T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

MULTİPLE SKLEROZ HASTALIĞI İLE IL7R GENİ -504 (T/C), -1085 (G/T) VE -449 (A/G) PROMOTER POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE İNCELENMESİ

Dr. Hasan ŞİMŞEK

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2016

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

MULTİPLE SKLEROZ HASTALIĞI İLE IL7R GENİ -504 (T/C), -1085 (G/T) VE -449 (A/G) PROMOTER POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE İNCELENMESİ

Dr. Hasan ŞİMŞEK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ARMAN

İSTANBUL 2016

ÖNSÖZ

Tıp fakültesi ve sonrasında tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, mesleğim namına bildiğim birçok şeyi kendilerinden öğrendiğim, sadece bir iş arkadaşı değil aynı zamanda ailemden biri bildiğim tüm hocalarıma,

Bölümün tek asistanı olarak birkaç yıl geçirdikten sonra aramıza katılan ve benim en yakın arkadaşlarımdan dostlarımdan biri olan sevgili Dr. Ayberk TÜRKYILMAZ'a,

Benim için bir hocadan çok öte, ufkumu açan, bana hedefler gösteren, sabırla eğitim veren, alanında birçoklarından çok daha başarılı olmasına rağmen mütevazı tavrından asla ödün vermeyen bölüm başkanımız ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Ahmet ARMAN'a,

Benim için canını dişine takıp çalışmış, hayatlarını karşılık beklemeden hayatıma adamış, yüksek tahsilleri olmamasına rağmen bence herkesten daha çok gözü, aklı ve gönlü açık, samimi, fedakar ve sonsuz şefkat sahibi anne ve babama,

Beni her daim çok seven ve hep arkamda duran, sabır ve sevgisi ile bana güç veren hayatımın anlamı, vazgeçilmezim, varlığı ile yüzümü güldüren sevgili gülüşüm, canım eşime,

Ilk göz ağrım, sevgili oğlum Akif İhsan'a…

Sonsuz teşekkürlerimle…

Temmuz, 2016 *Dr. Hasan ŞİMŞEK*

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

ÖNSÖZ i
İÇİNDEKİLER ii
TABLOLAR LİSTESİ v
ŞEKİLLER LİSTESİ vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ viii
ÖZET ix
SUMMARY xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Tarihçe 3
2.1.1. Genetiğin tarihçesi 3
2.1.2. MS'in tarihçesi 4
2.2. Tanım 5
2.3. Klinik Bulguları 6
2.4. Klinik Alt Tipleri 8
2.4.1. Relapsing remitting MS (Atak ve İyileşmelerle Giden MS) (RRMS) 8
2.4.2. Primary progressive MS (Birincil İlerleyici MS) (PPMS) 9
2.4.3. Progressive relapsing MS (İlerleyici Yenileyici MS) (PRMS) 9
2.4.4. Secondary progressive MS (İkincil İlerleyici MS) (SPMS) 9
2.5. Histopatoloji 9
2.6. Tanı 11
2.6.1. RRMS 12
2.6.2. PPMS 13
2.7. Ayırıcı Tanı 13
2.8. Prevalans 14
2.9. Sebepleri 17
2.9.1. Çevresel nedenler 17
2.9.2. Herediter nedenler 18
2.10. Hastalık Araştırılmasında Strateji 24
2.11. Genetik Danışma 26
2.11.1. Kalıtım modeli 26
2.11.2. Aile bireylerinin riskleri 26

2.12. Takip ve Tedavi ... 27
2.12.1. Tedavi seçenekleri ... 27
2.12.2. Takip ... 27
3. GEREÇ VE YÖNTEM ... 29
3.1. Etik Kurul ... 29
3.2. Örneklem Seçimi ... 29
3.2.1. Hastalar ... 29
3.2.2. Kontrol grubu ... 29
3.3. IL7R Gen Polimorfizmini Belirlemekte Kullanılacak Moleküler Biyoloji Teknikleri ... 29
3.3.1. IL7R promoter polimorfizmlerinin bulunduğu bölge için primer dizaynı ... 29
3.3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ... 31
3.3.3. Agaroz jel elektroforezi ... 32
3.3.4. Genotipleme ... 32
3.3.5. İstatistik ... 34
4. BULGULAR ... 35
4.1. -449 (G/A) polimorfizmi ... 36
4.1.1. Genotip dağılımları ... 36
4.1.2. Allel frekansları ... 39
4.2. -504 (T/C) Polimorfizmi ... 42
4.2.1. Genotip dağılımları ... 42
4.2.2. Allel frekansları ... 45
4.3. -1085 (G/T) Polimorfizmi ... 48
4.3.1. Genotip dağılımları ... 48
4.3.2. Allel frekansları ... 51
4.4. Diğer Bulgular ... 54
5. TARTIŞMA ... 57
5.1. -449 (G/A) Polimorfizmi ... 59
5.2. -504 (T/C) Polimorfizmi ... 61
5.3. -1085 (G/T) Polimorfizmi ... 62
5.4. Diğer Bulgular ... 63
6. SONUÇLAR ... 65
7. KAYNAKLAR ... 67
8. EKLER ... 81

8.1. Ek 1: Etik Kurul Onayı 81

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Bir probandın birinci derece akrabalarında genel popülasyona kıyasla risk oranları

Tablo 2. Hasta sayı ve sıklıklarının başlangıç yaşına göre dağılımı

Tablo 3. Hasta sayı ve sıklıklarının klinik alt gruplara göre dağılımı

Tablo 4. -449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık arasındaki ilişki

Tablo 5. -449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ve MS subgrupları arasındaki ilişki

Tablo 6. -449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki

Tablo 7. -449 (G/A) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık arasındaki ilişki

Tablo 8. -449 (G/A) polimorfizmi allel frekansları ve MS subgrupları arasındaki ilişki

Tablo 9. -449 (G/A) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki

Tablo 10. -504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık arasındaki ilişki

Tablo 11. -504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ve MS subgrupları arasındaki ilişki

Tablo 12. -504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki

Tablo 13. -504 (T/C) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık arasındaki ilişki

Tablo 14. -504 (T/C) polimorfizmi allel frekansları ve MS subgrupları arasındaki ilişki

Tablo 15. -504 (T/C) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki

Tablo 16. -1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık arasındaki ilişki

Tablo 17. -1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ve MS subgrupları arasındaki ilişki

Tablo 18. -1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki

Tablo 19. -1085 (G/T) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık arasındaki ilişki

Tablo 20. -1085 (G/T) polimorfizmi allel frekansları ve MS subgrupları arasındaki ilişki

Tablo 21. -1085 (G/T) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki

Tablo 22. MS subgrupları ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki

Tablo 23. Cinsiyet ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki

Tablo 24. Cinsiyet ile MS alt tipleri arasındaki ilişki

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. MS'de nöron tutulumu ve myelin hasarı

Şekil 2. MS majör klinik bulguları

Şekil 3. MS histopatolojisi, biyopsi materyali

Şekil 4. MS beyin patolojisi

Şekil 5. Sağlıklı birey ve MS hastasına ait beyin MR görüntüleri

Şekil 6. MS hastalığının coğrafi dağılımı ve prevalansı

Şekil 7. MS hastalığının nedenleri

Şekil 8. İnsan dokularında IL7R geni mRNA ekpresyonu

Şekil 9. IL7R proteini zincirleri ve etkileştikleri proteinler

Şekil 10. Flt3/Ras sinyalinin IL7R/STAT5 etkileşimini başlatması ve B hücre diferansiasyonunun sağlanması

Şekil 11. MS tanı algoritması

Şekil 12. -1085, -504 ve -449 polimorfizmlerinin IL7R geni promoter bölgesi DNA dizisi üzerinde gösterilmesi

Şekil 13. -449 polimorfizmi genotiplemesi

Şekil 14. -504 polimorfizmi genotiplemesi

Şekil 15. -1085 polimorfizmi genotiplemesi

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AOMS : Yetişkin Başlangıçlı Multiple Skleroz

BÇ : Baz Çifti

EOMS : Erken veya Pediatrik Başlangıçlı Multiple Skleroz

GA : Güven Aralığı

GWAS : Genome Wide Association Study (Genom Çapında Ilişkilendirme Çalışmaları)

IL7R : Interlökin 7 reseptörü

LOMS : Geç Başlangıçlı Multiple Skleroz

MS : Multiple Skleroz

MSS : Merkezi Sinir Sistemi

OR : Odds Ratio (Göreceli Olasılıklar Oranı)

PPMS : Primary Progressive Multiple Sclerosis (Birincil İlerleyici Multiple Skleroz)

PRMS : Progressive Relapsing Multiple Sclerosis (İlerleyici Yenileyici Multiple Skleroz)

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorhism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RRMS : Relapsing Remitting Multiple Skleroz (Atak ve İyileşmelerle Giden Multiple Skleroz)

SNP : Single Nucleotide Polymorphisms (Tekli Nükleotid Polimorfizmleri)

SPMS : Secondary Progressive Multiple Sclerosis (İkincil İlerleyici Multiple Skleroz)

TSLP : Timik Stromal Lenfoprotein

ÖZET

Giriş ve Amaç: Multiple Skleroz, santral sinir sistemini (SSS) etkileyen myelin hasarı ve buna bağlı nörolojik bozukluklarla seyreden kronik, progresif, nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Daha önce yapılan GWAS çalışmalarında MS ilişkili olabilecek bu genetik faktörlerden birisi olarak IL7R geni polimorfizmleri öne çıkmaktadır. Ayrıca IL7R geni polimorfizmleri daha önce farklı otoimmün hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir. Buna dayanarak yaptığımız çalışmamızda Türk popülasyonunda IL7R geni -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) promoter polimorfizmleri ile Multiple Skleroz hastalığı arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 364 hasta ve 191 sağlıklı birey katılmıştır. IL7R geni promoter bölgesi biyoinformatik analizleri yapılmıştır. Üç polimorfizm bölgesi bulunmuş ve uygun primer dizayn edilip bu bölgeler PCR ile çoğaltılmıştır. -504 (T/C) polimorfizm bölgesi PCR ürünü PstI enzimi, -449 (G/A) ve -1085 (G/T) polimorfizm bölgesi PCR ürünleri ise HphI enzimi ile kesilmiş ve daha sonra da agaroz jel elektroforezi ile genotiplemesi yapılmıştır. Elde edilen veriler SPSS 17.0 programı yardımıyla Ki-Kare, Fisher Exact ve Fisher Freeman Halton testleri kullanılarak analiz edilmiştir. Hastalık ve polimorfizmler arasındaki ilişki Odds Ratio ve %95 güven aralığı ile ifade edilmiştir. $p<0.05$ (2 yönlü) değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular ve Sonuç: Çalışmamıza katılan hastaların 249'u kadın ve 113'ü erkek idi. Ortalama başlangıç yaşı 28,99 olarak bulundu. Hastaların %90,6'sı yetişkin başlangıçlı MS hastası idi. %67,8 sıklıkta RRMS ve %31,4 sıklıkta SPMS alt tipleri mevcuttu ve SPMS subgrubu sıklığı diğer popülasyonlara göre artmış olarak saptandı. -449 polimorfizmi genotipleri (p=0,120) ve allel frekansları (p=0,490) ile MS arasında doğrudan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak başlangıç yaşı ile -449 polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.002, OR=4.021, %95 GA=1.642-9.845) ve GA genotipi AOMS için ve AA genotipi EOMS için risk oluşturmaktadır. Benzer şekilde -449 A alleli EOMS için risk oluşturmaktadır (p=0.011, OR=1.3, %95 GA=1.107-1.527). -504 polimorfizmi TC heterozigot

genotipi MS için risk oluşturmaktadır (p=0.02, OR=1.702, %95 GA=1.169-2.478). -1085 GT polimorfizmi ile MS arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca erkek hastalarda SPMS sıklığında anlamlı bir artış tespit edilmiştir (p=0.033, OR=1.667, %95 GA=1.036-2.682).

SUMMARY

Introduction and Aim: Multiple Sclerosis is a chronic progressive neurodegenerative disease which affects the central nervous system and has neurological impairment caused by damaging myelin fibers. Although etiology of disease is not known exactly, it is thought that environmental and genetic factors cause it together. Previously, some genetic factors have come prominence after GWAS studies and one of them is IL7R gene polymorphisms. Furthermore, IL7R gene polymorphisms have been associated with some autoimmune disease previously. In this study, we investigated the association between MS and IL7R gene -504 (T/C), -1085 (G/T) and -449 (A/G) promoter polymorphisms in Turkish population.

Material and Methods: 364 patients and 191 healthy controls joined this study and bioinformatic analysis of IL7R gene promoter region was assessed. Three polymorphic regions were identified and appropriate primers were designed and then these regions were amplified. We used PstI enzyme for -504 (T/C) SNP and HphI enzyme for -1085 (G/T) and -449 (A/G) SNPs and then genotyped the products with agarose gel electrophoresis. For statistical analysis, Chi-Square, Fisher Exact and Fisher Freeman Halton tests were used via SPSS 17.0 statistic programme. The association between disease and genotypes was shown by Odds Ratio (OR) and 95% Confidence Interval (CI). Statistical significance was set at a value of $p<0.05$ (2-sided).

Results and Conclusion: There were 249 female and 113 male patients in our study. Mean age of onset was 28,99. Adult onset MS covered 90,6 % of patient. Genotype distributions (p=0,120) and allele frequencies (p=0,490) of -449 polymorphism did not show a significant association with MS directly. But, in according to age onset -449 GA genotype was a risk factor for AOMS and AA genotype for EOMS (p=0.002, OR=4.021, 95% CI=1.642-9.845). Similarly, -449 A allele was a risk factor for EOMS (p=0.011, OR=1.3, 95% CI=1.107-1.527). -504 TC heterozygote genotype was a risk factor for MS (p=0.02, OR=1.702, 95% CI=1.169-2.478). There was not a signficant association between -1085 GT polymorphism and MS. RRMS had a persentage of 67,8 and SPMS 31,4 %. According to other populations, RRMS

frequency in Turkish population was decreased and SPMS frequency was increased clearly. Furthermore, male patients had an increased frequency of SPMS significiantly (p=0.033, OR=1.667, 95% CI=1.036-2.682).

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multiple Skleroz, santral sinir sistemini (SSS) etkileyen myelin hasarı ve buna bağlı nörolojik bozukluklarla seyreden kronik, progresif, nörodejeneratif bir hastalıktır. Genç erişkinlerin en sık görülen SSS hastalığıdır (1). Dünya üzerinde 2-2.5 milyon insanı etkilediği düşünülmektedir (2). MS'in dört klinik alt tipi bulunmaktadır: Relapsing-remitting MS (atak ve iyileşmelerle giden MS), primary progressive MS (birincil ilerleyici MS) , progressive relapsing MS (ilerleyici yenileyici MS) ve secondary progressive MS (ikincil ilerleyici MS) (3).

Hastalığın etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıktığını düşündüren çalışmaların sayısı gittikçe artmaktadır. Hastalığın bazı etnik gruplarda, Kuzey Avrupa kökeni içerisinde yer alan Birleşik Devletler, Kanada, Yeni Zelanda, Avusturalya gibi toplumlar ve bazı ailelerde artış göstermesi genetik temelinin olduğu yönündeki şüpheleri güçlendirmiştir (4-7). Çok sayıda aile ve ikiz çalışmaları yapılmış ve kuvvetli genetik komponentin etiyolojideki varlığını göstermiştir. İkiz çalışmaları sonucunda yaklaşık %50 kalıtımsal olduğu anlaşılmıştır (8-11). 2007 yılında MS hastalığının genetik nedenini bulmaya yönelik ilk defa yapılan genome-wide association study (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) (GWAS) çalışmaları sonucunda insan genomunda çok sayıda gen bölgesinde yatkınlık oluşturduğu düşünülen genomik değişikler, tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) tanımlanmıştır (4, 12, 13). IL7R geninde bulunan bazı değişikler de MS riskini artırabileceği öngörülen durumlar arasında yerini almıştır (14-16). Bundan sonraki süreçte MS hastalarında bu değişiklerin aranması ve hastalıkla ilişkilerinin ortaya konması gerekmektedir.

IL7R, immünolojide temel pleiotropik reseptörlerden birisi olarak görev yapmaktadır. T ve B hücrelerinin gelişim, matürasyon ve hemostazında görev almaktadır. Temel olarak iki sinyal yolağında reseptör görevi görmektedir: IL7 ve timik stromal lenfopoetin. IL7 reseptörü, IL7 yolağında, IL7 ve gama zinciri (CD132) ile etkileşerek sinyal kompleksi oluşturmaktadır. Reseptör etkileşimi sonrasında IL2, IL4, IL9, IL15 ve IL21 gibi diğer interlökinlerle etkileşime girmek için heterodimerize olmakta ve böylece immünitenin birçok basamağında etkisini göstermektedir (17, 18). IL7/IL7R etkileşimi hafıza T hücrelerinin idamesinde ve T

ve B hücrelerinin, özellikle MS hastalarında ki inflammatuar lezyolarda bulunan CD4 T hücrelerinin, gelişme, çoğalma ve hayatlarını devam ettirmelerinde önemli rol oynamaktadır (1). Bu yolaktaki genlerde bulunan ve fonksiyonlarını potansiyelize eden polimorfizmler sonucu MS hastalarında myelin antijenlerine karşı oluşan T hücrelerin sayısı ve reaktivitesi artmaktadır (17).

IL7R geni ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda birkaç bölgede özellikle 6. ekzonu da içeren bazı polimorfizmlerin etkisi tanımlanmıştır. Ayrıca bu gende GWAS ile tespit edilmiş ancak hakkında yeterince çalışma yapılmamış kodlama yapmayan bölgelerdeki polimorfizmler de mevcuttur (4, 19, 20). Bilinmektedir ki özellikle kodlamayan bölgelerdeki promoter/upstream, downstream ve intron bölgelerindeki polimorfizmler transkripsiyonu etkileyebileceği gibi, intronik bölgelerde olanlar splicing, stabilite ve transkripsiyonu da değiştirebilir (21). Özellikle promoter bölgede bulunanlar genelde potansiyel birer regulatuvar etkiye sahiptir (21-24).

Bu projedeki amacımız Türk popülasyonunda IL7R geni -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) promoter polimorfizmleri ile MS hastalığı arasındaki ilişkiyi (14, 16) araştırmak ve pozitif sonuçlar doğrultusunda kişilerin risk faktörü taşıyıp taşımadıklarını belirleyip önceden gerekli önlemleri almak ve test geliştirilerek bu testin hastanelerde uygulanmasını sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Binlerce yıldır tüm hayvanlar, bitkiler ve insanlar üreme yoluyla yavrular oluşturarak yaşamını sürdürmekte ve genetik seleksiyona uğramaktadır. Bu sürenin büyük bir kısmında insanlar türlerin nasıl kalıtıldığı hakkında bilgi sahibi değillerdi. Yavrular ebeveynlerine benziyor ancak farklılıklar da içeriyordu. Bunun sebebinin, bireylerin birçok gen içermesi ve bu genlerin farklı versiyonlarının (allel) bulunmasından kaynaklandığı uzun bir serüvenden sonra anlaşıldı. Daha sonraları kalıtımın sadece Mendel'in tanımladığı gibi basit olmadığı, kompleks kalıtım paterlerinin olduğu da öğrenildi (25).

Hastalıkların genetik temellerinin aydınlatılması bütün bu gelişmelerden sonra başladı ve hızla ilerlemeye devam etti. Bir çok hastalığın genetik temeli ortaya kondu. Ancak hala sebebi bulunamayan, genetik temeli ortaya konamamış hastalıklar bulunmaktadır. Bunlardan biri de Multipl Skleroz (MS) hastalığıdır (26). Genetik bilimi ve MS ilişkisi ve tarihçesine kısaca değinmek gerekirse;

2.1.1. Genetiğin tarihçesi

Ilk defa genetik biliminin kökeni 19. yy'da Gregor Mendel'in çalışmalarına dayansa da bundan önce kalıtım hakkında birçok fikir ortaya atılmıştır ve bu varsayımların çoğu kazanılmış özelliklerin kalıtım yoluyla aktarıldığını öne sürmüşlerdir (27, 28). Bu inanışa göre kişiye sadece ebeveyndeki baskın özellikler miras kalabilirdi.

1866'da yılında Gregor Mendel kalıtımın temel kanunlarını, dominant ve resesif kalıtım paternlerini, genlerin varlığını ortaya çıkarması ile modern genetik başlamıştır (29).

1902 yılında Walter Sutton ve Theodore Boveri, hücreleri boyayarak, hücreler içerisinde boyanan cisimler farkettiler. Bu cisimlerin varlığı Mendel'in hipotezinde öne sürdüğü kalıtım ajanları ile parellellik göstermiştir. Sonraları bu cisimlere 'kromozom' adı verilecektir (30, 31).

1905 yılında Nettie Stevens homolog kromozomları ve bu kromozom çiftlerinin X-Y cinsiyet kromozomları hariç aynı boyutlarda olduklarını saptadı (32).

1909 yılında Thomas H. Morgan, *Drosophila*'da beyaz göz renginin X'e bağlı kalıtımla aktarıldığını keşfetti. Morgan sinekler üzerinde yaptığı araştırmalarla tüm diploid organizmalara uygulanacak genetik mekanizmalar ve bağlantı analizini geliştirmeyi başarmıştır (33).

Beadle ve Tatum 1941 yılında her bir genin bir ürün/protein kodladığını ortaya çıkarmıştır (34).

1944'te Oswald Avery ise DNA'yı genetik materyal olarak tanımlamıştır (35).

1953 yılında Rosalind Franklin ve Maurice Wilkins DNA'nın çift zincirli olduğunu göstermiş, sonrasında ise 1979 yılında Thomas Watson ve Frances Crick baz çiftlerinin yapısını tanımlamış, replikasyon makanizmasını açıklamışlardır (36, 37).

1960'larda Barbara McClintock transposable elementleri keşfetmiştir (38).

1970 yılında Temin ve Baltimore retrovirüslerde revers transkriptaz enzimini bulmuş ve sonraları bu enzim RNA'dan genleri klonlamada kullanılmıştır (39, 40).

1977' de Maxam, Gilbert ve Sanger, DNA dizileme metodunu bulmuşlardır (41).

1981'de ilk transgenik memeli üretilmiştir (42).

1987 yılında bir dönüm noktası denebilecek polimerize zincir reaksiyonu (PCR) tekniği Kary Mullis tarafından geliştirilmiştir (43).

1995'de ilk bakteriyel genom (Haemophilus influenzae) tamamıyla dizilenmiştir (44).

1996 yılında Ian Wilmut yetişkin memeli hücresinden Dolly isimli koyunu klonlamayı başarmıştır (45).

2000 yılında insan genom projesi tamamlanmıştır(46). Ayrıca bu yıl masif paralel sekanslama keşfedildi ve yeni nesil dizilemenin ilk adımı atıldı.

2004 yılında yeni nesil dizilemenin gelişmiş bir versiyonu Life Sciences tarafından piyasaya sürüldü.

2.1.2. MS'in tarihçesi

MS hastalığının tarihi 1800'lü yıllara dayanmaktadır. Augustus d'Este (1794-1848) ilk defa MS hakkında bir vaka yayınlamıştır (47). 1822 yılında hastanın ilk bulgusu

görme bulanıklığının ortaya çıkmasından 1848 yılında ölümüne kadar hastayı takip etmiş ve ortaya çıkan tüm bulguları tarihleri ile not etmiştir.

1868 yılında nörolojinin babası olarak kabul edilen Jean Martin Charcot, Paris Üniversitesi'nde tremor, konuşma bozukluğu ve nistagmusun eşlik ettiği bir hastayı incelemiş ve MS için ayırıcı bir özellik olan beyinde beyaz cevherde 'plakları' keşfetmiş ve hastalığı ilk defa genel hatları ile tanımlamıştır (48).

