

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA
TEDAVİDE KULLANILAN İNTERFERON
BETA'YA KARŞI GELİŞEN BLOKAN VE
NÖTRALİZAN ANTİKORLARIN KLİNİK VE
RADYOLOJİK BULGULAR ÜZERİNE
ETKİLERİ**

DR. DERYA KAYA

UZMANLIK TEZİ

İZMİR – 2010

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA
TEDAVİDE KULLANILAN İNTERFERON
BETA'YA KARŞI GELİŞEN BLOKAN VE
NÖTRALİZAN ANTİKORLARIN KLİNİK VE
RADYOLOJİK BULGULAR ÜZERİNE
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. DERYA KAYA

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Egemen İDİMAN

İZMİR-2010

Bu araştırma Ege Nöroimmunoloji Derneği tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖNSÖZ.....	ix
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
GENEL BİLGİLER.....	7
Multipl Skleroz (MS) patolojisi ve patogenezi.....	7
MS’te tedavi yaklaşımları.....	15
Beta İnterferonlar.....	17
Blokant Antikorlar (BAb) ve Nötralizan Antikorlar (NAb).....	19
BAb ve NAb’ın Klinik ve Radyolojik Bulgular Üzerine Etkileri.....	21
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
Olgular.....	23
Klinik değerlendirme.....	24
BAb ve NAb tayini.....	24
Mantetik Rezonans Görüntüleme (MRG).....	27
İstatistik.....	28

BULGULAR	29
Demografik bulgular.....	29
Blokan Antikorlar.....	31
Nötralizan Antikorlar.....	35
BAb ve NAb'ın Klinik Bulgular Üzerine Etkileri.....	37
BAb ve NAb'ın MRG üzerine etkileri.....	42
TARTISMA.....	48
SONUÇLAR.....	62
KAYNAKLAR.....	63
EKLER.....	76

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1.** Çalışmada yer alan hastaların demografik ve klinik özellikleri (Sayfa 30)
- Tablo 2.** Çalışma başlangıcında hastaların 3 farklı IFN β preparatına göre genel özellikleri (Sayfa 31)
- Tablo 3.** Birinci BAb değerlendirmesinde hastaların genel özellikleri (Sayfa 32)
- Tablo 4.** IFN β preparatı gruplarında BAb pozitiflik oranları (Sayfa 32)
- Tablo 5.** Birinci ve ikinci BAb değerlendirmeleri (Sayfa 33)
- Tablo 6.** IFN β preparatlarına göre birinci ve ikinci BAb değerlendirmeleri (Sayfa 34)
- Tablo 7.** Tedavi sürelerine göre BAb değerlendirmesi (Sayfa 35)
- Tablo 8.** NAb değerlendirmesi yapılan hastaların genel özellikleri (Sayfa 36)
- Tablo 9.** Birinci ve ikinci NAb değerlendirmeleri (Sayfa 37)
- Tablo 10a.** Birinci değerlendirmede BAb gruplarında atak hızı fark ortalamaları (Sayfa 38)
- Tablo 10b.** Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda atak hızı fark ortalamaları (Sayfa 38)
- Tablo 11a.** Birinci ve ikinci değerlendirmede BAb gruplarında EDSS fark ortalamaları (Sayfa 39)
- Tablo 11b.** Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda EDSS fark ortalamaları (Sayfa 39)
- Tablo 12a.** Birinci değerlendirmede NAb gruplarında atak hızı fark ortalamaları (Sayfa 40)
- Tablo 12b.** Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda atak hızı fark ortalamaları (Sayfa 40)
- Tablo 13a.** Birinci ve ikinci değerlendirmede NAb gruplarında EDSS fark ortalamaları (Sayfa 41)
- Tablo 13b.** Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda EDSS fark ortalamaları (Sayfa 42)

- Tablo 14a.** Birinci ve ikinci değerlendirmede BAb gruplarında T2 lezyon hacmi fark ortalamaları (Sayfa 43)
- Tablo 14b.** Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda T2 lezyon hacmi fark ortalamaları (Sayfa 43)
- Tablo 15a.** Birinci ve ikinci değerlendirmede BAb gruplarında kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları (Sayfa 44)
- Tablo 15b.** Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları (Sayfa 44)
- Tablo 16a.** Birinci ve ikinci değerlendirmede NAb gruplarında T2 lezyon hacmi fark ortalamaları (Sayfa 45)
- Tablo 16b.** Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda T2 lezyon hacmi fark ortalamaları (Sayfa 45)
- Tablo 17a.** Birinci ve ikinci değerlendirmede NAb gruplarında kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları (Sayfa 46)
- Tablo 17b.** Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları (Sayfa 47)

SEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Multipl skleroz lezyon oluşumundaki patogenetik mekanizmaların özeti (Sayfa 12)

Şekil 2. Multipl Sklerozun iki yüzü (Sayfa 14)

Şekil 3. IFN β 'nın olası etki mekanizması (Sayfa 18)

Şekil 4. IFN β 'ya karşı gelişen BAb, NAb ve NAb'ın IFN β 'ya bağlanması ardından indüklenen proteinlerin inhibisyonu (Sayfa 20)

KISALTMALAR

APC:	Antigen Presenting Cell (Antijen Sunan Hücre)
BAb:	Blokan Antikor
BTU:	Bühlmann Titer Unit
cDNA:	comlementer Deoksiribonükleik asit
cELISA:	capture Enzym Linked Immunosorbent Assay
CPE:	Cytopathic effect
EDSS:	Expanded Disability Status Scale
EIA:	Enzym Immunoassay
ELISA:	Enzym Linked Immunosorbent Assay
GA:	Glatiramer Asetat
HSP:	Heat Shock Proteinleri
ICAM-1:	İntracellular Adhesion Molecule-1
IFNβ:	İnterferon Beta
IFNγ:	İnterferon Gama
IL:	İnterlökin
IM:	İntramuskular
IV:	Intravenous
KBB:	Kan Beyin Bariyeri
KTLS:	Kontrast tutan lezyon sayısı
LFA-1:	Lymphocyte Function Associated Antigen-1

MAG:	Miyelin Associated Glikoprotein
MBP:	Miyelin Basic Protein
MHC:	Major Histocompatibility Complex
MMP:	Matriks Metaloproteaz
MOG:	Miyelin Oligodentrosit Glikoprotein
MP:	Metilprednizolon
MRG:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRI:	Magnetic Resonance Imaging
MIU:	Milyon internasyonel ünite
mRNA:	Messenger Ribonükleik asit
MRS:	Manyetik Rezonans Spektroskopi
MS:	Multipl Skleroz
MTC:	Magnetisation Transfer Contrast (Magnetizasyon Transfer Kontrast)
MxA:	Myxovirus Protein A
NAb:	Nötralizan Antikor
NO:	Nitrik Oksit
OD:	Optik Dansite
OG:	Oligodendrosit
PCR:	Polimerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PLP:	Proteolipid Protein
PPMS:	Primer Progresif Multipl Skleroz

RIPA:	Radioimmuno-Precipitation Assays
RRMS:	Relapsing Remitting Multipl Skleroz
SC:	Subkutan
SD:	Standart deviyasyon
SPMS:	Sekonder Progresif Multipl Skleroz
SSS:	Santral Sinir Sistemi
TH1:	T helper 1
TH2:	T helper 2
TIMPs:	Tissue Inhibitor Matriks Metaloproteaz
TNFα:	Tümör Nekrosis Faktör Alfa
VCAM-1:	Vascular Cellular Adhesion Molecule-1
VLA-4:	Very Late Activation Molecule-4
WHO:	World Health Organization

ÖNSÖZ

Eğitimimde emeği geçen, bilgi ve deneyimlerini paylaştan ve yurtdışında eğitim alma şansını tanıyan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Fethi İdiman, Prof. Dr. Egemen İdiman, Prof. Dr. Ahmet Ali Genç, Prof. Dr. Kürşad Kutluk, Prof. Dr. Barış Baklan, Prof. Dr. Raif Çakmur, Prof. Dr. Görsev Gülmen Yener, Prof. Dr. Vesile Öztürk, Prof. Dr. Gülden Akdal, Doç. Dr. Serkan Özakbaş, Doç. Dr. Berril Dönmez Çolakoğlu, Doç. Dr. İhsan Şükrü Şengün, Doç. Dr. İbrahim Öztura'ya çok teşekkür ederim.

Daima yeniliklere açık ve mücadeleci kişiliği ile tez çalışmamın planlanmasında, yürütülmesinde ve yorumlanmasında, ihtiyaç duyduğum her anda, bana yol gösteren ve ayrıca Nöroimmünoloji alanında bilgi ve becerilerimin artmasında beni teşvik eden ve yurtdışında bulunduğum 6 aylık süre zarfında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer tez danışman hocam Prof. Dr. Egemen İdiman'a şükran ve minnetlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Gerek Nöroloji eğitimimde gerekse yurtdışı deneyimimde büyük katkıları olan çalışma disiplinine ve etkileyici hitap tarzına hayran olduğum Prof. Dr. Fethi İdiman'a tez yazımı sırasındaki değerli katkıları için ayrıca teşekkür ederim.

Nöroloji ve Nöroimmünoloji eğitimim süresince beni daima destekleyen, tartışmaya açık kişiliğini ve sabrını örnek alacağım Doç. Dr. Serkan Özakbaş'a ayrıca teşekkür ederim.

Tezimdaki çalışmalarından dolayı Uzm. Biyolog Serap Tufan'a ve Serap Tufan'ın yetişmesinde ve yöntemin uygulanabilir hale gelmesinde verdikleri destekten dolayı Prof. Hans-Peter Hartung ve Prof. Bernard Hemmer'e teşekkür ederim.

Yurtdışındaki eğitimim sırasında yol göstericiliği, yönlendiriciliği ve nöroimmunolojideki donanımına yaptığı katkılarından dolayı Prof. Dr. Hans-Peter Hartung'a, bugün ve yarın bana Heinrich-Heine Üniversitesi Nöroimmunoloji Laboratuvarlarının kapısını açtığı için şahsında tüm nöroimmunoloji ekibine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ege Nöroimmunoloji Derneği Yönetim Kurulu'na tezimin gerçekleşmesinde ve yurtdışı eğitimimde verdiği maddi ve manevi destek için teşekkür ederim.

Doç. Dr. Muhteşem Gedizlioğlu'na ve Doç. Dr. Nefali Kıyılıoğlu'na katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimde katkısı olan Psikiyatri Anabilim Dalı, Çocuk Nörolojisi, Dahiliye Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim. Tezimin MRG analizlerinde emeği geçen Prof. Dr. Emel Ada'ya ayrıca çok teşekkür ederim. İstatistiksel analizleri gerçekleştiren Türkiye'deki ilk büyük Sözleşmeli Araştırma Kuruluşu olan Omega Araştırma Organizasyon Eğitim Danışmanlık Limited Şirketi'nin (Omega CRO) biyoistatistik sorumlusu, Sayın Dr. Zübeyde Arat'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimimi aldığım ve mutlulukla dolu bu beş yıl boyunca sevgi, saygı ve anlayışı paylaştığım ve uyum içinde birlikte çalışmaktan büyük haz duyduğum Uzm. Dr. Erdem Yaka'ya, asistan doktor arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Yaşamımın her aşamasında bana destek olup sevgi ve ilgilerini hiçbir zaman eksik etmeyen, bugünlere ulaşmamda büyük emek ve desteği olan, doğru bildiğim yoldan kararlıca gitmemi öğütleyen annem ve babama saygı, sevgi ve minnet duygularımı sunarım.

Yüreği kendinden büyük olan kardeşim Gökçe'ye, tanıdığım günden beri kendime güvenimi üst düzeyde tutmamda yardımcı olan hayat arkadaşım Mahmut Kaya'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Derya Kaya

03.06.2010

İzmir

ÖZET

Multipl Sklerozlu Hastalarda Tedavide Kullanılan Interferon Beta'ya Karşı Gelişen Blokan ve Nötralizan Antikorların Klinik ve Radyolojik Bulgular Üzerine Etkileri

Dr. Derya Kaya

Dokuz Eylül Üniversitesi, Nöroloji Departmanı

derya.kaya@deu.edu.tr

Amaç ve Hipotez

Interferon beta (IFN β), multiple sklerozda (MS) ilk sıradaki immun tedavi seçeneklerindedir. Bazı hastalarda IFN β 'nın tekrarlayan enjeksiyonları IFN β antikorlarının oluşumuna neden olabilmektedir. Bu antikorlar, molekülün biyolojik aktivitesini etkilemeyen blokan antikorlar (BAb) ve tedavi etkinliğinde azalmaya neden olan nötralizan antikorlar (NAb) olarak adlandırılmaktadır. Bununla birlikte, bu antikorların etkisi tartışmalara konu olmaya devam etmektedir. Bu çalışmanın amacı, MS'li hastalarda gelişen BAb ve NAb sıklığını, bu antikorların klinik ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Yöntem

Çalışmaya en az 18 aydır IFN β kullanan 102 MS hastası dahil edildi. Çalışmanın başlangıcında ve bir yıl sonra, örneklerin BAb tayini için, capture enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA) kullanıldı. NAb'lar Miyxovirus Protein A (MxA) messenger RNA (mRNA) indüksiyon yöntemi (real-time polymerase chain reaction -PCR) ile çalışıldı. Klinik etkinlik; atak hızı ve EDSS (Expanded Disability Staus Scale) skorları temelinde değerlendirildi. IFN β tedavisinin Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) üzerine etkinliğin ölçütleri olarak T1 ağırlıklı post-gadolinium hiperintens lezyonlar ve T2 lezyon hacmi kullanıldı.

Bulgular

Çalışma başlangıcında, IFN β -1b ile tedavi edilen 49 hastanın %40.8'inde BAb saptanırken, IFN β -1a SC ile tedavi edilen 40 hastanın %15'inde, IFN β -1a IM ile tedavi edilen 13 hastanın %7.7'sinde BAb pozitif. IFN β -1b kullanan hastaların %12.2'sinde, IFN β -1a SC kullananların %7.5'inde NAb bulundu. Ancak, IFN β -1a IM kullanan hastaların hiçbirinde NAb pozitif saptanmadı. Kalıcı NAb pozitiflik %5.2 olarak bulundu. İzlemde kalıcı NAb pozitif hastaların %60'ının atak geçirdiği gözlemlendi (p=0.330). Kalıcı NAb negatif hastaların, kalıcı NAb pozitif hastalara göre atak hızı fark ortalaması daha fazlaydı (p=0.024). Hastalık progresyonu üzerine ikna edici hiçbir kanıt yoktu. Radyolojik açıdan ise, kalıcı NAb pozitifliğinin T2 lezyon hacmini ve kontrast tutan lezyon sayısını etkilemediği gösterildi.

Sonuç

Çalışmamızda, NAb pozitif hastaların sıklığı yapılan benzer çalışmalara göre daha az bulunmuştur. Bu, Türk MS hastalarındaki genetik özellikler nedeniyle olabileceği gibi ilacın uzun dönemde immunojenitesindeki değişiklik nedeniyle de olabilir. Önceki çalışmaların sonuçları ile uyumlu olarak, IFN β -1b'nin, IFN β -1a SC'den ve IFN β -1a SC'nin de IFN β -1a IM'ye göre daha immunojenik olduğu gösterildi. IFN β 'ya karşı gelişen NAb'ların atak hızı ve MRG aktivitesi temelinde terapötik etkinliği azalttığı izlendi. Bu çalışma sonuçları, BAb ve NAb'ların sıklığının, literatürdeki veriler kadar yüksek olmasa bile hastaların IFN β tedavisine yanıtız hale gelebileceklerini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Blokan antikor, interferon beta, multiple skleroz, nötralizan antikor

ABSTRACT

Impact of Binding and Neutralizing Antibodies on the Clinical and Radiologic Efficacy of Interferon Beta Treatment in Patients with Multiple Sclerosis

Kaya D, MD

Dokuz Eylül University, Department of Neurology

derya.kaya@deu.edu.tr

Purpose

Interferon beta (IFN β) is one of the first line of immune treatment options for multiple sclerosis (MS). Repeated IFN β injections may induce IFN β antibody production in some patients. Such antibodies are called binding antibodies (BAbs), which do not affect the biological activity of the molecule, and neutralizing antibodies (NAbs), which are associated with a decrease in the efficacy of the treatment. However, the influence of these antibodies are subject of an ongoing debate. The objective of this study is to assess the frequency of BAbs and NAbs, and to evaluate the impact of these antibodies, from the clinical and radiologic aspects in patients with MS.

Methods

One hundred and two MS patients, treated only with IFN β for at least 18 months, were included into the study. Samples were screened for BAb, using capture enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA), and NAbs were detected via Myxovirus protein A (MxA) messenger RNA (mRNA) induction assay (real-time polymerase chain reaction-PCR), first at the time of study and later, the following year. Relapse rate and Expanded Disability Status Scale (EDSS) were used to assess the clinical impact. Hyperintense lesions on T1-weighted

post-gadolinium sequences and T2 lesion volume were used as magnetic resonance imaging (MRI) parameters.

Results

Of 49 patients treated with IFN β -1b, 40.8 % were BAb positive at the beginning of our study, whereas of 40 patients treated with IFN β -1a SC, 15 % were BAb positive; and of 13 patients treated with IFN β -1a IM, 7.7 % were BAb positive. NABs were detected in 12.2 % of IFN β -1b treated patients, and in 7.5 % of IFN β -1a SC treated patients, but none of the IFN β -1a IM treated patients had detectable NABs. Persistent NAB positivity was found 5.2%. At least half of the persistent NAB positive patients were observed to have relapses during follow-up ($p=0.330$). The mean relapse rate difference was significantly higher in persistent NAB negative patients than in persistent NAB positive patients ($p=0.024$). There was no convincing effect on progression of disability. It was shown that persistent NAB positivity had no effect on T2 lesion volume and contrast enhancing lesions in MRI.

Conclusion

In this study, the frequency of NAB positive patients were lower when compared to other similar studies. This might be due to genetic features of Turkish MS patients or long-term efficacy of the drug. Consistent with the results to other studies, IFN β -1b was found more immunogenic than IFN β -1a SC, and IFN β -1a SC was more immunogenic than IFN β -1a IM. NABs produced against IFN β reduce the therapeutic benefits measured by relapses and MRI activity. Data from this study suggest that patients may become unresponsive to IFN β therapy even when the frequency of BAbs and NABs does not prove to be as high as those in the literature.

Key words: Binding antibody, interferon beta, Multiple sclerosis, neutralizing antibody

GİRİŞ VE AMAÇLAR

Multipl Skleroz (MS), beyinde ve spinal kordta multipl demiyelinizan alanlar ve skar (skleroz) ile karakterize olan santral sinir sisteminin (SSS) kronik nörolojik bir hastalığıdır. Hastalık genellikle genç erişkinlikte başlar ve kadınlarda daha sık görülür. MS, yaşam süresini kısaltmamasına rağmen hastalarda zaman içinde hastalığın ilerlemesiyle nörolojik disfonksiyona ve özürllük birikimine yol açar (1). Hastalığın en sık görülen formu ekzaserbasyon ve remisyonla giden relapsing remitting (RR) formudur. Ortalama 10 yıl sonra, hastaların yaklaşık %50'si (2) basamaklı kötüleşen özürllük ile karakterize sekonder progresif (SP) faza geçerler (3).

İnterferon beta (IFN β), MS'in uzun süreli koruyucu tedavisinde günlük kullanıma giren ilk moleküllerdendir (4). IFN β 'nin etkisi hücre yüzeyinde bulunan reseptörüne bağlanması ile başlar. İntrasellüler bir sinyal transdüksiyonu ile çok sayıda genin ekspresyonunda artışa ya da azalmaya neden olur. Bu nedenle, IFN β 'nin regüle ettiği genlerin mesajcı Ribonükleik asit (mRNA) ya da protein düzeyinde ekspresyonlarındaki değişiklikler, ilacın biyoaktivite belirteçleri olarak kullanılabilir. Myxovirus protein A (MxA) IFN β 'nin in vivo etkinliğini göstermekte kullanılan en iyi belirteçlerdendir (5,6). Bununla birlikte, IFN β gibi ekzojenöz proteinlerin tekrarlayan enjeksiyonları, blokan antikorların (BAb) ve nötralizan antikorların (NAb) gelişimine yol açabilir. Hem BAb'lar hem de NAb'lar IFN β molekülüne bağlanır. BAb'lar, IFN β 'nin reseptörle etkileşimini etkilemezken NAb'lar, interferonun reseptörüne bağlanmasını engeller (7). Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve klinik açıdan hastalık aktivitesinin değerlendirildiği birçok çalışmada NAb'ların, terapötik ajanın biyoaktivitesini azalttığı bildirilmesine rağmen (8-11), IFN β ile tedavi edilen MS hastalarında ilaca karşı gelişen antikorların rolü halen tartışmalıdır (12,13).

Bu çalışmada;

- 1- En az 18 aydan beri IFN β (IFN beta 1a ve 1b) kullanan RRMS ve SPMS'li hastalarda bir yıl ara ile BAb ve NAb gelişimini belirlemek,
- 2- BAb pozitif hasta grubu ile BAb negatif hasta grubu arasında a) çalışmaya alınma sırasında; b) Bir yıl sonra, atak hızı ve EDSS temelinde klinik açıdan hastalık tablosunda farklılık olup olmadığını saptamak,
- 3- NAb pozitif hasta grubu ile NAb negatif hasta grubu arasında a) çalışmaya alınma sırasında; b) Bir yıl sonra, atak hızı ve EDSS temelinde klinik açıdan hastalık tablosunda farklılık olup olmadığını araştırmak,
- 4- BAb pozitif hastalar ile BAb negatif hastalar arasında a) çalışmaya alınma sırasında; b) Bir yıl sonra, MRG incelemelerinde (T2 lezyon hacmi, kontrastlanan lezyon sayısı açısından) bu antikorların varlığının radyolojik açıdan fark yaratıp yaratmadığını incelemek,
- 5- NAb pozitif hastalar ile NAb negatif hastalar arasında a) çalışmaya alınma sırasında; b) Bir yıl sonra, MRG incelemeleri ile (T2 lezyon hacmi ve kontrastlanan lezyon sayısı açısından) bu antikorların varlığının radyolojik açıdan fark yaratıp yaratmadığını değerlendirmek,
- 6- Gerek klinik gerekse MRG'de kötüleşme olan hastalarda BAb'ların ve NAb'ların klinik ve MRG üzerine etkisinin olup olmadığını değerlendirmek,
- 7- Bir yıllık izlemde, blokan ve nötralizan antikorlardaki değişimleri (varolanların kaybolması yada yeni antikor gelişimi şeklinde) belirlemek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Multipl skleroz, genç erişkinlerde travmalardan sonra en sık görülen nörolojik özürllülük nedenidir (14). Batı ülkelerinde sık rastlanan, dünyada 1 milyondan fazla kişiyi etkileyen (15), klinik prezentasyonu ve seyri oldukça heterojen (16) bir hastalıktır. MS'in klinik paternleri uluslararası bir konsensus tarafından bildirilmiştir (3). Başlangıçta hastaların yaklaşık %85'i tam ya da tama yakın düzelmeye izlediği bir ya da birden fazla atak ile seyrederek. Bu klinik patern MS'in RR formu (RRMS) olarak adlandırılır. Ortalama 10 yıl sonra, tedavi edilmeyen hastaların yaklaşık %50'si sekonder progresif faza geçerler (SPMS) (2). Bu faz, ataklar olsun ya da olmasın adım adım kötüleşen özürllülük ile karakterizedir. Hastaların yaklaşık %10'u başlangıçtan itibaren progresif seyrederek. Bu klinik patern primer progresif MS (PPMS) olarak bilinir. Bir grup hastada ise hastalık başlangıcından 15 yıl sonra bile nörolojik fonksiyonların tama yakın korunduğu gözlenir ki bu durum benign MS olarak adlandırılır (3).

