J. Clinical effectiveness of oral treatments for spasticity in multiple sclerosis: a systematic review. *Mult Scler*. 2002;8(4):319-329.
79. Watson CP, Chiu M. Painful tonic seizures in multiple sclerosis: localization of a lesion. *Can J Neurol Sci*. 1979;6(3):359-361.
80. Coleman RJ, Russon L, Blanshard K, Currie S. Useless hand of Oppenheim--magnetic resonance imaging findings. *Postgrad Med J*. 1993;69(808):149-150.

81. Alusi SH, Worthington J, Glickman S, Bain PG. A study of tremor in multiple sclerosis. *Brain*. 2001;124(Pt 4):720-730.
82. Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2008;7(12):1139-1151.
83. Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F ve ark. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2009;66(9):1144-1150.
84. Penny S, Khaleeli Z, Cipolotti L, Thompson A, Ron M. Early imaging predicts later cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Neurology*. 2010;74(7):545-552.
85. Benedict RH, Fischer JS, Archibald CJ ve ark. Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *Clin Neuropsychol*. 2002;16(3):381-397.
86. de Sèze M, Ruffion A, Denys P, Joseph PA, Perrouin-Verbe B; GENULF. The neurogenic bladder in multiple sclerosis: review of the literature and proposal of management guidelines. *Mult Scler*. 2007;13(7):915-928.
87. Hennessey A, Robertson NP, Swingler R, Compston DA. Urinary, faecal and sexual dysfunction in patients with multiple sclerosis. *J Neurol*. 1999;246(11):1027-1032.
88. Schairer LC, Foley FW, Zemon V ve ark. The impact of sexual dysfunction on health-related quality of life in people with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2014;20(5):610-616.
89. Minden SL, Frankel D, Hadden L ve ark. The Sonya Slifka Longitudinal Multiple Sclerosis Study: methods and sample characteristics. *Mult Scler*. 2006;12(1):24-38.
90. Brønnum-Hansen H, Stenager E, Nylev Stenager E, Koch-Henriksen N. Suicide among Danes with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(10):1457-1459.
91. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*. 1996;46(4):907-.
92. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA ve ark. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*. 2014;83(3):278-286.
93. Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A ve ark. Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome [published correction appears in *Neurology*. 2009 Apr 7;72(14):1284]. *Neurology*. 2009;72(9):800-805.
94. Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol*. 2012;11(2):157-169.

95. Tintoré M, Rovira A, Río J ve ark. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis?. *Neurology*. 2008;70(13 Pt 2):1079-1083.
96. Lublin FD, Baier M, Cutter G. Effect of relapses on development of residual deficit in multiple sclerosis. *Neurology*. 2003;61(11):1528-1532.
97. Tremlett H, Zhao Y, Devonshire V; UBC Neurologists. Natural history comparisons of primary and secondary progressive multiple sclerosis reveals differences and similarities. *J Neurol*. 2009;256(3):374-381.
98. Rovaris M, Confavreux C, Furlan R ve ark. Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges. *Lancet Neurol*. 2006;5(4):343-354.
99. Scalfari A, Neuhaus A, Daumer M ve ark. Early relapses, onset of progression, and late outcome in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2013;70(2):214-222.
100. Schumacher GA, Beebe G, Kibler RF ve ark. Problems Of Experimental Trials Of Therapy In Multiple Sclerosis: Report By The Panel On The Evaluation Of Experimental Trials Of Therapy In Multiple Sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1965;122:552-568.
101. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L ve ark. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 1983;13(3):227-231.
102. Polman CH, Reingold SC, Edan G ve ark. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol*. 2005;58(6):840-846.
103. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F ve ark. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 2018;17:162-73.
104. Neema M, Stankiewicz J, Arora A ve ark. T1- and T2-based MRI measures of diffuse gray matter and white matter damage in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimaging*. 2007;17 Suppl 1:16S-21S.
105. Inglese M, Petracca M. MRI in multiple sclerosis: clinical and research update. *Curr Opin Neurol*. 2018;31(3):249-255.
106. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F ve ark. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Arch Neurol*. 2005;62(6):865-870.
107. Schlaeger R, D'Souza M, Schindler C ve ark. Prediction of long-term disability in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2012;18(1):31-38.
108. Gelfand JM, Goodin DS, Boscardin WJ ve ark. Retinal axonal loss begins early in the course of multiple sclerosis and is similar between progressive phenotypes. *PLoS One*. 2012;7(5):e36847.

109. Oh J, Vidal-Jordana A, Montalban X. Multiple sclerosis: clinical aspects. *Curr Opin Neurol.* 2018;31(6):752-759.
110. Jongen PJ, Sindic C, Carton H ve ark. Improvement of health-related quality of life in relapsing remitting multiple sclerosis patients after 2 years of treatment with intramuscular interferon-beta-1a. *J Neurol.* 2010;257(4):584-589.
111. Limmroth V, Putzki N, Kachuck NJ. The interferon beta therapies for treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: are they equally efficacious? A comparative review of open-label studies evaluating the efficacy, safety, or dosing of different interferon beta formulations alone or in combination. *Ther Adv Neurol Disord.* 2011;4(5):281-296.
112. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA ve ark. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology.* 1995;45(7):1268-1276.
113. Bains SN, Hsieh FH, Rensel MR ve ark. Glatiramer acetate: successful desensitization for treatment of multiple sclerosis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;104(4):321-325.
114. Palmer AM. Teriflunomide, an inhibitor of dihydroorotate dehydrogenase for the potential oral treatment of multiple sclerosis. *Curr Opin Investig Drugs.* 2010;11(11):1313-1323.
115. Oh J, O'Connor PW. Teriflunomide in the treatment of multiple sclerosis: current evidence and future prospects. *Ther Adv Neurol Disord.* 2014;7(5):239-252.
116. Gold R, Linker RA, Stangel M. Fumaric acid and its esters: an emerging treatment for multiple sclerosis with antioxidative mechanism of action. *Clin Immunol.* 2012;142(1):44-48.
117. Linker RA, Lee DH, Ryan S ve ark. Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain.* 2011;134(Pt 3):678-692.
118. Chun J, Hartung HP. Mechanism of action of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Clin Neuropharmacol.* 2010;33(2):91-101.
119. Mehling M, Johnson TA, Antel J ve ark. Clinical immunology of the sphingosine 1-phosphate receptor modulator fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Neurology.* 2011;76(8 Suppl 3):S20-S27.
120. Mehling M, Brinkmann V, Antel J ve ark. FTY720 therapy exerts differential effects on T cell subsets in multiple sclerosis. *Neurology.* 2008;71(16):1261-1267.