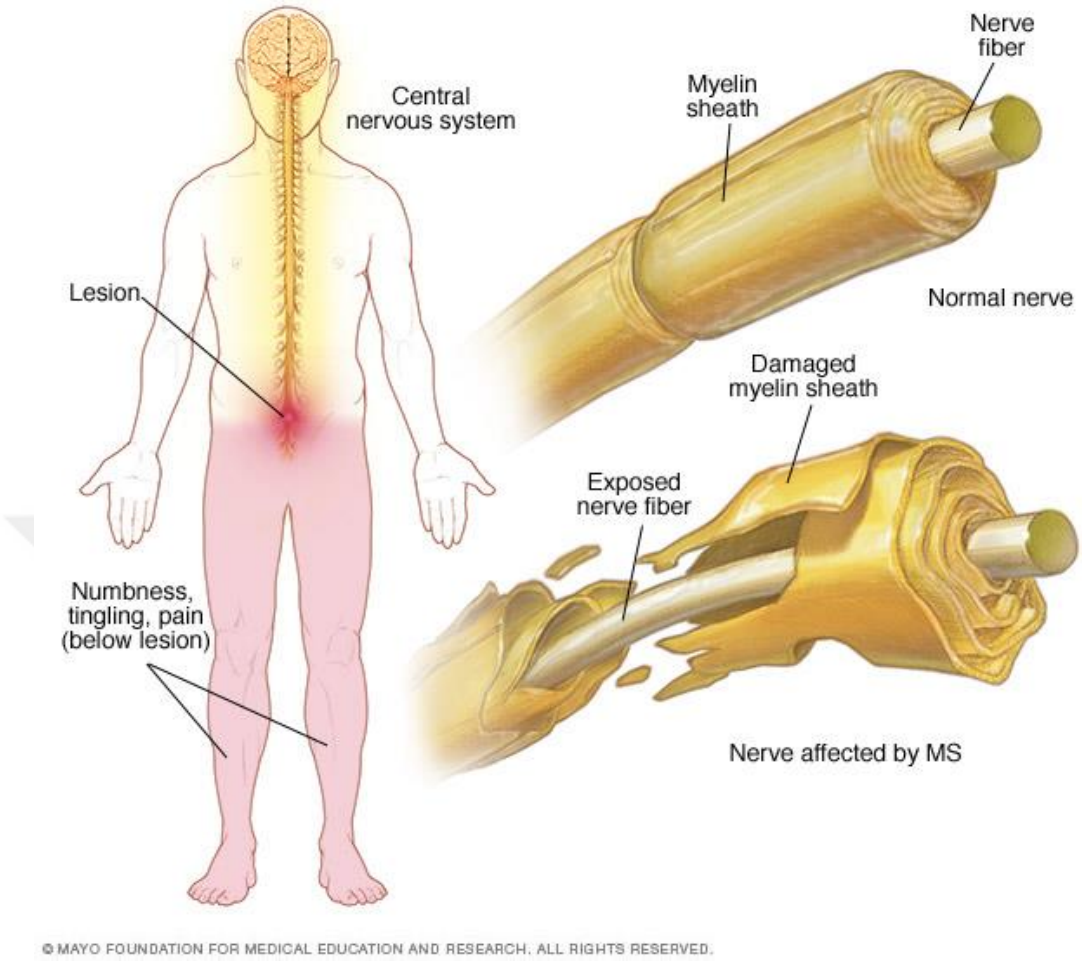
1980'lerde tedavide yüksek doz metilprednisolon kullanıma girdi. 1950'lerde interferonlar keşfedildi ve 1993'te tedavideki yerini aldı (49).

Bazı etnik gruplarda insidansın daha yüksek yüksek saptanması ve bazı vakaların ailesel olarak artış göstermesi genetic kompenent hakkında şüphe oluşturmuştur. 2004 yılında Oksenberg ve 2007 yılında Gregory tarafından yapılan genome wide association study (GWAS) araştırmaları sonucu iki genin, *HLA-DRB1 ve IL7R*, hastalık yatkınlığı ile ilişkisi bulunmuştur (4, 5).

2007 ve 2009 yıllarında dört kez daha GWAS-MS çalışması yapılmış ve yine bir çok gende, örn.; CD6, CD25 (interleukin 2 receptor, alpha, IL2RA), CD40, CD58, CD226, C-type lectin domain family 16, member A (CLEC16a), ectopic viral integration site 5 (EVI5), glypican 5 (GPC5), regulator of G protein signaling 1 (RGS1), tyrosine kinase 2 (TYK2), tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A (TNFRSF1A), and interferon regulatory factor 8 (IRF8) vs., ilişkili olabileceği ortaya atılmıştır (5, 12, 50-52).

2.2. Tanım

MS, merkezi sinir sistemi (MSS) elemanları olan beyin ve omuriliğin hasarı ile seyreden bir hastalıktır. Immün sistem, sinir liflerini örten myelin kılıfa zarar vermekte ve beyin ile vücut organları arasındaki iletişimi bozmaktadır (Şekil 1). Sinir liflerine verilen hasar kalıcı olabilmektedir. Belirti ve bulgular, nöron hasarının miktarı ile doğru orantılı ve hangi sinirin etkilendiği ile yakından ilişkilidir. MS'in kür sağlayıcı bir tedavisi bulunmamaktadır. Kullanılan tedaviler hastalık seyrini değiştirme ve atakları azaltmaya çalışmadan ibarettir (3).



Şekil 1. MS'de nöron tutulumu ve myelin hasarı (Mayo Foundation, Multiple Sclerosis, 2016)

2.3. Klinik Bulguları

Hastalığın başlangıcının pik yaptığı yaşlar 20-40 yaş civarıdır (53, 54). Daha nadir olarak çocuklarda da ortaya çıkabilmektedir (55). MS aynı zamanda 60 yaş sonrasında da ortaya çıkabilir (56).

İlk çalışmalarda kadınların erkeklere göre yaklaşık iki kat daha fazla MS hastalığına yakalandıkları saptanmıştır (57, 58). Yeni yapılan çalışmalar ise MS insidansının kadınlarda daha belirgin olmak üzere artma eğiliminde olduğunu göstermiştir (59-61).

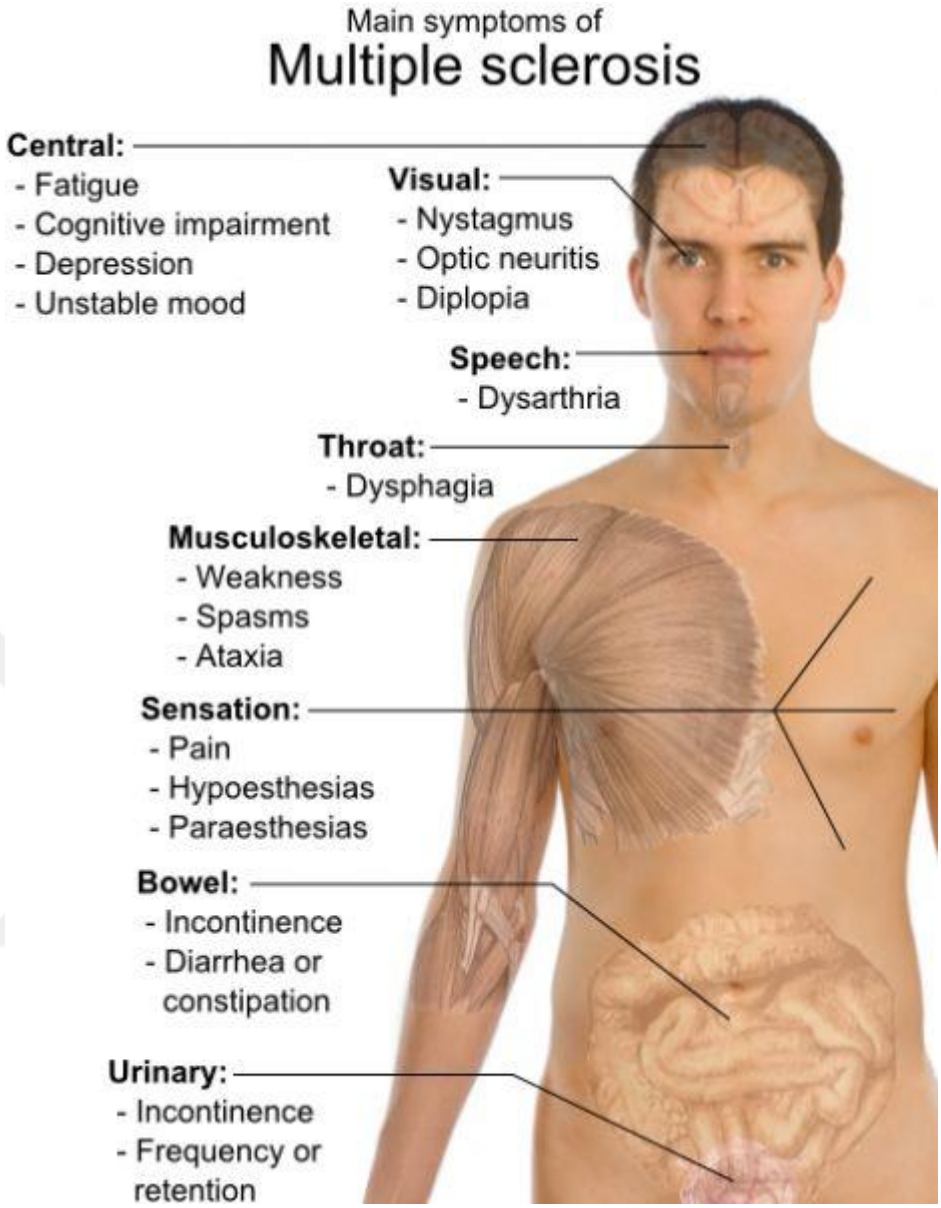
En sık klinik bulgu ve belirtiler (Şekil 2) sırasıyla; ekstremitelerde duyu kaybı (%30), kısmi veya tam görme kaybı (%16), ekstremitelerde akut ve subakut motor

disfonksiyon (%13), diplopi (%7) ve yürüme bozukluğudur (%5) (3). Bu bulgu ve belirtiler izole olarak veya kombinasyon halinde ortaya çıkabilir ve 'klinik atak' denebilmesi için en az 24 saat bulunmalıdır. Herhangi bir anotomik pozisyon tutulabilir, ki MS hastaları arasında kinik oldukça değişkendir (3).

Hastalık seyri relaps-remisyon veya progresif, hafif veya şiddetli olabilir, bütün nöroaksı tutabilir veya sadece spinal kord ve optik sinir etkilenebilir. Hastalık seyrinin böylesine değişken olmasının sebebi bilinmemektedir. Bireyler aylar-yıllarca stabil giderken bir anda atak geçirebilirler. Bugün itibari ile hastalık seyrini izleyecek, takipte kullanılacak herhengi bir biyolojik marker yoktur. Aileler içerisinde bile bireyler arasında klinik oldukça değişkenlik gösterebilmektedir (62).

Klinik progresyon nörolojik disabilitenin akümülasyonunu metodolojik olarak gösteren Genişletilmiş Özürlülük Durumu Skalası (Expanded Disability Status Scale) (EDSS) ile tespit edilmektedir (63). Bir kohort çalışmasında 1000'den fazla MS hastası 25 yıl boyunca takip edilmiş ve çok sayıda klinik veri elde edilmiştir (64, 65). Elde edilen bu veriler hastalık süresince disabilitede temporal akümülasyonun akselere olduğunu göstermiştir. Başka kohortlarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yakın tarihte yeni skorlama sistemleri de ortaya çıkmıştır. Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS) (66) ve Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) skorları hastalık progresyonunu ölçeklendiren skorlama sistemlerindendir (67).

MS hastalığı yaşa göre gruplara ayrılmış, 18 yaş öncesi erken veya pediatrik başlangıçlı (EOMS), 18-50 yaş arası yetişkin başlangıçlı (AOMS) ve 50 yaş üzerinde başlayanlar geç başlangıçlı MS (LOMS) kabul edilmiştir (68-70). Ayrıca MS'in 4 klinik alt tipi bulunmaktadır.



Şekil 2. MS majör klinik bulguları (A.D.A.M. Medical Encyclopedia, Medical Illustrations, Multiple Sclerosis, 2015).

2.4. Klinik Alt Tipleri

2.4.1. Relapsing remitting MS (Atak ve İyileşmelerle Giden MS) (RRMS)

Hastaların %80'i bu grupta olup nörolojik belirtilerin alevlenmesi ve takip eden dönemde tam veya kısmi remisyon olması şeklinde ilerlemektedir (71). Hastalık başlangıcından yaklaşık 10 yıl sonra, RRMS hastalarının neredeyse %50'si progresif MS'e ilerler. Progresif MS'te klinik atak ve remisyon şeklinde değildir fakat belirtilerin progresyonu söz konusudur (71, 72).

2.4.2. Primary progressive MS (Birincil İlerleyici MS) (PPMS)

Hastaların %10-20 kadarı bu grupta bulunmakta ve hastalık *başlangıçtan itibaren* progresif seyredip atak remisyon dönemleri bulunmamaktadır (71).

Demografik karakteristikleri diğer MS alt gruplarından ayırt edilir derecede farklılık gösterir:

- Hastalık başlangıcı tipik olarak 40 yaş civarıdır ve bu özelliği ile RRMS'ten önemli bir farkı bulunmaktadır (65, 72-74).
- RRMS'in tersine, PPMS cinsiyet ayrımı yapmaz (65).

2.4.3. Progressive relapsing MS (İlerleyici Yenileyici MS) (PRMS)

Çok nadir bir form olan bu grup hastalar başlangıçta PPMS gibi başlayıp hastalık seyri süresince nörolojik alevlenmeler yaşarlar (75). SPMS grubundaki klinik alevlenmeleri inkomplet remisyon olan hastalar da bu grupta anılabilirler (71).

2.4.4. Secondary progressive MS (İkincil İlerleyici MS) (SPMS)

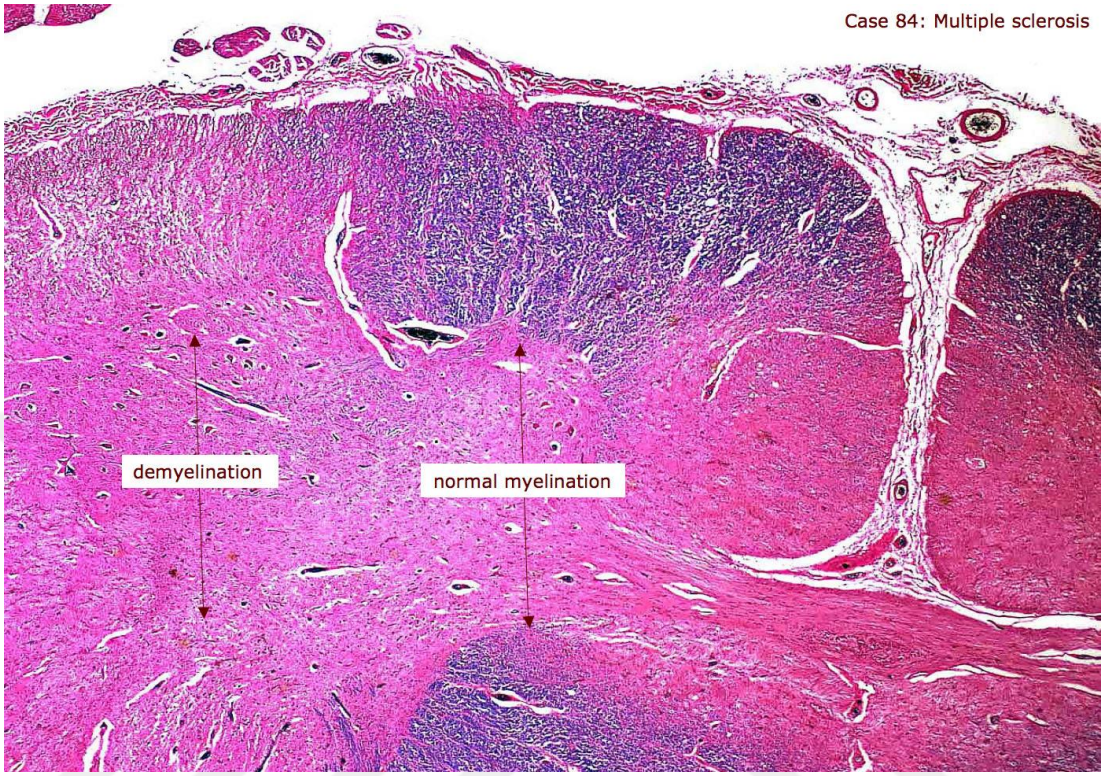
Bu grupta uzmanlar arasında bir konsensus bulunmasa da karşılık geldiği durum şudur: 1) asla ataklardan tam remisyona giremeyen RRMS hastaları ve 2) akut alevlenmeler yaşayan PPMS hastaları (76).

MS hastalarının beklenen yaşam süreleri gelişmiş ülkelerde genel populasyona yakındır (77). Danimarka'da yapılan ulus temelli prognostik çalışmada yaşam süresinin genel popülasyona kıyasla 10-12 yıl kısaldığı görülmüştür (78).

2.5. Histopatoloji

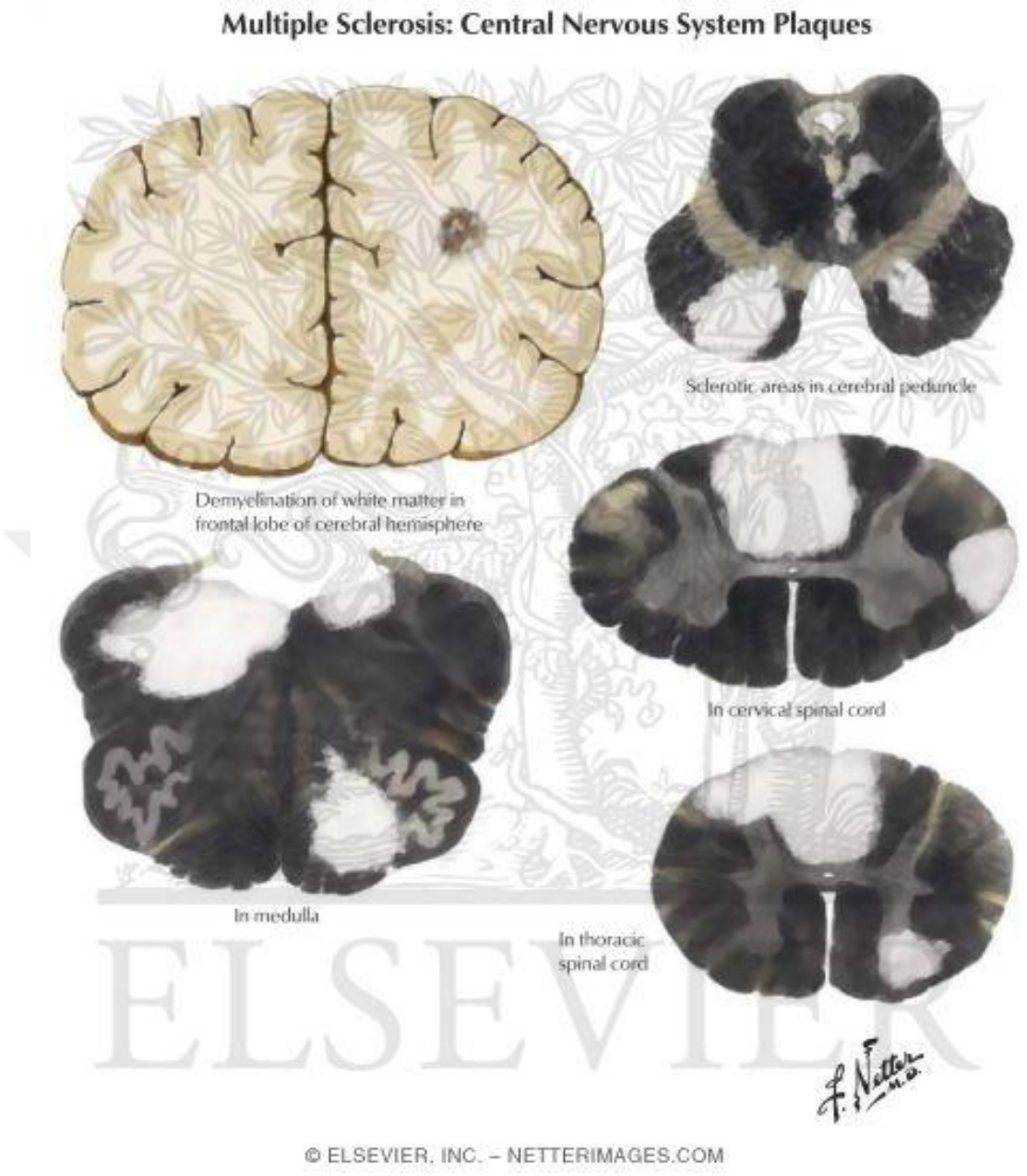
Histopatolojik bulgular (Şekil 3) plaklar içerisinde myelin kaybı, bunun sonucunda iyon kanallarında bozukluk ve aksonun demyelinize alanında aksiyon potansiyelinde anormal uzama olarak tarif edilebilir. İlk dönemde yapılan çalışmalar demyelinize lezyonlarda önemli akson hasarı olduğunu göstermişti. Daha sonra yapılan çalışmalar da hastalığın erken dönemlerinden itibaren akson hasarının olduğunu ve biriken aksonal hasarın kümülatif etkisi ile nörolojik bozuklukların ortaya çıktığını ortaya koymuştur (79, 80). Histopatolojik çalışmalar aktif inflamasyon ve demyelinizasyonun olduğu bölgede kopmuş, distrofik aksonların bolca bulunduğunu

göstermektedir (81). MS'te aksonal kayıp zamanla MSS atrofisine neden olabilmektedir (Şekil 4) (3).



Şekil 3. MS histopatolojisi, beyin biyopsi materyali (General pathology index, health.utas.edu.au, 2016).

Bir grup araştırmacı, MS biyopsi ve otopsi materyallerinde 4 farklı histopatolojik patern belirlemişlerdir (82). RRMS hastalarında bunların tamamı saptanmış fakat PPMS hastalarında sadece bir tanesi görülmüştür. Bu çalışma MS hastaları arasında temporal ve patojenik heterojenite tartışmalarını başlatmışken, çok yeni bir histopatolojik araştırma göstermiştir ki MS hastası bireylerden alınan lezyonlar oldukça homojen ve T ve B hücre infiltrasyonu ile karakterizedir (83). Bundan sonra yapılacak çalışmalar gerçekten histopatolojik heterojenite olup olmadığı konusunda daha aydınlatıcı olacaktır.



Şekil 4. MS beyin patolojisi (Netter Anatomi).

2.6. Tanı

MS bir klinik tanıdır. Tanıda 2010 revize edilmiş Mc Donald Tanı Kriterleri (84) kullanılmaktadır.

- **2010 McDonald Kriterleri:**
  1. ***Uzayda dağılım:***
  a. Periventriküler

b. Jukstakortikal
c. İnfratentorial
d. Spinal kord

lokalizasyonlarından ***en az ikisinde*** en az ***1 tane*** T2 parlak lezyon

2. Zamanda dağılım:

a. Takip MR'da T2 ve/veya kontrastlanan ***yeni*** bir lezyon
b. Herhangi bir zamanda ***eş zamanlı*** asemptomatik kontrastlanan ve kontrastlanmayan lezyonlar

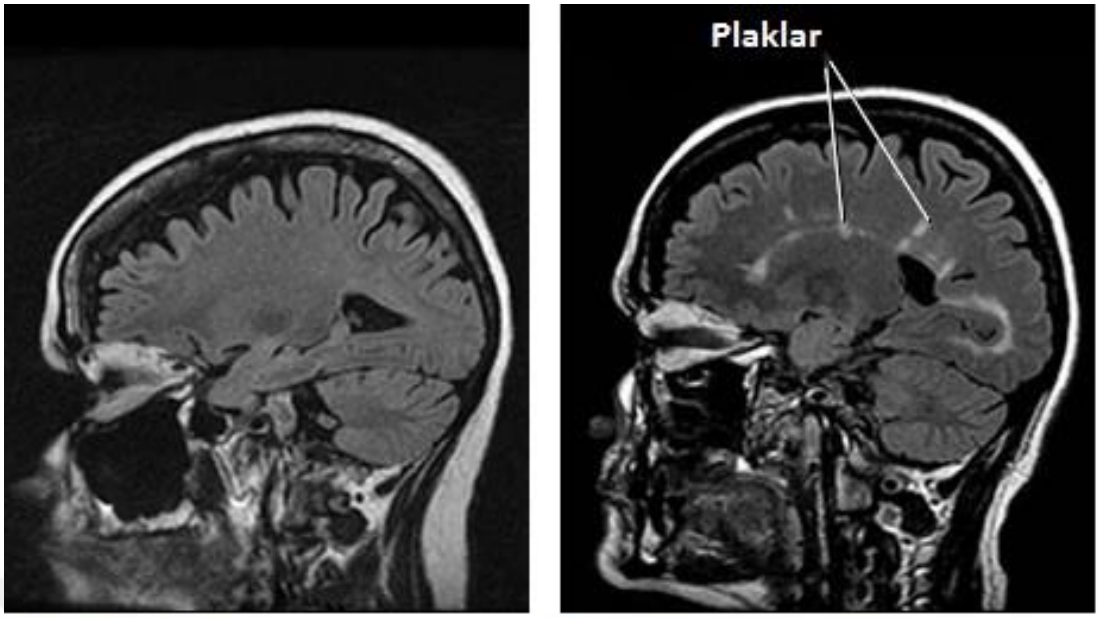
Mc Donald Kriterleri 2010 revizyonuna göre subgruplar temelde aşağıdaki gibi yenilenmiştir:

2.6.1. RRMS

Tanı çoğunlukla hastalığın zamana yayılımı ve vücuttaki tutulumuna göre konmaktadır:

- **Zaman yayılımı:** En az 24 saat süren, aralarında en az 1 ay bulunan, veya 6 aya yayılmış basamaklı ve yavaş ilerleyen tarzda en az iki klinik atak
- **Tutulum yeri:** Beyin veya omurilikte beyaz cevherde birden fazla alan veya fonksiyonel sistemde lezyonların varlığı

Revize dilmiş kriterler ile tanıyı ve yaklaşımı oldukça kolaylaştıran MRI tekniği (Şekil 5) eklenmiştir (85).