MS Patolojisi ve Patogenezi

Multipl sklerozun patolojik belirleyicileri, yaklaşık 160 yıl önce tanımlanmıştır (17). Hastalığın ana yapısal özellikleri olan; inflamasyonla ilişkili fokal demiyelinizasyon, skar oluşumu ve değişken aksonal hasarlanma Charcot tarafından tanımlanmıştır (18,19). Lezyonlar periventriküler beyaz cevher, optik sinir, serebellum, beyin sapı, servikal ve torokal spinal kordta yerleşmiştir. Yıllardır yapılan klasik histopatolojik çalışmalara ve son zamanlarda manyetik rezonans teknolojisinin yaygın kullanımına rağmen, MS lezyon oluşumu tam olarak anlaşılammıştır. Nasıl başladığı, zaman içinde nasıl değiştiği, klinik belirtilerle ve hastalık aktivitesinin diğer belirteçleriyle nasıl korele olduğu bilinmezliğini sürdürmektedir. Buna karşılık MS lezyonu terapinin ana hedefini oluşturmaktadır (17).

Multipl sklerozun temel patolojik özelliği, multifokal demiyelinizan plakların varlığıdır. Bu fokal miyelin hasarının olduğu alanlar, makrofajların ve T lenfositlerin egemenliğindeki inflamatuvar bir reaksiyonun zemininde genişler. MS lezyonları aktif ya da inaktif olarak sınıflandırılır (20). Lezyonlardaki makrofaj aktivasyonu ve miyelin proteinlerinin fagositozu, devam eden aktif demiyelinizasyonun güvenilir işaretleridir (21).

Kronik MS plakları miyelin yıkımının olmadığı, hücreden fakir, fibriler gliozisin baskın olduğu ve etraftan keskin bir çizgi ile ayrılan alanlardır. Bununla birlikte, özellikle perivasküler bölgede, değişen derecelerde inflamatuvar aktivite hala izlenir (17).

Nöropatolojik çalışmalar MS lezyonlarında remiyelinizasyon varlığını da açıkça göstermektedir. Kronik MS lezyonlarında remiyelinizasyon tam olmamasına ve genellikle demiyelinizan plağın kenarında sınırlı olmasına rağmen akut ve erken MS lezyonlarındaki plaklar geniş remiyelinizasyon alanları içerir ve bu plaklar ‘shadow’ (gölge) plaklar olarak adlandırılır. Remiyelinizasyonun genişliği, oligodendrositlerin ya da onların progenitör hücrelerinin varlığına bağlıdır. Bu remiyelinizasyon alanlarının ultrastrüktürel özelliği; akson yarıçapları ile orantılı uniformite gösteren ince myelin kılıflardır (17). Biyopsilerin elektron mikroskopik olarak incelenmesi; remiyelinizasyonun erken, hatta demiyelinizasyon ile eş zamanlı meydana gelebileceğini göstermiştir (22). Bununla birlikte, remiyelinizan alanlar demiyelinizan saldırının yeni hedefleri haline gelebilmektedir (23). Bu durum, MS lezyonunun evrilmesinde, süregelen patojenik ve tamir edici faktörler arasında dinamik bir etkileşim olduğunu düşündürmektedir.

Multipl Skleroz’un patolojisi üç farklı unsuru içerir: (i) inflamasyon (ii) demiyelinizasyon (iii) aksonal/nöronal hasar (nörodejenerasyon) (14, 24). Multipl skleroz birbiri içine geçen 2 fazı olan bir hastalıktır. Nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon eş zamanlı başlayan ve nörolojik özürülük ile sonuçlanan iki temel patolojik süreçtir.

(i) İnflamatuvar Otoimmün bir hastalık olarak MS

Multipl sklerozda miyeline karşı olan immün saldırı bir çok immün hücre tipinin koordinasyonu ile gerçekleşir. Bunlar hem doğal hem de kazanılmış immün sistem hücrelerini içerir. Doğal immün sistem; primitif bir sistemdir, antijene spesifik değildir ve örnek hücre tipleri makrofajlar ve dentritik hücrelerdir. Kazanılmış immün sistem ise antijene spesifiktir, T ve B lenfositleri kapsar. Bu lenfositlerin yüzeyinde eksprese edilen “major histocompatibility complex” (MHC) proteinleri tarafından bir antijenin spesifitesi belirlenir. Makrofajlar, yabancı antijenleri fagositoz ile yakalar ve sonra bu antijenleri uygun T hücre tipinin tanınması için hücre yüzeylerinde sunar (Antijen sunan hücre-APC). Bu durum, sitokin kokteylinin aracılık etmesi ile T hücresinin aktivasyonuna ve proliferasyonuna yol açar. Otoimmün

demiyelinizan hastalıkta, tanınan antijenin miyelin proteinleri üzerinde bulunan bir epitop olduğu düşünülür (16). MS’te T hücrelerinin otoreaktivitesinde yer alan miyelin proteinleri; myelin basic protein (MBP), miyelin oligodentrosit glikoprotein (MOG), myelin associated glikoprotein (MAG), proteolipid protein (PLP), α B-kristalin, transaldolaz, fosfodiesterazlar ve heat shock proteinleri (HSP) (25), astrosit antijenler (S100 protein) gibi non-miyelinik proteinler ile bazı endotelial antijenler ve nükleer faktörlerdir (26). Normalde, SSS’de sınırlı sayıda antijen-otoreaktif T hücre vardır. Genetik olarak MS’e yatkın bireylerde, henüz bilinmeyen mekanizmalarla ‘toleransın kırılması’ ile bu T hücreleri periferde muhtemelen moleküler benzerlik ile aktive olur. Moleküler benzerlik, otoantijenler ile ekzojen tetikleyiciler ya da self-antijenler ile mikrobiyal antijenler arasında paylaşılan epitopların tanınmasıdır. Birçok patojenin ve molekülün, moleküler benzerlik temelinde, miyelin reaktif T hücrelerini aktive etmeleri olasıdır. Birçok faktörle karşılaşmanın, ortak bir biçimde sonlanması (MS patolojisini oluşturmak için SSS’ye giren miyelin reaktif T hücrelerinin aktivasyonu); MS’in patogenezi, sınırlı nedenlere bağlamanın niçin zor olduğunu açıklar. Buna karşın, birçok patojen tarafından moleküler benzerlik yoluyla miyelin reaktif T hücrelerinin aktif hale gelebilmesi, MS eksaserebasyonlarının enfeksiyonlar ile ilişkisini açıklamaya yardımcı olabilir (27).

Sonrasında, otoreaktif T hücrelerin, kan beyin bariyerinden (KBB) migrasyonu ve beyne ve spinal korda invazyonu gerçekleşir (15). T hücreleri başlangıçta kendilerine sunulan bir antijenin epitopunu tanıırken, zamanla aynı antijenin diğer epitoplarını hatta diğer antijenlerin epitoplarını, tanı hale gelir ki bu fenomen epitop yayılması (epitop spreading) olarak tanımlanır (28).

T hücrelerinin SSS’ye geçişi ardıl mekanizmalar ile oluşur. Lökositler kanda yüksek hızda akmaları nedeniyle, ilk olarak, endotelial çizgi üzerine tutunabilmelidir (adezyon). Bu hem T hücreleri hem de endotelial hücreler üzerinde eksprese olan adezyon moleküllerinin etkileşimleri ile meydana gelir (29). Bu nedenle, sadece T hücreleri değil, aynı zamanda endotelial hücreler üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonu da up-regüle olur (30). Lökositlerin yuvarlanması, adezyonu ve diapedezi vasküler hücrel adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ile çok geç aktivasyon molekülü-4 (VLA-4) ve hücrelerarası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ile lenfosit fonksiyonu ilişkili antijen 1 (LFA-1)’in etkileşimleri aracılığı ile olur

(17). Lökositler tutunup, endotelial bariyerden geçtikten sonraki ikinci adım, kan damarlarının dışında bulunan bazal membranların degradasyonuna ve yeniden biçimlendirilmesine aracılık eden proteazların ekspresyonudur. Bu süreçte, matriks metaloproteazlar (MMP) olarak adlandırılan bir proteaz ailesi (31), özellikle MMP-9 (32) rol alır. MMP'lerin miyelin komponentlerinin proteolizi ve sitokin (örn. TNF- α) üretiminin regülasyonu gibi başka fonksiyonları da vardır ve olasılıkla apoptotik hücre ölümünün regülasyonunda da rol alır (33). MMP'ler ve MMP'lerin doku inhibitörleri (TIMPs) MS'li bireylerin serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) bulunur, plaklarda eksprese edilir (34,35). MMP-9 RRMS'li hastalarda daha yüksek olabilir ve inflamasyonun MRG'deki belirteçleri ile korele olabilir (36). Relaps hızını ve şiddetini azaltan beta interferonlar MMP-9'un potent inhibitörüdür ve T hücre infiltrasyonu ve sitokin üretimini sınırlayabilir (37). Son olarak kemokinlerin ekspresyonu; T hücrelerinin olay yerinde toplanmasını sağlar (17).

Santral sinir sistemi içinde reaktif olan T hücreleri, pro-inflamatuvar T helper (Th)-1 sitokinleri üretir ve sitotoksik maddeler sekrete eden B lenfositler ve makrofajlar gibi birçok hücre tipi ile birlikte miyelin kılıf hasarını yönetir (15). Hasar yönetimini biraz daha açacak olursak, SSS içinde bir kez aktive olan T hücreler, antijen sunan bir hücre (makrofaj ya da mikroglia) ile karşılaşır. Antijen sunan hücreler, yüzeylerinde HLA Class II molekülü ve uygun kostimulatörler bulundurur. Üçlü kompleks (T hücre reseptörü, antijen ve HLA Class II molekülü) oluştuğu zaman, CD4 Th1 hücreleri; interferon gama (IFN γ), tümör nekroz faktör (TNF) alfa, interlökin (IL)-1, IL-2, IL-12, IL-23 gibi proinflamatuvar sitokinler ile kemokinler üretir. Açığa çıkan bu sitokinler ve kemokinler, T hücrelerin klonal proliferasyonunu uyarır, makrofaj ve mikroglialara saldırır ve aktive eder ki bu suretle immunolojik bir yanıt başlatılmış olur. CD4 Th2 ve Th17 lenfositler ise, IL-4, IL-6, IL-10, transforming growth faktör (TGF) gibi immun sistemin proinflamatuvar durumunu down regüle eden, B hücre proliferasyonunu uyararak ardıl antikor ürünlenmesi ile sonuçlanan antiinflamatuvar sitokinleri üretir (38-40). Bu proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki denge ile immun reaksiyonlar düzenlenir. Ek olarak, supressör T lenfositler (CD8+) ve natural killer reseptörü eksprese eden T hücreleri, Th lenfositlerin proliferasyonunu azaltır (antiertotipik yanıt) ve aktivasyonu inhibe eder (antiidiotipik yanıt); böylece inflamasyona karşı regülasyona katkıda bulunmuş olur (38,39).

(ii) Demiyelinizan bir hastalık olarak MS

Lucchinetti ve arkadaşlarının 1999'da ve 2000'de çok sayıda aktif MS lezyonuyla yaptıkları ayrıntılı nöropatolojik çalışmalar; hastadan hastaya ya da hastalık alt tiplerine göre değişen, birbirinden farklı patojenik mekanizmaların olduğunu göstermiştir (41,42). Lezyon profillerindeki heterojenite, gerek genetik çalışmalarla gerekse MRG ve MR spektroskopisi (MRS) çalışmalarıyla desteklenmektedir (17). Bu heterojenite, MS lezyon patolojisinin merkezinde yer alan demiyelinizasyonda görülür (43). Her hastada farklı bir patern görülürken, aynı hastanın bir çok aktif plakları benzer görünümündedir (17). Dört farklı demiyelinizasyon paterni tanımlanmıştır (Şekil 1) (42,43)

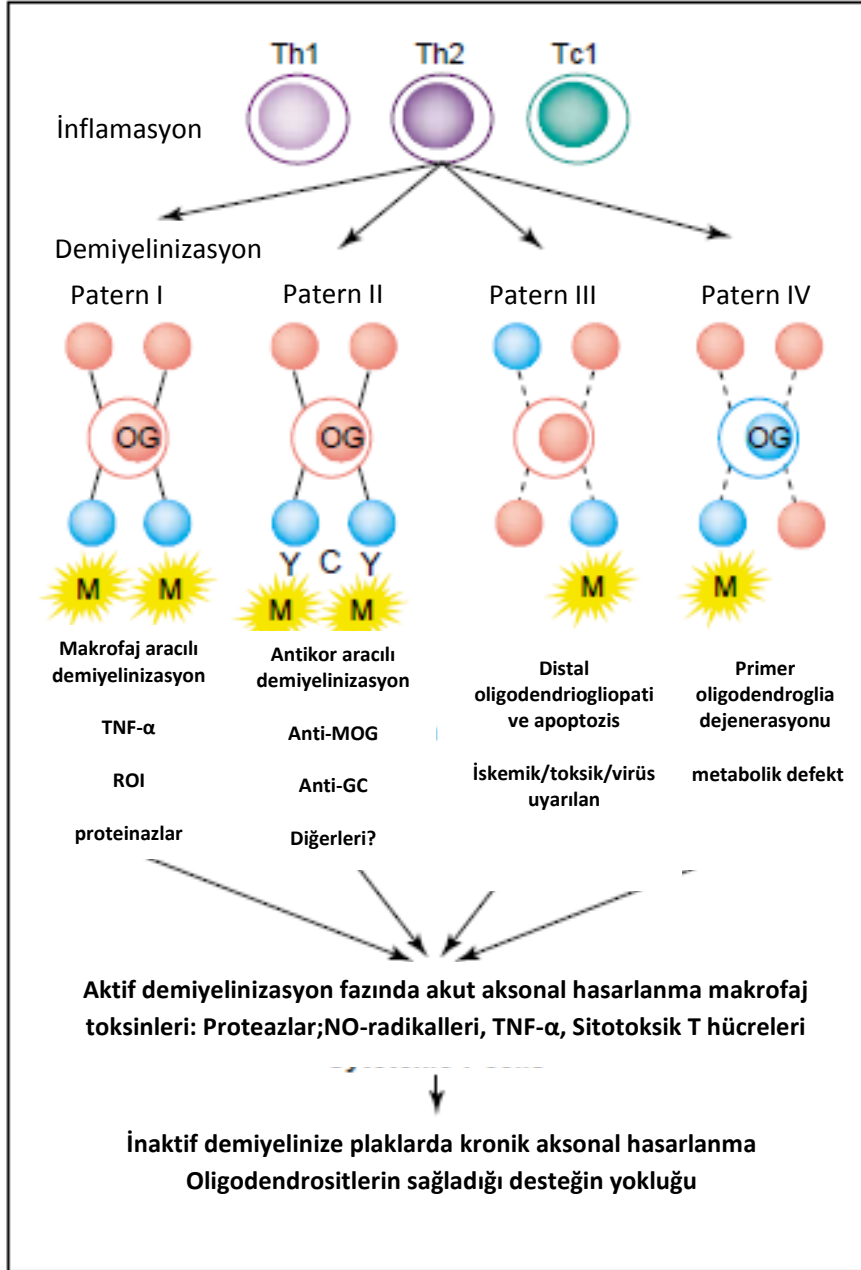
Tanımlanan bu dört patern:

Patern I: T hücre ve makrofaj aracılı demiyelinizasyon (%12)

Patern II: Kompleman aktivasyonunu içeren antikör aracılı demiyelinizasyon (%53)

Patern III: Distal oligodendriogliopati, oligodendrosit apoptozu (%30)

Patern IV: Primer oligodendrosit dejenerasyonu (%4) şeklinde özetlenebilir.



Şekil 1: Multipl skleroz lezyon oluşumunda rol alan patogenetik mekanizmaların özeti (43)

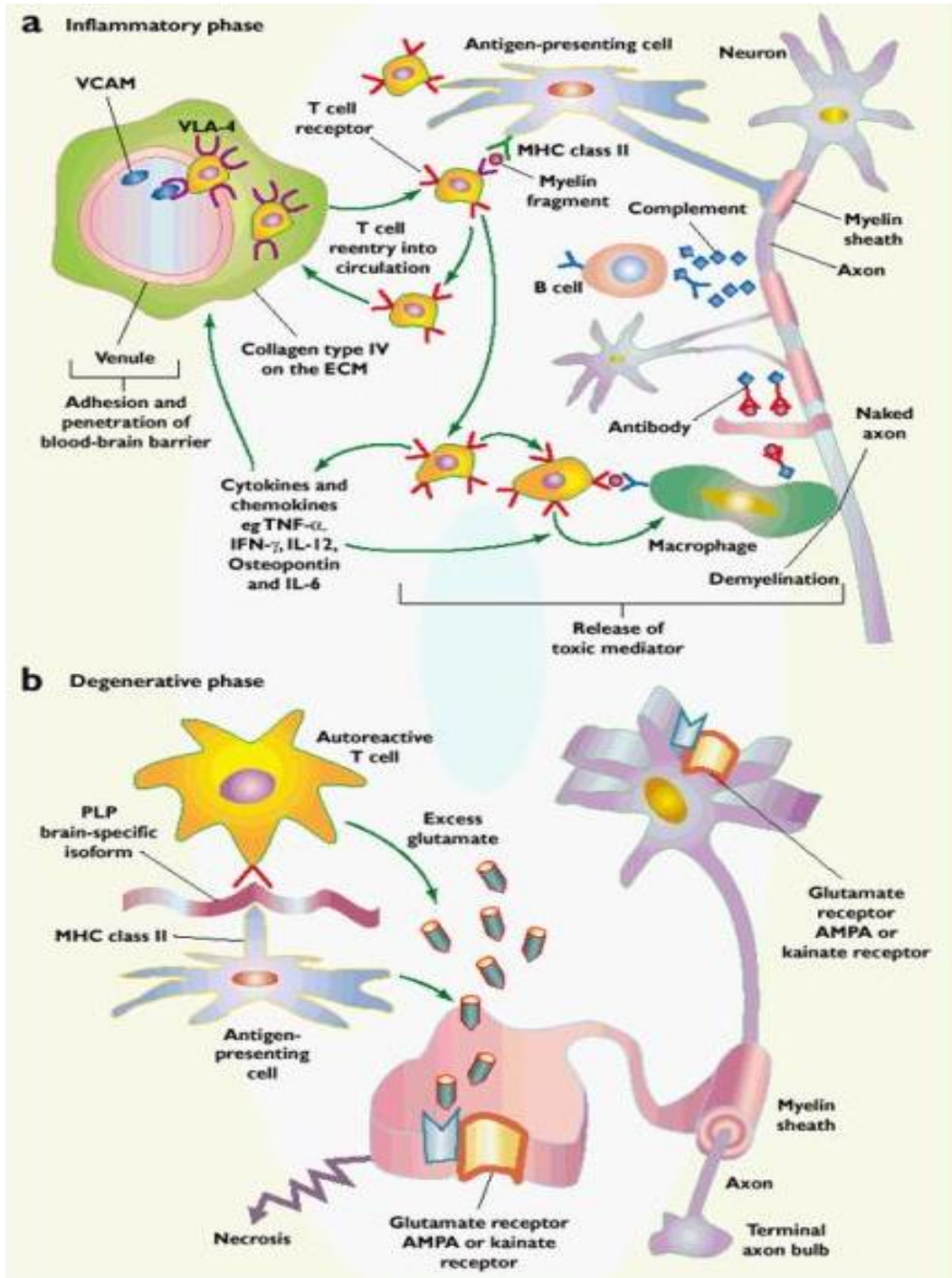
MS plaklarındaki heterojen patojenik komponentlerin tanınması, MS hastalarının inflamasyon, demiyelinizasyon ve doku hasarının ortak mekanizmalarının daha küçük alt gruplar halinde sınıflandırılmasına ve böylece etkili öznel sagaltımların da alt gruplara ayrımlanmasına olanak sağlayabilir (17).

Diğer yandan, MS`te akut dönemde yapılan patolojik incelemeler, MS`in spesifik miyelin antijenlerine karşı oluşan primer otoimmün bir hastalık olduğu geleneksel görüşüne meydan okumaktadır. Barnett ve Prineas (2004) yeni şekillenen lezyonda en erken değişikliğin OG apoptozu olduğunu belirledi ve doku zedelenmesinin ardıl sistemik immün yanıtla arttığını öne sürdüler. MS patolojisinin aylar-yıllar içinde değişim gösterdiğini, hastalığın geç fazına eşlik eden değişikliklerin inflamatuvar yanıtın progresif olarak SSS`ye kompartmantalize olması ve zamanla sistemik etkilerden izolasyonu ile eşlik ettiği görüşünü getirdiler (44). Bu yeni paradigma MS patogenezi konusundaki bilgilerin yeniden gözden geçirilmesine yol açmıştır.

(iii) Nörodejeneratif bir hastalık olarak MS

Son dönemlerdeki patolojik çalışma sonuçları, demiyelinizasyonla ilişkili olan otoagresif inflamatuvar faza paralel olarak, geriye dönüşümsüz özüllükten sorumlu olan aksonal kaybın, hastalığın erken dönemlerinde bile başlayabildiği, hastalık ilerledikçe baskın patojenik mekanizma olduğu bildirilmiştir (24,45-47). Bununla birlikte, aksonal hasarın makrofajlarca ya da sitotoksik T hücrelerince yürütülen primer aktif destrüktif bir işleminin bir sonucu mu yoksa demiyelinizasyona sekonder patolojik bir cevap mı olduğu henüz kesin olarak bilinmemektedir (45) (Şekil-2). Alternatif olarak, MS`te aksonal kaybın, demiyelinizasyondan bağımsız bir şekilde, primer nörodejeneratif bir nedenle de olabileceği sorgulanmaktadır (47).