121. Choi JW, Gardell SE, Herr DR ve ark. FTY720 (fingolimod) efficacy in an animal model of multiple sclerosis requires astrocyte sphingosine 1-phosphate receptor 1 (S1P1) modulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(2):751-756.
122. Noda H, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A. Fingolimod phosphate promotes the neuroprotective effects of microglia. *J Neuroimmunol*. 2013;256(1-2):13-18.
123. Cipriani R, Chara JC, Rodríguez-Antigüedad A, Matute C. FTY720 attenuates excitotoxicity and neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2015;12:86.
124. Wei Y, Yemisci M, Kim HH ve ark. Fingolimod provides long-term protection in rodent models of cerebral ischemia. *Ann Neurol*. 2011;69(1):119-129.
125. Gilenya [prescribing information]. East Hanover, NJ: Novartis Pharmaceuticals Corp; 2015.
126. Brandstadter R, Katz Sand I. The use of natalizumab for multiple sclerosis. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2017;13:1691-1702.
127. Liliemark J. The clinical pharmacokinetics of cladribine. *Clin Pharmacokinet*. 1997;32(2):120-131.
128. Tuohy O, Costelloe L, Hill-Cawthorne G ve ark. Alemtuzumab treatment of multiple sclerosis: long-term safety and efficacy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(2):208-215.
129. Deisenhammer F, Auer M, Hegen H. Ocrelizumab in Primary Progressive and Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med*. 2017;376(17):1693-1694.
130. Song ZY, Yamasaki R, Kawano Y ve ark. Peripheral blood T cell dynamics predict relapse in multiple sclerosis patients on fingolimod. *PLoS One*. 2014; 10(4):e0124923.
131. Henault D, Galleguillos L, Moore C ve ark. Basis for fluctuations in lymphocyte counts in fingolimod-treated patients with multiple sclerosis. *Neurology*. 2013;81(20):1768-1772.
132. Kappos L, Radue EW, O'Connor P ve ark. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2010;362(5):387-401.
133. Kaskow BJ, Baecher-Allan C. Effector T Cells in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(4):a029025.
134. Sospedra M, Martin R. Immunology of Multiple Sclerosis. *Semin Neurol*. 2016;36(2):115-127.



135. Sica F, Centonze D, Buttari F. Fingolimod Immune Effects Beyond Its Sequestration Ability. *Neurol Ther.* 2019;8(2):231-240.
136. Dominguez-Villar M, Raddassi K, Danielsen AC, Guarnaccia J, Hafler DA. Fingolimod modulates T cell phenotype and regulatory T cell plasticity in vivo [published correction appears in *J Autoimmun.* 2019 Aug;102:179]. *J Autoimmun.* 2019;96:40-49.
137. Negron A, Robinson RR, Stüve O, Forsthuber TG. The role of B cells in multiple sclerosis: Current and future therapies. *Cell Immunol.* 2019;339:10-23.
138. Greenfield AL, Hauser SL. B-cell Therapy for Multiple Sclerosis: Entering an era. *Ann Neurol.* 2018;83(1):13-26.
139. Moreno-Torres I, González-García C, Marconi M, et al. Immunophenotype and Transcriptome Profile of Patients With Multiple Sclerosis Treated With Fingolimod: Setting Up a Model for Prediction of Response in a 2-Year Translational Study. *Front Immunol.* 2018;9:1693.
140. Chanvillard C, Jacolik RF, Infante-Duarte C, Nayak RC. The role of natural killer cells in multiple sclerosis and their therapeutic implications. *Front Immunol.* 2013;4:63.
141. Vaessen LM, van Besouw NM, Mol WM ve ark. FTY720 treatment of kidney transplant patients: a differential effect on B cells, naïve T cells, memory T cells and NK cells. *Transpl Immunol.* 2006;15(4):281-288.
142. Gross CC, Schulte-Mecklenbeck A, Wiendl H ve ark. Regulatory Functions of Natural Killer Cells in Multiple Sclerosis. *Front Immunol.* 2016;7:606.
143. Angerer IC, Hecker M, Koczan D ve ark. Transcriptome profiling of peripheral blood immune cell populations in multiple sclerosis patients before and during treatment with a sphingosine-1-phosphate receptor modulator. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24(3):193-201.
144. Hjorth M, Dandu N, Møllergård J. Treatment effects of fingolimod in multiple sclerosis: Selective changes in peripheral blood lymphocyte subsets. *PLoS One.* 2020;15(2):e0228380.
145. Grützke B, Hucke S, Gross CC, et al. Fingolimod treatment promotes regulatory phenotype and function of B cells. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2(2):119-130.