Şekil 5. Sağlıklı birey ve MS hastasına ait beyin MR görüntüleri (http://www.webmd.com/multiple-sclerosis/magnetic-resonance-imaging-mri-of-multiple-sclerosis, Barrie J. Hurwitz, MD - Neurology, Healthwise Staff, 2014)

2.6.2. PPMS

Uluslarası olarak genel kabul gören bir tanı kriteri bulunmamaktadır. Ancak aşağıdaki tanı kriterleri uzmanlar tarafından kullanılmaktadır:

- **Belirgin PPMS:** klinik ve laboatuvar bulguları tam uyan bireyler
- **Olası PPMS: K**uvvetli klinik şüphe mevcut fakat kesin kanıt olacak bulgular olmayan bireyler
- **Muhtemel PPMS:** kısıtlı bukgular:
    - Intratekal IgG üretimi
    - Aşağıdaki MRI bulgularından birisi:
        - 9 adet beyin lezyonu
        - 2 adet spinal kord lezyonu
        - 4-8 adet beyin lezyonu ve 1 adet spinal kord lezyonu

2.7. Ayırıcı Tanı

Klinik heterojen olduğundan ayırıcı tanı aşağıdaki gibidir:

- **İnflammatuar ve enfeksiyon hastalıkları:**
    - Sistemik lupus eritematozis
    - Sjögren sendromu
    - Behçet hastalığı
    - Sarkoidoz
    - Lyme hastalığı
    - Antifosfolipid antikor sendromu
    - Nörosifiliz
    - Kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS)
    - Whipple hastalığı
    - Insan T lenfosit virüsü (HTLV) ilişkili myelopati
- **Serebrovasküler hastalıklar**
    - Rekürren inme atakları
    - CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy)
    - Vasküler malformasyonlar
    - Moyamoya hastalığı
- **Diğer**
    - Serebral lenfoma
    - Mitokondrial hastalıklar
    - Funiküler myelopati
    - Adrenolökodistrofi – yetişkin başlangıçlı tip
    - Yetişkin başlangıçlı diğer genetik lökodistrofiler (86)

2.8. Prevalans

MS hastalığının dünya genelinde tahmin edilen prevalansı 1.1 milyon ile 2.5 milyon vaka arasındadır (87).

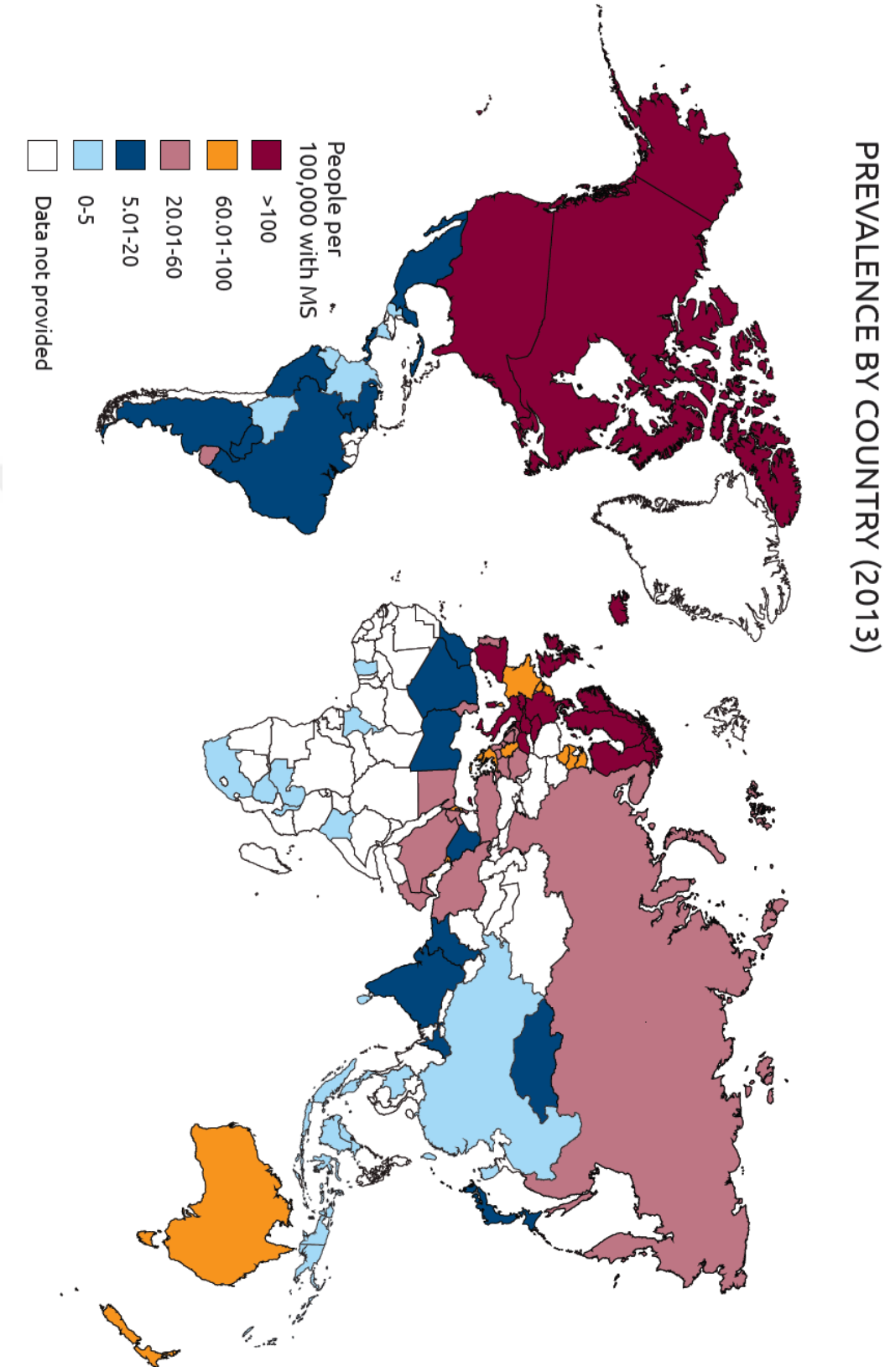
Klinisyen tarafından tanısı konulan MS olgularının coğrafik dağılımları (Şekil 6) incelendiğinde dengeli dağılmadığı görülmektedir. En yüksek frekans 40-60 derece güney enlemleri arasında gözlenmektedir. Bu nedenle 50-120/100.000 sıklığında yüksek prevalans gösteren coğrafi bölgeler:

- Batı Avrupa (88)
- Kuzey Avrupa
- Kanada (89)
- Rusya (90)
- Israil (91)
- Kuzey Birleşik Devletler'in bir kısmı, Yeni Zelanda
- Güney-Doğu Avusturalya (92)

5/100.000 sıklık ile çok düşük frekanslı bölgeler:

- Asya (93, 94)
- Sahra altı Afrika
- Güney Amerika (95). Bu bölgede prevalans artışına yönelik bilgiler gelmeye devam etmektedir (3).

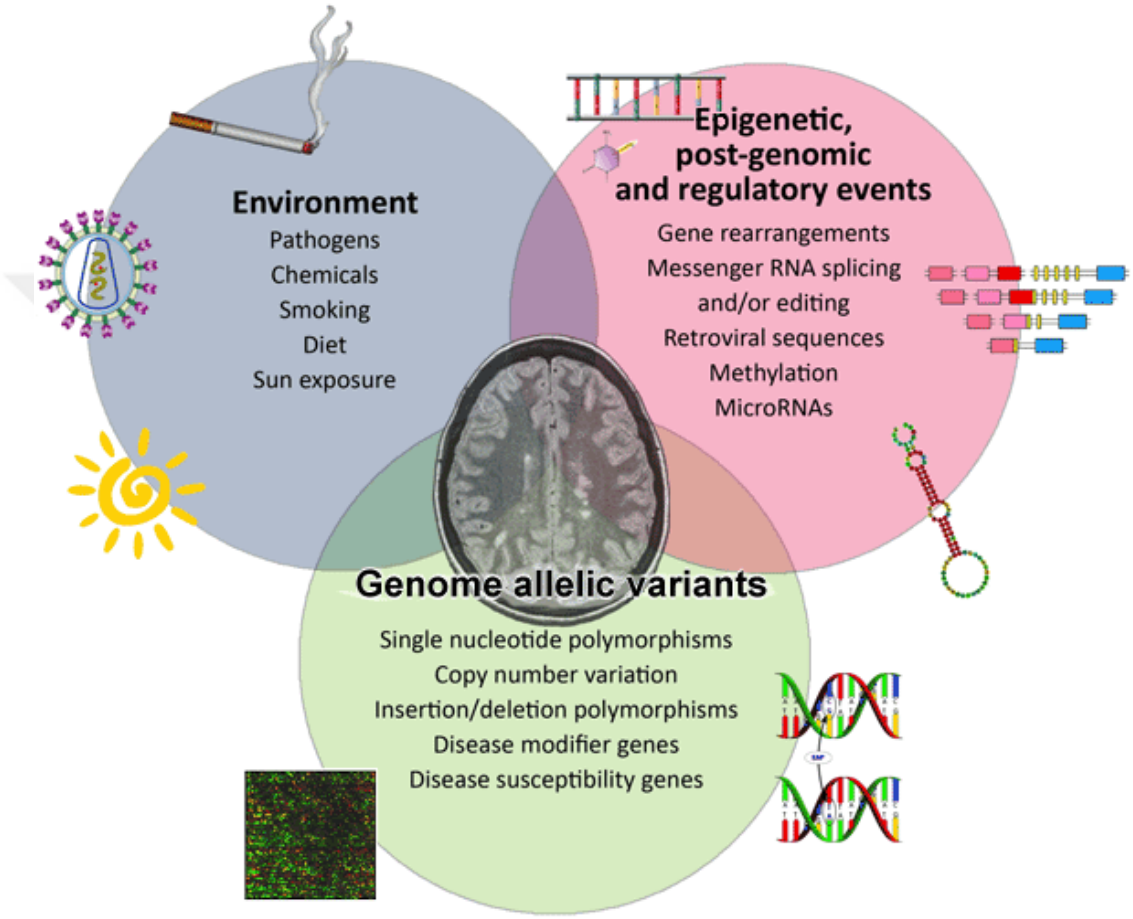
Yukarıda ifade edilen bazı bölgelerde son bir kaç dekatta prevalans artışı rapor edilmiştir. Bu gerçek bir artışı ifade edebileceği gibi daha iyi değerlendirme nedeni ile de olabilir (3).



Şekil 6. MS hastalığının coğrafi dağılımı ve prevalansı (http://multiple-sclerosis-research.blogspot.com, 2014)

2.9. Sebepleri

MS hastalığının nedenleri aşağıda başlıklar halinde açıklanmıştır. Ayrıca Şekil 7'de nedenler şematik olarak özetlenmiştir.



Şekil 7. MS hastalığının nedenleri (Nature 476, 214–219, 2011) (96).

2.9.1. Çevresel nedenler

Epidemiyolojik metodlar ile yapılan çalışmalar MS hastalığında enfeksiyon patojenlerinin ve çevresel faktörlerin rol oynadığını göstermiştir. MS etiyolojisinde çevresel faktörlerin etkisini kanıtlayan en az dört parametre vardır:

- Coğrafik
- Mevsimsel (97)
- Sosyoekonomik varyasyonlar

- Migrasyon çalışmaları (91)

Ek olarak, indeks vakaların monozigotik ikizleri arasında konkordans oranının sadece %30 civarında olması non-genomik faktörlerin rolü olduğunu konfirme etmektedir. Fakat diskordans epigenetik veya skolastikler ile ilişkili olabilir.

Son derece gelişmiş ve oldukça duyarlı teknikler olmasına rağmen MS etiyolojisinde tek bir ajan (virüs, bakteri, toksin vs.) neden olarak saptanamamıştır. Neden olduğu düşünülen bir ajanın tüm vakalarını açıklaması gerçekçi bulunmamıştır. Ancak yine de son zamanlarda Ebstein Barr Virüsü (EBV) (98) ve Vitamin D (99) ile MS ilişkisi hakkında kuvvetli kanıtlar bulunmuştur.

2.9.2. Herediter nedenler

MS, kompleks genetik hastalıklar olarak adlandırılan gruba dahil olup belirgin kalıtımsal riskler ve çok sayıda gen-çevre etkileşimleri gösteren bir hastalıktır.

MS hastalığında genetik katkıyı düşündüren vakaların ailesel agregasyonu ve coğrafi dağılıma bakılmaksızın kökenleri ile ilişkili olarak bazı etnik gruplarda (Kuzey Avrupa kökenleri) diğerlerine (Afrika, Asya kökenleri) göre daha yüksek insidans görülmesidir. Iki gen, *HLA-DRB1 ve IL7R (CD127)*, yapılan çalışmalar sonucu aday genler olarak tespit edilmeleri sonrası hastalıkla net bir şekilde ilişkilendirilmiştir (4, 5). Yüksek çözünürlüklü genotipleme tekniklerinin öncülüğünde belirgin ilerlemeler kaydedilmiş, GWAS tekniğinin MS'de kullanılması ile de hastalıkla ilişkili ek yatkınlık genleri ve lokusları ayırt edilmiş ve böylece bu kompleks nörolojik hastalığa katkı sağlayan önemli genetik faktörlerin tespit edilmesinde bu yaklaşımın (GWAS) gücü de ortaya konmuştur. Şimdiye dek dört adet MS-GWAS çalışması raporlanmıştır (12, 50-52).

Bu GWAS çalışmaları, büyük meta analizler ve ek çalışmalarla devam etmiş ve hastalık yatkınlığına neden olan yaklaşık bir düzine yeni lokusun ilişkisine yönelik güçlü kanıtlar sağlamıştır. Tespit edilen bu lokuslar şu şekilde sıralanabilir: *CD6, CD25* (interlökin 2 reseptör alfa, *IL2RA*), *CD40, CD58, CD226,* C tip lektin domain ailesi 16, member A (*CLEC16a*), ektopik viral entegrasyon bölgesi 5 (*EVI5*), glipikan 5 (*GPC5*), G protein sinyal 1 regülatörü (*RGS1*), tirozin kinaz 2 (*TYR2*),

tümör nekroz fatör reseptör süperailesi üye 1A (*TNFRSF1A*) ve interferon regülatör faktör 8 (*IRF8*).

MS ilişkili bazı allelik varyantlar daha önce diğer otoimün hastalıklarla da ilişkilendirilmişlerdir. Örnek olarak IL2RA, MS, tip 1 diabet mellitus, Grave's hastalığı ve romatoid artrit ile ilişkilendirimiş ve dolayısıyla farklı otoimmün durumların altında yatan bir neden olarak bulunmaktadır (52). MS de otoimmün bir hastalık olduğundan diğer otoimmün hastalıklar ile bazı ortak etiyolojilere sahip olabilmektedir.

Diğer güçlü kanıtlar bulunan aday genler ise, ribozomal protein L5 (*RPL5*), kinesin ailesi üyesi 21B (*KIF21B*), membran metallo-endopeptidaz-like 1 (*MMEL1*), metiltransfreaz like 1 (*METTL1*) ve protamin 1 (PRM1), ek çalışmalara ihtiyaç duymaktadır.

Risk lokuslarının listesi bu şekilde genişledikçe MS genetiği anlaşılamamış olarak kalmaya devam etmektedir. HLA-DRB1 yaklaşık vakaların %7 kadarını açıklayabilirken diğer genler toplamda %3 kadarını açıklayabilmektedir. 10.000 vaka ile yüksek SNP yoğunluklu bir platformda yapılmış bir GWAS çalışması 1.2 veya daha yüksek odds ratio ile yeterli gücü yakalamıştır ve MS genetiği hakkında gelecek dönemlerde de kullanılacak yöntem olacaktır (100).

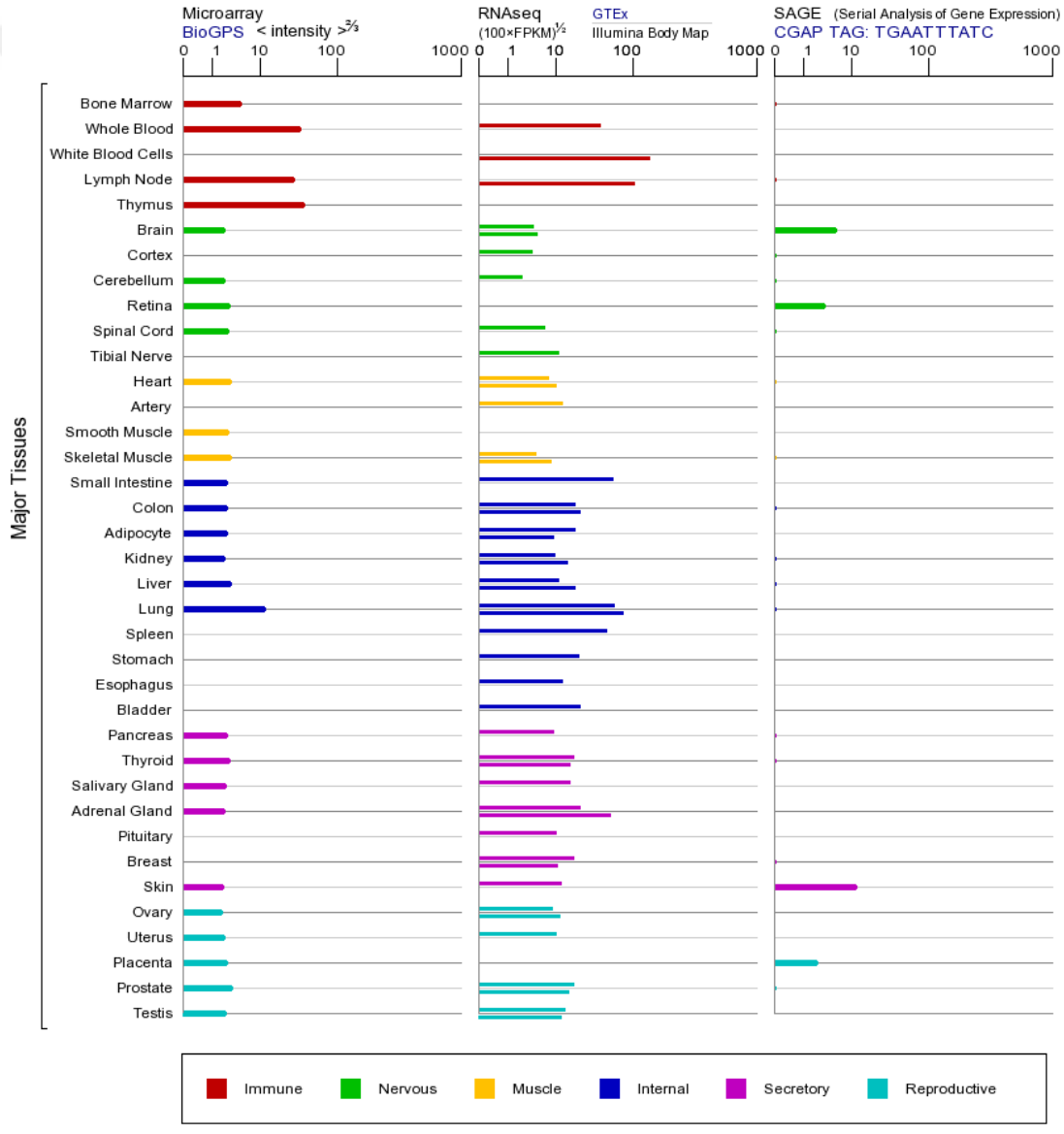
Kopya sayısı değişikleri ve epigenetik olayların etkisi ise hala bilinmezliğini korumaktadır (101).

Ailelerdeki bazı erken ve geç klinik bulgular açısından konkordans bulunması işaret etmektedir ki yatkınlığa ek olarak genomik varyantlar hastalık şiddetini veya fenotipini de etkilemektedir. Bunu net olarak göstermek zor olsa da fenotipik farklılıklar gerçek bir etiyolojik heterojeniteyi ya da spesifik genlerin modifier etkilerini veya her ikisinin kombinasyonlarını işaret etmektedir (101).

2.9.2.1. IL7R ve *IL7R* geni

IL7R, interlökin 7 reseptörünün kısaltmasıdır. *IL7R* ise interlökin 7 reseptör geninin sembolüdür. *IL7R* geni 5. kromozomun kısa kolunun 13 pozisyonunda bulunmaktadır. 8 ekzonu olup hepsi de kodlama yapmakta ve 10 adet transkripti bulunmaktadır. *IL7R* geni interlökin 7 (IL7) reseptör alfa zinciri diye adlandırılan bir proteinin yapımını sağlamaktadır. 25 kD bir glikoprotein oluşmakta ve lenfopoezi

regüle etmektedir. Bu ligand-reseptör kompleksi normal T hücre gelişmesi için esastır (102, 103). Bu protein hem IL7 reseptörünün hemde timik stromal lenfoprotein (TSLP) resptörünün bir parçasını oluşturmaktadır. Her iki reseptör de immün sistem hücrelerinin hücre zarında yerleşmiştir. IL7R, B ve T hücrelerinde ve aynı zamanda bunların öncüsü olan kan üretici hücrelerde bulunmaktadır. TSLP reseptörü ise B ve T hücresi, monositler, ve dentritik hücrelerde bulunmaktadır. Bu hücreler yabancı maddeleri tanımakta ve böylece vücudu enfeksiyon ve hastalıklara karşı savunmaktadır (104). IL7R majör olarak T hücrelerinde, timusta ve kanda eksprese edilmektedir (Şekil 8).



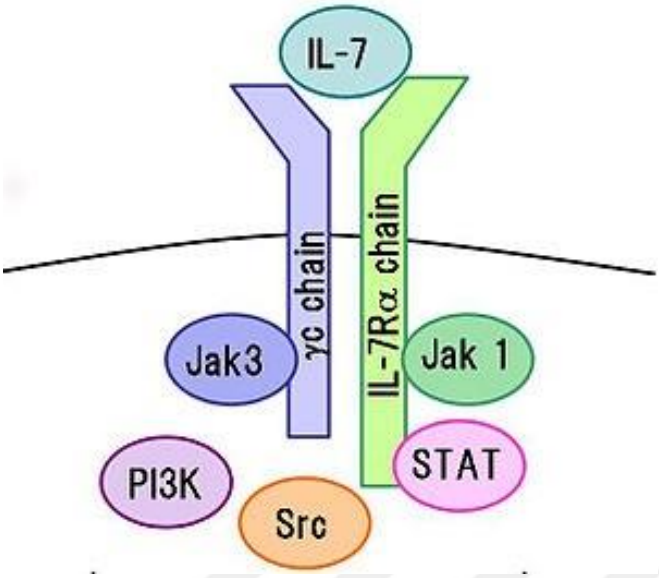
Şekil 8. İnsan dokularında IL7R geni mRNA ekpresyonu (IL7R Gene, GeneCards, 2016).