Aksonal hasarın artmış kalsiyum girişini takiben artan membran geçirgenliği ile başladığı; aksonal transportun kesintiye uğraması ile hücre iskeletinin değiştiği, bundan dolayı aksonal şişme ve lobülasyon olduğu ve son olarak bağlantının bozulduğu bildirilmiştir (48). MS`te görülen aksonal patolojinin yaygınlığı ve derecesi, MS`li bireyler arasında oldukça değişkenlik gösterir, bu değişkenlik inflamatuvar sürecin şiddetine bağlı gibi görünmektedir. Bununla birlikte, aksonal hasara katkısı olan diğer faktörler, demiyelinizasyonun spesifik patojenik mekanizmalarına ve olasılıkla kişilerarası heterojeniteye bağlıdır (17).



Şekil 2: Multipl Sklerozun iki yüzü (49)

MS'te Tedavi Yaklaşımları

MS'te tedavi, relapsların tedavisi, uzun dönem immunomodülatör ya da immünoşpresif tedaviler ve semptomatik tedaviler olmak üzere üç ana unsurdan oluşur (50).

Relapsların tedavisi

Relaps tedavisinin temel taşı, 1990'ların ortalarından bu yana kortikosteroidlerdir. Bu amaçla 1000 mg metilprednizolonun (MP) 3-5 gün süreyle intravenöz yolla uygulanması önerilir (51).

Plazmaferezin, MS'in uzun dönem klinik gidişini değiştirmesi ile ilişkili bilinen bir rolü yoktur. İlk kez Weinshenker ve O'Brien (1999) kortikosteroide yanıt vermeyen bir grup ağır MS'li hastada plazmaferez uyguladılar ve hastaların %42'sinde iyi sonuçlar aldıklarını bildirdiler (52).

Uzun dönem tedaviler

RRMS'te immünoşojik aktiviteyi etkilemenin anlamı; aktif inflamasyonu baskılayarak miyelin ve aksonal hasarı önlemek, böylece özürölülüğü engellemektir. Yıllarca, bir dizi immünoşpresif ajan bu amaçla kullanılmıştır. Jeneralize immün disfonksiyon yapan ve yararlı etkileri olan bu ajanların kullanımı sistemik yan etkileri nedeniyle kısıtlıdır (15).

Bin dokuz yüz doksanlarda iki sınıf immunomodülatör ajan RRMS tedavisi için kullanıma girmiştir. Bunlar; interferon beta (IFN β 1a ve IFN β 1b) ve glatiramer asetat (GA)'tır (53). İmmunomodülatörler, proinflamatuvar otoimmün durumlardan (otoreaktif T hücrelerden salınan Th 1 sitokinler aracılı) antiinflamatuvar bir çevre (regülatuvar T hücrelerden salınan Th 2 sitokinler aracılı) oluşması için immün cevapların yön değiştirmesine neden olur (54).

Glatiramer asetat (Copaxone®), RRMS'in uzun dönem tedavisi amacıyla 1996'da onay alan MBP'in sentetik analogudur (55). EAE yaratmak amacıyla tasarlanan bu molekülün, tam tersine HLA-DR moleküllerine bağlanabilmek için MBP ile yarışmakta olduğunun saptanması üzerine GA, MS'te bir tedavi seçeneği olmuştur (55,56). Günümüzde interferonlar ile birlikte ilk basamak tedavisi olarak kullanılmaktadır (57). GA'nın, T hücreleri düzeyindeki immunomodülatör aktivitesinden başka, ikinci etki mekanizması, SSS'de hasarlanan akson ve

nöronal hücre gövdeleri üzerine, bazı nörotrofik faktörlerin ekspresyonunu modüle etmek suretiyle gösterdiği nöroprotektif etkidir (57).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, Natalizumabın, RRMS'te T lenfositler üzerinde eksprese edilen bir adezyon molekülü olan α 4-integrine bağlanarak T hücre migrasyonunu engelleyen, atak hızı ve MRG aktivitesi üzerine oldukça etkili olduğunu göstermiştir (58).

SPMS'te hastalığı modifiye edici ajanların etkisi sınırlıdır. IFN β 'lardan sadece IFN β 1b'nin Avrupa çalışmasında, özür lülüğün başlangıç zamanını geciktirdiği bildirilmiştir (9). Diğer yandan kanıta dayalı tedavi yaklaşımı ile (15), MS'teki etki mekanizmasının immünomodülatör mekanizmalarla benzer olduğu bildirilen mitoksantron (59), MS'in malign formlarında ilk sıra, kötüleşen RRMS (60) ve SPMS'te ikinci sıra ilaç olarak kullanılmaktadır (61).

Kladribin, Fungolimod, laquinimod, teriflunomid, minosiklin, östriol, statinler gibi oral ajanlar; intravenöz immunosüpresan (Pizantrone); monoklonal antikolar (rituksimab, alemtuzumab, daklizumab, AB-874) gibi bazı ajanlar ise yakın bir gelecekte kullanıma girecek olan ve umut vadeden tedavilerdir (62).

Semptomatik MS lezyonlarının içine uygulanan schwann hücre transplantasyonunun; biriken defisitleri geri çevirip çeviremeyeceğine ilişkin çalışmalar devam etmektedir (63).

MS ekzaserbasyonlarının %40'ı kalıcı nörolojik disfonksiyon ile sonuçlanır (64). Mesane barsak disfonksiyonu, tremor, yorgunluk gibi günlük yaşam kalitesini bozan bu semptomların tedavisi farmakolojik tedaviler yanında rehabilitasyon, egzersiz, hayat tarzı ve çevre modifikasyonu gibi nonfarmakolojik yaklaşımların kombinasyonunu gerektirir (65).

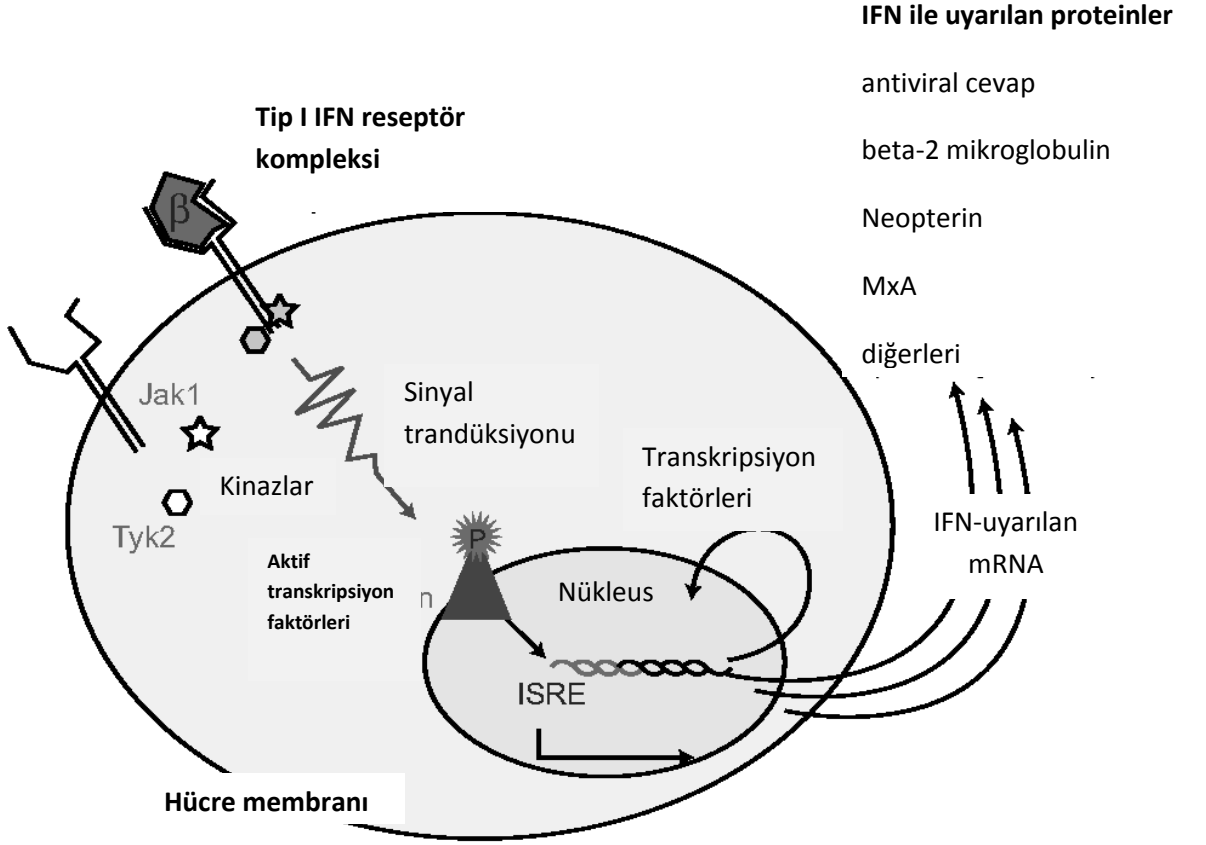
Beta İnterferonlar

Multipl skleroz bugün için nedeni kesin olarak bilinmeyen ve bu nedenle kesin tedavisi olmayan bir hastalık olmakla birlikte, günümüzde RRMS'in ilk basamak tedavisi , 1990'lı yıllarda büyük klinik çalışmaların yayınlanması öncülüğünde geliştirilen immunoomodulator GA ve IFN β 'dür. İnterferonlar bu konuda günlük kullanıma giren ilk moleküldür (4). Üç büyük plasebo kontrollü, çift kör, randomize çalışma, interferonlarla ataklarda %18- %32 oranlarında azalma sağladığını göstermiştir (66-68). RRMS'te IFN β 'nın atak sıklığını azalttığı, atak başlangıcını geciktirdiği, kalıcı özür lülük birikimini ve MRG'de kontrast tutan lezyon sayısını azalttığı sayısız çalışmalarla kanıtlanmıştır (66-72).

İnterferon Beta'nın Etki mekanizması

Doğal immun sistemin bir parçası olan interferon beta, hücre içi bir sitokin olup T/B lenfositler, makrofajlar, endotel hücreleri, fibroblastlardan sentezlenir ve antiviral savunmada önemli bir aracı moleküldür. Bu antiviral aktivite, molekülün MS tedavisinde kullanılmasının başlangıç noktasını oluşturmuştur (73). IL-10 gibi immünomodulator faktörleri up-regüle etmesi MS tedavisindeki etki mekanizmasının, immünomodulator olduğunu düşündürmüştür (74). Bunun yanı sıra MMP blokajı ve adezyon moleküllerinin up regülasyonunun blokajı gibi etkileri KBB'inin geçirgenliğinin inhibisyonu için özellikle önemlidir (75). Daha ötesi, IFN β 'nın antiproliferatif aktivitesidir. Tüm bunlar bir orkestra bütünlüğü ve düzeni içinde hareket eder ve MS'teki patolojik immun cevabın yön değıştirmesini sağlar (76).

IFN β hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlandıktan sonra, hücre içinde çeşitli genleri aktive ederek sentez ettirdiğı çeşitli protein ve sitokinler aracılığı ile immun düzenleyici etki gösterir. IFN β hücre yüzeyinde interferon reseptörü 1 ve 2'ye (Tip-I IFN reseptör kompleksi) bağlanır, tirozin kinaz fosforilasyonu sonucu sinyal transdüksiyonuna neden olan aktif bir sinyal kompleksi oluşur. Fosforillenmiş tirozin kinazlar, STAT gibi transkripsiyon faktörlerini aktive eder, sonuçta bir takım proteinlerin translasyonu gerçekleşir (77) (Şekil 3). Bu kaskat interferon aktivitesi ile ilişkili olan ve kan örneklerinde biyoaktivite ölçümlerinde kullanılabilecek ürünleri açığa çıkarmış olur. Bunlardan bazıları 2',5'-oligoadenilat sentetaz, β 2-mikroglobulin, **Myxovirus protein A (MxA)**, neopterin, çözünebilir hücre adezyon molekülü (sVCAM) ve interlökin-10 gibi moleküllerdir (77).



IFN = Interferon; ISRE = Interferon-stimulated response element; Jak1 = Janus kinase 1; Tyk2 = Tyrosine kinase 2.

Şekil 3 : IFNβ'nın olası etki mekanizması (78)

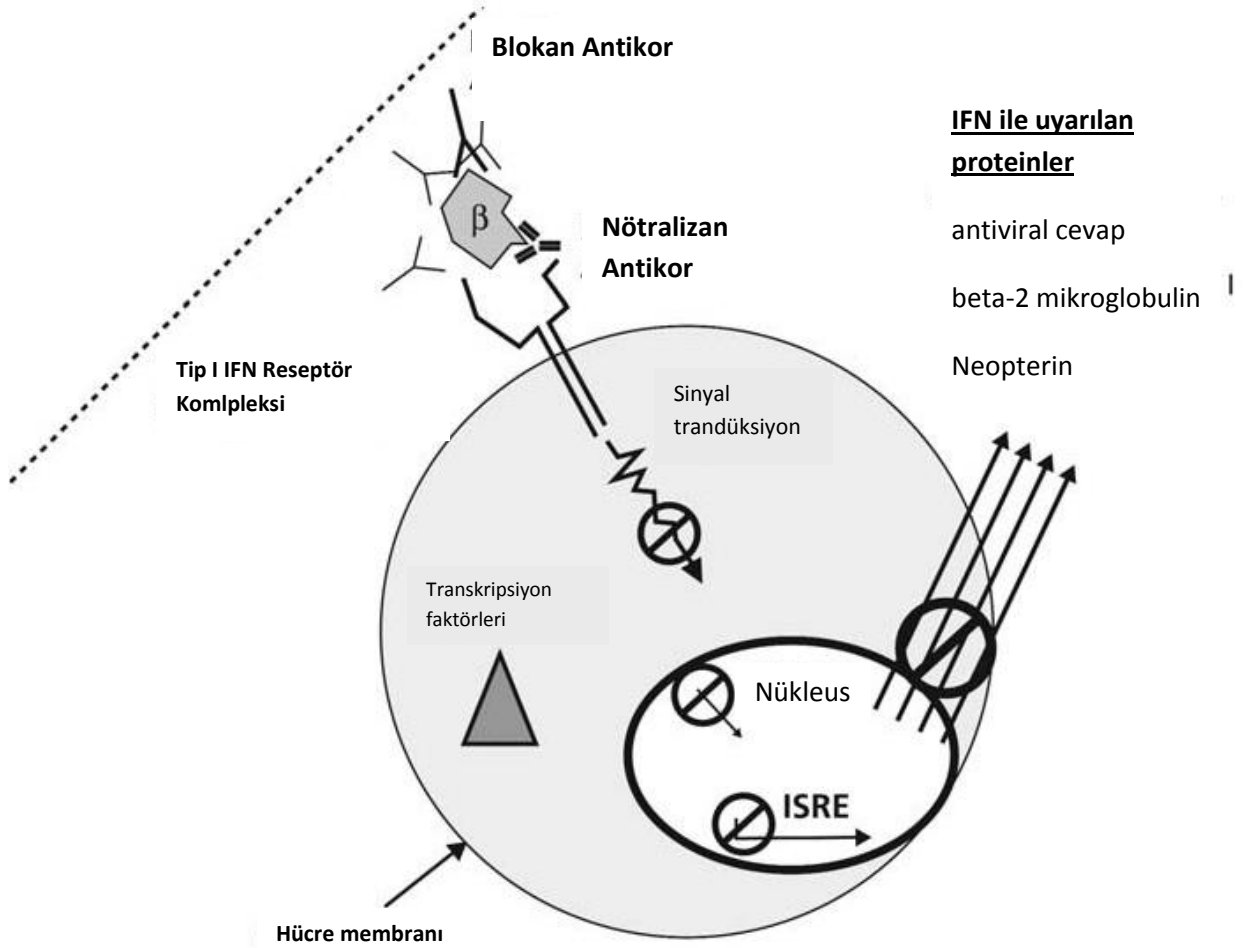
Günümüzde MS tedavisinde üç IFN β preparatı kullanılmaktadır, bunlar; IFN β -1b 250 μ g günde bir subkutan (SC) uygulama (Betaferon®-Betaseron®), IFN β -1a 30 μ g haftada bir, intramusküler (IM) uygulama (Avonex®) ve IFN β -1a 22-44 μ g haftada üç gün subkutan (SC) uygulama (Rebif®)'dir. İnterferon beta-1a, çin hamsterlerin ovaryal hücrelerinde üretilen rekombinant bir interferondur. İnterferon beta-1b ise Esherihea coli'de (E. coli), glikolize olmamış, N- terminal metiyonin içermeyen ve 17. pozisyondaki sistein yerine serin rezidüsü olan rekombinan DNA teknolojisi ile üretilen bir interferondur (79). Biyoteknolojideki ilerlemelere rağmen, organizma içine enjekte edilen tüm yabancı proteinlere karşı antikorlar oluşabildiği için İnterferon beta tedavisi sırasında da antikorlar gelişmektedir (7).

Blokan ve Nötralizan Antikorlar

İnterferon beta gibi ekzojenöz proteinlerin tekrarlayan enjeksiyonları (değişen sıklık, doz ve uygulama yolu ile) gibi antijenik uyarılar, blokan (BAb) ve nötralizan (NAb) antikorların gelişimine yol açabilir. Hem BAb'lar hem NAb'lar IFN β molekülüne bağlanır. BAb'lar, IFN β molekülüne değişik lokalizasyonlarda bağlanabilir, molekülün reseptörle etkileşimini etkilemez, ancak bazı karşılıklı etkileşimler sonucunda bu bağlanan antikordardan, interferon reseptörüne bağlanmayı engelleyen bir alt grup antikorlar da oluşur ki bunlar NAb'lardır (7). IFN β 'nın interferon reseptörü ile etkileşmesini önleyen NAb'lar terapötik ajanın biyoaktivitesini azaltır (80,81) (Şekil 4).

Blokan antikor gelişimi, NAb gelişiminden öncedir, bir süre sonra aynı hastada sıklıkla her iki antikor da bulunur. BAb'lar ayrıca, hiçbir zaman NAb eksprese etmeyecek olan hastalarda da saptanabilir. Bununla birlikte, NAb'lar BAb negatif kişilerde oluşmaz (82). Bu antikorların, IFN β tedavisinden ne kadar sonra geliştiği ve pik yaptığı ile ilgili bilgiler farklıdır. BAb gelişiminin, IFN β -1b ile tedavi başlangıcından sonra en erken bir-üç ay sonra olduğu ve dört-altı ayda pik yaptığı; NAb ekspresyonunun ise tedavinin 13-18. aylarında pik yaptığı bildirilmiştir (83). Ayrıca, pik sürelerin BAb için 12. ayın sonu ; NAb için ise 15. ay olduğu başka bir çalışmada bildirilmiştir (84). BAb ve NAb gelişimi terapötik ajana bağlıdır; IFN β -1b, IFN β -1a daha immunojendir (85). Oluşan NAb'lar kalıcı olabileceği gibi bir süre sonra kaybolabilir. Geçici süreyle bulunan NAb'ların negatif duruma dönüşme eğiliminin, düşük titrede pozitif olmaları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (86).

Klinik çalışmalarda, NAb pozitifliği %2-47 arasında değişiklik gösterirken (87), BAb pozitifliğinin en az 3 aydır interferon beta kullanan hastaların %78'inde görüldüğü bildirilmiştir (88).



Şekil 4: IFNβ'ya karşı gelişen blokan (BAb) ve nötralizan antikorlar (NAb) ve NAb'ların IFNβ'ya bağlanması ardından indüklenen proteinlerin inhibisyonu (81).

Blokan ve Nötralizan Antikorların Klinik ve Radyolojik Bulgular Üzerine Etkileri

MS hastalarında kullanılan IFN β 'ya karşı gelişen antikorların bir grubu ilacın etkinliğini azaltabilmekte, bu durum hem kliniğe hem de MRG incelemelerine yansıtılabilmektedir (50). IFN β 1a SC enjeksiyon formunun faz III çalışmasında ilk 2 yıl içinde Nab pozitif ve Nab negatif grup arasında hastalık aktivitesi açısından anlamlı fark saptanmamakla birlikte, tedavinin üçüncü ve dördüncü yılından sonra Nab pozitif grupta atak hızında, MRG'de ortalama T2 aktif lezyon sayısında ve total lezyon yükünde artış saptanmıştır (11,89). Tedavinin dördüncü yılından sonra NAb varlığının, EDSS'deki 1 puanlık progresyon ile ilişkili olduğu bulunmuştur (89). Polman ve arkadaşları (2003), IFN β -1b Avrupa Çalışma'sında, SPMS'li hastalarda NAb durumu ile EDSS ile ölçülen hastalık progresyonu arasında ilişki olmadığını bildirmiştir (9). Aynı çalışmada atak hızı açısından, Nab pozitif ve Nab negatif olgular arasında çalışma süresince fark saptanmamıştır (9). Çalışmalardaki sonuçlar, farklı yöntem ve standartlardan elde edildikleri için direk karşılaştırılmaları zordur. Bu nedenle, NAb'ların rolünü belirlemek ve klinik pratiğe uygulamak çok kolay değildir (50).

IFN β 'ya verilen biyolojik yanıt, IFN β tedavisini değerlendirmek için hassas bir son nokta oluşturur. NAb varlığının, IFN β 'nın biyolojik belirteçler üzerindeki etkisini sonlandırdığı gösterilmiştir (90). Rudick ve arkadaşları (1998) NAb titresi ile bir biyolojik yanıt belirteci olan neopterin arasında ters korelasyon bulmuştur (71). Benzer bir ilişkinin, yalnızca HIV ve Tip 1 interferonlar tarafından oluşan stimülasyon sonrası eksprese edilen (91,92) ve bu nedenle de IFN biyoaktivitesi için spesifik olduğu belirtilen Miksovirus protein A (MxA) ve NAb arasında olduğu bildirilmiştir (93).

Pachner ve arkadaşları (2005) ile Bertolotto ve arkadaşlarının (2001) in vitro MxA messenger RNA (mRNA) düzeylerini kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) ile çalıştıkları araştırmalarda, NAb düzeyleri yükseldikçe MxA ekspresyonunda azalma olduğu gösterilmiştir (5,94). Diğer yandan Hemmer ve arkadaşları (2005) in vitro MxA testlerindeki cut-off değerinin seçiminin NAb'ların kliniğe etkilerini değerlendirmede önemli olduğunu bildirmişlerdir (87).

Bu antikorları değerlendirmek için standardize edilmiş ve genel kabul görmüş bir yöntem henüz yoktur. Teknikler pozitif yanıtın ne olduğunu tanımlar, örnek alımı arasındaki zaman aralığı gibi merkezden merkeze değişkenlik gösteren unsurlara bağlıdır. NAb'lara kıyasla BAb'lar, ELISA, radioimmuno-precipitation assays (RIPA) ve western blot kromatografi gibi standardize edilmiş çeşitli yöntemlerle ölçülebilmektedir (95).

GEREC VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Mayıs 2008-Ekim 2009 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Nöroloji Anabilim Dalı ve Radyoloji Anabilim Dalı tarafından multidisipliner bir şekilde, prospektif olarak gerçekleştirildi. Çalışmaya DEÜTF Nöroloji AD Multiple Skleroz biriminde takip edilen Poser (96) ve McDonald kriterlerine (97) göre MS tanısı almış 102 hasta dahil edildi. Çalışmanın, Helsinki Deklarasyonu Prensiplerine uygunluğu DEÜTF Hastanesi etik kurulu tarafından onaylandı. Etik Kurul yönergelerine uyularak çalışmaya alınan tüm hastalar bilgilendirildi ve onamları **EK-1** de verilen formlar kullanılarak alındı.

Olgular

Çalışmaya alınan hasta grubunu; en az 18 ay süreyle IFN β tedavisi altında olan RRMS (n=98) ve en az 18 ay süreyle IFN β tedavisi kullanıp immunosupresif tedavi uygulanmayan SPMS (n=4) olguları oluşturmaktaydı.

Çalışmaya aşağıdaki kriterlere uygun hastalar alındı:

- 1) 18-55 yaş arasında olma
- 2) Poser (1983) ve McDonald kriterlerine (2001) göre MS tanısı almış olma
- 3) Atak döneminde olmama
- 4) En az üç aydan beri kortikosteroid tedavisi almamış olma
- 5) Çalışmadan üç hafta önce ya da sonra viral ÜSVE geçirmemiş olma
- 6) IFN β başlanma zamanından üç ay önceye kadar ve yıllık kontrollerinde eksiksiz klinik ve MRG verilerine sahip olma
- 7) Araştırmaya uyum gösterme

Atak kriteri olarak, 24 saatten uzun süren, var olan bulguların artması ya da yeni nörolojik bulguların eklenmesi ile EDSS skorunda bir puanlık artış saptanması kabul edildi.

Çalışmada;

- 1) Primer progresif gidişe sahip olan olgular
- 2) İmmunosupresan (azatiyopürin, metotreksat, mitoksantron) tedavi almış olan olgular
- 3) Altı ay öncesine kadar intravenöz immünoglobulin (IVIG) ya da plazmaferez uygulanmış olan olgular
- 4) Atak nedeniyle üç ay içinde kortikoterapi alan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Klinik Değerlendirme

Çalışmada klinik değerlendirme, EDSS puanlamasına (98) ve atak hızına göre yapıldı. Hastaların çalışmaya alındıkları sıradaki ve bir yıl sonraki hastalık durum değerlendirilmesi, kan alınma günü ile aynı gün yapılan EDSS puanlaması ile belirlendi. IFN β öncesi atak hızı, tedavi başlamadan önceki iki yılda geçirilen atak sayısının ikiye bölünmesi ile, IFN β sonrası atak hızı ise tedavi başlangıcından sonraki iki yılda geçirilen atak sayısının ikiye bölünmesi ile elde edildi. Ayrıca tüm olgularda çalışma süresi olan bir yıl içindeki tüm ataklar kaydedildi. Olguların demografik özellikleri Tablo 1’de sunulmuştur.

Blokan Antikor ve Nötralizan Antikor Tayini

Çalışma kriterlerine uygun olan tüm olgulardan çalışma süresi boyunca bir yıl arayla toplam iki kez kan alındı. Olgulardan, IFN β enjeksiyonunu takip eden 12. saatte BAb ve NAb analizleri için biyokimya ve “PAXgene blood RNA” tüplerine (PreAnalytix GmbH, Hombrechticon, CH) sırasıyla 9 ml ve 2.5 ml kan alındı.

Blokan Antikor Tayini

Paxgene örnekleri ile eş zamanlı olarak biyokimya tüplerine alınan kan, oda sıcaklığında dik pozisyonda 45 dakika bekletildikten sonra 3500 rpm`de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri çalışma gününe kadar $\leq -20^{\circ}\text{C}$ `de saklandı. IFN β -1a ve IFN β -1b`ye karşı gelişen blokan antikorlar, IFN β `ya özgün bir enzim immunoassay (EIA) kiti (Bühlmann Laboratories AG, Switzerland) kullanılarak talimatlar doğrultusunda ölçüldü. Kullanılan kitin, daha önceden doğal insan IFN β , rekombinan (r) IFN β -1a ve rIFN β -1b karışımı ile kaplanmış 96 kuyucuk mikrotitre ‘plate’leri içermesi nedeniyle; bu yöntem her üç tipteki IFN β preparatına karşı gelişen BAb`ların doğrudan ölçülmesine imkan vermekteydi. Talimatın önerisi doğrultusunda iki kontrol (biri yüksek, diğeri düşük titrede) ve dört BAb standardı (20-500 Bühlmann Titer Unit/BTU standart aralığında) eş zamanlı olarak kullanıldı.

Blokan antikor varlığı tayini için, önceden kaplanmış plate, yıkama solüsyonuyla yıkandıktan sonra 1:50 oranında seyreltilmiş 100 μL serum örnekleri, kontroller ve standartlarla 4°C `de iki saat süreyle inkübe edildi. Ardından, plate tekrar yıkandı, her bir kuyucuk 100 μL anti-human IgG-conjugated horseradish peoksidase antikoruna ile yine 4°C `de iki saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış antikorları uzaklaştırmak için plate yıkandı. Enzim etiketli (labeled) antijen-antikor kompleksinin miktarı, her bir kuyucuğa 100 μL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin substratı eklenerek kromojenik reaksiyonla ölçüldü. Bu reaksiyon otuz dakika sonra, 100 μL 0.25 M H₂SO₄ kullanılarak durduruldu ve her bir kuyucuğun optik dansite (OD) uniti 450 nm de spektrofotometrik okunarak elde edildi. Talimatın önerisi doğrultusunda 50 Bühlmann Titer Unit (BTU) ve üstü değerleri BAb pozitif olarak değerlendirildi.

Nötralizan Antikor Tayini

Kandaki tüm RNA`yı, vasküler yataktan tüpe geçer geçmez stabilize etmesi nedeniyle “PAXgene blood RNA” tüpleri (PreAnalytix GmbH, Hombrechtikon, CH) kullanıldı. Hastalardan, biyokimya tüpleriyle eş zamanlı olarak PAXgene tüplerine 2.5 ml periferik venöz kan alındı. Alınan kan örnekleri 2 saat içinde -80°C `ye konuldu, ve örnekler topluca çalışılacağı için, RNA izolasyonunun yapılacağı güne kadar -80°C `de saklandı. RNA

izolasyonu işleminden önce donmuş kan örnekleri çözünmeleri amacıyla -80°C`den çıkarılıp oda sıcaklığında bir gece bekletildi.

Tam kandan RNA eldesi:

PAXgene tüplerine alınan kandan, PAXgene blood RNA kit (Preanalytix by Qiagen) talimatlar doğrultusunda kullanılarak RNA ekstrakte edildi.

Komplemanter DNA (cDNA) eldesi:

Ekstrakte edilen RNA, yine talimatlar doğrultusunda derhal cDNA'ya (Superscript II Reverse Transcriptase, Invitrogen, Carlsbad, CA) çevrildi. Bunun için elde edilen RNA'ya Pd(N)6 ve dNTP karışımı eklenerek 65°C'de 5 dakika inkübe edildi ve 4°C'ye soğutuldu. Revers transkripsiyon buffer'ı ve Superscript II ilavesinin ardından 10 dakika 25°C ve 50 dakika 42°C'de inkübe edildi, reaksiyon 15 dakika 70°C'de durduruldu ve 4°C'ye soğutuldu. Bu şekilde elde edilen cDNA -80C'de saklandı. Örnekler çalışılacaklarsa +4°C'de bekletildi.

Real-time PCR:

NAb değerlendirilmesinde, ölçülebilen MxA indüksiyonu temel alındı. Bu nedenle MxA'nın (hedef gen) ve GAPDH'nin (endojen kontrol) mRNA ekspresyon düzeylerini ölçmek için Taqman® real time PCR sistem (ABI 7500 Fast Real Time PCR System, Taqman® Fast Universal Master Mix ve protokol, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanıldı. MxA ve GAPDH problemleri (Taqman Universal PCR Master Mix ve cDNA) 20 saniye süreyle 95°C'de inkübe edildikten sonra 3 saniye 95°C ve 30 saniye 60°C olmak üzere iki farklı sıcaklık derecesi toplam 40 döngü tamamlanarak polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirildi. Kullanılan MxA primerleri için assay ID Hs 00182073_m1; GAPDH primerleri için assay ID ise human GAPDH (20X) 4352934E, ABI, Warrington, UK idi.

PCR kuantifikasyonu, "relative quantification (ddCt)" yöntemi (Applied Biosystems 7500 fast real-time PCR system) kullanılarak yapıldı. Ölçüm değerleri (X - Negatif Kontrol)/(Pozitif Kontrol - Negatif Kontrol) X 100 formülüne yerleştirildi. Bu formül ile

elde edilen MxA induksiyon yüzdeleri, IFN β 'nin biyoaktivitesinin indüklediği MxA sentezi ile ilişkili olduğu için, yüksek MxA transkripsiyon değerleri NAb yokluğu\azlığı; düşük MxA transkripsiyon değerleri ise NAb varlığı ile ilişkiliydi. Buna göre sonuçlar aşağıdaki gibi değerlendirildi:

%51-100 arası değerler kuvvetli MxA yanıtı	[NAb (-)]
%21-51 arası değerler zayıf MxA yanıtı	[NAb (+)]
%0-20 arası değerler çok zayıf MxA yanıtı	[NAb (++)]

BAb ve NAb analizleri, DEÜTF Nöroloji Anabilim Dalı Nöroimmunoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada kalibratör, pozitif ve negatif kontrol olarak Prof. Dr. Bernhard Hemmer ve ekibi tarafından temin edilen cDNA örnekleri (Life Science Center/Heinrich Heine Universitat.- Universtätsklinikum Düsseldorf, Germany) kullanıldı.

Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) Dokuz Eylül Üniversitesi Radyoloji Anabilim Dalı'nda 1.5 Tesla Philips Intera ve 1.5 Tesla Philips Achieva cihazları kullanılarak, Turbo Spin Echo (TSE) T2 ve proton dansite ağırlıklı (TR/TE) aksial, FLAIR T2 ağırlıklı sagittal, SE T1 ağırlıklı aksiyal, intravenöz (IV) gadolinyumlu kontrast madde (0.1 mmol/kg) enjeksiyonundan sonra Magnetisation Transfer Contrast (MTC)'li ve MTC'siz SE T1 ağırlıklı aksiyal kesitlerden oluşan MS protokolüne göre yapıldı.

Olguların radyolojik değerlendirmesinde, çalışma başlangıcında hastanın son üç aydaki yıllık rutin kontrol MRG'leri ve bir yıl sonraki rutin kontrol MRG'leri kullanıldı. Yeni inceleme yapılmadı. Tüm MRG'ler, hastaların tedavisine çalışma süresince kör olan uzman bir nöroradyolog tarafından değerlendirildi ve T2 lezyonların toplam hacmi proton dansite ve T2 ağırlıklı aksiyal kesitlerden yarı-otomatik işaretleme ve volüm değerlendirme bilgisayar yazılımı "*Lesion Annotation and Volume Assessment (LAVA) software, Medical Image Mining Laboratories (New York)*" kullanılarak Windows XP işletim sisteminde çalışan kişisel bilgisayarlarda cm³ olarak hesaplandı. Ayrıca kontrast tutan lezyonların (IV 0.1 mmol/kg

gadolinium-DTPA enjeksiyonundan sonra T1 ağırlıklı görüntülerde saptanan hiperintens lezyonlar) sayısı belirlendi.

İstatistik

İstatistik değerlendirmede SPSS 15.0 for Windows programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin tanımlayıcı tabloları; ortalama, standart sapma, kesikli değişkenlerin sayı ve yüzdesi olarak verildi. Sürekli değişkenlerin bağımsız gruplar arası karşılaştırmalarında normal dağılım koşulu sağlanmadığından iki grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile, ikiden çok grup karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Bağımlı gruplarda zaman etkisi sürekli değişkenlerin aralarındaki farkın normal dağılım varsayımını sağlamadığından gruplar kendi içinde Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Kategorik değişkenlerin bağımsız gruplar karşılaştırmalarında Ki-Kare ve Mantel-Haenszel testleri (gruplar arasındaki trend analizi için), bağımlı gruplarda Mc Nemar testi kullanıldı. Alfa anlamlılık düzeyi <0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

MS tedavisinde kullanılan IFN β 'ya karşı BAb ve NAb gelişmesine bağlı ilaç etkinliğinin azalmasını incelemek amacı ile planlanan bu çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

Demografik bulgular

Çalışmaya toplam 102 (34 erkek, 68 kadın) IFN β tedavisi alan MS hastası dahil edildi. Yaş ortalaması 34,2 \pm 7,9 yıl, hastalık süre ortalaması 7,9 \pm 4,9 yıl, %96,1'i (n=98) RRMS, %3,9'u (n=4) SPMS'di. IFN β kullanma süresi ortalama 43,5 \pm 24,8 (min=18, maks=120) aydı. Hastaların %48'i IFN β -1b, %39,2'si IFN β -1a SC, %12,8'i IFN β -1a IM kullanıyordu. Çalışmadaki olguların IFN β başlanmadan önceki ortalama EDSS skoru 2,0 \pm 1,1, birinci değerlendirme zamanındaki (alışma başlangıcındaki) ortalama EDSS skoru 2,2 \pm 1,4,ve IFN β tedavisi başlanmadan önceki ortalama atak sayısı 1,1 \pm 0,6'ydı (Tablo 1). Üç farklı IFN β kullanan hasta grupları arasında demografik ve klinik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 2).

Tablo 1. Çalışmada yer alan hastaların demografik ve klinik özellikleri

Değerler ortalama \pm standart deviyasyonu (SD), aralık (range) ve yüzdeleri göstermektedir

Olgular	
Cinsiyet n (%):	
Kadın	68 (66,7)
Erkek	34 (33,3)
Ortalama yaş	34,2 \pm 7,9 (19-53)
Ortalama hastalık süresi (yıl)	7,9 \pm 4,9 (2-23)
Hastalık gidişi: RRMS (n)/SPMS (n)	98/4
Ortalama IFN β kullanma süresi (ay)	43,5 \pm 24,7 (18-120)
IFN β öncesi ortalama EDSS skoru	2,0 \pm 1,1 (0-6)
İlk değerlendirmede ortalama EDSS skoru	2,2 \pm 1,4 (0-7)
IFN β öncesi ortalama atak hızı*	1,1 \pm 0,6 (0-3,5)
IFN β preparatı n [%]:	
IFN β -1b	49 [48]
IFN β -1a SC	40 [39,2]
IFN β -1a IM	13 [12,8]

*Ortalama atak hızı, tüm hastaların IFN β tedavisi başlangıcından önceki 2 yılda geçirilen atak/yıl oranı ile hesaplandı.

Tablo 2. Çalışma başlangıcında hastaların üç farklı IFN β preparatına göre genel özellikleri

	IFNβ-1b	IFNβ-1a SC	IFNβ-1a IM	p*
	Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD	
Hasta yaşı	35,4 \pm 7,9	33,8 \pm 8,0	31,0 \pm 7,3	0,210
Ortalama hastalık süresi (yıl)	8,7 \pm 5,6	7,3 \pm 4,6	6,9 \pm 2,2	0,532
IFN β öncesi ortalama EDSS skoru	2,0 \pm 0,9	2,2 \pm 1,2	1,9 \pm 1,3	0,627
İlk değerlendirmede ortalama EDSS skoru	2,0 \pm 1,1	2,5 \pm 1,7	1,7 \pm 1,0	0,262
IFN β öncesi ortalama atak hızı	1,2 \pm 0,6	1,2 \pm 0,7	1,0 \pm 0,4	0,771
Ortalama IFN β aldığı süre (ay)	41,2 \pm 26,0	42,2 \pm 22,6	56,2 \pm 24,4	0,054

*Kruskal Wallis testi

Blok Antikorlar

Çalışmaya alındıkları ilk (birinci) değerlendirmede hastaların %26,5'i (n=27) BAb pozitif, %73,5'i (n=75) BAb negatifti. BAb pozitif ve negatif olan hastaların genel özelliklerinden sadece tedavi süreleri negatif grupta pozitif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p=0,004) (Tablo 3).

Tablo 3. Birinci BAb değerlendirmesinde BAb saptanan (pozitif) hastalarla BAb saptanmayan (negatif) hastaların demografik ve klinik özellikleri

	BAb		
	negatif	pozitif	p*
Hasta yaşı	33,6±7,1	35,8±9,8	0,318
Ortalama hastalık süresi (yıl)	7,9±4,8	8,0±5,3	0,798
Ortalama IFNβ aldığı süre (ay)	47,3±24,7	33,1±22,1	0,004
IFNβ öncesi ortalama EDSS	2,1±1,1	1,8±1,0	0,405
İlk değerlendirmede ortalama EDSS	2,3±1,5	1,9±0,9	0,371
IFNβ öncesi ortalama atak hızı	1,1±0,6	1,9±1,0	0,418

*Mann-Whitney U testi

IFNβ preparatı gruplarında BAb pozitiflik oranları istatistiksel olarak farklıydı. BAb pozitiflik oranı IFNβ-1b kullanan hastalarda IFNβ-1a kullanan hastalara göre, IFNβ-1a kullanan hastalarda da SC formunu kullanan hastalarda IM formunu kullananlara göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti (p=0,006) (Tablo 4).

Tablo 4. IFNβ preparatı gruplarında BAb pozitiflik oranları

	BAb pozitif hastalar	
	n	%
IFNβ-1b SC	20	40,8
IFNβ-1a SC	6	15,0
IFNβ-1a IM	1	7,7

Çalışmanın birinci yılı dolmadan önce, 1 hasta nöromiyelitis optika (NMO)'ya dönüşmesi, 1 hasta ataklı progresyonunun olması nedeniyle immunomodülatör tedavisi değiştirilip oral immunosupresan tedavi eklenmesi, 1 hasta sekonder progresif faza geçmesi nedeniyle immunosupresif tedavi başlanması, 1 hasta atak geçirmesi nedeniyle kullandığı immunomodülatör preparatı yüksek doz sık uygulama tarzında değiştirilmesi, 1 hastadan alınan örnekte teknik olarak sorun çıkması, 1 hastanın başka bir şehre taşınması (yer değişikliği) nedeniyle, bir yıl sonraki BAb/NAb değerlendirilmesi yapılabilen hasta sayısı 96'ya düştü.

Bir yıl sonraki ikinci değerlendirmede hastaların %38,5'i (n=37) BAb pozitif, %61,5'i (n=59) BAb negatifti. Birinci ve ikinci değerlendirmesi yapılan 96 hasta için tedavi ile BAb pozitiflik oranındaki artış istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,003) (Tablo 5). BAb pozitiflik oranındaki bu artış, kullanılan IFN β preparatlarından sadece IFN β -1b grubunda istatistiksel olarak anlamlı saptandı (p=0,039) (Tablo 6).

Tablo 5. Birinci ve ikinci BAb değerlendirmeleri

		İkinci BAb değerlendirilmesi		Toplam	P*
		Negatif	Pozitif		
Birinci BAb değerlendirilmesi	Negatif (n,%)	58 (82,9)	12 (17,1)	70 (72,9)	0,003
	Pozitif (n,%)	1 (3,8)	25 (96,2)	26 (27,1)	
Toplam		59 (61,5)	37 (38,5)	96 (100)	

*Mc Nemar testi

Tablo 6. IFN β preparatlarına göre birinci ve ikinci BAb değerlendirmeleri

İmmunomodülatör tipi		İkinci BAb			P*	
		Negatif (n,%)	Pozitif (n,%)	Toplam (n,%)		
IFN β -1b	Birinci	Negatif	19 (70,4)	8 (29,6)	27 (58,7)	0,039
	BAb	Pozitif	1 (5,3)	18 (94,7)	19 (41,3)	
		Toplam	20 (43,5)	26 (56,5)	46 (100)	
IFN β -1a SC	Birinci	Negatif	30 (93,8)	2 (6,3)	32 (84)	0,500
	BAb	Pozitif	0 (0)	6 (100)	6 (15,8)	
		Toplam	30 (78,9)	8 (21,1)	38 (100)	
IFN β -1a IM	Birinci	Negatif	9 (81,8)	2 (18,2)	11 (91,7)	0,500
	BAb	Pozitif	0 (0)	1 (100)	1 (8,3)	
		Toplam	9 (75)	3 (25)	12 (100)	

*Mc Nemar testi

Hastalar, tedavi sürelerine göre 18-24 ay, 25-48 ay ve >48 aydan uzun süreyle tedavi edilenler olarak gruplandırıldığında, tedavi süreleri oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,005). BAb negatiflerin %26,7'si 18-24 ay süreyle, %33,3'ü 24-48 ay süreyle, ve %40'ı >48 ay süreyle tedavi alırken BAb pozitif hastaların sadece %11,1'inin tedavi süresi 48 ayın üstündeydi. BAb pozitif hastaların tedavi süreleri ise istatistiksel olarak anlamlı daha kısaydı (p=0,005) (Tablo 7).

Tablo 7. Tedavi sürelerine göre birinci BAb değerlendirmesi

Tedavi süresi (ay)	BAb		Toplam (n,%)
	Negatif (n,%)	Pozitif (n,%)	
18-24	20 (26,7)	13 (48,1)	33 (32,4)
25-48	25 (33,3)	11 (40,7)	36 (35,3)
>48	30 (40,0)	3 (11,1)	33 (32,4)
Toplam	75 (100)	27 (100)	102 (100)

p*=**0,005** (*Mantel-Haenszel testi)

Nötralizan Antikorlar

Birinci NAb değerlendirmesinde hastaların %91,2'si (n=93) NAb-, %5,9'u (n=6) NAb+, %2,9'u (n=3) NAb++ idi. NAb+ ve ++ grup birlikte NAb pozitif olarak değerlendirildi, ve hastaların %91,2'si NAb negatif, %8,8'i NAb pozitif olarak belirlendi. IFN β -1b kullanan hastaların %12,2'si NAb pozitif, IFN β -1a SC kullanan hastaların ise %7,5'i NAb pozitif saptandı. IFN β -1a IM kullanan hastaların hepsi NAb negatifti. NAb pozitif ve NAb negatif hastaların genel özellikleri karşılaştırıldığında, NAb negatif hastaların sadece hastalık süreleri ve IFN β tedavi süreleri ortalamaları NAb pozitif hastalara göre istatistiksel olarak sınırda anlamlı yüksekti (p=0,050, p=0,055) (Tablo 8).