Hücre yüzeyinde IL7 reseptörü protein yapıdaki IL7 ile etkileşime girmektedir. IL7 immün sistem hücrelerinin aktivitesini düzenleyen bir sitokindir. Reseptör ve sitokin birlikte tıpkı bir kilit ve anahtar gibi birbirine uyumlu şekilde kenetlenir ve hücre içerisinde bir kimyasal sinyal serisini tetikler. Erken kan yapıcı hücrelerde, IL7R üzerinden oluşan bu sinyalizasyon matür B ve T hücrelerinin gelişmesini uyarır. T hücrelerinin gelişmesinde, periferik T hücre hemostazında ve immüntoleransta temel bir rol oynamaktadır (105). Ayrıca bu sinyalizasyon söz konusu hücrelerde daha sonraki büyüme, bölünme/proliferasyon ve canlılığın devamını da sağlamaktadır. Benzer şekilde TSLP reseptörü de TSLP sitokini ile etkileşime geçmekte ve bu etkileşimin başlattığı sinyaller çeşitli immün sistem hücrelerinin proliferasyon ve matürasyonunu uyarmaktadır (104).

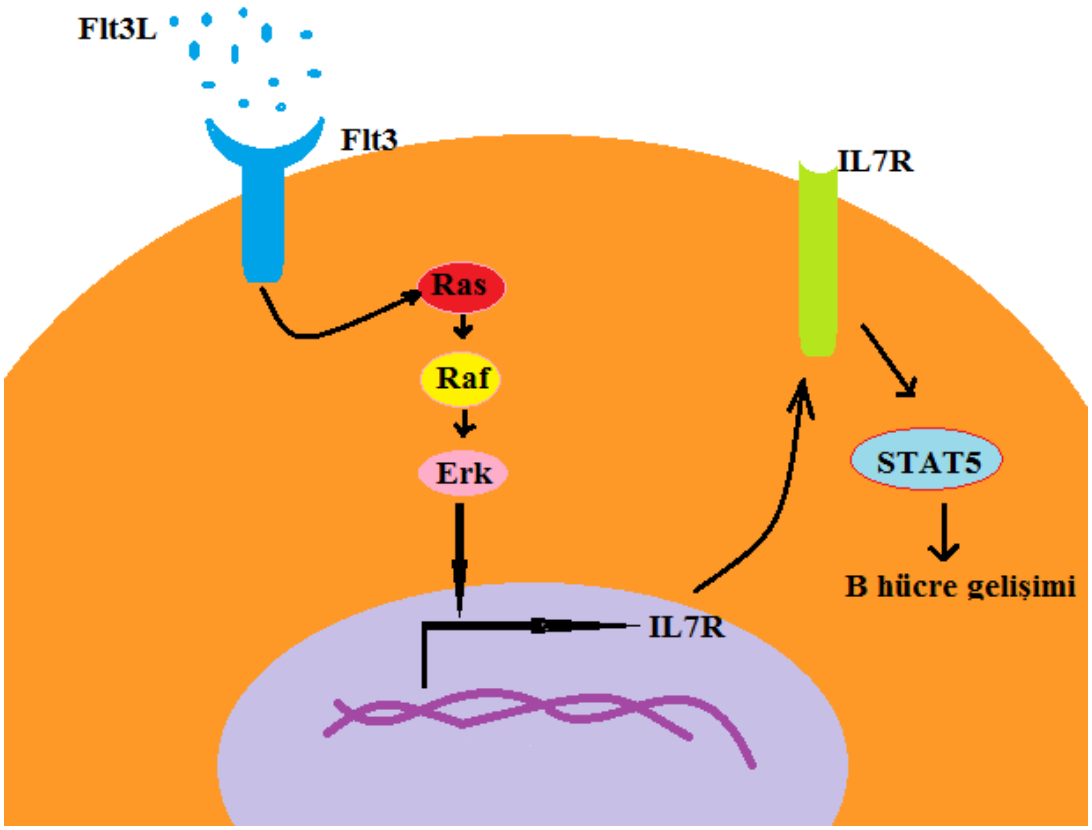
Normal şartlarda IL7 dolaşımda kısıtlı miktarda bulunmaktadır, fakat lenfopeni durumlarında IL7 seviyesi artarak zayıf self antijenlere karşı artmış cevap oluşmasına neden olur ki bu da hemostatik proliferasyonu sürdürür (106). Normal lenfosit sayısı olan bireylerde IL7, farmakolojik dozlarda dahi self-antijenlere karşı proliferatif yanıtı uyarır ve IL7 kullanılabilirliğini artırır. Dolayısıyla lenfopeni, farmakolojik uygulama veya IL7 transgenik farelerde overekspresyon ile indüklenmiş durumlarda otoimmün hastalıklara yatkınlık artmaktadır (107-109). IL7 çeşitli otoimmün hastalıklarda kofaktör gibi hareket etmektedir. Otoimmün ensefalit, otoimmün diyabet ve lupus örnek olarak verilebilir (105, 110). Denebilir ki, IL7 sinyali otoimmüniteye çeşitli modellerle katkı sağlar ve artmış IL7 sinyali bazen immün toleransı kırmak için tek başına bile yeterli olmaktadır (105).

Hücre ilişkili IL7 reseptör kompleksi, IL7 reseptör alfa (IL7Rα; CD127) ve yaygın γ zincirini (γc; CD132) içeren bir heterodimerdir. Her iki zinciri de farklı genlerle etkileşerek immünite üzerinde çeşitli roller oynamaktadır (Şekil 9). Bu protein T hücre gamma genini (TCR γ gene) STAT5 üzerinden kontrol etmekte ve T hücrelerinin diferansiasyon ve aktivasyonunda etkili olmaktadır (4, 102, 111, 112). Regulatuar T hücreleri STAT5 tarafından uyarılmakta ve otoimmün olaylar üzerine süpressör etki yapmaktadır. IL7R ile etkileşen STAT5, B hücre gelişimini de uyarmaktadır (Şekil 10). Daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiş ki, IL7R eksik transgenik farelerde STAT5 aktivasyonu ile B hücre gelişimi normal seyrederken T hücreleri gelişememektedir (113-115). Bu durum ise T hücre gelişimi için IL7R'nün

önemini ortaya koymaktadır. IL7Rα ayrıca TSLP reseptörü ile etkileşerek TSLP reseptör kompleksini oluşturur. Solubl reseptörlerin çoğu türler arasında korunmuş olup çeşitli çalışmalar solubl sitokin reseptörlerinin, sitokin aktivitesinin modülasyonunda esas rolü oynadığını göstermiştir (116). Solubl reseptörlerin biyolojik fonksiyonları antagonistik etkiden (örn: solubl IL1RII) yarılanma zamanı uzamış (örn: solubl IL6Rα) ve potansiyelize edici (örn: solubl IL15Rα) etkiye kadar değişiklik göstermektedir (117-119). Soluble IL7Rα (sIL7Rα) ilk defa 1990 yılında keşfedilmiş ve kanda nanomolar konsantrasyonlarda dolaşmaktadır ve bugün hala biyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (105). Solubl sitokin reseptörlerinin üretilmesinde temelde iki mekanizma bulunmaktadır (116): membrana bağlı reseptörlerin bağlı olduğu yerden ayrılması (örn: TNF reseptörü 2 (120)) ve alternatif splicing ile transmembran domainini kaybetmiş bir proteinin ortaya çıkması (örn: IL9Rα (121)). Önceki biyokimyasal çalışmalar göstermiştir ki insan plazmasında bulunan sIL7Rα primer olarak 6. ekzonun yokluğu ile karakterize bir alternatif splicing ile oluşmakta ve sonucunda çerçeve kayması nedeniyle prematüre stop kodona sebep olmakta ve 26 aa uzunluğunda bir zincir meydana gelmektedir (122). Bir başka çalışmada ise sIL7Rα'nın IL7 sinyalini erken dönemde inhibe ettiği bulunmuş, fakat bu durum in vitro gösterilmiş ama in vivo çalışmalar yapılmamıştır (105, 123). Sonraları yapılan bir çalışmada sIL7Rα varlığında erken dönemde IL7 sinyali inhibe olurken geç dönemde buna sekonder IL7 seviyelerinin oldukça arttığı ve buna bağlı olarak IL7 ile indüklenen etkilerin (örn: CD95 upregülasyonu ve CXCR4 upregülasyonu gibi) potansiyelize olduğu gösterilmiştir. Ayrıca sIL7Rα T hücrelerinin IL7 tüketimini azaltmakta ve böylece daha potent ve uzun bioaktivite oraya çıkmasına neden olmaktadır. Artan IL7 seviyeleri CD4 T hücre ekspansiyonunu indüklemekte ve bu durum da otoimmün olayları ve şiddetini artırmaktadır (105). *IL7R* genotipleri, sIL7Rα ve dolayısıyla IL7 seviyelerini modüle etmektedir.



Şekil 9. IL7R proteini zincirleri ve etkileştikleri proteinler (IL7R, WikiGenes, 2016).

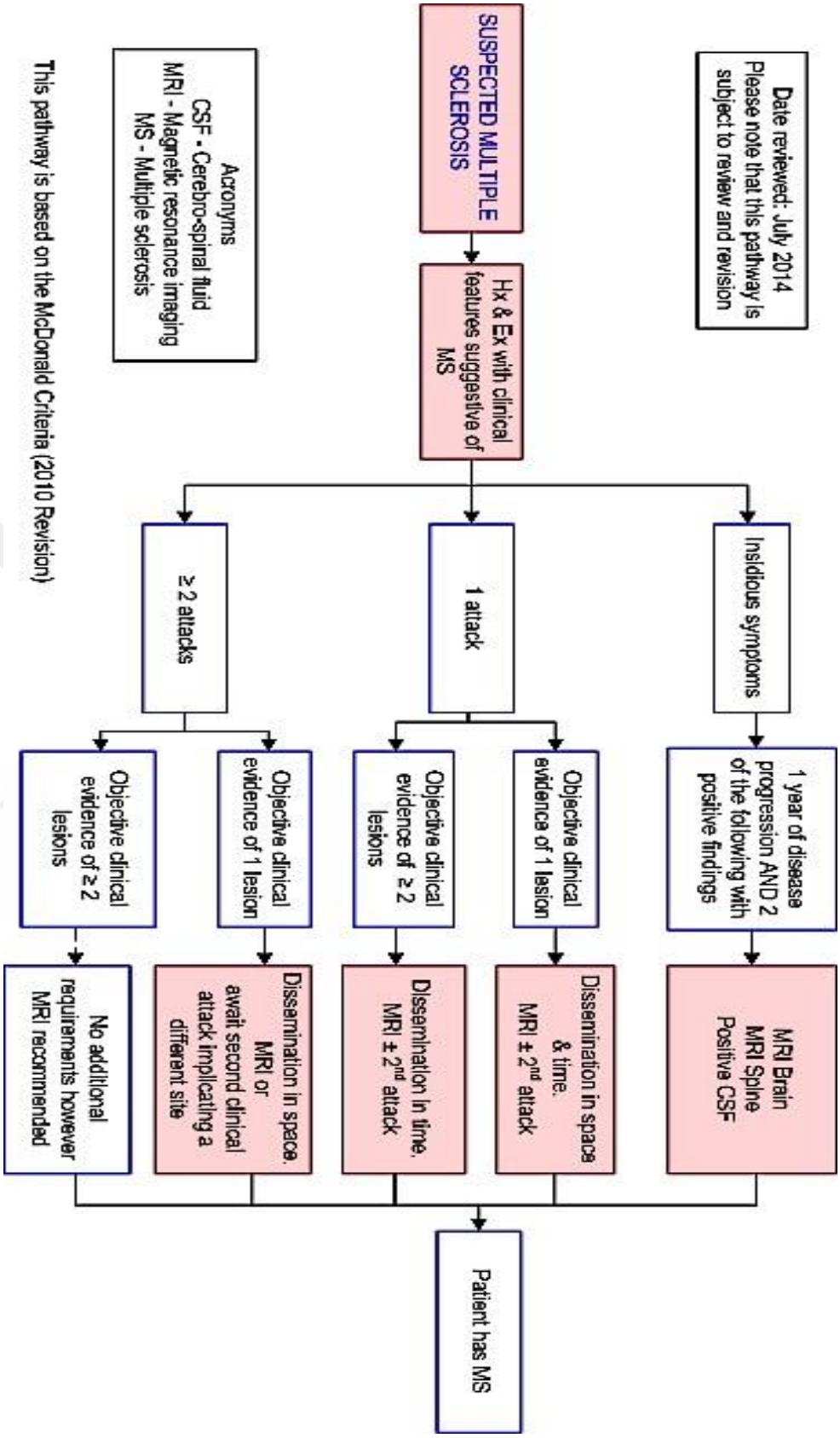


Şekil 10. Flt3/Ras sinyalinin IL7R/STAT5 etkileşimini başlatması ve B hücre diferansiasyonun sağlanması (Nature Immunology 12: 1139-1140, 2011'den esinlenilmiştir).

Daha önce yapılan çalışmalar özellikle iki SNP (bir kodlayan ve bir tane de promoter bölge polimorfizmi) ile MS arasında fonksiyonel olarak da gösterilmiş anlamlı bir ilişki ortaya koymuştur. Bunlar sırası ile 6. ekzonda bulunan T244I polimorfizmi (rs6897932) ve promoter bölgede bulunan -504 T/C polimorfizmi (rs11567685) olarak raporlanmıştır (124). *IL7R* geninde daha önce tanımlanmış C alleli olan SNP rs6897932, sonraları *IL7R*C* şeklinde refere edilmiş ve multipl skleroz hastalığına yatkınlık ile ilişkilendirilmiştir (4, 12, 20). SNP rs6897932 IL7R geni ekzon 6'da bulunmaktadır ve reseptörün integral membran domainini kodlamaktadır. Bu SNP *IL7RA* içinde alternatif splicing yoluyla reseptörün solubl formunun üretimine neden olmaktadır (4, 125, 126). Yine başka çalışmalarda gösterildiği üzere IL7R solubl formu, IL7'nin biyolojik aktivitesini potansiyelize etmekte ve otoimmün yatkınlığa neden olmaktadır (105). Daha sonraki verilerde de CD8 efektör hafıza T hücrelerinde IL7 sinyalizasyonunun MS hastalarında kontrollere göre daha kuvvetli olduğu saptanmıştır (126). Otoimmüniteye yatkınlığa neden olan *IL7R* genotipleri ile ilgili yapılan çalışmalarda anlaşılmıştır ki IL7Rα mRNA splicing oranı artmakta ve bu da sIL7Rα seviyelerinde artışa neden olarak otoimmüniteye yatkınlıkla sonuçlanmaktadır (110). Her ne kadar eski çalışmalar ışığında IL7'nin self toleransı kıran bir sitokin olduğu ve birçok otoimmün olayda kofaktör rolü oynadığı öngörülmüş olsa da sIL7Rα'nın biyolojik rolü hakkında kesin bilgiler yoktur (105).

2.10. Hastalık Araştırılmasında Strateji

MS hastalığı tanısı düşünülen bireyde öncelikle kalıtsal olduğunu düşündüren bulguların varlığı araştırılmalıdır. En az üç jenerasyon aile öyküsü dikkatli bir şekilde alınmalı, diğer aile bireylerinin nörolojik belirti ve bulguları özenle irdelenmelidir. Akrabalardaki ilişkili bulgular dökümante edilmeli ve o bireylerin mümkünse direkt olarak muayenesi yapılıp tıbbi kayıtları, laboratuvar test sonuçları, nörogörüntüleme raporları ve varsa otopsi sonuçları incelenmelidir (101). Şekil 11'de MS tanı algoritması şematize edilmiştir.



Şekil 11. MS tanı algoritması (Mc Donald, 2010).

2.11. Genetik Danışma

Genetik danışma hasta bireylerin ve ailelerinin tıbbi ve kişisel kararlarını almalarında onlara yardımcı olacak bilgileri vermek üzere onların fizyolojisi, doğası, kalıtımı ve ailenin genetik hastalıkları üzerinden ilerleyen bir süreçtir. Bir sonraki başlıkta daha ayrıntılı anlatılacağı üzere aile öyküsü, yapılmış ve yapılacak genetik testler ile risk hesaplaması yapılması gerekmektedir. Genetik danışmanlık verilirken bireyin bütün kişisel, kültürel ve etnik özellikleri göz önüne alınarak bir genetik uzmanı tarafından değerlendirilmelidir (101).

2.11.1. Kalıtım modeli

Bugüne dek yapılan çalışmalar göstermiştir ki MS patogenezi basit bir kalıtım modeli ile açıklanamaz. Aşağıda bahsedilen bugüne kadar toplanmış veriler, genetik ve çevresel faktörleri de içine alan kompleks multifaktöriyel bir etiyolojiyi işaret etmektedir (101, 127-131):

- İndeks vakadan uzaklaştıkça aile bireylerindeki hastalık riskinde nonlineer bir azalma gözlenmiştir.
- Ikiz çalışmaları ve multipleks aile çalışmalarından elde edilen veriler ile hesaplanan tekrarlama riski, MS hastalığına genotip bağımlı yatkınlık olduğunu düşündürmektedir. Bu kanıya varılmasının nedeni çok sayıda bağımsız ve/veya etkileşim halindeki polimorfik genlerin her birinin minör veya orta derecede etki ettiği sonucuna dayanmaktadır (132, 133).

2.11.2. Aile bireylerinin riskleri

Genel popülasyonda hayat boyu MS riski % 0.2'dir. Aşağıdaki tabloda MS hastası olan bir bireyin (proband) birinci derece akrabalarında genel popülasyona kıyasla risk oranları verilmiştir (Tablo 1) (131, 134-136).

Tablo 1. Bir probandın birinci derece akrabalarında genel popülasyona kıyasla risk oranları.

Proband ile akrabalık	Tahmini risk (Genel popülasyona kıyasla)
Ebeveynler	% 2-3
Kardeşler	% 3-5 Bir veya daha fazla ebeveyn etkilenmişse % 29.5
Çocuklar	% 2-3 Her iki ebeveyn de etkilenmişse daha yüksek risk

2.12. Takip ve Tedavi

2.12.1. Tedavi seçenekleri

MS tedavisinde kullanılan tüm ajanlar (hastalık modifiye edici ajanlar) MSS'deki inflamasyonu azaltıp klinik relaps sıklığını düşürerek etki etmektedirler (137-141). Aşağıda kullanıma girdikleri tarih sırası ile hastalığı modifiye edici ajanlar maddeler halinde ifade edilmiştir (137, 140-142):

- İnterferon Beta (IFNB)
    - IFNB-1b (Betaseron)
    - IFNB-1a (Avonex, Rebif)
- Glatiramer asetat (Copaxone)
- Mitoksantron (Novantrone)
- Natalizumab

Ayrıca ağrı, kas spazmları, halsizlik, depresyon, seksüel disfonksiyon ve mesane/anüs disfonksiyonu için çeşitli medikasyonlar kullanılmaktadır (101).

2.12.2. Takip

Takipte hastalık sekellerini ve ilerleyişi en az zararla kapatmak adına en önemli adım düzenli nörolojik muayenedir. Takip aralıkları hastalık şiddetine göre değişmekle birlikte ayda bir ile iki yılda bir arasında değişmektedir (101).

Muayeneye ek olarak beyin ve spinal kord MRI incelemesi rutin olarak yapılmalıdır. Ancak henüz ne sıklıkla yapılması gerektiği konusunda konsensus oluşmamıştır.

Bütün bu bilgilerden yola çıkılarak çalışmamızda, IL7R geni promoter bölgesinde bulunan bazı polimorfizmlerin gen fonksiyonuna ve dolayısıyla immün yanıt üzerine olabilecek etkileri göz önüne alınarak MS ile ilişkileri araştırılmış, elde edilen anlamlı sonuçlar ile MS yatkınlığı oluşturabilecek bu bölgeler için tarama testleri geliştirilmesi ve MS başta olmak üzere otoimmün hastalıkların tedavisi için yeni ilaçlar üretilmesine öncülük etmesi hedeflenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul

Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Protokol no: 09.2015.148, Temmuz 2015) ve çalışmaya katılan tüm bireylerden aydınlatılmış onam alınmıştır (Ek 1).

3.2. Örneklem Seçimi

3.2.1. Hastalar

Çalışmaya daha önce herhangi bir nöroloji kliniğinden Mc Donald kriterlerine göre tanısı konmuş olup sonrasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran 364 MS hastasından ilgili çalışma için onam ve genetik analizler için bir adet EDTA'lı tüpe kanları alınmıştır. IL7R geni -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) promoter polimorfizmlerine bakılmıştır.

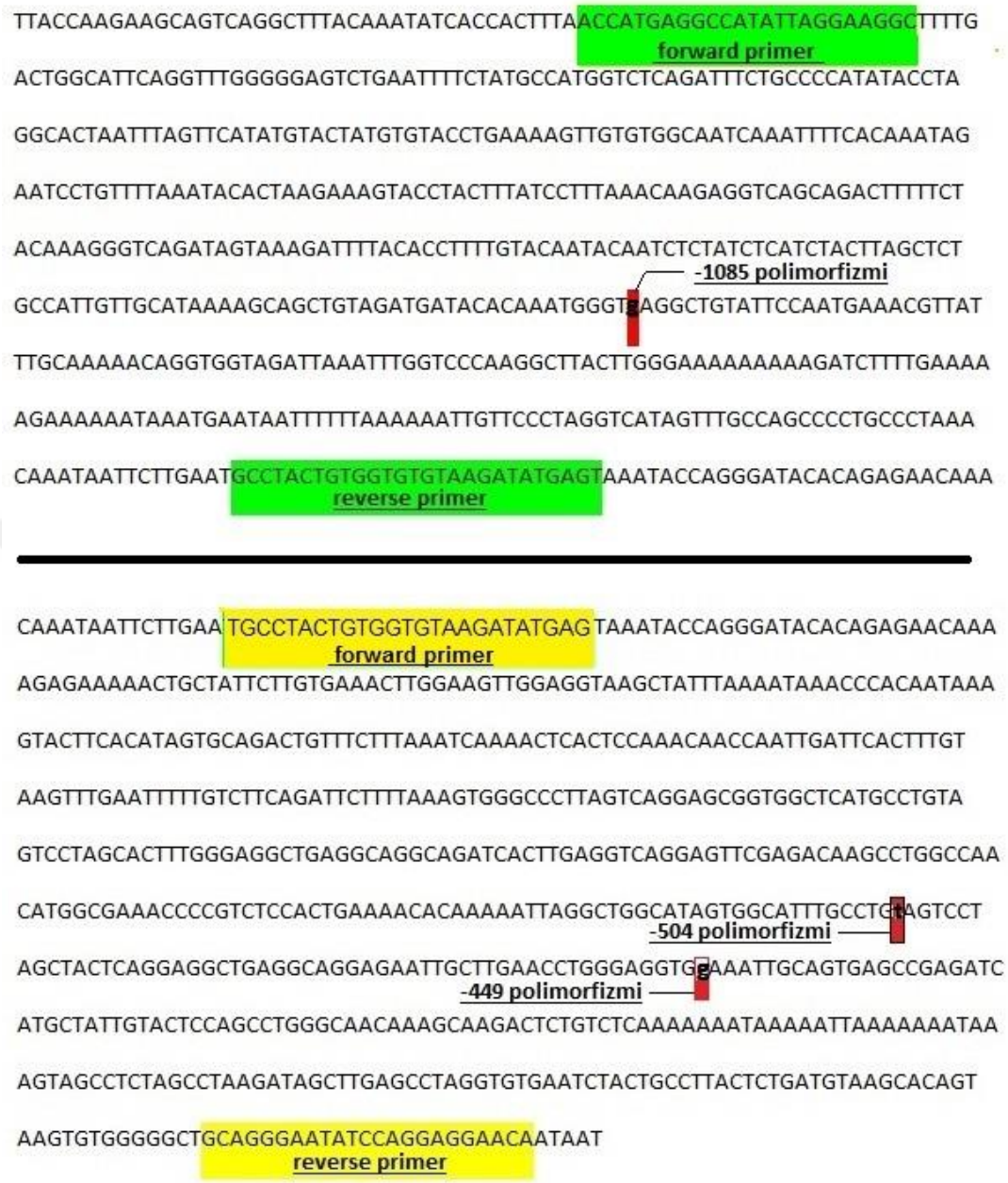
3.2.2. Kontrol grubu

191 sağlıklı bireyden onam alındıktan sonra bir adet EDTA'lı tüpe kanları alınmış ve çalışmaya dahil edilmişlerdir. IL7R geni -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) promoter polimorfizmlerine bakılmıştır.