Tablo 8. NAb değerlendirmesi yapılan hastaların genel özellikleri

	NAb		p*
	negatif	pozitif	
Hasta yaşı	34,4±7,9	32,9±6,1	0,816
Ortalama hastalık süresi (yıl)	8,3±5,1	4,6±2,0	0,050
Ortalama IFNβ aldığı süre (ay)	44,8±25,0	28,1±10,1	0,055
IFNβ öncesi ortalama EDSS	2,1±1,1	1,8±0,9	0,438
Birinci değerlendirmede ortalama EDSS	2,1±1,4	1,9±0,8	0,835
IFNβ öncesi ortalama atak hızı	1,1±0,6	0,9±0,5	0,205

*Mann-Whitney U testi

BAb pozitif hastaların %29,6'sı NAb pozitif, BAb negatif hastaların %98,7'si NAb negatifti. NAb pozitif bulunan hastaların ise %88,9'unda BAb pozitif. NAb pozitif hastaların yalnızca biri BAb negatifti. BAb pozitif hastaların NAb pozitifliğindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0,001$).

Bir yıl sonraki NAB değerlendirmesi yapılan 96 hastanın %7,3'ü ($n=7$) pozitif. Birinci ve ikinci değerlendirmesi yapılan 96 hasta için NAb pozitiflik oranında değişim istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,687$) (Tablo 9). İlk değerlendirmelerine benzer şekilde ikinci değerlendirmede de IFNβ-1a IM kullanan hastaların hepsi NAb negatifti. Birinci değerlendirmede NAb pozitif olup ikinci değerlendirmede negatif olan hastaların 3'ü IFNβ-1b preparatı, 1'i IFNβ-1a SC kullanmaktaydı.

Tablo 9. Birinci ve ikinci NAb değerlendirmeleri

		İkinci NAb		Toplam	p*
		Negatif	Pozitif		
		(n,%)	(n,%)	(n,%)	
Birinci	Negatif	85 (97,7)	2 (2,3)	87 (90,6)	
NAb	Pozitif	4 (44,5)	5 (55,6)	9 (9,4)	0,687
Toplam		89 (92,7)	7 (7,3)	96 (100)	

*Mc Nemar testi

Blokan ve Nötralizan Antikorların Klinik Bulgular (Atak hızı ve EDSS) Üzerine Etkileri

i. Blokan Antikorların atak hızı üzerine etkisi

Birinci değerlendirmede BAb pozitif ve negatif hasta grupları arasında atak hızı fark ortalamasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,466$). Benzer şekilde hem birinci hem de ikinci değerlendirmede BAb pozitif ve negatif saptanan hasta grupları arasında atak hızı fark ortalamalarında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p= 0,546$) (Tablo 10a,b).

Tablo 10a. Birinci değerlendirmede BAb gruplarında atak hızı fark ortalamaları

		IFN β öncesi	IFN β sonrası	
BAb		Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
Atak hızı	Pozitif (n=75)	1,48 \pm 0,86	0,35 \pm 0,41	<0,001
	Negatif (n=27)	1,54 \pm 0,77	0,29 \pm 0,43	<0,001
	Toplam	1,52 \pm 0,79	0,31 \pm 0,42	<0,001
Atak hızı fark	Pozitif (n=75)	-1,13 \pm 0,13		
	Negatif (n=27)	-1,25 \pm 0,82		
	p**	0,466		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

Tablo 10b. Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda atak hızı fark ortalamaları

		IFN β öncesi	IFN β sonrası	
BAb		Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
Atak hızı	Kalıcı pozitif (n=25)	1,52 \pm 0,87	0,36 \pm 0,42	<0,001
	Kalıcı negatif (n=58)	1,53 \pm 0,82	0,28 \pm 0,42	<0,001
Atak hızı fark	Kalıcı pozitif (n=25)	-1,16 \pm 1,15		
	Kalıcı negatif (n=58)	-1,26 \pm 0,87		
	p**	0,546		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

İlk değerlendirmede BAb negatif bulunan ve ikinci değerlendirmede de BAb negatif kalmaya devam eden hastaların %32,8'i (19/58), bir yıllık izlem süresi boyunca atak geçirirken, her iki değerlendirmede BAb pozitif bulunan hastaların %33,3'ü (8/24) atak geçirdiği belirlendi. Gruplar arasındaki fark anlamlı değildi (p=0,960).

ii. Blokan Antikorların EDSS üzerine etkisi

Blokan antikor pozitif ve negatif hasta grupları arasında birinci ve ikinci değerlendirme EDSS skorları fark ortalamasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,703$). Birinci değerlendirmede ve ikinci değerlendirmede BA_b pozitif ve negatif saptanan hasta grupları arasında EDSS skoru fark ortalamalarında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,587$) (Tablo 11a,b).

Tablo 11a. Birinci ve ikinci değerlendirmede BA_b gruplarında EDSS fark ortalamaları

		Birinci değerlendirme		İkinci değerlendirme	
	BA _b	Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*	
EDSS	Pozitif (n=26)	1,81±0,78	1,83±0,72	0,83	
	Negatif (n=69)	2,19±1,49	2,21±1,48	0,64	
	Toplam	2,08±1,34	2,11±1,33	0,56	
EDSS fark	Pozitif (n=26)	-0,01±0,60			
	Negatif (n=69)	-0,02±0,79			
	p**	0,70			

Tablo 11b. Kalıcı BA_b pozitif ve negatif hastalarda EDSS fark ortalamaları

		Birinci değerlendirme		İkinci değerlendirme	
	BA _b	Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*	
EDSS	Kalıcı pozitif (n=25)	1,88±0,86	1,75±0,66	0,68	
	Kalıcı negatif (n=58)	2,31±1,57	2,25±1,54	0,91	
EDSS fark	Kalıcı pozitif (n=25)	0,04±0,58			
	Kalıcı negatif (n=58)	0,02±0,83			
	p**	0,58			

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

iii. Nötralizan Antikorların atak hızı üzerine etkisi

Birinci değerlendirmede NAb pozitif ve negatif saptanan hasta gruplarında atak hızı fark ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark yokken ($p=0,169$), her iki değerlendirmede NAb pozitif ve negatif olan hastaların atak hızı fark ortalaması, NAb negatif grupta istatistiksel anlamlı yüksekti ($p=0,024$) (Tablo 12a,b).

Tablo 12a. Birinci değerlendirmede NAb gruplarında atak hızı fark ortalamaları

		IFN β öncesi	IFN β sonrası	
NAb		Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
Atak hızı	Pozitif (n=9)	1,17 \pm 0,61	0,33 \pm 0,50	0,041
	Negatif (n=93)	1,56 \pm 0,80	0,29 \pm 0,43	<0,001
	Toplam	1,52 \pm 0,79	0,31 \pm 0,42	<0,001
Atak hızı fark	Pozitif (n=9)	-0,83 \pm 0,93		
	Negatif (n=93)	-1,25 \pm 0,89		
	p**	0,169		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

Tablo 12b. Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda atak hızı fark ortalamaları

		IFN β öncesi	IFN β sonrası	
NAb		Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
Atak hızı	Kalıcı pozitif (n=5)	1,00 \pm 0,35	0,60 \pm 0,55	0,34
	Kalıcı negatif (n=85)	1,57 \pm 0,80	0,28 \pm 0,40	<0,001
Atak hızı fark	Kalıcı pozitif (n=5)	-0,40 \pm 0,82		
	Kalıcı negatif (n=85)	-1,37 \pm 0,85		
	p**	0,024		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

İlk değerlendirmede NAb negatif bulunan ve ikinci değerlendirmede de NAb negatif kalmaya devam eden hastaların (kalıcı NAb negatif) %32,1'i (27/84), bir yıllık izlem süresi boyunca en az bir atak geçirirken, kalıcı NAb hastaların %60'ının (3/5) en az bir atak geçirdiği belirlendi (p=0,330).

iv. Nötralizan Antikorların EDSS üzerine etkisi

Nötralizan antikor pozitif ve negatif hasta grupları arasında birinci ve ikinci değerlendirme EDSS skoru fark ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,314). Bunun yanısıra hem birinci ve hem de ikinci değerlendirmede NAb pozitif ve negatif olan hastalar arasındaki EDSS skoru fark ortalamaları da istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,220) (Tablo 13a,b).

Tablo 13a. Birinci ve ikinci değerlendirmede NAb gruplarında EDSS fark ortalamaları

		Birinci değerlendirme		İkinci değerlendirme	
	NAb	Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*	
EDSS	Pozitif (n=9)	1,94±0,63	1,78±0,83	0,51	
	Negatif (n=86)	2,10±1,39	2,14±1,37	0,42	
	Toplam	2,08±1,34	2,11±1,33	0,56	
EDSS fark	Pozitif (n=9)	-0,16±0,70			
	Negatif (n=86)	0,04±0,74			
	p**	0,31			

Tablo 13b. Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda EDSS fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
	NAb	değerlendirme	değerlendirme	
		Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*
EDSS	Kalıcı pozitif (n=5)	2,10±0,82	1,90±0,55	0,15
	Kalıcı negatif (n=85)	2,14±1,42	2,15±1,38	0,47
EDSS fark	Kalıcı pozitif (n=5)	-0,20±0,27		
	Kalıcı negatif (n=85)	0,03±0,74		
	p**	0,22		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

Blokun ve Nötralizan Antikorların Manyetik Rezonans Görüntüleme Üzerine Etkileri

i. Blokun Antikorların T2 lezyon hacmi üzerine etkisi

Birinci değerlendirmede BAb pozitif ve negatif saptanan hasta gruplarında, BAb negatif saptanan hastaların MRG'deki T2 lezyon hacmi fark ortalaması istatistiksel anlamlı yüksekti ($p=0,007$). Bununla birlikte her iki değerlendirmede BAb pozitif ve negatif olan hastaların lezyon hacmi fark ortalaması, her iki değerlendirmede BAb negatif grupta istatistiksel anlamlı yüksekti ($p=0,008$) (Tablo 14a,b).

Tablo14a. Birinci ve ikinci değerlendirmede BAb gruplarında T2 lezyon hacmi fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	BAb	Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*
T2 lezyon hacmi	Pozitif (n=16)	7,43±11,97	7,14±13,03	0,51
	Negatif (n=32)	8,15±9,85	9,27±10,59	0,004
	Toplam	7,91±10,48	8,56±11,37	0,09
T2 lezyon hacmi fark	Pozitif (n=16)	-0,28±1,85		
	Negatif (n=32)	1,11±2,16		
	p**	0,007		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

Tablo 14b. Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda T2 lezyon hacmi fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	BAb	Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*
T2 lezyon hacmi	Kalıcı pozitif (n=14)	4,52±3,49	3,97±2,98	0,09
	Kalıcı negatif (n=28)	8,91±10,29	10,00±11,11	0,02
T2 lezyon hacmi fark	Kalıcı pozitif (n14)	-0,55±1,49		
	Kalıcı negatif (n=28)	1,08±2,31		
	p**	0,008		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

ii. Blokan Antikorların kontrast tutan lezyon sayısı üzerine etkisi

Blokan antikor pozitif ve negatif hasta gruplarında birinci ve ikinci değerlendirme kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,504). Hem birinci hem de ikinci değerlendirmede BAb pozitif ve negatif saptanan hastaların ortalama kontrast tutan lezyon sayısı değişimi arasında fark yoktu (p=0,775) (Tablo 15a,b).

Tablo 15a. Birinci ve ikinci değerlendirmede BAb gruplarında kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	BAb	Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
KTLS[§]	Pozitif (n=16)	0,44 \pm 1,26	0,31 \pm 0,79	0,85
	Negatif (n=32)	0,06 \pm 0,25	0,38 \pm 1,13	0,16
	Toplam	0,19 \pm 0,76	0,35 \pm 1,02	0,29
KTLS[§] fark	Pozitif (n=16)	-0,12 \pm 1,20		
	Negatif (n=32)	0,31 \pm 1,17		
	p**	0,50		

Tablo 15b. Kalıcı BAb pozitif ve negatif hastalarda kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	BAb	Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
KTLS[§]	Kalıcı pozitif (n=14)	0,43 \pm 1,34	0,36 \pm 0,84	1,00
	Kalıcı negatif (n=28)	0,07 \pm 0,26	0,43 \pm 1,20	0,16
KTLS[§] fark	Kalıcı pozitif (n=14)	-0,07 \pm 1,26		
	Kalıcı negatif (n=28)	0,35 \pm 1,25		
	p**	0,77		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test [§] kontrast tutan lezyon sayısı

ii. Nötralizan Antikorların T2 lezyon hacmi üzerine etkisi

Nötralizan antikor pozitif ve negatif hasta gruplarında birinci ve ikinci değerlendirme T2 lezyon hacmi fark ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,109). Kalıcı NAb pozitif olan hastaların ortalama T2 lezyon hacmi değişimi ile kalıcı NAb negatif hastaların ortalama T2 lezyon hacmi değişimi arasında istatistiksel olarak fark yoktu (p=0,159) (Tablo 16a,b).

Tablo 16a. Birinci ve ikinci değerlendirmede NAb gruplarında T2 lezyon hacmi fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	NAb	Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
T2 lezyon hacmi	Pozitif (n=4)	2,78 \pm 1,51	2,20 \pm 1,21	0,06
	Negatif (n=44)	8,38 \pm 10,83	9,14 \pm 11,71	0,04
	Toplam	7,91 \pm 10,48	8,56 \pm 11,37	0,09
T2 lezyon hacmi fark	Pozitif (n=4)	-1,24 \pm 0,81		
	Negatif (n=44)	-1,13 \pm 1,13		
	p**	0,109		

Tablo 16b. Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda T2 lezyon hacmi fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	NAb	Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
T2 lezyon hacmi	Kalıcı pozitif (n=2)	3,67 \pm 0,51	2,83 \pm 0,66	0,18
	Kalıcı negatif (n=42)	8,59 \pm 11,04	9,41 \pm 11,91	0,02
T2 lezyon hacmi fark	Kalıcı pozitif (n=2)	-0,83 \pm 0,15		
	Kalıcı negatif (n=42)	0,82 \pm 2,24		
	p**	0,15		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test

iv. Nötralizan Antikorların kontrast tutan lezyon sayısı üzerine etkisi

Nötralizan antikor pozitif ve negatif hasta gruplarında birinci ve ikinci değerlendirme kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,389$). Her iki değerlendirmede NAb pozitif saptanan hastaların kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalaması, her iki değerlendirmede NAb negatif saptanan hastaların kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamasına göre daha yüksekti, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,179$) (Tablo 17a,b).

Tablo 17a. Birinci ve ikinci değerlendirmede NAb gruplarında kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	NAb	Ort. \pm SD	Ort. \pm SD	p*
KTLS[§]	Pozitif (n=4)	0,25 \pm 0,50	0,75 \pm 1,50	0,31
	Negatif (n=44)	0,18 \pm 0,79	0,32 \pm 0,98	0,45
	Toplam	0,19 \pm 0,76	0,35 \pm 1,02	0,29
KTLS[§] fark	Pozitif (n=4)	0,50 \pm 1,00		
	Negatif (n=44)	0,13 \pm 1,21		
	p**	0,38		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test [§] kontrast tutan lezyon sayısı

Tablo 17b. Kalıcı NAb pozitif ve negatif hastalarda kontrast tutan lezyon sayısı fark ortalamaları

		Birinci	İkinci	
		değerlendirme	değerlendirme	
	NAb	Ort. ± SD	Ort. ± SD	p*
KTLS[§]	Kalıcı pozitif (n=2)	0,50±0,71	1,50±2,12	0,31
	Kalıcı negatif (n=42)	0,17±0,79	0,33±1,00	0,32
KTLS[§] fark	Kalıcı pozitif (n=2)	1,00±1,41		
	Kalıcı negatif (n=42)	0,16±1,22		
	p**	0,17		

*Wilcoxon Test **Mann Whitney U Test § kontrast tutan lezyon sayısı

TARTIŞMA

Multipl skleroz tedavisinde biyofarmasötik ilaçların miladı, IFN β 'nın RRMS tedavisi için kullanılmasıdır. Bu, Charles Weismann'ın grubunun insan IFN genlerini E.coli'ye transfer etmeleri ve bu suretle çok miktarda rekombinan IFN'un saflaştırılmasına yol açan deneyleri sayesinde mümkün olmuştur (99). İlk ticari rekombinan IFN'lardan biri E.coli'de üretilen ve bu yüzden glikan zincirlerinden yoksun olan IFN β -1b'dir ki Betaferon® (Bayer Schering Pharma, Berlin, Germany) ve Betaseron® (Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Berlin, Germany) olarak piyasa yer almaktadır. RRMS'te IFN β -1b için ilk randomize, kontrollü klinik çalışma 1993'te yapılmıştır (66). Çalışmada 8 milyon internasyonal ünite (MIU) IFN β -1b ile tedavi edilen hastalarda atak hızında ve beyin MRG aktivitesinde anlamlı derecede azalma bulunmuştur (66,69). Biyoteknolojideki ilerlemelerle, proteinleri glikolize etme yeteneği olan memeli hücrelerinde rekombinan proteinlerin üretimi yapılabilir hale gelmiştir. Bu yolla üretilen IFN β preparatları (IFN β -1a) insandaki forma daha çok benzerlik göstermektedir (100). Günümüzde iki ticari IFN β -1a preparatı kullanılmaktadır: Avonex® (Biogen Idec, Cambridge, MA, USA) ve Rebif® (Merck Serono, Geneva, Switzerland). Her iki ilacın da atak hızını ve MRG aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (67,101).

Organizma içine enjekte edilen tüm yabancı proteinlere karşı olduğu gibi, MS tedavisinde kullanılan IFN β molekülüne karşı da antikorlar oluşur ve konuk protein üzerindeki özel epitoplara yüksek affinite ile bağlanırlar. Bu antikorlar blokan antikor (BAb)'lardır. BAb'ların bağlandığı epitoplara proteinin biyolojik aktivitesi için önemli iseler antikorun epitopa bağlanması biyofarmasötiğin klinik etkilerini nötralize eder. Bu yüzden bir grup BAb, nötralizan antikor (NAb) olarak adlandırılır (102). Başka bir deyişle IFN β tedavisinin başlangıcında oluşan BAb'lara, geriye dönüşümlü bağlanan düşük affiniteli NAb'lar da denebilir. Affinite olgunlaşmasıyla, bağlanma geriye dönüşümsüz bir hal aldığı anda anti-IFN β antikorları nötralizan hale gelir (103-106). NAb'lar için bir diğer olası mekanizma; antikorların IFN β 'ya bağlanmasıyla, molekülün hedef immun hücrelerin yüzeyinde yer alan reseptörünü tanıması için gerekli olan üç boyutlu yapısının engellenmesi ve sonuçta IFN β 'nın, reseptörü ile etkileşiminin kesintiye uğramasıdır (102). NAb'lar, IFN β molekülünün biyolojik aktif yerleri ile etkileşip, IFN β 'nın reseptörü ile etkileşmesini

önlemektedir. BAb'lar ise IFN β molekülünün, IFN β reseptörünün aktivasyonunda rol oynamayan birçok değişik antijenik epitopa bağlanmaktadır (107).

BAb tayini için en uygun testin cELISA olduğu bilinmektedir (108-110). Bizim çalışmamızın BAb tayini de cELISA yöntemi ile yapılmıştır. BAb negatif hastalarımızın %98,7'sinin NAb negatif olduğu belirlenmiştir. Bu durum BAb negatif örneklerin güvenilir bir biçimde NAb negatifliğinin göstergesi olduğu görüşünü desteklemektedir (111). Bu nedenle birçok laboratuvar da NAb incelemesi sadece BAb pozitif örneklerde yapılmaktadır (112). Bu bilgi, BAb'ın negatif saptanması durumunda IFN β 'nın tedavi etkinliği açısından kuşku duyulmamasını sağlamaktadır. Ayrıca BAb tayini görece kolay bir yöntemdir ve incelemenin maliyeti NAb incelemesinin maliyetine göre çok daha düşüktür. Diğer yandan, hasta atak geçiriyorsa ya da progresyonu varsa, klinik kötüleşmenin nedeninin ilaca karşı gelişen antikolar dışındaki nedenlerden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürür. Bu bilgiyi doğrular biçimde NAb pozitif olduğunu belirlediğimiz hastalardan yalnızca biri BAb negatif bulunmuştur. Bu durum, Francis ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı bir çalışmada yalnız negatiflik olarak yorumlanmıştır (11). Çünkü BAb tayini çok duyarlıdır (11) ve genellikle, BAb negatifliği NAb negatifliği ile beraber gitmektedir (111). Ayrıca, IFN β tedavisinin birinci yılı boyunca gelişen BAb'ların, sonraki NAb gelişimi için öngörü niteliğinde olabileceği bildirilmiştir (113). Çalışmamızda da BAb pozitif hastalarda NAb pozitifliğinin yüksek saptanmış olması, görece basit ve maliyeti düşük olan cELISA yöntemi ile BAb'ların değerlendirilmesini ve sıkı takiplerle ilacın tedavi etkinliği konusunda fikir sahibi olunmasını sağladığını göstermiştir.

Çalışmamızın NAb tayini ise MxA mRNA ölçümleri ile yapılmıştır. MxA proteini, IFN β 'nın MS'teki terapötik etki çerçevesinin içinde yer almamakla birlikte, ekzojen IFN β 'nın biyolojik aktivitesinin ölçümü için en uygun belirteçtir (90). IFN β tarafından sentezi indüklenen birçok proteinden biri olan MxA proteini, diğer moleküllerden, sadece tip I IFN'lar (IFN α , IFN β) ve HIV tarafından indüklenmesi özelliği ile ayrılır (91,92). Örneğin inflamasyonda ve hastalığın aktif olduğu dönemlerde, IFN γ tarafından diğer moleküllerin sentezi etkilenirken, MxA proteini sentezi IFN γ tarafından etkilenmemektedir (91).

MxA proteininin ölçümü için ELISA (114-116) gibi çok daha basit yöntemlerin varlığına ve MxA'nın transkripsiyonu ve translasyonu arasındaki korelasyonun yüksek olmasına karşın (110), çalışmamızın NAb analizinde MxA mRNA ölçümü tercih edilmiştir. Bunun başlıca nedeni; IFN β ve reseptörü arasındaki etkileşme ile mRNA seviyelerinin çok daha güçlü korelasyonunun olmasıdır (94). Esasen, protein seviyeleri post-transkripsiyon fenomenlerinden etkilenmekteyken, mRNA seviyeleri etkilenmemektedir (94). Ayrıca, mRNA'nın yarı ömrü proteinlerden daha kısa olduğu için (116), mRNA seviyeleri her bir enjeksiyonun biyoaktivitesini yansıtmakta ve sentezdeki ufak oynamaları belirlemeye de izin vermektedir (90). mRNA ölçümü için, enjeksiyondan kan örneğinin alındığı zamana kadar geçen süre sonuçları etkileyebilecek önemli bir faktördür (90). Bu bağlamda olgularımızın serum örnekleri, literatürde de önerildiği üzere (90,117) MxA mRNA ekspresyonunun pik zamanı olan IFN β enjeksiyonundan yaklaşık 12 saat en geç 14 saat sonra alınmıştır.