3.3. IL7R Gen Polimorfizmini Belirlemekte Kullanılacak Moleküler Biyoloji Teknikleri

3.3.1. IL7R promoter polimorfizmlerinin bulunduğu bölge için primer dizaynı

IL7R geni pomoter bölgesindeki -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) için genomik DNA'ya karşılık gelen 5' ve 3' bölgesi için iki adet primer çifti tasarlanmıştır. -1085 (G/T) polimorfizmi için bir bölge ve -504 (T/C) ve -449 (A/G) polimorfizmleri birbirine çok yakın olduklarından her ikisi için ayrı tek bir bölge çoğaltılması planlanmıştır (Şekil 12).



Şekil 12. -1085, -504 ve -449 polimorfizmlerinin IL7R geni promoter bölgesi DNA dizisi üzerinde gösterilmesi.

Düzenlenen primerler ve bağlanma sıcaklıkları aşağıdaki gibidir:

- -1085 (G/T) polimorfizmi için düzenlenen primerler ile toplam 562 baz çifti (bç) uzunluğunda bir bölge amplifiye edilmiştir:

- Forward primer (24 baz): 5'- ACC ATG AGG CCA TAT TAG GAA GGC -3'
  Bağlanma sıcaklığı: 66.3 °C
- Reverse primer (27 baz): 5'- ACT CAT ATC TTA CAC ACC ACA GTA GGC -3'
  Bağlanma sıcaklığı: 65.5 °C

- -504 (T/C) ve -449 (A/G) polimorfizmleri için düzenlenen primerler ile toplam 650 bç uzunluğunda bir bölge amplifiye edilmiştir:
  - Forward primer (27 baz): 5'- TGC CTA CTG TGG TGT GTA AGA TAT GAG -3'
    Bağlanma sıcaklığı: 65.5 °C
  - Reverse primer (23 baz): 5'- TGT TCC TCC TGG ATA TTC CCT GC -3'
    Bağlanma sıcaklığı: 65.5 °C

3.3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Sağlıklı ve hasta bireylerden elde edilen DNA örnekleri üzerinde IL7R geni -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) promoter polimorfizmlerinde değişiklik gösterdiği bilinen bölgeler PCR yöntemiyle çoğaltılmıştır. PCR işleminde her iki DNA bölgesi ve her bir hasta için toplam 50 µl ürün elde edecek şekilde aşağıdaki malzemeler ile yeterli miktarda mix hazırlanıp PCR cihazına yerleştirilmiş ve aşağıda belirtilen PCR protokolünde 35 döngü olacak şekilde amplifiye edilmiştir. Her iki gen bölgesi de aynı protokol ile amplifiye edilmiştir.

PCR için gerekli malzemeler:

1. ddH2O → 27,7 µl
2. 10X Reaksiyon Tamponu → 5 µl
3. 10 pmol/ml primer çifti → 1,4x2 µl
4. 200 µM dNTP karışımı → 7,4 µl
5. 1.5 mM MgCl2 → 3 µl
6. 0.50 ünit Taq polimeraz enzimi → 0,1 µl
7. Template DNA → 4 µl

PCR döngüsü:

Predenatürasyon: 94 °C'de 3 dk	→ 1 kez	
Denatürasyon: 94 °C'de 30 sn	}	35 siklus
Bağlanma: 65 °C'de 30 sn	}	
Uzama: 72 °C'de 45 sn	}	
Son uzama: 72 °C'de 10 dk	→ 1 kez	

3.3.3. Agaroz jel elektroforezi

PCR ürünlerinin ayrılması ve büyüklüğünün tespit edilmesi için bu teknik kullanılmıştır. % 0.8'lik agaroz jel hazırlanarak agaroz jel kasetine döküldü ve daha sonra agaroz jel tankına 1X TAE Tamponu eklendi. Sisteme agaroz jel kaseti yerleştirildi. Hem PCR ürünleri hem de bilinen DNA (marker) agaroz jeldeki kuyucuklara kondu ve jel 100 Voltta 20 dk yürütüldü. Boyama için etidium bromide kullanıldı. Sonra jel görüntüleme sisteminde PCR ürünlerine bakıldı. Bu işlem ile hem PCR protokolümüzün çalıştığı ve DNA bölgesini çoğalttığı hem de çoğaltılan bölgenin doğru olup olmadığı gösterilmiştir.

3.3.4. Genotipleme

RFLP (restriction fragment length polymorhism) yöntemi kullanılarak PCR ile çoğaltılan bölgeler -1085 (G/T) ve -449 (G/A) polimorfizmleri için HphI restriksiyon enzimi ve -504 (T/C) polimorfizmi için PstI restriksiyon enzimi ile bir gece 37 °C'de kesimi yapılmıştır.

- PstI ile kesim yapmak için; 10 µl pcr ürünü, 3 µl 10x Tampon O ile 3 U enzim ve 30 µl'ye tamamlayacak kadar distile su eklenmiş ve 37 °C'de 1 gece inkübe edilmiştir.
- HphI ile kesim yapmak için; 10 µl pcr ürünü, 3 µl 10x Tampon B ile 3 U enzim ve 30 µl'ye tamamlayacak kadar distile su eklenmiş ve 37 °C'de 1 gece inkübe edilmiştir.

Sonrasında kesilen PCR ürünleri % 1.2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bant seviyelerini ayırt edebilmek için 100 bç'lik DNA marker kullanılmıştır. Jelde

yürüyen bantların uzunluklarına göre genotipleme yapılmıştır. Çoğaltılan bölgelerin her bir polimorfizm için kesim noktaları ve restriksiyon enzimleri ile kesimi yapıldığında oluşacak bantların boyutları şu şekildedir:

- **-504 (T/C) polimorfizmi PstI ile kesim işlemi;**
  - Normal genotip için:

    Kesim noktaları : 0 **630** 650

    Boyut : 630 20

    Fragmanlar boyutlarına göre ayrıldığında: 630ve 20 bç
  - Polimorfik genotip için:

    Kesim noktaları : 0 **399** **630** 650

    Boyut : 399 231 20

    Fragmanlar boyutlarına göre ayrıldığında: 399, 231 ve 20 bç

- **-449 (G/A) polimorfizmi HphI ile kesim işlemi;**
  - Normal genotip için:

    Kesim noktaları : Yok

    Boyut : 650
  - Polimorfik genotip için:

    Kesim noktaları : 0 **461** 650

    Boyut : 461 189

    Fragmanlar boyutlarına göre ayrıldığında: 461 ve 189 bç

- **-1085 (G/T) polimorfizmi HphI ile kesim işlemi;**
  - Normal genotip için:

    Kesim noktaları : 0 **363** 562

    Boyut : 363 199

    Fragmanlar boyutlarına göre ayrıldığında: 363 ve 199 bç
  - Polimorfik genotip için:

    Kesim noktaları : Yok

    Boyut : 562

3.3.5. İstatistik

IL7R geni -504 (T/C), -1085 (G/T) ve -449 (A/G) promoter polimorfizmleri genotip sıklıkları, allel frekansları hesaplanarak, MS hastalığı ile ilişkisi SPSS 17.0 programında istatiksel olarak analiz edildi. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Frekans, Oran, Ortalama, Ortanca, Minimum, Maksimum, Standard Sapma) yanısıra kategorik değişkenlerin gruplar arası ve hasta grubu içinde yapılan karşılaştırmalarında Pearson ki-kare, Fisher's Exact testi (hesaplama tablosunda birden fazla gözde veya gözlerin %20'sinden fazlasında beklenen değer beşten küçük değere sahip olduğu durumlarda) ve 2x2'den fazla gözlü tablolarda hesaplama yaparken Fisher-Freeman Halton Testi kullanılmıştır. Hastalık ve polimorfizmler arasındaki ilişki Odds Ratio ve %95 güven aralığı ile ifade edilmiştir. Çalışmada $p<0.05$ (2-yönlü) değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 364 hasta ve 191 sağlıklı birey katılmıştır. Katılan hastaların 249'u kadın, 113'ü erkek bireylerden oluşurken kayıt problemleri nedeni ile 2 hastanın cinsiyeti bilinmemektedir. Hastalığın cinsiyet ile ilişkisine bakıldığında kadın/erkek oranının 2,2 olduğu ve hastalığın kadınlarda yaklaşık iki kat daha sık olduğu görülmektedir.

Hastalığın başlama yaşına bakıldığında tüm hastalarda minimum yaş 10, maksimum yaş 57 ve ortalama yaş 28,99 (standard sapma: 7,818) olarak bulundu. Kadın ve erkek hastalar için ayrı ayrı değerlendirildiğinde; kadınlarda başlangıç yaşı minimum 10, maksimum 54 ve ortalama yaş 28,81 (standard sapma: 7,95, %95 güven aralığı: 27,80-29,82) iken erkeklerde başlangıç yaşı minimum 16, maksimum 57 ve ortalama 29,39 (standard sapma: 7,52, %95 güven aralığı: 27,97-30,81) olarak bulunmuştur.

Hastalığın başlangıç yaşına göre alt gruplara dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre hastaların %90,6'ı (319 hasta) erişkin başlangıçlı grupta, %8,5'i (30 hasta) erken başlangıçlı grupta ve %0,9'u (3 hasta) geç başlangıçlı grupta yer almaktadır. 12 hastanın başlangıç yaşı bilinmediğinden sınıflamaya dahil edilememiştir.

Tablo 2. Hasta sayı ve sıklıklarının başlangıç yaşına göre dağılımı.

Başlangıç yaşı	**Hasta sayısı**	**%**
EOMS (<19 yaş)	30	8,5
AOMS (19-50 yaş)	319	90,6
LOMS (>50 yaş)	3	0,9
Toplam	352	100,0

Hastaların klinik alt gruplara göre dağılımları Tablo 3'te özetlenmiştir. 10 hastanın klinik alt tipi klink takip yetersizliği, eksik tetkik, kayıt hatası vb. nedenlerden ötürü belirlenememiştir. Alt tipi bilinen 354 hastanın büyük kısmını oluşturan % 67,8'i RRMS hastası, % 31,4'ü ikinci sık görülen SPMS hastası, % 0,3'ü PPMS ve % 0,6'sı klinik bir alt gruptan daha çok MS'in başlangıç bulgusu

kabul edilen, izole optik sinir tutulumu ile seyreden nöromyelitis optika hastasıdır. Çalışamıza katılan hastalar arasında PRMS grubuna ait hasta hiç bulunmamaktadır.

Tablo 3. Hasta sayı ve sıklıklarının klinik alt gruplara göre dağılımı.

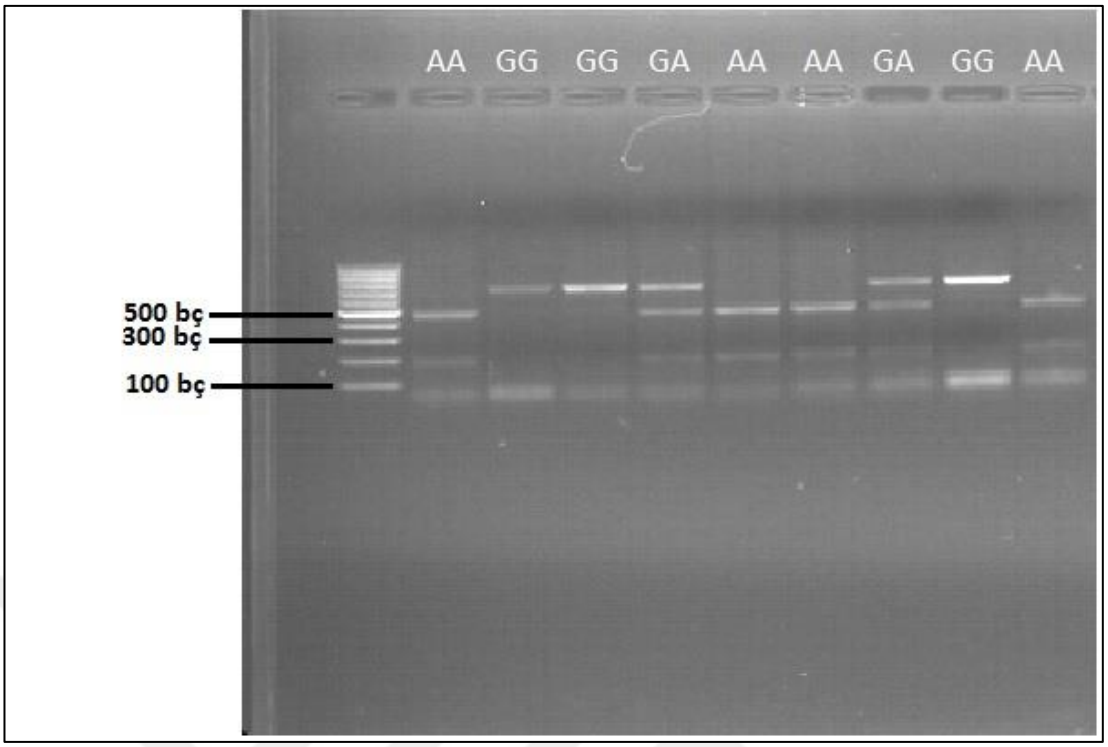
Klinik alt tipi	**Hasta sayısı**	**%**
SPMS	111	31,4
RRMS	240	67,8
PPMS	1	0,3
Nöromyelitis Optika	2	0,6
Toplam	354	100,0

Çalışmamıza katılan 364 hasta ve 191 sağlıklı olmak üzere 555 bireyin -449, -504 ve -1085 polimorfizmleri açısından genotiplemeleri ve her bir polimorfizm için ayrı ayrı allel frekansları hesaplanmış ve hastalık ilişkileri araştırılmıştır.

4.1. -449 (G/A) polimorfizmi

4.1.1. Genotip dağılımları

-449 (G/A) polimorfizmi için hastalarda GG homozigot normal genotipi %18,1, GA heterozigot genotipi %44,8 ve AA homozigot polimorfik genotipi %37,1 oranında bulunmaktadır. Kontrol grubunda ise GG homozigot normal genotipi %15,7, GA heterozigot genotipi %53,9 ve AA homozigot polimorfik genotipi %30,4 oranında bulunmaktadır. -449 polimorfizmi genotipleri (Şekil 13) ile MS arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,120) (Tablo 4).



Şekil 13. -449 polimorfizmi genotiplemesi.

Tablo 4. -449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık arasındaki ilişki**.**

		-449 GENOTİP			
		GG	**GA**	**AA**	**Toplam**
Kontrol	**Sayı**	30	103	58	191
	%	15,7	53,9	30,4	100
Hasta	**Sayı**	66	163	135	364
	%	18,1	44,8	37,1	100
Toplam		96	266	193	555
p değeri		p=0,12 (Pearson Ki-Kare testi)			

-449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ile MS subgrupları arasındaki ilişki (Tablo 5) incelendiğinde SPMS grubunda bulunan hastalarda GG homozigot normal genotipi %16,2, GA heterozigot genotipi %45 ve AA homozigot polimorfik genotipi

%38,7 oranında saptanmıştır. RRMS grubunda bulunan hastalarda GG homozigot normal genotipi %19,6, GA heterozigot genotipi %45 ve AA homozigot polimorfik genotipi %35,4 oranında saptanmıştır. PPMS grubunda bulunan hastalarda ise GG homozigot normal genotipi ile AA homozigot polimorfik genotipi hiç saptanmamışken GA heterozigot genotipi %100 oranında saptanmıştır. Ancak PPMS grubunda sadece bir hasta olduğundan istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. Ek olarak nöromyelitis optika olan hastalarda GG homozigot normal genotipi hiç saptanmamışken AA homozigot polimorfik genotipi ile GA heterozigot genotipinin her ikisi de %50 oranında saptanmıştır. Ancak nöromyelitis optika grubunda sadece iki hasta olduğundan istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. MS subgrupları ile -449 polimorfizmi genotip dağılımları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,947).

Tablo 5. -449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ve MS subgrupları arasındaki ilişki.

		-449 GENOTİP			
		GG	**GA**	**AA**	**Toplam**
SPMS	**Sayı**	18	50	43	111
	%	16,2	45	38,7	100
RRMS	**Sayı**	47	108	85	240
	%	19,6	45	35,4	100
PPMS	**Sayı**	0	1	0	1
	%	0	100	0	100
Nöromyelitis Optika	**Sayı**	0	1	1	2
	%	0	50	50	100
Toplam		65	160	129	354
p değeri*		p=0,947 * Fisher-Freeman Halton testi			

-449 (G/A) polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki araştırılmıştır (Tablo 6). EOMS hastalarının GG homozigot normal genotipi

%13,3, GA heterozigot genotipi %23,3 ve AA homozigot polimorfik genotipi %63,3 oranında saptanmıştır. AOMS hastalarının GG homozigot normal genotipi %18,5, GA heterozigot genotipi %47,6 ve AA homozigot polimorfik genotipi %33,9 oranında saptanmıştır. LOMS hastalarının ise GG homozigot normal genotipi %66,7 ve GA heterozigot genotipi %33,3 oranında bulunmuşken AA homozigot polimorfik genotipi bu grupta hiç saptanmamıştır. Ancak LOMS grubunda bulunan hasta sayısı toplam 3 olduğundan istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. AOMS grubunda GA heterozigot genotipi oranı diğer genotiplere göre artmıştır. EOMS grubunda ise AA homozigot genotipi oranı diğer genotiplere göre belirgin şekilde artmış olarak bulunmuştur. -449 (G/A) polimorfizmi ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.002, OR=4.021, %95 GA=1.642-9.845). Buna göre AA genotipinin EOMS'e ve GA genotipinin AOMS'e yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir.

Tablo 6. -449 (G/A) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.

		-449 GENOTİP			
		GG	GA	AA	Toplam
EOMS	Sayı	4	7	19	30
	%	13,3	23,3	63,3	100
AOMS	Sayı	59	152	108	319
	%	18,5	47,6	33,9	100
LOMS	Sayı	2	0	1	3
	%	66,7	0	33,3	100
Toplam		65	159	128	352
p değeri*		**p=0.002** OR=4.021, %95 GA=1.642-9.845 * Fisher-Freeman Halton testi			

4.1.2. Allel frekansları

-449 (G/A) polimorfizmi için hastalarda 295 G alleli ve 433 A alleli varken, kontrollerde 163 G alleli ve 219 A alleli vardır. G alleli ve A alleli frekansları ile MS

arasında alamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,490). Hasta ve kontrol gruplarında normal A alleli sıklığı benzer şekilde daha fazla ve polimorfik G allelinin yaklaşık 1,5 katı kadardır (Tablo 7).

Tablo 7. -449 (G/A) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık arasındaki ilişki.

		-449 ALLEL		
		G	**A**	**Toplam**
Kontrol	**Allel sayısı**	163	219	382
	%	42,7	57,3	100
Hasta	**Allel sayısı**	295	433	728
	%	40,5	59,5	100
Toplam		458	652	1110
p değeri*		p=0,490 * Pearson Ki-Kare testi		

-449 (G/A) polimorfizmi allel sıklıkları ile MS subgrupları arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 8) SPMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %38,7 iken polimorfik A alleli sıklığı %61,3 olarak bulunmuştur. RRMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %42,1 iken polimorfik A alleli sıklığı %57,9 olarak bulunmuştur. PPMS grubunda bulunan hastalarda ise normal G alleli sıklığı %50 ve polimorfik A alleli sıklığı %50 olarak bulunmuştur. Ek olarak nöromyelitis optika olan hastalarda normal G alleli sıklığı %25 ve polimorfik A alleli sıklığı %75 olarak bulunmuştur. MS subgrupları ile -449 polimorfizmi allel sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,741).

Tablo 8. -449 (G/A) polimorfizmi allel frekansları ve MS subgrupları arasındaki ilişki.

		-449 ALLEL		
		G	A	Toplam
SPMS	Allel sayısı	86	136	222
	%	38,7	61,3	100
RRMS	Allel sayısı	202	278	480
	%	42,1	57,9	100
PPMS	Allel sayısı	1	1	2
	%	50	50	100
Nöromyelitis optika	Allel sayısı	1	3	4
	%	25	75	100
Toplam		290	418	708
%		41	59	100
p değeri*		P=0,741 * Fisher-Freeman Halton testi		

-449 (G/A) polimorfizmi allel sıklıkları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 9) AOMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %42,3 iken polimorfik A alleli sıklığı %57,7 olarak bulunmuştur. LOMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %66,7 iken polimorfik A alleli sıklığı %33,3 olarak bulunmuştur. Ancak LOMS grubunda bulunan hasta sayısı toplam 3 olduğundan istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. EOMS grubunda bulunan hastalarda ise normal G alleli sıklığı %25 iken polimorfik A alleli sıklığı %75 olarak bulunmuştur. EOMS hastalarında diğer gruplardakine göre polimorfik A alleli sıklığı belirgin olarak artmış ve A alleli ile EOMS ilişkili bulunmuştur (p=0.011, OR=1.3, %95 GA=1.107-1.527). Buna göre A allelinin EOMS'e yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir.

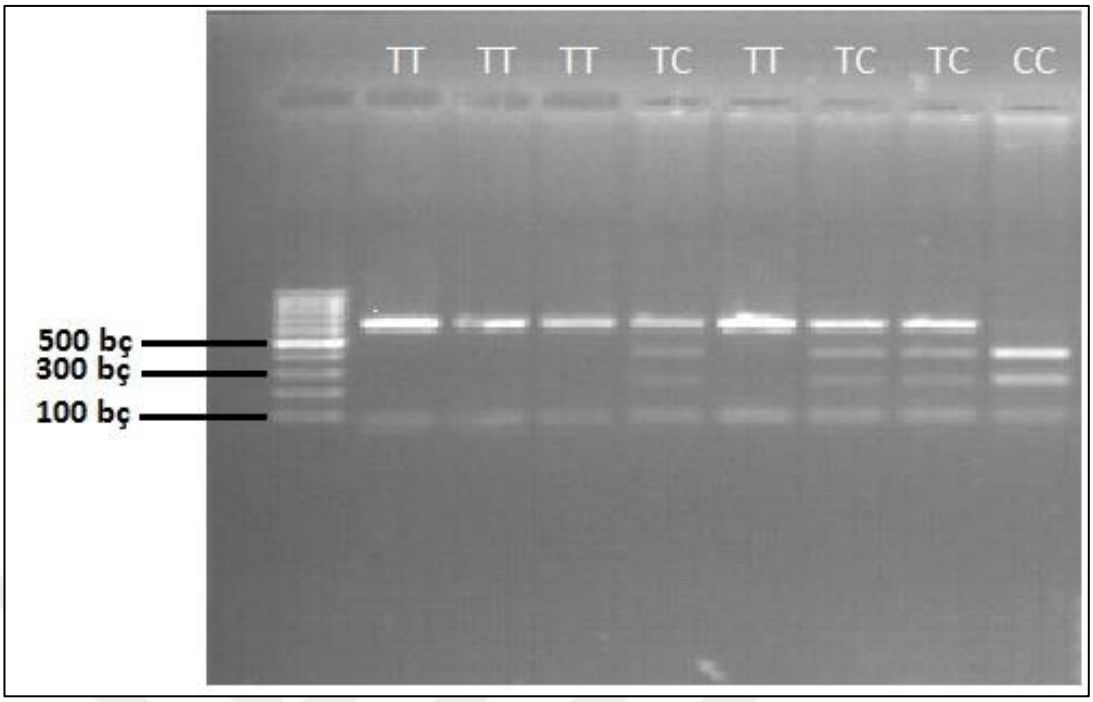
Tablo 9. -449 (G/A) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.

		-449 ALLEL		
		G	A	Toplam
EOMS	Allel sayısı	15	45	60
	%	25	75	100
AOMS	Allel sayısı	270	368	638
	%	42,3	57,7	100
LOMS	Allel sayısı	4	2	6
	%	66,7	33,3	100
Toplam		289	415	704
%		41,1	58,9	100
p değeri*		**p=0.011** OR=1.3, %95 GA=1.107-1.527 * Fisher-Freeman Halton testi		

4.2. -504 (T/C) Polimorfizmi

4.2.1. Genotip dağılımları

-504 (T/C) polimorfizmi için hastalarda TT homozigot normal genotipi %45,1, TC heterozigot genotipi %46,2 ve CC homozigot polimorfik genotipi %8,8 oranında bulunmaktadır. Kontrol grubunda ise TT homozigot normal genotipi %56,5, TC heterozigot genotipi %34 ve CC homozigot polimorfik genotipi %9,4 oranında bulunmaktadır. -504 polimorfizmi genotipleri (Şekil 14) ile MS arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.02, OR=1.702, %95 GA=1.169-2.478) (Tablo 10). Bu bulgular ışığında kontrol vs. hasta karşılaştırılması yapıldığında TC heterozigot genotipinin kontrollerde azalmış ve hastalarda artmış bulunduğu saptanmış ve bu nedenle MS hastalığına yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir.



Şekil 14. -504 polimmorfizmi genotiplemesi.

Tablo 10. -504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık arasındaki ilişki**.**

		-504 GENOTİP			
		TT	TC	CC	Toplam
Kontrol	Sayı	108	65	18	191
	%	56,5	34,0	9,4	100
Hasta	Sayı	164	168	32	364
	%	45,1	46,2	8,8	100
Toplam		272	233	50	555
p değeri		**p=0.02** OR=1.702, %95 GA=1.169-2.478 (Pearson Ki-Kare testi)			

-504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ile MS subgrupları arasındaki ilişki (Tablo 11) incelendiğinde SPMS grubunda bulunan hastalarda TT homozigot normal genotipi %43,2, TC heterozigot genotipi %47,7 ve CC homozigot polimorfik genotipi %9 oranında saptanmıştır. RRMS grubunda bulunan hastalarda TT homozigot normal genotipi %45,4, TC heterozigot genotipi %45,4 ve CC homozigot

polimorfik genotipi %9,2 oranında saptanmıştır. PPMS grubunda bulunan hastalarda ise sadece TT homozigot normal genotipi saptanmıştır. Ancak PPMS grubunda sadece bir hasta olduğundan istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. Ek olarak nöromyelitis optika olan hastalarda sadece TT homozigot normal genotipi saptanmıştır. Ancak nöromyelitis optika grubunda sadece iki hasta olduğundan istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. MS subgrupları ile -504 polimorfizmi genotip dağılımları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,779).

Tablo 11. -504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ve MS subgrupları arasındaki ilişki.

		-504 GENOTİP			
		TT	TC	CC	Toplam
SPMS	Sayı	48	53	10	111
	%	43,2	47,7	9	100
RRMS	Sayı	109	109	22	240
	%	45,4	45,4	9,2	100
PPMS	Sayı	1	0	0	1
	%	100	0	0	100
Nöromyelitis Optika	Sayı	0	2	0	2
	%	0	100	0	100
Toplam		158	164	32	354
p değeri*		P=0,779 * Fisher-Freeman Halton testi			

-504 (T/C) polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki araştırılmıştır (Tablo 12). EOMS hastalarının TT homozigot normal genotipi %33,3, TC heterozigot genotipi %50 ve CC homozigot polimorfik genotipi %16,7 oranında saptanmıştır. AOMS hastalarının TT homozigot normal genotipi %45,8, TC heterozigot genotipi %45,8 ve CC homozigot polimorfik genotipi %8,4 oranında saptanmıştır. LOMS hastalarının ise TT homozigot normal genotipi %66,7, TC heterozigot genotipi %33,3 oranında bulunmuşken CC homozigot polimorfik

genotipi bu grupta hiç saptanmamıştır. Ancak LOMS grubunda bulunan hasta sayısı toplam 3 olduğundan istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. -504 polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,431).

Tablo 12. -504 (T/C) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.

		-504 GENOTİP			
		TT	TC	CC	Toplam
EOMS	Sayı	10	15	5	30
	%	33,3	50	16,7	100
AOMS	Sayı	146	146	27	319
	%	45,8	45,8	8,5	100
LOMS	Sayı	2	1	0	3
	%	66,7	33,3	0	100
Toplam		158	162	32	352
p değeri*		P=0,431 * Fisher-Freeman Halton testi			

4.2.2. Allel frekansları

-504 (T/C) polimorfizmi için hastalarda 496 T alleli ve 232 C alleli varken, kontrollerde 281 T alleli ve 101 C alleli vardır. T alleli ve C alleli frekansları ile MS arasında alamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,061). Hasta ve kontrol gruplarında normal T alleli sıklığı benzer şekilde daha fazla ve polimorfik C allelinin yaklaşık 3 katı kadardır (Tablo 13).

Tablo 13. -504 (T/C) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık arasındaki ilişki.

		-504 ALLEL		
		T	C	Toplam
Kontrol	Allel sayısı	281	101	382
	%	73,6	26,4	100
Hasta	Allel sayısı	496	232	728
	%	68,1	31,9	100
Toplam		777	333	1110
p değeri*		p=0,061 * Pearson Ki-Kare testi		

-504 (T/C) polimorfizmi allel sıklıkları ile MS subgrupları arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 14) SPMS grubunda bulunan hastalarda normal T alleli sıklığı %67,1 iken polimorfik C alleli sıklığı %32,9 olarak bulunmuştur. RRMS grubunda bulunan hastalarda normal T alleli sıklığı %68,1 iken polimorfik C alleli sıklığı %31,9 olarak bulunmuştur. PPMS grubunda bulunan hastalarda ise normal T alleli sıklığı %100 iken polimorfik C alleline hiç rastlanmamıştır. Ek olarak nöromyelitis optika olan hastalarda normal T alleli ve polimorfik C alleli sıklıkları %50 bulunmuştur. MS subgrupları ile -504 polimorfizmi allel sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,751).

Tablo 14. -504 (T/C) polimorfizmi allel frekansları ve MS subgrupları arasındaki ilişki.

		-504 ALLEL		
		T	C	Toplam
SPMS	Allel sayısı	149	73	222
	%	67,1	32,9	100
RRMS	Allel sayısı	327	153	480
	%	68,1	31,9	100
PPMS	Allel sayısı	2	0	2
	%	100	0	100
Nöromyelitis optika	Allel sayısı	2	2	4
	%	50	50	100
Toplam		480	228	708
%		67,8	32,2	100
p değeri*		P=0,751 * Fisher-Freeman Halton testi		

-504 (T/C) polimorfizmi allel sıklıkları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 15) AOMS grubunda bulunan hastalarda normal T alleli sıklığı %68,7 iken polimorfik C alleli sıklığı %31,3 olarak bulunmuştur. LOMS grubunda bulunan hastalarda normal T alleli sıklığı %83,3 iken polimorfik C alleli sıklığı %16,7 olarak bulunmuştur. Ancak LOMS grubunda bulunan hasta sayısı toplam 3 olduğundan istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. EOMS grubunda bulunan hastalarda ise normal T alleli sıklığı %58,3 iken polimorfik C alleli sıklığı %41,7 olarak bulunmuştur. Hastalık başlangıç yaşları ile -504 polimorfizmi allel sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,223).

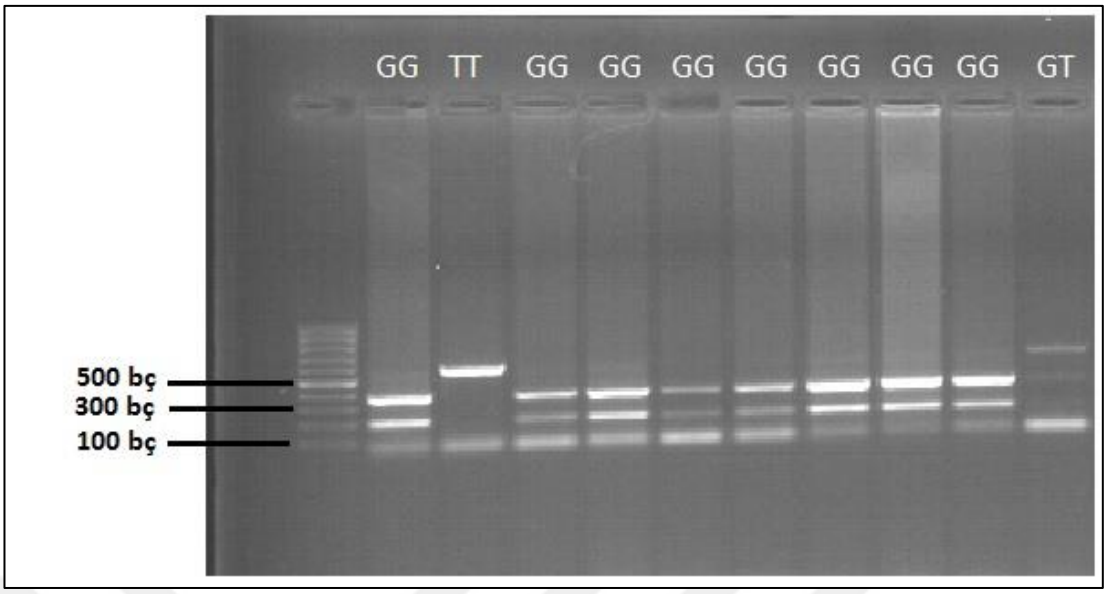
Tablo 15. -504 (T/C) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.

		-504 ALLEL		
		T	C	Toplam
EOMS	Allel sayısı	35	25	60
	%	58,3	41,7	100
AOMS	Allel sayısı	438	200	638
	%	68,7	31,3	100
LOMS	Allel sayısı	5	1	6
	%	83,3	16,7	100
Toplam		478	226	704
%		67,9	32,1	100
p değeri*		P=0,223 * Fisher-Freeman Halton testi		

4.3. -1085 (G/T) Polimorfizmi

4.3.1. Genotip dağılımları

-1085 (G/T) polimorfizmi için hastalarda GG homozigot normal genotipi %82,7, GT heterozigot genotipi %15,9 ve TT homozigot polimorfik genotipi %1,4 oranında bulunmaktadır. Kontrol grubunda ise GG homozigot normal genotipi %81,7, GT heterozigot genotipi %17,8 ve TT homozigot polimorfik genotipi %0,5 oranında bulunmaktadır. -1085 polimorfizmi genotipleri (Şekil 15) ile MS arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,624) (Tablo 16).



Şekil 85. -1085 polimorfizmi genotiplemesi.

Tablo 16. -1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık arasındaki ilişki**.**

		-1085 GENOTİP			
		GG	GT	TT	Toplam
Kontrol	Sayı	156	34	1	191
	%	81,7	17,8	0,5	100
Hasta	Sayı	301	58	5	364
	%	82,7	15,9	1,4	100
Toplam		457	92	6	555
p değeri		P=0,624 (Fisher-Freeman Halton testi)			

-1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ile MS subgrupları arasındaki ilişki (Tablo 17) incelendiğinde SPMS grubunda bulunan hastalarda GG homozigot normal genotipi %81,1, GT heterozigot genotipi %17,1 ve TT homozigot polimorfik genotipi %1,8 oranında saptanmıştır. RRMS grubunda bulunan hastalarda GG homozigot normal genotipi %83,3, GT heterozigot genotipi %15,4 ve TT homozigot polimorfik genotipi %1,3 oranında saptanmıştır. PPMS grubunda bulunan hastalarda ise sadece GG homozigot normal genotipi saptanmıştır. Ancak PPMS grubunda

sadece bir hasta olduğundan istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. Ek olarak nöromyelitis optika olan hastalarda da sadece GG homozigot normal genotipi saptanmış ancak bu grupta sadece iki hasta olduğundan istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. Görüldüğü üzere gruplar arasında genotip dağılımları benzer orandadır. MS subgrupları ile -1085 polimorfizmi genotip dağılımları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,863).

Tablo 17. -1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ve MS subgrupları arasındaki ilişki.

		-1085 GENOTİP			
		GG	GT	TT	Toplam
SPMS	Sayı	90	19	2	111
	%	81,1	17,1	1,8	100
RRMS	Sayı	200	37	3	240
	%	83,3	15,4	1,3	100
PPMS	Sayı	1	0	0	1
	%	100	0	0	100
Nöromyelitis Optika	Sayı	2	0	0	2
	%	100	0	0	100
Toplam		293	56	5	354
p değeri*		P=0,863 * Fisher-Freeman Halton testi			

-1085 (G/T) polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki araştırılmıştır (Tablo 18). EOMS hastalarının GG homozigot normal genotipi %86,7 ve GT heterozigot genotipi %13,3 iken TT homozigot polimorfik genotipi hiç saptanmamıştır. AOMS hastalarının GG homozigot normal genotipi %82,4, GT heterozigot genotipi %16 ve TT homozigot polimorfik genotipi %1,6 oranında saptanmıştır. LOMS hastalarının ise GG homozigot normal genotipi %66,7, GT heterozigot genotipi %33,3 oranında bulunmuşken TT homozigot polimorfik genotipi bu grupta hiç saptanmamıştır. Ancak LOMS grubunda bulunan hasta sayısı toplam 3 olduğundan istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. -1085

polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,707).

Tablo 18. -1085 (G/T) polimorfizmi genotip dağılımları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.

		-1085 GENOTİP			
		GG	GT	TT	Toplam
EOMS	Sayı	26	4	0	30
	%	86,7	13,3	0	100
AOMS	Sayı	263	51	5	319
	%	82,4	16	1,6	100
LOMS	Sayı	2	1	0	3
	%	66,7	33,3	0	100
Toplam		291	56	5	352
p değeri*		P=0,707 * Fisher-Freeman Halton testi			

4.3.2. Allel frekansları

-1085 (G/T) polimorfizmi için hastalarda 660 G alleli ve 68 T alleli varken, kontrollerde 346 T alleli ve 36 T alleli vardır. G alleli ve T alleli frekansları ile MS arasında alamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,964). Hasta ve kontrol gruplarında normal G alleli sıklığı benzer şekilde daha fazla ve polimorfik T allelinin yaklaşık 10 katı kadardır. Polimorfik T alleli oldukça az görülmektedir (Tablo 19).

Tablo 19. -1085 (G/T) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık arasındaki ilişki.

		-1085 ALLEL		
		G	T	Toplam
Kontrol	Allel sayısı	346	36	382
	%	90,6	9,4	100
Hasta	Allel sayısı	660	68	728
	%	90,7	9,3	100
Toplam		1006	104	1110
p değeri*		p=0,964 * Pearson Ki-Kare testi		

-1085 (G/T) polimorfizmi allel sıklıkları ile MS subgrupları arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 20) SPMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %89,6 iken polimorfik T alleli sıklığı %10,4 olarak bulunmuştur. RRMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %91 iken polimorfik T alleli sıklığı %9 olarak bulunmuştur. PPMS grubunda bulunan hastalarda ise normal T alleli sıklığı %100 iken polimorfik C alleline hiç rastlanmamıştır. Ek olarak nöromyelitis optika olan hastalarda normal T alleli sıklığı %100 iken polimorfik C alleline hiç rastlanmamıştır. MS subgrupları ile -1085 polimorfizmi allel sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,766).

Tablo 20. -1085 (G/T) polimorfizmi allel frekansları ve MS subgrupları arasındaki ilişki.

		-1085 ALLEL		
		G	T	Toplam
SPMS	Allel sayısı	199	23	222
	%	89,6	10,4	100
RRMS	Allel sayısı	437	43	480
	%	91	9	100
PPMS	Allel sayısı	2	0	2
	%	100	0	100
Nöromyelitis optika	Allel sayısı	4	0	4
	%	100	0	100
Toplam		642	66	708
%		90,7	9,3	100
p değeri*		P=0,766 * Fisher-Freeman Halton testi		

-1085 (G/T) polimorfizmi allel sıklıkları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 21) AOMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %90,4 iken polimorfik T alleli sıklığı %9,6 olarak bulunmuştur. LOMS grubunda bulunan hastalarda normal G alleli sıklığı %83,3 iken polimorfik T alleli sıklığı %16,7 olarak bulunmuştur. Ancak LOMS grubunda bulunan hasta sayısı toplam 3 olduğundan istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. EOMS grubunda bulunan hastalarda ise normal G alleli sıklığı %93,3 iken polimorfik A alleli sıklığı %6,7 olarak bulunmuştur. Hastalık başlangıç yaşları ile -1085 polimorfizmi allel sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,518).

Tablo 21. -1085 (G/T) polimorfizmi allel frekansları ve hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.

		-1085 ALLEL		
		G	T	Toplam
EOMS	Allel sayısı	56	4	60
	%	93,3	6,7	100
AOMS	Allel sayısı	577	61	638
	%	90,4	9,6	100
LOMS	Allel sayısı	5	1	6
	%	83,3	16,7	100
Toplam		638	66	704
%		90,6	9,4	100
p değeri*		P=0,518 * Fisher-Freeman Halton testi		

4.4. Diğer Bulgular

MS subgrupları ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=994). Tablo 22'de tüm hücreler ve içerdikleri sayılar belirtilmiştir. Ayrıca 12 hastanın başlangıç yaşı bilinmediğinden analize dahil edilmemiştir.

Tablo 22. MS subgrupları ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki.

MS Subgrupları		**Başlangıç yaşı**			Toplam
		EOMS	AOMS	LOMS	
SPMS	Hasta sayısı	5	105	1	111
	%	4,5	94,6	0,9	100
RRMS	Hasta sayısı	25	213	2	240
	%	10,4	88,8	0,8	100
PPMS	Hasta sayısı	0	1	0	1
	%	0	100	0	100
Toplam sayı		30	319	3	352
p değeri*		p= 0,994 * Fisher-Freeman Halton testi			

Cinsiyet ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir ilişki saptanmadı (p= 0,938). Tablo 23'te tüm hücreler ve içerdikleri sayılar belirtilmiştir. Ayrıca 12 hastanın başlangıç yaşı ve bunların ikisinin cinsiyeti de bilinmediğinden analize dahil edilmemiştir.

Tablo 23. Cinsiyet ile hastalık başlangıç yaşları arasındaki ilişki.

Cinsiyet		**Başlangıç yaşı**			Toplam
		EOMS	AOMS	LOMS	
Erkek	Hasta sayısı	8	101	1	110
	%	7,3	91,8	0,9	100
Kadın	Hasta sayısı	22	218	2	242
	%	9,1	90,1	0,8	100
Toplam		30	319	3	352
p değeri*		p= 0,938 * Fisher-Freeman Halton testi			

Cinsiyet ile MS alt tipleri arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (p=0.033, OR=1.667, %95 GA=1.036-2.682) (Tablo 24). Erkek hastaların

%38,7'si SPMS ve %59,5'i RRMS iken kadın hastaların %28'i SPMS ve %71,6'sı RRMS grubunda bulunmaktadır. Buna göre erkeklerde SPMS'e yatkınlık kadınlara göre daha belirgin ve RRMS'e yatkınlık kadınlara göre daha az olduğu düşünülmektedir.

Tablo 24. Cinsiyet ile MS alt tipleri arasındaki ilişki.

Cinsiyet		**Başlangıç yaşı**				Toplam
		SPMS	RRMS	PPMS	Nöromyelitis optika	
Erkek	Hasta sayısı	43	66	1	1	111
	%	38,7	59,5	0,9	0,9	100
Kadın	Hasta sayısı	68	174	0	1	243
	%	28	71,6	0	0,4	100
Toplam		111	240	1	2	354
p değeri*		**p=0.033** OR=1.667, %95 GA=1.036-2.682 ***** Fisher-Freeman Halton testi				

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda daha önce GWAS araştırmalarında tespit edilmiş ancak biri dışında (-504 polimorfizmi) hakkında yeterli araştırma yapılmamış IL7R geni promoter bölgesinde bulunan ve MS ile ilişkili olabileceği düşünülen üç polimorfizmin, sırasıyla -449 (G/A) (rs11567686), -504 (T/C) (rs11567685) ve -1085 (G/T) (rs7718919) polimorfizmleri, hasta ve sağlıklı bireyleri karşılaştırarak Türk popülasyonunda MS ile ilişkisini araştırdık. Ayrıca bu çalışma sırasında hastalık alt tipleri sıklıkları ve oranları, başlangıç yaşları, cinsiyet ile ilişkisi gibi konular hakkında da veriler elde ettik.

MS kronik, otoimmün, nörodejeneratif bir MSS hastalığıdır (130). Kadınlar erkeklere oranla yaklaşık iki kat daha fazla etkilenmektedir (1). Bizim çalışmamızda da kadın/erkek oranı 2,2 saptanmış ve bu bilgiyi desteklemektedir. MS tipik olarak 20-45 yaş arası yetişkinlerde görülmekle birlikte çocukluk çağında veya daha ileri yaşlarda ortaya çıkabilmektedir (143). Bizim çalışmamızda da minimum yaş 10, maksimum yaş 57 ve ortalama yaş 28,99 olarak saptanmış ve hastaların %90,6'sı erişkin başlangıçlı grupta, %8,5'i erken başlangıçlı grupta ve %0,9'u geç başlangıçlı grupta yer almıştır. Bulgular literatür ile uyumludur. Ayrıca cinsiyet ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki araştırılmış, ancak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p= 0,938). Literatürde de bunu destekleyen veriler olsa da bazı çalışmalarda çocuklarda ve genç erişkinlerde kadın/erkek oranı yaklaşık 2 iken 50 yaş sonrası ortaya çıkan MS hastalığının kadın ve erkekleri aynı oranda etkilediği yönünde bilgiler de mevcuttur (144).

MS klinik olarak 4 alt tipe ayrılmıştır (130). En sık görülen tip RRMS tipidir ve hastaların %80'ini oluşturur. Ikinci sırada %10-20 sıklıkla PPMS grubu gelmektedir. PRMS ve SPMS grupları çok daha nadiren bulunmaktadır (71, 72). Bizim çalışmamızda ise hastaların %67,8'i RRMS hastası, %31,4'ü SPMS hastası, %0,3'ü PPMS ve %0,6'sı klinik bir alt gruptan daha çok MS'in başlangıç bulgusu kabul edilen, izole optik sinir tutulumu ile seyreden nöromyelitis optika hastasıdır. Çalışamıza katılan hastalar arasında PRMS grubuna ait hasta hiç bulunmamaktadır. Bu bilgiler göstermektedir ki çalışmamıza katılan hastalarda RRMS ve PPMS sıklığı azalmışken dünyada daha nadiren görülen (71) SPMS tipinin oranı belirgin olarak

artmıştır. Buna göre Türk popülasyonunda en sık RRMS ve ikinci sıklıkta SPMS görülmektedir. Türk popülasyonunda SPMS sıklığının gerçekten artıp artmadığı konusunda emin olmak için hasta sayısını daha da artırarak ve daha kesin klinik tanı yöntemleri kullanarak bakmak gerekmektedir.