Nötralizan antikor tayini için Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sitopatik etki değerlendirme yöntemini (CPE) önermektedir. Bu yöntemde, virüs hassas hücreler mikrotiter plâtelere üzerine ekilir, standart IFN β dozu ile hasta serumunun bir seri dilüsyonu karıştırılır ve bu karışım plâtelere eklenir. 12-24 saatlik inkübasyondan sonra bir virüs karışımına eklenir ve IFN β 'nın viral replikasyonu inhibe etme yeteneği, hücre canlılığı bağımlı boyama tekniği ile ölçülür. NAb varlığında, IFN β 'nın antiviral aktivitesi sekteye uğrayacaktır (81). CPE yöntemi, IFN β 'nın, virüslerin kültüre ekilmiş hücrelerdeki sitopatik etkilerini inhibisyonuna dayanmaktadır. NAb içeren serum varlığında IFN β nötralize edilmektedir, bu da enfekte hücrelerin ölümü ile sonuçlanmaktadır. CPE tayini çok hassas olmasına rağmen, insan serumunda IFN β 'nın antiviral aktivitesini taklit edebilecek bileşiklerin varlığı nedeniyle özgünlüğü sınırlıdır. Ayrıca bu değerlendirmede virüslerin kullanımı, virüslerin titrasyonu ve stoklarının stabilitesi (118) nedeniyle laboratuvarlar arası çok fazla değişkenlik mevcuttur (81). Bu yöntemle saptanan NAb negatifliğinin, artmış MxA mRNA sentezi ile korele olduğu, bir kez NAb pozitifliğinin ve kalıcı NAb pozitifliğinin ise azalmış MxA mRNA sentezi ile korele olduğu gösterilmiştir. Başka bir ifadeyle, IFN β 'nın biyoaktivitesindeki azalma, MxA mRNA sentezindeki azalma ile doğru orantılıdır (90,94,117).

Hesse ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada, MxA'nın, IFN β 'ya karşı tümüyle bloke edilmiş biyolojik cevabı yansıttığı gösterilmiştir (119). Bu çalışmayla NAb'ların MxA indüksiyonunu bloke etmesi koşulunda, IFN β 'nın herhangi bir biyolojik etkinliğinin korunmuş olmasının olasılık dahilinde olmadığı kanıtlanmıştır. Hesse ve arkadaşlarının bu çalışması MxA'nın, NAb gelişimi ve IFN β biyoyararlanım kaybının doğrudan göstergesi olduğu konusundaki görüşü desteklemiştir (6,120,121). MxA mRNA seviyelerinin belirlenmesi CPE'den daha kolaydır, ayrıca biyolojik aktivite hakkında bilgi vermektedir. MxA, IFN β 'ya olan in vivo cevabı yansıtan biyobelirteçler arasında en geçerli biyobelirteçtir ve giderek artan sayıda klinik pratik uygulamaya girmektedir (5,6,102,122).

Çalışmamızda, ilk değerlendirmede hastaların %26,5'i, bir yıl sonraki değerlendirmede ise %38,5'i BAb pozitif saptanmıştır ve izlemdeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,003). BAb pozitiflik oranındaki bu artış, kullanılan IFN β preparatlarından sadece IFN β -1b grubunda istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,039). Bir yıllık izlemde IFN β -1b' nin immunojenitesinin belirginleştiği gözlenmiştir. IFN β preparatlarının immünogenetik potansiyellerine göre farklılık gösterdiği bilinmektedir (103). Çalışmamızda BAb pozitif hastaların %40,8'i IFN β -1b SC, %15'i IFN β -1a SC, %7,7'si IFN β -1a IM kullanıyordu. IFN β -1b SC'nin neden olduğu BAb pozitiflik oranının, IFN β -1a SC ve IFN β -1a IM'ye göre, IFN β -1a SC'nin neden olduğu BAb pozitiflik oranının ise IFN β -1a IM'ye göre anlamlı yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki verilerle uyumludur (84,103,123). İmmunojenitedeki bu farklılığın nedenlerinden biri, IFN β -1b ile IFN β -1a'nın primer yapılarının farklı olmasıdır. IFN β -1a'nın primer yapısı, insandaki moleküle benzer amonoasit dizilimi gösterirken; IFN β -1b, 1. pozisyonundaki metiyoninden yoksundur ve 17. pozisyonda sistein-serin değişikliği vardır (100). IFN β -1b molekülündeki karbonhidrat rezidüsünün eksikliği molekülün hidrofobik olmasına, sonuçta protein agregat oluşumunun artmasına yol açar. IFN β -1b'deki sekans değişikliği ve yapısal özellikler gözönüne alındığında, IFN β preparatları içinde immunojenitesi en fazla olan molekül olması çok da şaşırtıcı değildir (124). Öte yandan iki farklı IFN β -1a preparatı arasındaki immunojenitenin farkını açıklamak daha güçtür. Bu durum, üretim süreçleri ve formülasyondaki farklılıklara, uygulama sıklığı ve yolundaki değişikliklere bağlanmaktadır (81,103). Bunun yanısıra saflaştırma süreçleri ve depolama koşulları da bu farklılığa neden olarak gösterilmiştir (125).

İmmünojenisitedeki bu farklılık yalnızca BAB'lar için değil, tedavi etkinliğinde çok önemli rolü olduğu belirlenen NAb'lar için de geçerlidir (103,126). Çalışmamızda IFN β -1b kullanan hastaların %12,2'si, IFN β -1a SC kullananların %7,5'i NAb pozitif saptandı. IFN β -1a IM kullanan hastaların hepsi NAb negatifti. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda NAb sıklığı en çok IFN β -1b kullanan hastalarda belirlenmiştir (72,127,128). Perini ve ark. (2004) tarafından gerçekleştirilen çalışmada (84), bizim çalışmamızda olduğu gibi IFN β -1b'nin IFN β -1a'ya göre, IFN β -1a SC'nin IFN β -1a IM'ya göre daha immünojenik olduğu ve tedavinin üçüncü ve dördüncü yılında IFN β -1a IM kullanan hastaların hepsinin NAb negatif olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, bizim çalışmamızdan farklı olarak NAb tayıneri, ELISA ile BAB pozitif bulunan hastalarda CPE yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Belirtildiği üzere, BAB pozitifliği gelişecek NAb pozitifliği için öngörü niteliğindedir (111). Çalışmamızda BAB pozitif hastaların %29,6'sının NAb pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu değer, BAB pozitif hastaların yaklaşık yarısının tedavi boyunca NAb geliştirdikleri bildirilen çalışmalara göre düşük bulunmuştur (69,71,84,108,129). Çalışmamızda NAb pozitiflik oranı da diğer çalışmalara göre düşük (%8,8) olarak saptanmış ve bir yıl sonraki NAb pozitivite sıklığı ise %7,3 bulunmuştur. Sorensen ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarında, IFN β -1b kullanan hastalarda 36. ayda saptanan NAb sıklığında (%35), 12. ayda saptanan sıklığa (%45) göre azalma olduğunu belirlemişlerdir. Bu azalma NAb pozitif hastaların çalışmadan ayrımlarına değil, antikor profillerinin değişmesine bağlanmıştır (129). Benzer antikor değişimleri IFN β -1b ya da IFN β -1a için başka araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (130,131). IFN β -1b'nin öncül ve iki yıllık uzatma çalışmasında, MxA değerlendirmesi ile, NAb'ların 24 hastanın 16'sında kaybolduğu ve NAb'ların kaybolma zamanının 20 ay olduğu belirlenmiştir (130). Buna göre, IFN β kullanma süresi ortalama 44 ay olan çalışmamızda oluşan NAb'lar olasılıkla kaybolmuştu. Bu nedenle NAb pozitif olan hasta sayısı olduğundan daha az saptanmış olabilir. Diğer yandan çalışmamızdaki NAb pozitifliğindeki azalmanın istatistiksel anlamlığa ulaşmamış olması ikinci yıldan önce kaybolmayan NAb pozitifliğinin persistansını savunan çalışmaları desteklemektedir (132). Çalışmamızda, IFN β tedavi süresi 18-24 ay olan NAb negatif 28 hastanın izlemde sadece 2'sinin NAb pozitive dönüştüğü, tedavi süresi 24 aydan uzun olan NAb negatif hastaların hiçbirinin NAb pozitive dönüşmediği belirlenmiştir. Bu sonuç, IFN β tedavisinde immün

toleransın kırılmasının, terapinin ilk 12.-18. ayı içinde meydana gelmesi ve tedavinin 18-24 ayı boyunca NAb negatif olan hastaların, daha sonra nadiren NAb pozitif dönüşmesi ile açıklanabilir. Bu durumun klinik pratikteki anlamı, tedavinin ilk 2 yılında NAb negatif olan hastaların, NAb için takipten çıkarılabilesidir. Öte yandan, terapinin ilk 12-30 ayı içinde NAb pozitif olan hastaların büyük çoğunluğunun birkaç yıl süreyle NAb pozitif kalmaya devam edecekleri unutulmamalıdır (132).

Çalışmamızda, birinci değerlendirmede NAb pozitif olup ikinci değerlendirmede NAb negatif dönüşen hastaların 3'ü IFN β -1b preparatı, 1'i IFN β -1a SC kullanmaktaydı. IFN β -1a'ya karşı oluşan antikorların affinitesinin, IFN β -1b'ye karşı oluşan antikorlara göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (106). Her ne değin, bu gözlem yorum yapmak için yeterli olmasa da, IFN β -1b'ye karşı gelişen antikorların daha erken kaybolduğunu gösteren çalışmaları destekler niteliktedir (86,132). IFN β -1b ile oluşan antikorların daha erken kaybolmasının bir diğer olası nedeni, IFN β -1b'nin IFN β -1a'ya göre 5.5-10 kat daha fazla protein yükü içermesi nedeniyle (100), enjeksiyon başına düşen yüksek protein yükünün immün toleransta kırılmaya yol açıp NAb oluşmasına neden olması yanısıra (103), süregelen enjeksiyon başına düşen yüksek protein yükünün, aynı hızda immün toleransın tamirine yola açabileceği şeklinde açıklanmaktadır (133). IFN β -1b'ye karşı gelişen antikorların daha erken kaybolduğunu gösteren başka çalışmalar da vardır (86,132,134).

Literatürde bildirilen NAb sıklığı çalışmadan çalışmaya değişmektedir. Hastaların %28-47'si IFN β -1b'ye, %12-28'i IFN β -1a SC'ye, %2-6'sı IFN β -1a IM'ye karşı antikor geliştirmektedir (9,10,67,69,71,84,88,89,129). Daha önce belirtildiği üzere, preparatın kendisi immünogenezi belirleyen başlıca nedendir. Ancak aynı ürün de bile gerek bireysel gerekse preparatla ilgili farklılıklar olabilmektedir (103,135,136). Örneğin IFN β -1a IM'nin formülasyonunda ve üretim sürecinde bir değişiklik sonrası NAb pozitif hastaların sıklığı %22'den %2'ye düşmüştür (10,101). İmmünogenezi etkileyen bir diğer öge ilaç uygulama yoludur (SC, IM ya da IV). Bu bağlamda en güçlü ilişki SC enjeksiyonlarıdır, bu yolu IM ve IV uygulamaları takip eder (103,137). IM uygulamalarının SC uygulamalarından daha az NAb'a yol açmasının nedenlerinden biri olasılıkla, IM enjeksiyonlarının enjekte edilen dokudan klirensinin daha hızlı olmasıdır (103). Uygulanan yöntemler arasında da değişkenlik olmakla birlikte, bizim sonuçlarımız aynı yöntemi kullanan çalışmalara göre de düşük

bulunmuştur (5,138,110). Çalışmalardaki NAb sıklığını karşılaştırmak, NAb pozitifliğinin tanımında ve tayininde kullanılan metodların farklılığı nedeniyle de güçtür. Bazı çalışmalarda takip eden iki pozitif NAb testi, bazılarında ise tek bir pozitive NAb pozitif olarak kabul edilmektedir (100). IFN β -1b ile yapılan klinik çalışmaların çoğunda hastalar NAb testi ile takip edilirken (9,69), IFN β -1a ile yürütülen çalışmalarda hastalar BAb değerlendirmesi ile takip edilmiştir, ve yalnızca BAb pozitif hastalar NAb incelemesi için değerlendirmeye alınmıştır (71, 11).

İmmünizasyonun diğer formlarının tersine NAb'lar görece daha yavaş gelişir (11). NAb'ların tedavi başlangıcından 6-12 ay sonra meydana geldiği bildirilmiştir (139-142). Bununla birlikte, IFN β -1b'nin faz III öncül çalışmasında, NAb'ların klinik üzerine etkilerinin 18 aydan sonra, IFN β -1a SC'nin uzatma çalışması (PRISMS-4)'te ise 14 aydan sonra görülmeye başlandığı bildirilmiştir (11,69). IFN β 'nın immun hücre fonksiyonları üzerindeki biyolojik etkilerinde azalma tedaviden yaklaşık bir yıl sonra ortaya çıkarsa da, atak aktivitesinde azalmanın ortadan kalkması için üç-dört yıl gereklidir (95,139,143). Hartung ve arkadaşları (2005) NAb'ların terapötik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, tedavi süresinin en az 18-24 ay olmasını ve belirtilen sürelerden daha kısa olmamasını önermektedirler (144). Çalışmamızın ortalama tedavi süresi 44 aydır ve NAb'ların atak hızındaki etkinliği konusunda, tedavi süresi daha kısa olan çalışmalara (68,72) göre sonuçlarımızın daha sağlıklı olacağını düşündürmektedir.

Çalışmamız, BAb varlığının gerek atak hızı ve izlemde geçirilen atak sayısı gerekse EDSS temelinde klinik üzerine etkisi olmadığını göstermektedir. Bu bulgu literatürle uyumludur (7,11).

Çalışmamızda, her iki değerlendirmede NAb pozitif olan (kalıcı NAb pozitifliği) hastaların atak hızındaki azalma değişimi, kalıcı NAb negatif hastaların atak hızındaki azalma değişiminden daha az bulunmuştur. Bunun yanısıra, ilk değerlendirmede NAb negatif bulunan ve ikinci değerlendirmede de NAb negatif kalmaya devam eden hastaların, bir yıllık izlem süresi boyunca atak geçirirken yalnızca %32'si, her iki değerlendirmede NAb pozitif bulunan hastaların %60'ının aynı süre içinde atak geçirdiği saptanmıştır. Her ne kadar bu farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmamışsa da kalıcı NAb pozitif olan hastaların, bir yıllık izlemde atak geçirmeye daha çok eğilimli oldukları belirlenmiştir. Bu durum, kliniği iyi bile

olsa NAb pozitif saptanan hastaların yüksek riskli olduğunu göstermesi ve şiddetleri önceden bilinmeyen ataklardan geriye kalacak engelliliğin öngörülememesi nedeniyle oldukça önemlidir. Bu yatkinlığın belirlenmesi, daha fazla sayıda hasta ile yinelenen değerlendirmelerle netlik kazanacaktır düşüncesindeyiz.

Çalışmamızdaki NAb pozitifliğinin atak hızına olan olumsuz etkileri literatürdeki bazı çalışmalarla uyumludur (11,69,127,129). IFN β -1b'nin üç yıllık izlem süreli öncül çalışmasında, tedavinin 18. ayından sonra, çalışma sonuna kadar NAb pozitif hastaların ortalama atak hızı, NAb negatif hastalara göre anlamlı derecede daha fazla, plasebo grubunun atak hızı ile benzer bulunmuştur (69). 2003 yılında Sorensen ve arkadaşları, IFN β preparatı kullanan 541 RRMS hastasında beş yıl süreyle, yılda bir kez NAb incelemesini yinelemişler ve hastaların NAb pozitif ve NAb negatif oldukları dönemlerdeki atak hızının NAb pozitif dönemde arttığını belirlemişlerdir. Çalışmanın 12. ayında, ilk atağa kadar geçen süre NAb negatif hastalarda 605 gün olmasına karşın, NAb pozitif hastalarda 361 gün olarak saptanmıştır, ve bu fark anlamlı bulunmuştur (129). Malucchi ve arkadaşlarının 2004 yılında bildirdikleri izlem süresi üç yıl olan çalışmalarında, en az bir yıl süreyle IFN β preparatı kullanan 78 RRMS'li olguda, tedavinin ikinci yılından itibaren NAb pozitif bulunan olguların atak hızının, NAb negatif bulunanlardan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Çalışmada, istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa bile, NAb negatif grupta ataksız seyreden hasta sayısının daha fazla olduğu belirtilmiştir (127). Francis ve arkadaşları (2005), PRISMS çalışmasını izleyen iki yılda, 22 μ g IFN β -1a SC kullanan 189 RRMS'li hasta ile 44 μ g IFN β -1a SC kullanan 184 RRMS'li hastada dört yıl süreyle NAb'ların klinik ve radyolojik etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmada preparatın yüksek dozunun daha az immunojenik olduğu gösterilmiştir. Çalışmanın BAb tayini ELISA ile çalışılmıştır ve BAb'ın pozitif saptanması durumunda NAb incelemeleri yapılmıştır. BAb pozitif ve negatif hastalar arasında atak hızı açısından fark saptanmamıştır. Çalışmanın birinci-dördüncü yılı ile birinci-ikinci yılı arasında NAb pozitif ve NAb negatif hastalar arasında atak hızı açısından fark olmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte üçüncü-dördüncü yılı arasında yüksek doz IFN β -1a SC kolundaki NAb pozitif hastaların atak hızı, NAb negatif hastalara göre artmış bulunmuştur. Bu durum, NAb'ın tedavinin ilk yılı içinde geliştiğinin gösterilmesine karşın, klinik üzerine olan olumsuz etkilerinin tedavinin ikinci yılından itibaren kendini göstermeye başladığı şeklinde yorumlanmıştır (11). Kappos ve arkadaşları (2005) IFN β -1a (IM) doz karşılaştırma

çalışmasında, ELISA testi ile BAb pozitif olduğu belirlenen hastalarda CPE yöntemi ile NAb'ları değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada 30µg/hafta kullanan hastaların yalnızca %1.8 (7/400)'inde NAb pozitif saptanmıştır (10) ve Francis ve arkadaşlarının (11) sonuçlarına benzer şekilde, NAb pozitif hastaların atak hızının NAb negatif olanlardan daha fazla olduğu gösterilmiştir (10).

Boz ve arkadaşlarının 2007 yılında en az üç yıldır farklı IFNβ preparatlarıyla tedavi edilen 262 hasta ile gerçekleştirdikleri retrospektif çalışmada, NAb tayini CPE yöntemi ile yapılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde IFNβ-1b kullanan hastaların %15'i NAb pozitif, IFNβ-1a IM kullanan hastaların tümü hem çalışma başlangıcında hem de izlem süresi boyunca NAb negatif bulunmuştur. Boz ve arkadaşlarının bu çalışmasında, bizim çalışmamıza benzer şekilde en az immünojenik IFNβ preparatının IFNβ-1a IM, en çok immünojenik olanın ise IFNβ-1b olduğu bir kez daha gösterilmiştir. NAb pozitif hastalarda atak hızının tedavinin üçüncü ve dördüncü yıllarında daha fazla olduğu da bildirilmiştir (145).

Buna karşın, her ikisi de 2002 yılında bildirilen, Durelli ve arkadaşları ile Panitch ve arkadaşlarının çalışmalarında, NAb pozitif hastalarla NAb negatif hastalar arasında atak hızı açısından farklılık saptanmamıştır (68,72). Bu iki çalışmada ortalama tedavi süresi iki yıldan azdır. Diğer yandan tedavi süresi iki yıldan fazla olan Frank ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada da NAb'ların atak hızına etkisi gösterilememiştir (146). Bu sonuçlar, NAb'ların klinik tablo üzerine etkinliğinin olup olmadığı konusunda tartışmaların ortaya çıkmasına yol açmıştır.

Çalışmamızda, beklenmedik bir şekilde, bir yıllık izlem süresinde kalıcı NAb negatif hastaların %32'sinin atak geçirdiği belirlenmiştir. NAb'ların sorumlu olmadığı durumlarda, IFNβ'ya klinik yanıtızlığın bireyler arasındaki genetik polimorfizmden kaynaklanabileceği son zamanlardaki çalışmalarda gösterilmiştir (147,148).

Çalışmamızda BAb pozitifliğinin yanısıra, NAb pozitifliğinin de EDSS temelinde klinik üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir. Hem ilk hem de bir yıl sonraki ikinci değerlendirmede, NAb pozitif ve NAb negatif hastaların EDSS skorları arasında fark saptanmamıştır. Ayrıca, kalıcı NAb pozitif ve kalıcı NAb negatif hastaların EDSS skoru fark ortalamasında da istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. EDSS skoru değişimlerinin farkının

anlamlılığını araştıran başka bir çalışma da, IFN β -1b'nin öncül çalışmasıdır. Bu çalışmada, üç yıllık izlemde NAb pozitif ve negatif hastalar arasında bazalden itibaren EDSS değişimi açısından fark saptanmamıştır (69). Bununla birlikte, longitudinal çalışmalarda, EDSS skorlarında bazal seviyeden itibaren olan değişimlerin analizi söz konusu olduğunda, bu çalışmaların bazı sınırlılıkları ortaya çıkmaktadır. Çünkü EDSS skorunu oluşturan basamaklar skalayı oluşturan sayıların doğasından kaynaklanmaktadır ve klinik kötüleşme ile birebir ilişkili olmadığı bildirilmiştir (9). Ayrıca, çalışmalar IFN β 'nin atak sıklık ve şiddetini etkilemekle birlikte progresyon üzerine etkisinin çok az olduğunu göstermektedir (14,112). Tüm bu olumsuzluklara rağmen, bu yaklaşımın kolay olması ve önceki çalışmalarla kıyaslama yapmaya izin vermesi gibi bazı avantajları vardır (9). Sorensen ve arkadaşları tarafından 2003 yılında IFN β preparatı kullanan 541 RRMS hastası ile yapılan çalışmada da NAb pozitifliğinin, EDSS temelinde kliniğe etkisi olmadığı gösterilmiştir (129). 2004 yılında Frank ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmıştır (146). Aynı yıl Petkau ve arkadaşlarının IFN β -1b (1.6 MIU ve 8 MIU) kullanan RRMS hastalarında yaptıkları çalışmada ise NAb tayini hem MxA hem de CPE yöntemi ile değerlendirilmiştir. İki yöntemin, NAb pozitifliğinin ortaya konulması açısından oldukça uyumlu olduğu gösterilmiştir. Her iki yöntemle de NAb varlığının EDSS skorları üzerine negatif etkileri saptanmamıştır (149).