IL7R timusta T hücre gelişmesinde ve periferde naif ve hafıza T hücrelerinin survisinde temel bir rol oynamaktadır. Bu reseptörün B hücre proliferasyon kaskadında da önemli bir rolü bulunmaktadır (145). Hem IL7 hem de reseptörünün MS patogenezi ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda bulunmuştu. IL7R'nün immün sistem üzerinde T ve B hücrelerinin diferansiasyon ve devamını uyaran bir peliotropik hematopoetik büyüme faktörü olarak multipl etki gösterdiği saptanmıştır (146). Çeşitli çalışma grupları tarafından IL7R polimorfizmleri ile MS arasındaki ilişki araştırılmış, bazı anlamlı veriler elde edilmiş ancak yeterli çalışma ve fonksiyonel analizleri yapılmamıştır (147). Daha önce yapılan çalışmalar özellikle iki SNP (bir kodlayan ve bir tane de promoter bölge polimorfizmi) ile MS arasında fonksiyonel olarak da gösterilen anlamlı bir ilişki ortaya koymuştur. Bunlar sırası ile 6. ekzonda bulunan T244I polimorfizmi (rs6897932) ve promoter bölgede bulunan -504 T/C polimorfizmi (rs11567685) olarak raporlanmıştır (124). SNP rs6897932, IL7R geni ekzon 6'da bulunmaktadır ve reseptörün integral membran domainini kodlamaktadır. Bu SNP, *IL7RA* içinde alternatif splicing yoluyla reseptörün solubl formunun üretimine neden olmaktadır (4, 125, 126). Yine başka çalışmalarda gösterildiği üzere IL7Rα solubl formu, IL7'nin biyolojik aktivitesini potansiyelize etmekte ve otoimmün yatkınlığa neden olmaktadır (105). Daha sonraki verilerde de CD8 efektör hafıza T hücrelerinde IL7 sinyalizasyonunun MS hastalarında kontrollere göre daha kuvvetli olduğu saptanmıştır (126). Sitokin ve diğer immünolojik genlerde tanımlanmış bazı noncoding SNP'ler, promoter ve intronik SNP'ler, hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (148). Bilinmektedir ki özellikle kodlamayan bölgelerdeki promoter/upstream, downstream ve intron bölgelerindeki polimorfizmler transkripsiyonu etkileyebileceği gibi, intronik bölgelerde olanlar splicing, stabilite ve transkripsiyonu da değiştirebilir (21). Özellikle promoter bölgede bulunanlar genelde potansiyel birer regulatuvar etkiye sahiptir (21-24). Örneğin MHC class II, IL1, IL4, IL10 ve TNFα genleri promoter polimorfizmlerinin immün fonksiyonu değiştirdiği ve hastalık yatkınlığı oluşturduğu gösterilmiştir. Bu

polimorfizmler etkilerini transkripsiyon ve/veya translasyon üzerinde regulatuar olarak göstermektedirler. Regulatuar varyasyonlar cis-regulatuar veya trans-regulatuar olabilmektedir (148). Gittikçe artan kanıtlar göstermektedir ki cis-regulatuar varyasyonlar vücut şekillenmesinde predominant etki göstermektedir (149). Heinz ve arkadaşlarının 2010 yılında makrofaj ve B hücreleri için gerekli cis-regulatuar elementleri araştırdıkları çalışmalarında cis-regulatuar etkili yaygın bir transkripsiyon faktörü olan PU.1 için IL7R geni promoterinde bir bağlanma bölgesi tanımlamışlardır (150). Bir başka çalışmada ise doku spesifik gen regülasyonu araştırılmış, CD4 T lenfositlerde transkripsiyon başlama bölgelerinde bulunan genomic alanlarda histone H3 lysine 4 dimethylation (H3K4me2)'dan zengin yerlerin analizi yapılmış ve H3K4me2 seviyelerinin vücutta intragenik cis-regulatuar elementlerin varlığını ve aktivitesini gösterdiğini bulmuşlardır. Sonrasında H3K4me2 seviyelerine göre cis-reguatuar element içeren alanları 5 sınıfta kategorize etmişler, bunlardan cluster 1 diye adlandırdıkları gruba IL7R, CD3E ve CD2 genlerini dahil etmişlerdir. Cluster1 grubu ise T hücre ilişkili önemli fonksiyonlar ifa etmektedir. Yani IL7R geni upstream bölgesinde cis-regulatuar element bulunmakta ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşmektedir (151). IL7R promoter SNP'leri potansiyel olarak farklı transkripsiyon faktörlerine bağlanarak T hücrelerini aktive ediyor olabilir ancak netleştirilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır (125). Ayrıca IL7R geni promoter polimorfizmleri transkripsiyon faktörlerine daha potent bağlarak etkilerini artırıyor olabilirler.

5.1. -449 (G/A) Polimorfizmi

Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında -449 polimorfizmi genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,120). Çalışmamızdaki hastalarda polimorfik allel sıklığı -449 A alleli %59,5 saptanmıştır. -449 polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları arasında allel sıklıkları açısından da anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,490). Teutsch ve arkadaşlarının 2003 yılında Kuzey Avrupa kökenli beyazlarda IL7Rα gen polimorfizmleri ile MS arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında 11 farklı yeni SNP bulmuşlardı ve bunlardan 3 tanesi bizim çalışmamızda araştırdığımız promoter polimorfizmleri idi. TRANSFAC programı ile yaptıkları potansiyel transkripsiyon bağlanma bölgesi incelemesinde -

449 G allelinin aktive T hücreleri nükleer faktörü için bağlanma bölgesi oluşturduğu fakat A alleli için oluşturmadığı saptanmıştır fakat fonksiyonel etkileri tam olarak gösterilmemiştir (125). Yine başka bir çalışmada polimorfik A alleli ile MS arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlar ve bu allelin, -504 ve -1085 polimorfizmleri ile beraber, T hücrelerinde CD127 (IL7Rα subunite) ekspresyonu artırdığını saptamışlardır (147). Iran popülasyonunda yakın zamanda yapılan diğer bir çalışmada allelik ve genotipik seviyede MS ile arasında anlamlı bir ilişki olmasa da hem A alleli hem GA genotipi ile hastalarda kadın cinsiyet arasında ilişki saptanmıştır. Buna göre -449 polimorfizmi A alleli ve GA genotipi kadınlarda MS riskini artırmaktadır (152).

-449 polimorfizmi genotip dağılımları incelendiğinde subgruplar arasında da anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,947). Ek olarak -449 (G/A) polimorfizmi allel sıklıkları ile MS subgrupları arasındaki ilişki incelendiğinde polimorfik A alleli sıklıkları SPMS grubunda %61,3, RRMS grubunda %57,9 ve PPMS grubunda ise %50 oranında bulunmuş ve aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,741). Literatürde MS subgrupları ile -449 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Söz konusu çalışmada genotipik seviyede kadın hastalarda SPMS ve PPMS ile ilişkili bulunmuş ancak erkek hastalarda bu ilişki gösterilememiştir (152).

-449 polimorfizmi genotip dağılımları ile başlanıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde AOMS grubunda GA heterozigot genotipi oranı (%47,6) diğer genotiplere göre artmıştır. EOMS grubunda ise AA homozigot genotipi oranı (%63,3) diğer genotiplere göre belirgin şekilde artmış olarak bulunmuştur. -449 (G/A) polimorfizmi ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.002, OR=4.021, %95 GA=1.642-9.845) (Şekil 16). Buna göre AA genotipinin EOMS'e ve GA genotipinin AOMS'e yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir.

-449 (G/A) polimorfizmi allel sıklıkları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde polimorfik A allelinin sıklığı AOMS grubunda %57,7, LOMS grubunda %33,3 ve EOMS grubunda %75 oranında bulunmuştur. Istatistiksel olarak polimorfik A alleli ile EOMS arasında anlamlı bir ilişki vardır (p=0.011, OR=1.3, %95 GA=1.107-1.527). A allelinin EOMS için risk oluşturduğu düşünülmektedir. Ayrıca -449 polimorfizmi A allelinin EOMS hastalarında sıklığının anlamlı şekilde arttığı da düşünülürse denebilir ki A alleli sayısı arttıkça hastalığın şiddeti de

artmakta ve daha erken yaşta ortaya çıkmaktadır. Literatürde –449 polimorfizmi ile hastalık başlangıç yaşı veya hastalık şiddeti arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bakımdan çalışmamız u konuda bilgi veren ilk çalışma olma özelliği ile öne çıkmaktadır.

5.2. -504 (T/C) Polimorfizmi

Ilk defa 2003 yılında tanımlanan bu SNP'in T allelinin, PPMS için yüksek risk oluşturduğu düşünülmüştür (125, 147, 153). Söz konusu çalışmada -504 C allelinin hasta ve kontroller arasında önemli farklılıklar arzettiğini bulmuşlardır. Bir kaç çalışmada ise anlamlı ilişki bulunmamıştır (124, 154). Bizim çalışmamızda da PPMS ile ilişki saptanmamıştır ancak bunun nedeni çalışmamızda PPMS grubunda bulunan hasta sayısının yetersiz olması olabilir. Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda C allelinin MS hastalarında frekansının arttığı ve hastalarda IL7R ekspresyonunu artırdığı da tespit edilmiştir (153). Bazı çalışmalarda ise TT genotipinin hasta ve kontrollerde frekansının belirgin arttığı ancak minör C allelinin hastalıktan koruyucu olabileceği düşünülmüştür (124, 147). Çok yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada da T alleli ile hastalık arasında ilişki saptanmıştır (152). Bizim çalışmamızda ise hasta ve kontrol grupları arasında T alleli sıklıkları açısından anlamlı bir fark yoktu (p=0,061). Buna rağmen -504 polimorfizmi genotip dağılımları ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (p=0.02, OR=1.702, %95 GA=1.169-2.478). TC heterozigot genotipinin hastalarda kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir. Buna göre TC genotipinin MS için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Ancak yukarıda da bahsedildiği gibi literatürde daha önce bununla örtüşmeyen bulgular rapor edilmiş, T allelinin PPMS için yüksek risk oluşturduğu düşünülmüştür.

-504 polimorfizmi genotip dağılımları ile subgrupları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,779). Yine benzer şekilde -504 (T/C) polimorfizmi allel sıklıkları ile MS subgrupları arasındaki ilişki incelendiğinde aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,751). Haj ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada -504 T alleli ile SPMS arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Yine aynı çalışmada T alleli ile kadın hastalarda SPMS grubu arasında ve genotipik seviyede kadın hastalarda RRMS ile anlamlı ilişkiler saptanmıştır (152).

-504 polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,431). Benzer şekilde -504 (T/C) polimorfizmi allel sıklıkları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde de anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,223). Bilgimiz dahilinde literatürde MS hastalık başlangıç yaşları ile -504 polimorfizmi arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır.

5.3. -1085 (G/T) Polimorfizmi

Teutsch ve arkadaşlarının 2003 yılında Kuzey Avrupa kökenli beyazlarda IL7Rα gen polimorfizmleri ile MS arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında buldukları SNP'lerden biri de -1085 polimorfizmi idi. -1085 polimorfizmi ile MS hastalığı arasında anlamlı ilişkiler saptamışlardır. TRANSFAC programı ile yaptıkları potansiyel transkripsiyon bağlanma bölgesi incelemesinde incelemesinde -1085 T allelinin nükleer faktor 1 için bağlanma bölgesi oluşturduğu fakat G allelinin oluşturmadığı saptanmıştır fakat fonksiyonel etkileri tam olarak gösterilmemiştir. T allelinin farklı transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için potansiyel bir kolaylaştırıcı etken olduğu düşünülmektedir (125). Bizim çalışmamızda ise hasta ve kontrol grupları arasında -1085 polimorfizmi genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,624). Çalışmamızdaki hastalarda polimorfik allel sıklığı -1085 T alleli %9,3 iken kontrollerde %9,4 saptanmıştır. -1085 polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları arasında allel sıklıkları açısından da anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,964). Ancak literatürde yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada -1085 polimorfizmi T allelinin hem doğrudan MS ile ve hem de erkek cinsiyetle anlamlı bir ilişkisi olduğu yönünde veriler elde edilmiştir (152). Bu çalışmada yazar söz konusu polimorfizmin transkripsiyon faktörlerine daha potent bağlandığını düşünmektedir. -449 ve -504 promoter polimorfizmleri ile beraber gen ekspresyonunu değiştirdikleri yönündeki şüphesini dile getirmektedir. Ek olarak bizim çalışmamızda Türk popülasyonunda Kuzey Avrupa popülasyonuna oranla -1085 T alleli sıklığı ve -449 A alleli sıklığı azalmış olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda -1085 polimorfizmi genotip dağılımları ile MS subgrupları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,863). Ve yine -1085 (G/T) polimorfizmi allel sıklıkları ile MS subgrupları arasındaki ilişki incelendiğinde de

aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,766). Ancak Haj ve arkadaşlarının İran popülasynunda yaptıkları çalışmada -1085 polimorfizmi genotip dağılımları ile erkek hastalarda SPMS ve RRMS alt tipleri ile anlamlı ilişki saptamışlardır (152).

-1085 polimorfizmi genotipleri ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,707). Benzer şekilde -1085 (G/T) polimorfizmi allel sıklıkları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki incelendiğinde aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,518). Diğer iki promoter polirmorfizminde olduğu gibi lteratürde -1085 polimorfizmi ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır.

5.4. Diğer Bulgular

Çalışmamızda MS subgrupları ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki araştırılmış, ancak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p= 0,994).

Çalışmamızda cinsiyet ile MS alt tipleri arasındaki ilişki incelenmiş ve anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.033, OR=1.667, %95 GA=1.036-2.682). Erkek hastaların %38,7'si SPMS ve %59,5'i RRMS iken kadın hastaların %28'i SPMS ve %71,6'sı RRMS grubunda bulunmaktadır. Buna göre erkeklerde SPMS'e yatkınlık kadınlara göre daha belirgin olduğu düşünülmektedir. Literatürde daha önce cinsiyet ile subgruplar arasında bir ilişki rapor edilmemiştir. Ancak erkek cinsiyetin sekonder progresif için bir risk faktörü olduğu ve erkeklerde hastalığın hızlı progresyon gösterdiği bilinmektedir (155). Dolayısıyla Türk popülasyonunda dünya genelinden farklı olarak iki durum söz konusudur: SPMS daha sık görülmekte ve özellikle erkeklerde SPMS yatkınlığı kadınlara göre daha fazla bulunmaktadır. SPMS'in temelde RRMS formuna benzediği fakat remisyon periyotlarının çok hafif ve kısa olduğu veya olmadığı bir kötüleşme tablosu ile gittiği göz önünde bulundurulursa MS hastalığının erkeklerde daha şiddetli ve progresif seyir gösterdiği söylenebilir (155). Zira daha önceki çalışmalar göstermiştir ki östrojen hormonu MS'i yatıştırmakta ve gebelikte artan östrojen seviyelerine bağlı olarak hastalık şiddeti azalmaktadır. Dahası östrojen MS'de potansiyel bir tedavi ajanı olarak düşünülmektedir (156). Bir diğer yaklaşımla denebilir ki, erkek ve kadınlar arasında hastalık şiddeti farklılık gösterebilmektedir. Bunun bazı olası nedenleri şu şekilde sıralanabilir: gonadal hormanlar (östrojen etkisi gibi), genetik farklılıklar (otozomal

genlerde ekspresyon farklılıkları, epigenetik modifikasyonlar, X'e bağlı otoimmünite durumları ve X inaktivasyonu, genomik imprinting gibi), çevresel faktörler (EBV enfeksiyonu, düşük Vit D seviyeleri, sigara, UV maruziyeti, aşırı tuz alımı gibi) ve erkekle kadın arasında farklı modern yaşam stili (kozmetik ürünler gibi) (157).

6. SONUÇLAR

364 MS hastası ve 191 sağlıklı kontrol ile yaptığımız deneysel çalışmamızda IL7R geni -449 (G/A), -504 (T/C) ve -1085 (G/T) promoter polimorfizmlerinin Türk popülasyonundaki MS hastalığı üzerine etkisi araştırılmıştır. Bunun yanında hastalık alt tipleri sıklıkları ve oranları, başlangıç yaşları, cinsiyet ile ilişkisi gibi konular hakkında da veriler elde ettik. Maddeler şeklinde sıralayacak olursak;

- ✓ MS hastalığı kadın/erkek oranı 2,2'dir.
- ✓ Ortalama başlangıç yaşı 28,99'dur.
- ✓ Hastaların %90,6'sı erişkin başlangıçlı gruptadır.
- ✓ -449 polimorfizmi GA heterozigot genotipi AOMS için ve AA genotipi EOMS için risk oluşturmaktadır (p=0.002, OR=4.021, %95 GA=1.642-9.845).
- ✓ -449 polimorfizmi A allelinin EOMS için risk faktörü olduğu yönünde anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.011, OR=1.3, %95 GA=1.107-1.527).
- ✓ -504 polimorfizmi TC heterozigot genotipi MS için risk oluşturmaktadır (p=0.02, OR=1.702, %95 GA=1.169-2.478). Ancak -504 allel frekanları ile hastalık arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0,061).
- ✓ -1085 (G/T) polimorfizmi allel sıklıkları (p=0,964) ve genotip dağılımları (p=0,624) ile MS arasında anlamlı herhengi bir ilişki saptanmamıştır.
- ✓ Türk popülasyonunda en sık görülen MS alt tipi RRMS %67,8 oranında olup Avrupa popülasyonuna göre sıklığı azalmıştır.
- ✓ Türk popülasyonunda SPMS alt tipi sıklığı belirgin olarak artmıştır (%31,4) ve ikinci sırada gelmektedir. Genel olarak dünyada daha nadir görülen bir gruptur.
- ✓ Literatürde daha önce rastlamadığımız bir diğer bulgumuz ise erkeklerde SPMS sıklığının kadınlara göre belirgin artmış olduğudur (p=0.033, OR=1.667, %95 GA=1.036-2.682).

Çalışmamız kesitsel bir çalışmadır. Her ne kadar çalışmamız, literatürde bu konuda yapılan çalışmalar içerisinde hasta sayısı en fazla olanlardan birisi olsa da bulduğumuz sonuçlar konusunda bize ancak fikir vermekte fakat neden sonuç ilişkisi vermemektedir. Neden sonuç ilişkisi verebilmesi için kohort tarzında çalışma

yapmak gerekmektedir. Ayrıca hasta sayısı artırılmalı ve diğer popülasyonlarda da çalışmalar yapılmalıdır. Söz konusu polimorfizmlerin etkisi hakkında kesin sonuçlar elde etmek için fonksiyonel araştırmalarla desteklenmelidir.

7. KAYNAKLAR

1. Hauser SL, Oksenberg JR. The Neurobiology of Multiple Sclerosis: Genes, Inflammation, and Neurodegeneration. Neuron. 2006;52(1):61-76.
2. Milo R, Kahana E. Multiple sclerosis: geoepidemiology, genetics and the environment. Autoimmunity reviews. 2010;9(5):A387-A94.
3. Stuve O, Oksenberg J. Multiple Sclerosis Overview. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al., editors. GeneReviews(R). Seattle (WA): University of Washington, Seattle
University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
4. Gregory SG, Schmidt S, Seth P, Oksenberg JR, Hart J, Prokop A, et al. Interleukin 7 receptor a chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. Nat Genet. 2007;39(9):1083-91.
5. Oksenberg JR, Barcellos LF, Cree BA, Baranzini SE, Bugawan TL, Khan O, et al. Mapping multiple sclerosis susceptibility to the HLA-DR locus in African Americans. American journal of human genetics. 2004;74(1):160-7.
6. Hurwitz BJ. The diagnosis of multiple sclerosis and the clinical subtypes. Annals of Indian Academy of Neurology. 2009;12(4):226-30.
7. Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology. 2001;22(2):117-39.
8. Ebers GC, Sadovnick AD, Risch NJ. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. Nature. 1995;377(6545):150-1.
9. Mumford CJ, Wood NW, Kellar-Wood H, Thorpe JW, Miller DH, Compston DA. The British Isles survey of multiple sclerosis in twins. Neurology. 1994;44(1):11-5.
10. Robertson N, Fraser M, Deans J, Clayton D, Walker N, Compston D. Age–adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. Brain. 1996;119(2):449-55.

11. Sadovnick A, Armstrong H, Rice G, Bulman D, Hashimoto L, Party D, et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. Annals of neurology. 1993;33(3):281-5.
12. Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. N Engl J Med. 2007;357(9):851-62.
13. Consortium IMSG, 2 WTCCC. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. Nature. 2011;476(7359):214-9.
14. Majdinasab N, Hosseini Behbahani M, Galehdari H, Mohaghegh M. Association of interleukin 7 receptor gene polymorphism rs6897932 with multiple sclerosis patients in Khuzestan. Iranian Journal of Neurology. 2014;13(3):168-71.
15. McKay F, Swain L, Schibeci S, Rubio J, Kilpatrick T, Heard R, et al. Haplotypes of the interleukin 7 receptor alpha gene are correlated with altered expression in whole blood cells in multiple sclerosis. Genes Immun. 2008;9(1):1-6.
16. Teutsch SM, Booth DR, Bennetts BH, Heard RN, Stewart GJ. Identification of 11 novel and common single nucleotide polymorphisms in the interleukin-7 receptor-α gene and their associations with multiple sclerosis. European journal of human genetics. 2003;11(7):509-15.
17. Zuvich RL, McCauley JL, Oksenberg JR, Sawcer SJ, De Jager PL, Aubin C, et al. Genetic variation in the IL7RA/IL7 pathway increases multiple sclerosis susceptibility. Human genetics. 2010;127(5):525-35.
18. Jiang Q, Li WQ, Aiello FB, Mazzucchelli R, Asefa B, Khaled AR, et al. Cell biology of IL-7, a key lymphotrophin. Cytokine & growth factor reviews. 2005;16(4):513-33.
19. Lundmark F, Duvefelt K, Hillert J. Genetic association analysis of the interleukin 7 gene (IL7) in multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 2007;192(1-2):171-3.
20. Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E, Kockum I, Wallstrom E, Khademi M, et al. Variation in interleukin 7 receptor a chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. Nat Genet. 2007;39(9):1108-13.
21. Albert PR. What is a functional genetic polymorphism? Defining classes of functionality. Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN. 2011;36(6):363-5.

22. Chorley BN, Wang X, Campbell MR, Pittman GS, Noureddine MA, Bell DA. Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current and developing technologies. Mutation research. 2008;659(1-2):147-57.

23. Hoogendoorn B, Coleman SL, Guy CA, Smith K, Bowen T, Buckland PR, et al. Functional analysis of human promoter polymorphisms. Human Molecular Genetics. 2003;12(18):2249-54.

24. Buckland PR, Hoogendoorn B, Guy CA, Coleman SL, Smith SK, Buxbaum JD, et al. A high proportion of polymorphisms in the promoters of brain expressed genes influences transcriptional activity. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. 2004;1690(3):238-49.

25. Klopocki E, Schulze H, Strauß G, Ott C-E, Hall J, Trotier F, et al. Complex inheritance pattern resembling autosomal recessive inheritance involving a microdeletion in thrombocytopenia–absent radius syndrome. The American Journal of Human Genetics. 2007;80(2):232-40.

26. Williams K, Ulvestad E, Hickey W. Immunology of multiple sclerosis. Clinical neuroscience (New York, NY). 1993;2(3-4):229-45.

27. 2008. Available from: http://www.britannica.com/eb/article-9110582.

28. Dunn P. Gregor Mendel, OSA (1822–1884), founder of scientific genetics. Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition. 2003;88(6):F537-F9.

29. Mendel G. Experiments in plant hybridization (1865). Read at. 1996;68.

30. McKusick VA. Walter S. Sutton and the physical basis of Mendelism. Bulletin of the History of Medicine. 1960;34:487.

31. Satzinger H. Theodor and Marcella Boveri: chromosomes and cytoplasm in heredity and development. Nature Reviews Genetics. 2008;9(3):231-8.

32. Stevens NM. A study of the germ cells of Aphis rosae and Aphis oenotherae. Journal of Experimental Zoology. 1905;2(3):313-33.

33. Morgan TH. The effects produced by centrifuging eggs before and during development. The Anatomical Record. 1909;3(4):155-61.

34. Beadle GW, Tatum EL. Genetic control of developmental reactions. The American Naturalist. 1941;75(757):107-16.

35. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. The Journal of experimental medicine. 1944;79(2):137-58.

36. Maddox B, Mcelheny VK. Rosalind Franklin: The dark lady of DNA. 2003.

37. Crick FH, Wang JC, Bauer WR. Is DNA really a double helix? Journal of molecular biology. 1979;129(3):449-61.

38. Fedoroff N, Botstein D. The dynamic genome: Barbara McClintock's ideas in the century of genetics: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1992.

39. Baltimore D. Rna-dependent dna polymerase¡ n virions of rous sarcoma virus. Nature. 1970;226(121):1.

40. Temin HM, Baltimore D. RNA-directed DNA synthesis and RNA tumor viruses. Advances in virus research. 1972;17:129-86.

41. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1977;74(12):5463-7.

42. Brinster RL, Chen HY, Trumbauer M, Senear AW, Warren R, Palmiter RD. Somatic expression of herpes thymidine kinase in mice following injection of a fusion gene into eggs. Cell. 1981;27(1):223-31.

43. Mullis KB, Faloona FA. [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. Methods in enzymology. 1987;155:335-50.

44. Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR, et al. Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. Science. 1995;269(5223):496-512.

45. Campbell KH, McWhir J, Ritchie W, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature. 1996;380(6569):64-6.

46. Crollius HR, Jaillon O, Bernot A, Dasilva C, Bouneau L, Fischer C, et al. Estimate of human gene number provided by genome-wide analysis using Tetraodon nigroviridis DNA sequence. Nat Genet. 2000;25(2):235-8.

47. Firth D. The Case of Augustus d'Este (1794-1848): The First Account of Disseminated Sclerosis:(Section of the History of Medicine). Proceedings of the Royal Society of Medicine. 1941;34(7):381.

48. Charcot JM. Lectures on the diseases of the nervous system: delivered at la Salpêtrière: HC Lea; 1879.
49. Orrell RW. Multiple Sclerosis: The History of a Disease. Journal of the Royal Society of Medicine. 2005;98(6):289-.
50. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. Nature. 2007;447(7145):661-78.
51. Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. Nat Genet. 2009;41(7):824-8.
52. Baranzini SE, Wang J, Gibson RA, Galwey N, Naegelin Y, Barkhof F, et al. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. Hum Mol Genet. 2009;18(4):767-78.
53. Kurtzke JF, Page WF, Murphy FM, Norman JE, Jr. Epidemiology of multiple sclerosis in US veterans. 4. Age at onset. Neuroepidemiology. 1992;11(4-6):226-35.
54. Liguori M, Marrosu MG, Pugliatti M, Giuliani F, De Robertis F, Cocco E, et al. Age at onset in multiple sclerosis. Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology. 2000;21(4 Suppl 2):S825-9.
55. Ghezzi A, Deplano V, Faroni J, Grasso MG, Liguori M, Marrosu G, et al. Multiple sclerosis in childhood: clinical features of 149 cases. Mult Scler. 1997;3(1):43-6.
56. Martinelli V, Rodegher M, Moiola L, Comi G. Late onset multiple sclerosis: clinical characteristics, prognostic factors and differential diagnosis. Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology. 2004;25 Suppl 4:S350-5.
57. Wallin MT, Page WF, Kurtzke JF. Multiple sclerosis in US veterans of the Vietnam era and later military service: race, sex, and geography. Ann Neurol. 2004;55(1):65-71.
58. Sadovnick AD, Baird PA. Sex ratio in offspring of patients with multiple sclerosis. N Engl J Med. 1982;306(18):1114-5.
59. Debouverie M. Gender as a prognostic factor and its impact on the incidence of multiple sclerosis in Lorraine, France. Journal of the neurological sciences. 2009;286(1-2):14-7.

60. Orton SM, Herrera BM, Yee IM, Valdar W, Ramagopalan SV, Sadovnick AD, et al. Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. The Lancet Neurology. 2006;5(11):932-6.

61. Ramagopalan SV, Knight JC, Ebers GC. Multiple sclerosis and the major histocompatibility complex. Current opinion in neurology. 2009;22(3):219-25.

62. Dyment DA, Cader MZ, Willer CJ, Risch N, Sadovnick AD, Ebers GC. A multigenerational family with multiple sclerosis. Brain. 2002;125(Pt 7):1474-82.

63. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology. 1983;33(11):1444-52.

64. Weinshenker BG. The natural history of multiple sclerosis: update 1998. Seminars in neurology. 1998;18(3):301-7.

65. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. Brain. 1989;112 (Pt 1):133-46.

66. Roxburgh RH, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, Vukusic S, et al. Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. Neurology. 2005;64(7):1144-51.

67. Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, Goodman AD, Heidenreich FR, Jak AJ, et al. Use of the multiple sclerosis functional composite as an outcome measure in a phase 3 clinical trial. Archives of neurology. 2001;58(6):961-7.

68. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol. 2001;50(1):121-7.

69. Polliack ML, Barak Y, Achiron A. Late-Onset Multiple Sclerosis. Journal of the American Geriatrics Society. 2001;49(2):168-71.

70. Pohl D, Rostasy K, Jacobi C, Lange P, Nau R, Krone B, et al. Intrathecal antibody production against Epstein-Barr and other neurotropic viruses in pediatric and adult onset multiple sclerosis. Journal of Neurology. 2009;257(2):212-6.

71. Lublin FD, Reingold SC. Guidelines for clinical trials of new therapeutic agents in multiple sclerosis: relations between study investigators, advisors, and

sponsors. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. Neurology. 1997;48(3):572-4.

72. Confavreux C, Aimard G, Devic M. Course and prognosis of multiple sclerosis assessed by the computerized data processing of 349 patients. Brain. 1980;103(2):281-300.

73. Andersson PB, Waubant E, Gee L, Goodkin DE. Multiple sclerosis that is progressive from the time of onset: clinical characteristics and progression of disability. Archives of neurology. 1999;56(9):1138-42.

74. Bashir K, Whitaker JN. Clinical and laboratory features of primary progressive and secondary progressive MS. Neurology. 1999;53(4):765-71.

75. Tullman MJ, Oshinsky RJ, Lublin FD, Cutter GR. Clinical characteristics of progressive relapsing multiple sclerosis. Mult Scler. 2004;10(4):451-4.

76. 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):907-11.

77. Sadovnick AD, Ebers GC, Wilson RW, Paty DW. Life expectancy in patients attending multiple sclerosis clinics. Neurology. 1992;42(5):991-4.

78. Bronnum-Hansen H, Koch-Henriksen N, Stenager E. Trends in survival and cause of death in Danish patients with multiple sclerosis. Brain. 2004;127(Pt 4):844-50.

79. Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. Brain. 1997;120 (Pt 3):393-9.

80. van Waesberghe JH, Kamphorst W, De Groot CJ, van Walderveen MA, Castelijns JA, Ravid R, et al. Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. Ann Neurol. 1999;46(5):747-54.

81. Trapp BD, Nave K-A. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? Annu Rev Neurosci. 2008;31:247-69.

82. Lucchinetti CF, Brueck W, Rodriguez M, Lassmann H. Multiple sclerosis: lessons from neuropathology. Seminars in neurology. 1998;18(3):337-49.

83. Breij EC, Brink BP, Veerhuis R, van den Berg C, Vloet R, Yan R, et al. Homogeneity of active demyelinating lesions in established multiple sclerosis. Ann Neurol. 2008;63(1):16-25.

84. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. Annals of Neurology. 2011;69(2):292-302.

85. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". Ann Neurol. 2005;58(6):840-6.

86. van der Knaap MS, Breiter SN, Naidu S, Hart AA, Valk J. Defining and categorizing leukoencephalopathies of unknown origin: MR imaging approach. Radiology. 1999;213(1):121-33.

87. Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G. The worldwide prevalence of multiple sclerosis. Clinical neurology and neurosurgery. 2002;104(3):182-91.

88. Koch-Henriksen N, Hyllested K. Epidemiology of multiple sclerosis: incidence and prevalence rates in Denmark 1948-64 based on the Danish Multiple Sclerosis Registry. Acta neurologica Scandinavica. 1988;78(5):369-80.

89. Warren S, Warren KG. Prevalence, incidence, and characteristics of multiple sclerosis in Westlock County, Alberta, Canada. Neurology. 1993;43(9):1760-3.

90. Boiko A, Deomina T, Favorova O, Gusev E, Sudomoina M, Turetskaya R. Epidemiology of multiple sclerosis in Russia and other countries of the former Soviet Union: investigations of environmental and genetic factors. Acta neurologica Scandinavica Supplementum. 1995;161:71-6.

91. Alter M, Kahana E, Loewenson R. Migration and risk of multiple sclerosis. Neurology. 1978;28(11):1089-93.

92. Barnett MH, Williams DB, Day S, Macaskill P, McLeod JG. Progressive increase in incidence and prevalence of multiple sclerosis in Newcastle, Australia: a 35-year study. Journal of the neurological sciences. 2003;213(1-2):1-6.

93. Hou JB, Zhang ZX. Prevalence of multiple sclerosis: a door-to-door survey in Lan Cang La Hu Zu Autonomous County, Yunnan Province of China. Neuroepidemiology. 1992;11(1):52.

94. Araki S, Uchino M, Kumamoto T. Prevalence studies of multiple sclerosis, myasthenia gravis, and myopathies in Kumamoto district, Japan. Neuroepidemiology. 1987;6(3):120-9.

95. Callegaro D, de Lolio CA, Radvany J, Tilbery CP, Mendonca RA, Melo AC. Prevalence of multiple sclerosis in the city of Sao Paulo, Brazil, in 1990. Neuroepidemiology. 1992;11(1):11-4.

96. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. Nature. 2011;476(7359):214-9.

97. Koziol JA, Feng AC. Seasonal variations in exacerbations and MRI parameters in relapsing-remitting multiple sclerosis. Neuroepidemiology. 2004;23(5):217-23.

98. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. Ann Neurol. 2007;61(4):288-99.

99. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. Ann Neurol. 2007;61(6):504-13.

100. Oksenberg JR, Baranzini SE, Sawcer S, Hauser SL. The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. Nature Reviews Genetics. 2008;9(7):516-26.

101. Multiple Sclerosis Overview [Internet]. 2006 [Updated 2010 May 11]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1316/.

102. Zenatti PP, Ribeiro D, Li W, Zuurbier L, Silva MC, Paganin M, et al. Oncogenic IL7R gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. Nat Genet. 2011;43(10):932-9.

103. Goodwin RG, Friend D, Ziegler SF, Jerzy R, Falk BA, Gimpel S, et al. Cloning of the human and murine interleukin-7 receptors: demonstration of a soluble form and homology to a new receptor superfamily. Cell. 1990;60(6):941-51.

104. IL7R [Internet]. 2013. Available from: https://ghr.nlm.nih.gov/gene/IL7R.

105. Lundstrom W, Highfill S, Walsh ST, Beq S, Morse E, Kockum I, et al. Soluble IL7Ralpha potentiates IL-7 bioactivity and promotes autoimmunity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(19):E1761-70.

106. Guimond M, Veenstra RG, Grindler DJ, Zhang H, Cui Y, Murphy RD, et al. Interleukin 7 signaling in dendritic cells regulates the homeostatic proliferation and niche size of CD4+ T cells. Nature immunology. 2009;10(2):149-57.

107. McHugh RS, Shevach EM. Cutting Edge: Depletion of CD4+CD25+ Regulatory T Cells Is Necessary, But Not Sufficient, for Induction of Organ-Specific Autoimmune Disease. The Journal of Immunology. 2002;168(12):5979-83.

108. Calzascia T, Pellegrini M, Lin A, Garza KM, Elford AR, Shahinian A, et al. CD4 T cells, lymphopenia, and IL-7 in a multistep pathway to autoimmunity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(8):2999-3004.

109. Uehira M, Matsuda H, Nakamura A, Nishimoto H. Immunologic abnormalities exhibited in IL-7 transgenic mice with dermatitis. The Journal of investigative dermatology. 1998;110(5):740-5.

110. Lundstrom W, Fewkes NM, Mackall CL. IL-7 in human health and disease. Semin Immunol. 2012;24(3):218-24.

111. Kroemer RT, Richards WG. Homology modeling study of the human interleukin-7 receptor complex. Protein engineering. 1996;9(12):1135-42.

112. O'Doherty C, Kantarci O, Vandenbroeck K. IL7RA polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. New England Journal of Medicine. 2008;358(7):753-4.

113. Burchill MA, Yang J, Vang KB, Moon JJ, Chu HH, Lio CW, et al. Linked T cell receptor and cytokine signaling govern the development of the regulatory T cell repertoire. Immunity. 2008;28(1):112-21.

114. Goetz CA, Harmon IR, O'Neil JJ, Burchill MA, Farrar MA. STAT5 activation underlies IL7 receptor-dependent B cell development. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 2004;172(8):4770-8.

115. Rowe JH, Ertelt JM, Aguilera MN, Farrar MA, Way SS. Foxp3(+) regulatory T cell expansion required for sustaining pregnancy compromises host defense against prenatal bacterial pathogens. Cell host & microbe. 2011;10(1):54-64.

116. Heaney ML, Golde DW. Soluble cytokine receptors. Blood. 1996;87(3):847-57.

117. Giri JG, Wells J, Dower SK, McCall CE, Guzman RN, Slack J, et al. Elevated levels of shed type II IL-1 receptor in sepsis. Potential role for type II receptor in

regulation of IL-1 responses. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 1994;153(12):5802-9.

118. Peters M, Jacobs S, Ehlers M, Vollmer P, Mullberg J, Wolf E, et al. The function of the soluble interleukin 6 (IL-6) receptor in vivo: sensitization of human soluble IL-6 receptor transgenic mice towards IL-6 and prolongation of the plasma half-life of IL-6. J Exp Med. 1996;183(4):1399-406.

119. Bergamaschi C, Bear J, Rosati M, Beach RK, Alicea C, Sowder R, et al. Circulating IL-15 exists as heterodimeric complex with soluble IL-15Ralpha in human and mouse serum. Blood. 2012;120(1):e1-8.

120. Peschon JJ, Slack JL, Reddy P, Stocking KL, Sunnarborg SW, Lee DC, et al. An essential role for ectodomain shedding in mammalian development. Science. 1998;282(5392):1281-4.

121. Renauld JC, Druez C, Kermouni A, Houssiau F, Uyttenhove C, Van Roost E, et al. Expression cloning of the murine and human interleukin 9 receptor cDNAs. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992;89(12):5690-4.

122. Rose T, Lambotte O, Pallier C, Delfraissy JF, Colle JH. Identification and biochemical characterization of human plasma soluble IL-7R: lower concentrations in HIV-1-infected patients. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 2009;182(12):7389-97.

123. Crawley AM, Faucher S, Angel JB. Soluble IL-7R alpha (sCD127) inhibits IL-7 activity and is increased in HIV infection. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 2010;184(9):4679-87.

124. Ibayyan L, Zaza R, Dahbour S, El-Omar A, Samhouri B, El-Khateeb M, et al. The promoter SNP, but not the alternative splicing SNP, is linked to multiple sclerosis among Jordanian patients. Journal of molecular neuroscience : MN. 2014;52(4):467-72.

125. Teutsch SM, Booth DR, Bennetts BH, Heard RN, Stewart GJ. Identification of 11 novel and common single nucleotide polymorphisms in the interleukin-7 receptor-alpha gene and their associations with multiple sclerosis. European journal of human genetics : EJHG. 2003;11(7):509-15.

126. Kreft KL, Verbraak E, Wierenga-Wolf AF, van Meurs M, Oostra BA, Laman JD, et al. Decreased systemic IL-7 and soluble IL-7Ralpha in multiple sclerosis patients. Genes Immun. 2012;13(7):587-92.

127. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. N Engl J Med. 2000;343(13):938-52.

128. Sawcer S, Franklin RJ, Ban M. Multiple sclerosis genetics. The Lancet Neurology. 2014;13(7):700-9.

129. Oksenberg J, Barcellos L. Multiple sclerosis genetics: leaving no stone unturned. Genes Immun. 2005;6(5):375-87.

130. Goldenberg MM. Multiple sclerosis review. Pharmacy and Therapeutics. 2012;37(3):175.

131. Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH, Optiz JM, Reynolds JF. Multiple sclerosis. Updated risks for relatives. American journal of medical genetics. 1988;29(3):533-41.

132. Dwosh E, Guimond C, Sadovnick AD. Reproductive counselling for MS: a rationale. International MS journal / MS Forum. 2003;10(2):52-9.

133. Dwosh E, Guimond C, Sadovnick AD. Reproductive counselling in MS: a guide for healthcare professionals. International MS journal / MS Forum. 2003;10(2):67.

134. Montomoli C, Prokopenko I, Caria A, Ferrai R, Mander A, Seaman S, et al. Multiple sclerosis recurrence risk for siblings in an isolated population of Central Sardinia, Italy. Genetic epidemiology. 2002;22(3):265-71.

135. Robertson NP, Fraser M, Deans J, Clayton D, Walker N, Compston DA. Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. Brain. 1996;119 (Pt 2):449-55.

136. Sadovnick AD, Dircks A, Ebers GC. Genetic counselling in multiple sclerosis: risks to sibs and children of affected individuals. Clinical genetics. 1999;56(2):118-22.

137. Hartung HP, Gonsette R, Konig N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP, et al. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. Lancet (London, England). 2002;360(9350):2018-25.

138. Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownscheidle CM, Murray TJ, et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. N Engl J Med. 2000;343(13):898-904.

139. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. 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):1268-76.

140. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. N Engl J Med. 2006;354(9):899-910.

141. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. N Engl J Med. 2006;354(9):911-23.

142. Panitch H, Goodin DS, Francis G, Chang P, Coyle PK, O'Connor P, et al. Randomized, comparative study of interferon beta-1a treatment regimens in MS: The EVIDENCE Trial. Neurology. 2002;59(10):1496-506.

143. Cree B. Current Diagnosis and Treatment in Neurology. Brust J, editor. Lange Medical Books: McGraw-Hill Medical; 2007.

144. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet (London, England). 2008;372(9648):1502-17.

145. Evsyukova I, Somarelli JA, Gregory SG, Garcia-Blanco MA. Alternative splicing in multiple sclerosis and other autoimmune diseases. RNA Biology. 2010;7(4):462-73.

146. Haas J, Korporal M, Schwarz A, Balint B, Wildemann B. The interleukin-7 receptor alpha chain contributes to altered homeostasis of regulatory T cells in multiple sclerosis. Eur J Immunol. 2011;41(3):845-53.

147. Broux B, Hellings N, Venken K, Rummens J-L, Hensen K, Van Wijmeersch B, et al. Haplotype 4 of the multiple sclerosis-associated interleukin-7 receptor alpha gene influences the frequency of recent thymic emigrants. Genes Immun. 2010;11(4):326-33.

148. Mitchison NA. Polymorphism in regulatory gene sequences. Genome Biology. 2001;2(1):comment2001.1-comment.6.

149. Carroll SB. Endless Forms: The Evolution of Gene Regulation and Morphological Diversity. Cell. 2000;101(6):577-80.

150. Heinz S, Benner C, Spann N, Bertolino E, Lin YC, Laslo P, et al. Simple Combinations of Lineage-Determining Transcription Factors Prime cis-Regulatory Elements Required for Macrophage and B Cell Identities. Molecular Cell. 2010;38(4):576-89.

151. Pekowska A, Benoukraf T, Ferrier P, Spicuglia S. A unique H3K4me2 profile marks tissue-specific gene regulation. Genome research. 2010;20(11):1493-502.

152. Haj MS, Nikravesh A, Kakhki MP, Rakhshi N. Association study of four polymorphisms in the interleukin-7 receptor alpha gene with multiple sclerosis in Eastern Iran. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2015;18(6):593-8.

153. Booth DR, Arthur AT, Teutsch SM, Bye C, Rubio J, Armati PJ, et al. Gene expression and genotyping studies implicate the interleukin 7 receptor in the pathogenesis of primary progressive multiple sclerosis. J Mol Med (Berl). 2005;83(10):822-30.

154. Akkad DA, Hoffjan S, Petrasch-Parwez E, Beygo J, Gold R, Epplen JT. Variation in the IL7RA and IL2RA genes in German multiple sclerosis patients. Journal of autoimmunity. 2009;32(2):110-5.

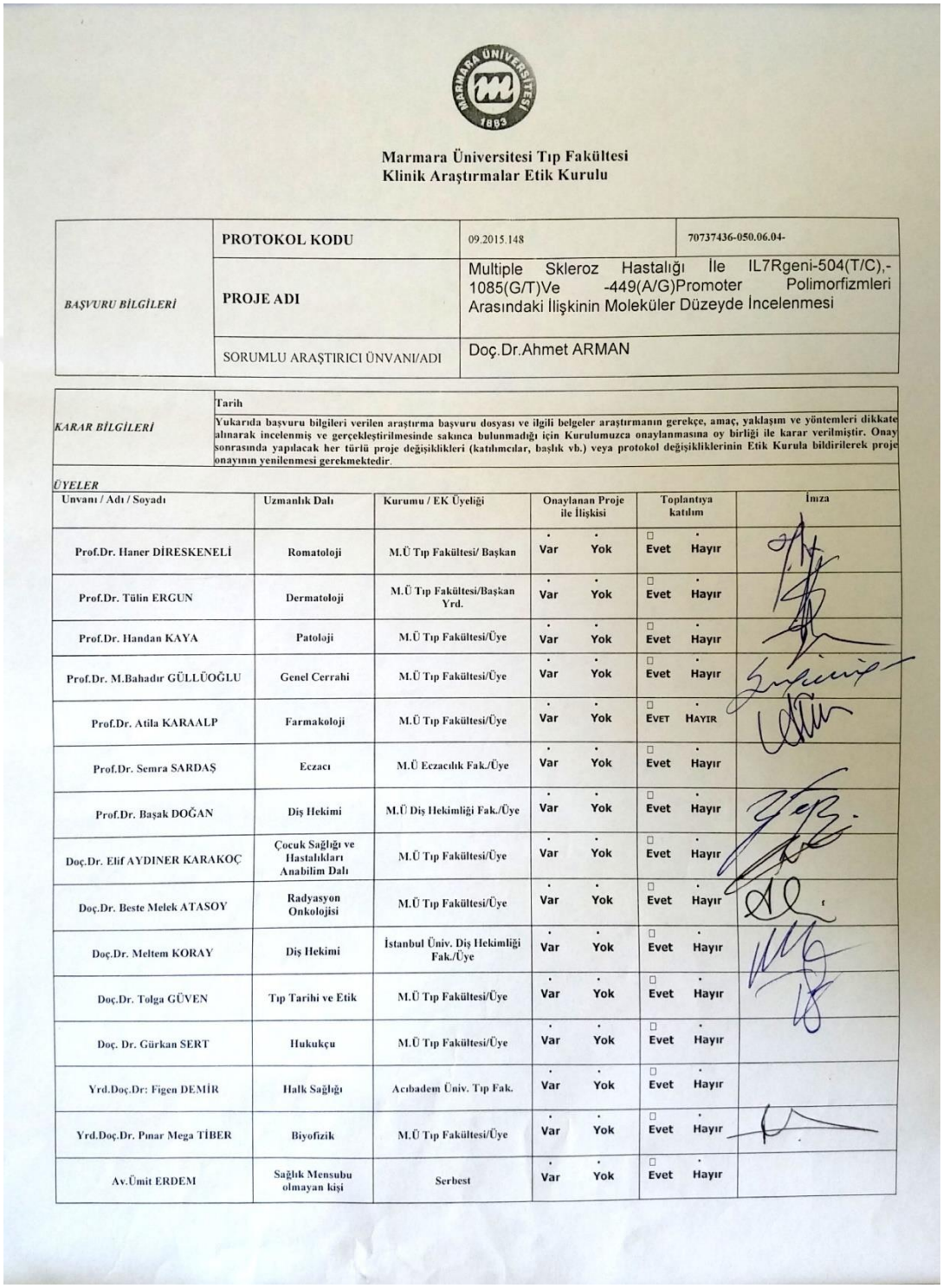
155. Multiple Sclerosis: Natural History and Disease Courses [Internet]. 2013. Available from: http://www.healthline.com/health/multiple-sclerosis/multiple-sclerosis-disease-courses#1.

156. Gold SM, Voskuhl RR. Estrogen and testosterone therapies in multiple sclerosis. Progress in brain research. 2009;175:239-51.

157. Harbo HF, Gold R, Tintoré M. Sex and gender issues in multiple sclerosis. Therapeutic Advances in Neurological Disorders. 2013;6(4):237-48.

8. EKLER

8.1. Ek 1: Etik Kurul Onayı



Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	**PROTOKOL KODU**	09.2015.148	70737436-050.06.04-
	PROJE ADI	Multiple Skleroz Hastalığı İle IL7Rgeni-504(T/C),-1085(G/T)Ve -449(A/G)Promoter Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Doç.Dr.Ahmet ARMAN	

KARAR BİLGİLERİ	**Tarih** Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya katılım	İmza
Prof.Dr. Haner DİRESKENELİ	Romatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/ Başkan	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Tülin ERGUN	Dermatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Başkan Yrd.	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Handan KAYA	Patoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. M.Bahadır GÜLLÜOĞLU	Genel Cerrahi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Atila KARAALP	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	EVET HAYIR	
Prof.Dr. Semra SARDAŞ	Eczacı	M.Ü Eczacılık Fak./Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Başak DOĞAN	Diş Hekimi	M.Ü Diş Hekimliği Fak./Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Elif AYDINER KARAKOÇ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Beste Melek ATASOY	Radyasyon Onkolojisi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Meltem KORAY	Diş Hekimi	İstanbul Üniv. Diş Hekimliği Fak./Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Tolga GÜVEN	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Doç. Dr. Gürkan SERT	Hukukçu	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Yrd.Doç.Dr: Figen DEMİR	Halk Sağlığı	Acıbadem Üniv. Tıp Fak.	Var Yok	Evet Hayır	
Yrd.Doç.Dr. Pınar Mega TİBER	Biyofizik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var Yok	Evet Hayır	
Av.Ümit ERDEM	Sağlık Mensubu olmayan kişi	Serbest	Var Yok	Evet Hayır	