Literatürde, NAb pozitifliğinin EDSS temelinde kliniği olumsuz etkileyebileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Malucchi ve arkadaşlarının (2004) üç yıllık izlem süreli, en az bir yıldır IFN β ile tedavi edilen 78 RRMS hastasıyla yaptıkları çalışmada, EDSS skorunda üç ay süreyle bir ya da daha çok puan artışı gösteren hasta sayısı, kalıcı NAb pozitif grupta kalıcı NAb negatif gruba göre daha fazla bulunmuştur (127). Kappos ve arkadaşları (2005) tarafından IFN β -1a doz karşılaştırma (30 μ g ve 60 μ g haftada bir IM) çalışmasında, NAb pozitif hastalarda dördüncü yılın sonundaki ortalama EDSS skorundan ortalama bazal EDSS skorunun çıkarılması ile bulunan ortalama EDSS skorundaki değişim daha yüksek bulunmuştur (10).

İnterferon beta aktivitesinin oldukça hassas göstergelerinden biri Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)'dir. NAb'ın MRG üzerine olan etkisinin, klinik üzerine olan etkisinden daha önce görüldüğü bildirilmiştir. Farklı MRG parametrelerinin kullanımı nedeniyle,

çalışmalarda NAb'ların MRG üzerine etkilerini karşılaştırmak oldukça zordur. Ayrıca yapılan çalışmalarda genellikle birkaç parametre birden kullanılmıştır ve NAb'ların tüm parametreleri etkilemediği, etkisinin parsiyel olduğu bildirilmiştir (68). Örneğin IFN β -1b'nin öncül çalışmasında ikinci ve üçüncü yıllarda (8 MIU IFN β -1b kolunda), NAb pozitif hastalarda MRG'de ortalama büyüyen/genişleyen lezyon sayısı NAb negatif hastalara göre anlamlı derecede fazla bulunmuşken, yeni gelişen lezyon sayısı açısından iki grup arasında farklılık saptanmamıştır. Bu durum tüm öncül çalışmalarda olduğu gibi MRG değerlendirmelerinin rastlantısal olarak seçilmiş bir subgrupta analiz edilmesine de bağlı olabilir (69,71). Literatürde birçok örnek çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da NAb'ların MRG üzerine etkileri bir subgrupta analiz edilmiş, NAb pozitifliğinin MRG'de T2 lezyon hacmi ve kontrast tutan lezyon sayısı üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda NAb pozitifliğinin T2 lezyon hacminde bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır. Oysa 2003 yılında Polman ve arkadaşlarının IFN β -1b kullanan SPMS'li hastalarda yaptığı çalışmada, tedavinin birinci yılı sonunda NAb pozitif hastaların T2 lezyon hacmi, NAb negatif hastalara göre daha fazla bulunmuştur. Anlamlılığın ikinci ve üçüncü yıllarda da devam ettiği gösterilmiştir (9). Bizim hasta grubumuz 4'ü dışında RRMS'lilerden oluşmaktaydı. Polman ve arkadaşlarının SPMS'lilerde elde etmiş olduğu bu sonuçlar nörodejenerasyonun hızla ilerlediği SPMS'liler için geçerli olabilir (9).

Birinci değerlendirmede, BAb negatif hastaların MRG'deki T2 lezyon hacmi fark ortalaması daha yüksek saptanmıştır. Ayrıca, kalıcı BAb negatif hastaların lezyon hacmi fark ortalaması da daha yüksek saptanmıştır. Bu istatistiksel verinin bugünkü bilgilerle açıklanması mümkün görülmemektedir.

Çalışmamızda istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa bile, NAb pozitif hastalarda kontrast tutan lezyon sayısının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç Rudick ve arkadaşlarının, 30 μ g IFN β -1a IM kullanan 41 RRMS'li hasta ile yaptıkları çalışma ile uyumludur (71). Çalışmacılar, tedaviden iki yıl sonra NAb pozitif saptanan hastalarda, MRG'de kontrast tutan lezyon sayısının, NAb negatif hastalardan daha fazla olma eğiliminde olduğunu bildirmiştir (71). IFN β -1a SC (44 μ g) ile IFN β -1a IM (30 μ g) tedavisinin karşılaştırıldığı 11 ay süreli, randomize bir çalışmada, yalnızca IFN β -1a SC kullanan NAb pozitif hastaların, NAb negatiflere göre daha çok kontrastlanan lezyonu olduğu saptanmıştır (68). IFN β -1b kullanan

30 RRMS hastasının, üç yıl süreyle aylık MRG ile izlendiği bir başka çalışmada, NAb pozitifliğinin MRG üzerine etkisi; kontrast tutan lezyon sayısı, beyaz cevher lezyon yükü ve beyin hacmi olmak üzere üç açıdan araştırılmıştır. Hastaların NAb pozitif olduğu dönemde, kontrast tutan lezyon sayısında ve beyaz cevher lezyon yükünde artış saptanmıştır. Ancak, çalışmamızdakine benzer şekilde, beyin hacmi açısından hastaların NAb pozitif ve NAb negatif dönemleri arasında fark bulunmamıştır (146). Bu konuda yapılmış önemli çalışmalardan bir diğeri olan PRISMS'de, ilk iki yılda NAb'ların MRG üzerine bazı olumsuz etkileri gözlenebildiğiysen de üçüncü ve dördüncü yıl sonuçlarında NAb'ların radyolojik veriler üzerine olumsuz etkileri çok daha açık bir şekilde saptanmıştır (67,89). 2005 yılında Francis ve arkadaşları PRISMS çalışmasının 4 yıllık izlem sonuçlarını NAb temelinde bildirmiştir. IFN β -1a SC (44 μ g) kullanan 184 RRMS'li olguda, NAb pozitif saptanan hastaların ortalama kontrast tutan lezyon sayısı ve başlangıçtan ikinci ve dördüncü yıla kadar olan ortalama T2 lezyon yükündeki değişimi daha fazla bulunmuştur (11).

NAb'lar klinik pratikle ilişkilendirildiğinde, asıl sorun kliniği iyi olan NAb pozitif hastalarda tedavi değişikliğinin yapılıp yapılmayacağı konusudur. Farrel ve arkadaşları bu gibi durumlarda NAb testlerinin, gelecekteki atak riskini tahmin etmede ve tedaviden yararlanmayacak hastaları önceden belirlemede bir belirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmektedirler (150). Bu bağlamda, Sorensen ve arkadaşları NAb pozitif dönemde hastaların atak geçirme açısından daha riskli ve bir sonraki atağa kadar geçen sürenin, NAb negatiflerden 244 gün daha kısa olduğunu bildirmektedirler (129). Avrupa klavuzları NAb testinin IFN β tedavisine başladıktan 12 ve 24 ay sonra ya da bir atağı takiben yapılmasını, NAb pozitif bulunan hastalarda üç ya da altı ay sonra testin tekrarını, ve yüksek titrelerin devamlılığı durumunda IFN β tedavisinin kesilmesini önermektedir (95). Ayrıca önerilerinden biri 24. ayda NAb negatif bulunan hastaların NAb testi takibinden çıkarılmasıdır. IFN β -1b ile tedavi edilen ve kalıcı NAb pozitif olan hastaların %52'sinin ilerleyen zamanlarda NAb negatif'e dönüşeceğinin bildirilmesinden sonra (132), bazı klinisyenler tedavinin kesilmesine ihtiyaç olmadığını savunmaktadırlar. Bununla birlikte hastaların hepsinde bu dönüşümün olmayacağı ve esasen düşük titrelerde gözleneceği bildirilmiştir. Ayrıca NAb pozitif dönemler boyunca hastalar artmış atak riski ve belki de kısmi iyileşme sonucu artmış özürülük riski altında olacaktır. Yüksek titrelerde NAb pozitif hastalarda alternatif tedavileri savunan yazarların dayanağı buradan gelmektedir (150). Amerikan klavuzları ise kalıcı NAb'ların

IFN β tedavisinin etkinliğinde azalma ile ilişkili olma olasılığını kabul etmekle beraber, NAb'ların mevcudiyeti halinde bile IFN β tedavisinin kesilmesini önermemektedir. Bu klavuz, NAb testlerini zorunlu kılmamakta, ne zaman ve hangi yöntemle ölçülmesi hakkında öneride bulunmamaktadır. Buna rağmen, klavuzun en önemli vurgularından biri de MxA proteini ya da mRNA ölçümünün daha güvenilir test sonuçlarını sağladığını ifade etmesidir. Ayrıca, NAb'ların tedaviden sonra ilk 2 yıl içinde saptanmadığı hastalarda, ileride de NAb gelişiminin çok zayıf olduğu belirtilmektedir (151).

Çalışmamızın sınırlılıkları ve getirileri

Çalışmamızın sınırlılıklarından biri, SPMS hastalarında tedaviye karşı gelişen NAb'ların klinik ve radyolojik etkileri hakkında herhangi bir yorum yapılamamasıydı. Bunun asıl nedeni, kliniğimizde SPMS hastalarında izlenen tedavi prensibinin sıklıkla immunosupresan tedavi şeklinde ya da immunomodülatör tedavi ile kombine edilen immunosupresan tedavi şeklinde olmasıdır. Çalışma süresince, kliniğimizde izlenen SPMS hastalarından, sadece 4'ü çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılıyordu. Çalışmamızın hiçbir aşamasında SPMS hastalarında NAb pozitif olarak saptanmadı. 317 SPMS hastasını kapsayan çok merkezli, çift kör, plasebo kontrollü, randomize, üç yıllık izlem süreli, Kuzey Amerika IFN β -1b çalışmasında, hastaların %23'ünde NAb pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada SPMS'te NAb pozitifliğinin gerek yıllık atak hızı, EDSS değişimi gerekse MRG üzerine herhangi bir etkisi gösterilmemiştir ve NAb pozitif hastaların yaklaşık yarısında gelişen NAb'ların çalışma süresinde kaybolduğu belirlenmiştir (152). Çalışmamızın bir diğer sınırlılığı, NAb pozitif hasta sayısının az olmasıydı. Bunun nedeni, hastaların bir bölümünün IFN β ile tedavi sürelerinin, NAb'ların kaybolmasına izin verebilecek bir süreyi içermesi olabilir.

Tüm bu kısıtlılıklara karşın, çalışmamızın gerek ulusal gerekse uluslararası özgün yanları mevcuttur. Uluslararası literatürde NAb'ların T2 lezyon hacmi temelinde MRG üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sayısı yalnızca ikidir, ülkemizde ise T2 lezyon hacmi ölçümü ilk defa bu çalışma ile birlikte bilimsel platformda yerini almıştır. Bu çalışma, ülkemizde hem NAb tayininin yapıldığı hem de NAb'ların klinik ve radyolojik bulgular üzerine etkilerini araştıran ilk araştırmadır. Hastalarımızda saptanan NAb sıklığı aynı metodolojiyi kullanan ve benzer tedavi sürelerini içeren çalışmalara göre düşük saptanmıştır.

Bu durum ÷lkemizdeki MS hastalarının genetik özellikleri ile de ilişkili olabilir. Çalışmamızda, NAb pozitif hasta sayısının düşüklüğüne karşın, NAb varlığının olumsuz etkileri saptanabilmiştir. NAb pozitif olduğu belirlenen hastaların yüksek riskli olduğu ve bir yıllık takip süresinde bile hastaların en az yarısının atak geçirdikleri belirlenmiştir. MS, alevlenmelerinin ve alevlenmelerden sonra geriye kalan engelliliğin öngörülemediğı bir hastalıktır. IFN β tedavisi etkin bir koruyucu etkiye sahip olmakla birlikte pahalı bir tedavidir. Çalışmamız NAb saptanmayan hastaların önemli bir bölümünün tedaviden yararlandığını bir kez daha göstermiştir. Öte yandan, NAb saptanmayan hastaların da küçük bir bölümünün atak geçirdiğı izlenmiştir. Bu hastalarda NAb aracılı olmayan anti-interferon molek÷ler (non-NAb mediated anti-interferon molecules) mekanizmalarının (153) aydınlatılması gerekmektedir. Daha önemlisi, IFN β tedavisine başlamadan önce NAb geliştirebilecek hastaların belirlenmesidir. Çalışmamızın bu gereksinimi karşılayacak araştırmalara ışık tutacağı inancındayız. Bu bağlamda antikor geliştiren ve geliştirmeyen hastalarda yapılabilecek örneğın, HLA tiplendirmeleri gibi çalışmalar ile antikor geliştirme potansiyeli olan hastalar önceden belirlenip, hem maliyeti yüksek ve koruyuculuğı az/hiç ol(may)acak bu tedavi seçeneğı bireyselleştirilebilir hem de NAb geliştirebilecek hastalarda Faz III çalışma sonuçları yüz güldürücü olan ve çok yakın bir zamanda da kullanıma girecek olan oral immunosupresif/immunomod÷latör (154,155) ilaçlar ilk adım tedaviler olarak seçilebilir.

SONUÇLAR

1. cELISA ile BAb negatif saptanan hastaların biri dışında tümünde NAb negatif saptanmıştır. BAb negatif örnekler güvenilir bir biçimde NAb negatifliğinin göstergesidir. Bu durum, BAb'ın negatif olması halinde IFN β 'nın tedavi etkinliği açısından kuşku duyulmamasını sağlamaktadır.

2. Çalışmamızda BAb pozitif hastaların NAb pozitifliğindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. BAb pozitif hastalar, NAb geliştirebileceği için kliniğinde sorun olmasa bile çok yakından izlenmelidir.

3. IFN β -1b SC'nin neden olduğu BAb pozitiflik oranının, IFN β -1a SC ve IFN β -1a IM'ye göre, IFN β -1a SC'nin neden olduğu BAb pozitiflik oranının ise IFN β -1a IM'ye göre anlamlı yüksek olduğu belirlenmiştir. IFN β preparatlarının immünogenetik potansiyellerine göre gösterdiği bu farklılıklar literatürdeki verilerle uyumludur.

4. NAb sıklığı en çok IFN β -1b kullanan hastalarda belirlenmiştir. IFN β -1a IM kullanan hastaların hepsi NAb negatif saptanmıştır.

5. Çalışmamızda NAb pozitiflik oranı diğer çalışmalara göre düşük olarak saptanmıştır. Bunun nedeni çalışmadaki hastaların tedavi sürelerinin NAb'ların kaybolma zamanına izin verecek uzunlukta olması yanısıra ülkemizdeki MS hastalarının genetik özelliklerinin farklılığından dolayı olabilir.

6. Çalışmamızda, BAb'ların atak hızı ve EDSS temelinde klinik üzerine etkilerinin olmadığı gösterilmiştir. NAb'ların ise varlığı halinde atak hızını arttırdığı saptanmıştır ve istatistiksel anlamlılığa ulaşmamakla birlikte bir yıllık izlemde NAb pozitif hastaların yarısından fazlasının atak geçirdikleri belirlenmiştir.

7. NAb pozitif hastaların T2 lezyon hacmi ve kontrast tutan lezyon sayısı temelinde MRG üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir.

Bu çalışma verileri NAb gelişiminin ve interferon yanıtızlılığının immunogenetik temellerinin araştırılması konusunda yapılacak çalışmalara temel oluşturacak niteliktedir.

KAYNAKLAR

1. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP et al. The natural history of multiple sclerosis: A geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain* 1989;112:133-146.
2. Ebers GC. Natural history of multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers GC, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. London: Churchill Livingstone, 1998;191-222.
3. Lublin FD, Reingold SC and National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. *Neurology* 1996;46:907-911.
4. Miller AE, Lublin FD, Coyle PK. In: Miller AE. *Disease Modifying Therapy. Multiple Sclerosis in Clinical Practice*. First Edition. London and New York: Martin Dunitz, 2003;163-183.
5. Pachner AR, Dail D, Pak E et al. The importance of measuring IFNbeta bioactivity: monitoring in MS patients and the effect of anti-IFNbeta antibodies. *J Neuroimmunol* 2005;166:180-188.
6. Malucchi S, Gilli F, Caldano M et al. Predictive markers for response to interferon therapy in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2008;70:1119-1127.
7. Oger J, Gibbs E. Binding antibodies: Vancouver's perspective. *Mult Scler* 2007;13:36-43.
8. Durelli L, Verdun E, Barbero P et al. Every-other-day interferon beta-1b versus once-weekly interferon beta-1a for multiple sclerosis: results of a 2-year prospective randomised multicentre study (INCOMIN). *Lancet* 2002;359:1453-60.
9. Polman C, Kappos L, White R et al. European Study Group in Interferon Beta-1b in Secondary Progressive MS: Neutralizing antibodies during treatment of secondary progressive MS with interferon beta-1b. *Neurology* 2003;60:37-43.
10. Kappos L, Clanet M, Sandberg-Wollheim M, et al. Neutralizing antibodies and efficacy of interferon β -1a: a 4-year controlled study. *Neurology* 2005;65:40-47.
11. Francis GS, Rice GPA, Alsup JC, for the PRISMS study group Interferon beta-1a in MS. Results following development of neutralizing antibodies in PRISMS. *Neurology* 2005;65:48-55.

12. Hesse D, Sorensen PS. Using measurements of neutralizing antibodies: the challenge if IFN-beta therapy. *Eur J Neurol* 2007;14:850-859.
13. Rot U, Sominanda A, Fogdell-Hahn A et al. Impression of clinical worsening fails to predict interferon-beta neutralizing antibody status. *J Int Med Res* 2008;36:1418-25.
14. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M et al. Medical progress: multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:938-952.
15. Neuhaus O, Kieseier BC, Hartung HP. Therapeutic role of mitoxantrone in multiple sclerosis. *Pharmacology&Therapeutics* 2006;109:198-209.
16. Weiner HL. A shift from adaptive to innate immunity:a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *J Neurol* 2008;255:3-11.
17. Lucchinetti CF,Brück W, Lassmann H. Pathology and Pathogenesis of Multiple Sclerosis. In: McDonald WI, Nosewothy JH. *Blue Books of Practical Neurology. Multiple Sclerosis 2.* USA: Elsevier Science, 2003;93-115.
18. Charcot JM. Histologie de la sclerose en plaque. *Gaz Hospital (Paris)* 1848;41:554-556. (Kornek B, Lassmann H. Axonal pathology in multiple sclerosis. A historical note. *Brain Pathol* 1999;9:651-656).
19. Charcot JM. Lecons sur les Maladies du Systeme Nerveux Faites a la Salpetriere. In: Delahaye A, Lecrosiew E. Paris: Cerf et fils, 1880;189-220. (Kornek B, Lassmann H. Axonal pathology in multiple sclerosis. A historical note. *Brain Pathol* 1999;9:651-656).
20. Lassmann H, Raine CS, Antel J et al. Immunopathology of multiple sclerosis: report on an international meeting held at the Institute of Neurology of the University of Vienna. *J Neuroimmunol* 1998;86:213-217.
21. Brück W, Porada P, Poser S et al. Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995;38:788-796.
22. Rodriguez M, Scheithauer BW. Ultrastructure of multiple sclerosis. *Ultrastruct Pathol* 1994;18:3-13.
23. Prineas JW, Barnard RO, Revesz T et al. Multiple sclerosis: pathology of recurrent lesions. *Brain* 1993;116:681-693.
24. Hemmer B, Archelos JJ, Hartung H-P. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:291-301.

25. Giovannoni G, Hartung HP. The immunopathogenesis of multiple sclerosis and Guillain-Barre syndrome. *Curr Opin Neurol* 1996;9:165-177.
26. Coyle PK. The neuroimmunology of multiple sclerosis. *Adv Neuroimmunol* 1996;6:143-154.
27. Perry VH, Newman TA, Cunningham C. The impact of systemic infection on the progression of neurodegenerative disease. *Nature Rev Neurosci* 2003;4:103-112.
28. Tuohy VK, Yu M, Yin L et al. The epitope spreading cascade during progression of experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Immunol Rev* 1998;164:93-100.
29. Yong VW. Immunopathogenesis of Multiple Sclerosis. In: Miller AE *Continuum. Lifelong Learning in Neurology. Mult Scler* 2004;11-28.
30. Yong VW. Differential mechanisms of action of interferon-beta and glatiramer acetate in MS. *Neurology* 2002;5:463-468.
31. Yong VW, Power C, Forsyth P et al. Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nature Rev Neurosci* 2001;2:502-511.
32. Yong VW, Krekoski CA, Forsyth PA et al. Matrix metalloproteinases and diseases of the CNS. *Trends Neurosci* 1998;21:75-80.
33. Chandler S, Miller KM, Clements JM et al. Matrix metalloproteinases, tumour necrosis factor and multiple sclerosis: an overview. *J Neuroimmunol* 1997;72:155-161.
34. Maeda A, Sobel RA. Matrix metalloproteinases in the normal human central nervous system, microglial nodules, and multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:300-339
35. Cuzner ML, Gveric D, Strand C et al. The expression of tissue-type plasminogen activator, matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors in the central nervous system in multiple sclerosis: comparison of stages in lesion evolution. *J Neuropath Exp Neurol* 1996;55:1194-1204.
36. Lee MA, Palace J, Stabler G et al. Serum gelatinase B, TIMP-1 and TIMP-2 levels in multiple sclerosis. A longitudinal clinical and MRI study. *Brain* 1999;122:191-197.
37. Yong VW, Chabot S, Stuve O et al. Interferon beta in the treatment of multiple sclerosis: mechanisms of action. *Neurology* 1998;51:682-689.

38. Navikas V, Link H. Review: cytokines and the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neurosci Res* 1996;45:322-333.
39. Martino G, Hartung HP. Immunopathogenesis of multiple sclerosis: the role of T cells. *Curr Opin Neurol* 1999;12:309-321.
40. Furuzawa-Caballeda J, Vargas-Rojas MI, Cabral AR. Autoimmune inflammation from the TH17 perspective. *Autoimmun Rev.* 2007;6(3):169-175.
41. Luchinetti C, Bruck W, Parisi J et al. A quantitative analysis of oligodendrocytes in multiple sclerosis lesions: a study of 113 cases. *Brain* 1999;122:2279-2295.
42. Luchinetti C, Bruck W, Parisi J et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000;47:707-717.
43. Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001;7:115-121.
44. Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol* 2004;55(4):458-468.
45. Trap BD, Ransohoff RM, Rudick R. Axonal pathology in multiple sclerosis: relationship to neurologic disability. *Curr Opin Neurol* 1999;12:295-302.
46. Coleman MP, Perry VH. Axon pathology in neurological disease: a neglected therapeutic agent. *Trends Neurosci* 2002;25:532-537.
47. Filippi M, Bozzali M, Rovaris M et al. Evidence for widespread axonal damage at the earliest clinical stage of multiple sclerosis. *Brain* 2003;126:433-437.
48. Bjartmar C, Trap BD. Axonal and neuronal degeneration in multiple sclerosis: mechanisms and functional consequences. *Curr Opin Neurol* 2001;14:271-278.
49. Steinman L. Multiple sclerosis. *Nat Immunol* 2001;2(9):762-4.
50. Lublin FD. Treatments for multiple sclerosis. In: Miller AE AAN. *Continuum. Lifelong Learning in Neurology. Multiple Sclerosis* 2004;120-141.
51. Multiple Sclerosis Therapy Consensus Group. Escalating immunotherapy of multiple sclerosis. New aspects and practical application. *J Neurol* 2004;251:1329-1339.
52. Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM et al. A randomized trial of plasma Exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann Neurol* 1999;46:878-886.

53. Goodin DS. Therapeutic developments in multiple sclerosis. *Expert Opin Investig Drugs* 2000;9:655-670.
54. Hartung HP, Bar-Or A, Zoukos Y. What do we know about the mechanism of action of disease-modifying treatments in MS? *J Neurol* 2004;251:12-29.
55. Arnon R. The development of Cop 1 (Copaxone), an innovative drug for the treatment of multiple sclerosis: personal reflections. *Immunology Letters* 1996;50:1-15.
56. Fridkis-Hareli M, Teitelbaum D, Gurevich E, et al. Direct binding of myelin basic protein and synthetic copolymer I to class II major histocompatibility complex molecules on living antigenpresenting cells-specificity and promiscuity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:4872-4876.
57. Blanchette F, Neuhaus O. Glatiramer Acetate. Evidence for a dual mechanism of action. *J of Neurol.* 2008;255:26-36.
58. Miller DH, Khan OA, Sheremata WA et al. A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Eng J Med* 2003;348:15-23.
59. Scott LJ, Figgitt DP. Mitoxantrone: a review of its use in multiple sclerosis. *CNS Drugs.* 2004;18(6):379-96.
60. Edan G, Miller D, Clanet M et al. Therapeutic effect of mitoxantrone combined with methylprednisolone in multiple sclerosis: a randomised multicentre study of active disease using MRI and clinical criteria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;62:112-118.
61. Hartung HP, Gonsette R, König N et al and the Mitoxantrone in Multiple Sclerosis Study Group (MIMS). Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet* 2002;360:2018-25.
62. Fernández O. Combination therapy in multiple sclerosis. *J of the Neurol Sci* 2007;259:95-103.
63. Kohama I, Lankford KL, Preiningerova J. Transplantation of cryopreserved adult human Schwann cells enhances axonal conduction in demyelinated spinal cord. *J Neurosci* 2001;21:944-950.
64. Lublin FD, Baier M, Cutter G. Effect of relapses on development of residual deficit in multiple sclerosis. *Neurology* 2003;61:1528-1532.
65. Tullman M. Symptomatic therapy in multiple sclerosis. In: Miller. *Continuum. Lifelong Learning in Neurology. Multiple Sclerosis* 2004;142-172.

66. IFN β Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis.1. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1993;43:655-6.
67. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon β -1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group Randomised double-blind placebo controlled study of interferon β -1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet* 1998;352:1498-1504.
68. Panitch H, Goodin DS, Francis G et al. Randomized, comparative study of interferon β -1a treatment regimens in MS: the EVIDENCE trail. *Neurology* 2002;59:1496-1506.
69. IFN β Multiple Sclerosis Study Group, University of British Columbia MS/ MRI Analysis Group. Neutralizing antibodies during treatment of multiple sclerosis with interferon beta-1b: experience during the first three years. *Neurology* 1996;47:889-94.
70. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996;39:285-294.
71. Rudick RA, Simonian NA, Alam JA, et al. Incidence and significance of neutralizing antibodies to interferon beta-1a in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;50:1266-1272.
72. Durelli L, Verdun E, Barbero P et al. Every-other-day interferon beta-1b versus once-weekly interferon beta-1a for multiple sclerosis: results of a 2-year prospective randomised multicentre study (INCOMIN). *Lancet* 2002;359:1453-60.
73. Jacobs L, O'Malley J, Feeman A et al. Intrathecal interferon in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1982;39:609-615.
74. Rudick RA, Ransohoff RM, Pepler R et al. Interferon beta induces interleukin-10 expression: relevance to multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996;40:618-627.
75. Stuve O, Dooley NP, Uhm JH et al. Interferon b-1b decreases the migration of T Lymphocytes in vivo: effects on matrix metalloproteinase-9. *Ann Neurol* 1996;40:853-863.
76. Martin R. Immunology of Multiple Sclerosis. In: McDonald WI, Noseworthy JH. *Blue Books of Practical Neurology. Multiple Sclerosis 2*. USA: Elsevier Science 2003;33-59.
77. Javed A, Reder AT. Therapeutic role of beta-interferons in multiple sclerosis. *Pharm & Therap* 2006;110:35-56.

78. Pachner AR. Real-time Taqman assay for myxovirus resistance protein (MxA) mRNA: a robust marker of interferon beta bioactivity in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2007;13:49-52.
79. Giovannoni G, Munschauer III FE, Deisenhammer F. Neutralising antibodies to interferon beta during the treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:465-469.
80. Bellomi F, Scagnolari C, Tomassini V et al. Fate of neutralizing and binding antibodies to IFN beta in MS patients treated with IFN beta for 6 years. *J Neurol* 2003;251:3-8.
81. Deisenhammer F, Schellekens H, Bertolotto A. Measurement of neutralizing antibodies to interferon beta in patients with MS. *J Neurol*. 2004;251:31-39.
82. Gibbs E, MacDonnell G, Deisenhammer F et al. Binding antibodies to Interferon beta during treatment of MS are biologically and clinically relevant. *Neurology* 2002;58:A72.
83. Arnason BG, Dianzani F. Correlation of the appearance of anti-interferon antibodies during treatment and diminution of efficacy: summary of an International Workshop on Anti-Interferon Antibodies. *J Interferon Cytokine Res* 1998;18:639-644.
84. Perini P, Clabrese M, Biasi G et al. The clinical impact of interferon beta antibodies in relapsing-remitting MS. *J Neurol* 2004;251:305-309.
85. Wolinsky JS, Toyka KV, Kappos L et al. Interferon beta antibodies: implications for treatment of MS. *Lancet* 2003;2:528.
86. Gneiss C, Reindl M, Lutterotti A et al. Interferon beta: the neutralizing antibody (NAb) titre predicts reversion to NAb negativity. *Mult Scler* 2004;10:507-510.
87. Hemmer B, Stüve O, Kieseier B et al. Immune response to immunotherapy: the role of neutralising antibodies to interferon beta in the treatment of multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2005;4:403-412.
88. Kivisakk P, Alm GV, Tian WZ et al. Neutralizing and binding anti-interferon- β -1b (IFN- β -1b) antibodies during IFN- β -1b treatment of multiple sclerosis. *Mult Scler* 1997;3:184-190.
89. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon β -1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group PRISMS-4: long-term efficacy of interferon- β -1a in relapsing MS. *Neurology* 2001;56:1628-1636.

90. Bertolotto A, Gilli F, Sala A et al. Persistent neutralizing antibodies abolish the interferon β bioavailability in MS patients. *Neurology* 2003;60:634-639.
91. Von Wussow P, Jakschies D, Hochkeppel HK et al. The human intracellular Mx-homologous protein is specifically induced by type I interferons. *Eur J Immunol* 1990;20:2015-2019.
92. Von Wussow P, Jakschies D, Block B et al. The interferon-induced Mx-homologous protein in people with symptomatic HIV-1 infection. *AIDS* 1990;4:119-124.
93. Pachner AR, Bertolotto A, Deisenhammer F. Measurement of MxA mRNA or protein as a biomarker of IFN[beta] bioactivity: Detection of antibody-mediated decreased bioactivity (ADB). *Neurology* 2003;61:24-26.
94. Bertolotto A, Gilli F, Sala A. Evaluation of bioavailability of three types of IFN β in multiple sclerosis patients by a new quantitative-competitive-PCR method for MxA quantification. *J Immun Methods* 2001;256:141–152.
95. Sørensen PS, Deisenhammer F, Duda P. Guidelines on use of anti-IFN- β antibody measurements in multiple sclerosis: report of an EFNS Task Force on IFN- β antibodies in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2005;12:817–827.
96. Poser CM, et al. New Diagnostic Criteria for MS: guidelines for research protocol. *Ann Neurology* 1983;13:227-231.
97. McDonald WI, et al. Recommended Diagnostic Criteria for MS: guidelines from the International Panel on the diagnosis of MS. *ANN Neurol* 2001;50:121-127.
98. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1444-1452.
99. Nagata S, Taira H, Hall A et al. synthesis in E. coli of a polypeptide with human leukocyte interferon activity. *Nature* 1980;284:316-20.
100. Deisenhammer Florian. Neutralizing antibodies to Interferon-beta and other Immunological Treatments for Multiple Sclerosis Prevalans and Impacts on Outcomes. *CNS Drugs* 2009;23(5):379-396.
101. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA et al. A phase III trial of intramuscular recombinant interferon beta as treatment of exacerbating-remitting multiple sclerosis: design and conduct of study and baseline characteristics of patients. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Mult Scler* 1995;1:118-135.

102. Bertolotto A. Implications of neutralising antibodies on therapeutic efficacy. *J Neurol Sci* 2009;277:29-32.
103. Ross C, Clemmesen KM, Svenson M et al. Immunogenicity of interferon- β in multiple sclerosis patients: influence of preparation, dosage, dose frequency, and route of administration. *Ann Neurol* 2000;48:706-712.
104. Bendtzen K. Anti-IFN BAb and NAb antibodies: a minireview. *Neurology* 2003;61:6-10.
105. Bendtzen K, Svenson M, Jonsson V, Hippe E. Autoantibodies to cytokines – friends or foes? *Immunol Today* 1990;11:167-169.
106. Gneiss C, Tripp P, Ehling R et al. Interferon-beta antibodies have a higher affinity in patients with neutralizing antibodies compared to patients with non-neutralizing antibodies. *J Neuroimmunol* 2006;174:174-179.
107. Gneiss C, Reindl M, Berger T et al. Epitope specificity of neutralizing antibodies against IFN-beta. *J Interferon Cytokine Res* 2004;24:283-90.
108. Pachner AR, Oger J, Place J. The measurement of antibodies binding to IFNbeta in MS patients treated with IFNbeta. *Neurology* 2003;61:18-20.
109. Gneiss C, Brugger M, Millionig A et al. Comparative study of four different assays for the detection of binding antibodies against interferon- β . *Mult. Scler.* 2008;14:830–836.
110. Aarskog NK, Marøy T, Myhr K-M et al. Antibodies against interferon-beta in multiple sclerosis. *J of neuroimmunol* 2009;212:148-150.
111. Gilli F, Marnetto F, Caldano M et al. Anti-interferon-beta neutralising activity is not entirely mediated by antibodies. *J Neuroimmunol* 2007;192:198-205.
112. Sorensen PS. Neutralizing antibodies against interferon beta. *The Therapeutic Advances in Neurological Disorders* 2008;1:125-141.
113. Pachner AR, Brady J, Steiner I, Narayan K: Management of neutralizing antibodies against beta-IFN in beta-IFN-treated multiple sclerosis patients. *J Neurol* 2008;255:1815-1817.
114. Deisenhammer F, Reindl M, Harvey J et al. Bioavailability of interferon beta 1b in MS patients with and without neutralizing antibodies. *Neurology* 1999;52:1239-1243.
115. Deisenhammer F, Mayringer I, Harvey J, Dilitz E. A comparative study of the relative bioavailability of different interferon beta preparations. *Neurology* 2000;54:2055-2060.

116. Kracke A, von Wussow P, Al Masri AN et al. Mx proteins in blood leukocytes for monitoring interferon beta-1b therapy in patients with MS. *Neurology* 2000;54:193-99.
117. Gilli F, Marnetto F, Caldano M et al. Biological responsiveness to first injections of interferon-beta in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2005;158:195-203.
118. Bertolotto A, Sala A, Caldano M et al. Development and validation of a real time PCR-based bioassay for quantification of neutralizing antibodies against human interferon-beta. *J Immunol Methods* 2007;321:19-31.
119. Hesse D, Sellebjerg F, Sorensen SP. Absence of MxA induction by interferon in patients with MS reflects complete loss of bioactivity. *Neurology* 2009;73:372-377.
120. Pachner A, Narayan K, Price N. MxA gene expression analysis as an interferon-beta bioactivity measurement in patients with multiple sclerosis and the identification of antibody-mediated decreased bioactivity. *Mol. Diagn.* 2003;7:17-25.
121. Gilli F, Marnetto F, Stefanuto G et al. Comparison of three PCR assays for the evaluation of interferon-beta biological activity in patients with multiple sclerosis. *Mol Diagn* 2004;8:185-194.
122. Pachner AR, Warth JD, Pace Amy et al. Effect of antibodies on biomarker response to interferon beta: The INSIGHT study. *Neurology* 2009;73:1493-1500.
123. Vartanian TK, Sorensen PS, Rice G. Impact of neutralizing antibodies on the clinical efficacy of interferon beta in multiple sclerosis. *J Neurol* 2004;251:25-30.
124. Vartanian TK, Zamvil SS, Fox E. Neutralizing antibodies to disease-modifying agents in the treatment of multiple sclerosis. *Neurology* 2004;63:42-49.
125. Schellekens H. Bioequivalence and the immunogenicity of biopharmaceuticals. *Nat Rev Drug Discov* 2002;1:457-462.
126. Gneiss C, P Tripp P, Reichartseder F. Differing immunogenic potentials of interferon beta preparations in multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis* 2006;12:731-737.
127. Malucchi S, Sala A, Gilli F. Neutralizing antibodies reduce the efficacy of IFN during treatment of multiple sclerosis. *Neurology* 2004;62:2031-2037.
128. Sominanda A, Rot U, Suoniemi M et al. Interferon beta preparations for the treatment of multiple sclerosis patients differ in neutralizing antibody seroprevalance and immunogenicity. *Mult Scler* 2007;13:208-214.

129. Sorensen PS, Ross C, Clemmesen KM et al. Clinical importance of neutralising antibodies against interferon beta in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Lancet* 2003;362:1184-1191.
130. Rice GPA, Paszner B, Oger J et al. The evolution of neutralizing antibodies in multiple sclerosis patients treated with interferon β -1b. *Neurology* 1999;52:1277-1279.
131. Kivisakk P, Alm GV, Fredrikson S et al. Neutralizing and binding anti-interferon-beta (IFN-beta) antibodies. A comparison between IFN-beta-1a and IFN-beta-1b treatment in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2000;7:27-34.
132. Sorensen PS, Koch-Henriksen N, Ross C et al. Appearance and disappearance of neutralizing antibodies during interferon-beta therapy. *Neurology* 2005;65:33-39.
133. van der Meide PH, Schellekens H. Anti-cytokine autoantibodies: epiphenomenon or critical modulators of cytokine action. *Biotherapy* 1997;10:39-48.
134. Gneiss C, Koudouovoh-Tripp PM, Ropele S et al. Influence of interferon-beta therapy switching on neutralizing antibody titres: results from the Australian Switch Study. *Mult Scler* 2009;15:1481-1488.
135. Bertolotto A, Deisenhammer F, Gallo P et al. Immunogenicity of interferon beta: differences among products. *J Neurol* 2004;251:14-24.
136. Hoffmann S, Cepok S, Grummel V HLA-DRB1*0401 and HLA-DRB1*0408 Are Strongly Associated with the Development of Antibodies against Interferon- β Therapy in Multiple Sclerosis. *AJHG* 2008;73:1485-1492.
137. Larocco AP, Leung SC, Marcus SG et al. Evaluation of neutralizing antibodies in patients with recombinant interferon-beta *J Interferon Res* 1989;9:51-60.
138. Pachner AR, Cadavid D, Wolansky L et al. Effect of anti-IFN β antibodies on MRI lesions of MS patients in the BECOME study *Neurology* 2009;73:1485-1492.
139. Bertolotto A, Malucchi S, Sala A, et al. Differential effects of three interferon betas on neutralising antibodies in patients with multiple sclerosis. A follow up study in an independent laboratory. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:148–153.
140. Antonelli G, Bagnato F, Pozzilli C et al. Development of neutralizing antibodies in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with IFN β -1a. *J Interferon Cytokine Res* 1998;18:345-350.

141. Antonelli G, Simeoni E, Bagnato F et al. Further study on the specificity and incidence of neutralizing antibodies to interferon (IFN) in relapsing remitting multiple sclerosis patients treated with IFN beta-1a or IFN beta-1b. *J Neurol Sci* 1999;168:131-136.
142. Scagnolari C, Bellomi F, Turriziani O et al. Neutralizing and binding antibodies to IFN- β . Relative frequency in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with different IFN- β preparations. *J Interferon Cytokine Res* 2002;22:207–213.
143. Giovannoni G, Munschauer FE, Deisenhammer F. Neutralising antibodies to interferon beta during the treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:465–9.
144. Hartung H-P, Munschauer F, Schellekens H. Significance of neutralizing antibodies to interferon beta during treatment of multiple sclerosis: expert opinions based on the proceedings of an international consensus conference. *Eur J Neurol* 2005;12:588–601.
145. Boz C, Oger J, Gibbs E. Reduced effectiveness of long-term interferon- β treatment on relapses in neutralizing antibody-positive multiple sclerosis patients: a Canadian multiple sclerosis clinic-based study. *Multiple Sclerosis* 2007;13:1127-1137.
146. Frank JA, Richert N, Bash C et al. Interferon-beta-1b slows progression of atrophy in RRMS: three-year follow-up in NAb- and NAb+ patients. *Neurology* 2004;62:719-725.
147. Baarsen LGM, Vosslamber S, Tijssen M et al. Pharmacogenomics of interferon-beta therapy in multiple sclerosis: baseline IFN signature determines pharmacological differences between patients. *PLoS ONE* 2008;3:1927.
148. Gilli F, Valentino P, Caldano M et al. Expression and regulation of IFN α /beta receptor in IFN β -treated patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2008;71:1940-7.
149. Petkau AJ, White RA, Ebers GC et al. Longitudinal analyses of the effects of neutralizing antibodies on interferon beta-1b in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2004;10:126-138.
150. Farrell RA, Giovannoni G. Measuring and management of Anti-interferon Beta Antibodies in subjects with Multiple Sclerosis. *Mult Scler* 2007;13:567-577.
151. Goodin DS, Frohman EM, Hurwitz B et al. Neutralizing antibodies to interferon beta: assessment of their clinical and radiographic impact: an evidence report: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2007;68:977-984.

152. Panitch H, Miller A, Paty D et al. interferon beta-1b in secondary progressive MS: results from a 3-year controlled study. *Neurology* 2004;63:1788-1795.
153. Gilli F, Marnetto F, Caldano M et al. Anti interferon beta neutralising activity is not entirely mediated by antibodies. *J Neuroimmunol.* 2007; 192:198-205.
154. O'Connor P, Comi G, Montalban X et al. for the FTY720 D2201 Study Group* Oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis Two-year results of a phase II extension study. *Neurology* 2009;72:73-79.
155. Giovannoni, G. et al. A placebo-controlled trial of oral cladribine for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2010;362:416-426.

EK-1

MS'li Hastalardan Alınan Onam Formu

Sayın,.....

Multipl skleroz, merkezi sinir sistemini etkileyen ve özürllülüğe yol açabilen önemli bir nörolojik hastalıktır. Koruyucu tedavi olarak enjeksiyon yöntemi ile IFN Beta tedavisi kullanılmaktadır. Tedavinin başlangıcından sonra bazı hastalarda ilaca karşı , ilacın etkinliğini azaltan (antikorlar) gelişebilir. 2007 Eylül ayına dek ülkemizde bu maddelerin kanda belirlenebilmesi mümkün değildi. Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Nöroimmunoloji Laboratuvarında belirtilen tarihten itibaren bu incelemeler yapılabilmektedir. Rutin poliklinik kontrolleriniz esnasında ilacın tedavi etkinliğini belirleme amacıyla tam kan örnekleri incelenmektedir.

Kan alınması sırasında karşılabileceğiniz rahatsızlıklar ve riskler:

- 1-) İğne batmasına bağlı olarak hafif bir acı duyabilirsiniz.
- 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.
- 3-) Enjektörün girişi ve ilerletilmesi sırasında; oldukça az bir ihtimalle damarın delinmesi, damar içerisine hava kabarcığı girmesi ve dolaşıma karışması (emboli), damar çevresindeki sinirlerin hasarlanması ve cilt altı ya da damar çevresinde kanama ve kan kitlesi oluşması (hematom) ihtimali vardır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununuzun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvencede olduğunuzu bilmelisiniz.

Bu inceleme özellikle tedaviye rağmen atak geçirmeye devam eden ya da hastalığı ilerleyen hastalarda önemli bir araç olma potansiyelindedir. Bu incelemenin yapılması sizin sağlığınız için gerekmektedir. Sonuçlar size bildirilecektir. Bu maddelerin (antikorların) belirlenmesi durumunda alternatif tedaviler vardır, şimdilik uygulanmayacak olmakla birlikte yeni ilaç düzenlemelerine gidilebilecektir.

Elde edilen verileri rızanız doğrultusunda araştırma amaçlı kullanmak istiyoruz. Bu işlemi ve sonuçların araştırma amaçlı kullanılmasını kabul edip etmemekte özgürsünüz. İzniniz durumunda bunun MS gibi çok önemli bir hastalığın tedavisi için çok önemli bir destek olduğunu bilmenizi isterim. Bu hem sizin sağlığınıza hem de bilime büyük bir katkı sağlayacaktır. Bu amaçla çalışmaya 85 hasta dahil etmeyi ve 24 ay süreyle çalışma kapsamında tutmayı planlamaktayız.

Hasta bu çalışmaya katılmayı ret etme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmememe hakkına sahiptir. Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir. Ayrıca tıbbi durumunuza herhangi bir zarar verilmemek koşuluyla tarafımızca araştırma dışı tutulabilirsiniz.

Bu çalışmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumun yerel etik kurul komitesine ve Sağlık Bakanlığı'na açık olacaktır. Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılmayacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Araştırma sırasında muhtemel bir zarar durumunda ya da bir sağlık sorunu ile karşılaştığınızda; herhangi bir saatte, Dr. Derya Kaya'yı 0505 673 36 13 no'lu telefondan, DEUTF Nöroloji AD' na ait **232 4124050** no'lu telefondan arayabilirsiniz.

Yukarıda bana araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın

Adı soyadı:

Hastanın adresi:

Hastanın telefonu:

Tarih:

İmza:

Olur İşlemine Tanıklık Eden Kişi

Adı soyadı:

Tarih:

İmza:

Araştırma Yapan Araştırmacı

Adı Soyadı:

Telefon:

Tarih:

İmza:

Bilime yapmış olduğunuz katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

Dr.Derya Kaya

DEUTF /Nöroloji AD

Prof.Dr. Egemen İdiman

DEUH/Nöroloji AD