

Multipl Sklerozisin İmmünpatogenezi

Kısım 2: Hastalığın doğuşu ve yükselişi

Immünopathogenesis of Multiple Sclerosis
Part 2: The beginning and rise of the disease

Atay Vural¹, Aslı Tuncer Kurne¹, Rana Karabudak¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

İlk kısımda multipl sklerozisli bir hastanın MR görüntülemesinde gördüğümüz bütün plakların aynı anlama gelmediğinden, hastalar arası farklar olduğundan ve konvansiyonel MR görüntülerde göremesek de, kortekste de plaklar olduğundan bahsedilmişti. İkinci kısımda ise, önce hastalığın doğuşu ve yükselişi ile ilgili hayvan modellerinin *in vivo* görüntülemesiyle elde edilmiş veriler sunulacak, sonra da hasta takibinde kullanılan konvansiyonel ve nonkonvansiyonel MR görüntülerinden şimdiye kadar öğrendiklerimiz ve bu görüntüleme yönteminin kısıtlılıklarından bahsedilecektir. Bu bölümün sonunda, multipl sklerozis tedavisinde kullanılmakta olan ve/veya ileride kullanılabilir ilaçların bazılarının tedavi mekanizmaları hakkında bilgi sahibi olunması ve hasta takibinde birincil rol oynayan MR görüntülerinin daha bilinçli olarak yorumlanı hale gelmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Sözcükler: Multipl Skleroz, Patogenez, İmmünoloji, Deney Modeli, Manyetik Rezonans Görüntüleme

In the first part of this review, we described that plaques that we see on MRI are not all the same, there are different plaque patterns between patients and although we cannot detect with conventional MRI, there are cortical plaques in almost all of the patients. In the second part, we will first concentrate on the first phase of disease. We will explain the data that we learned by *in vivo* imaging of animal models. Thereafter, we will review what we have learned from conventional and non-conventional MRI imaging, and discuss the shortcomings of these methods. After the completion of this section, we hope that readers will have knowledge on the mechanisms of some of the most widely used therapeutic agents and will be able to interpret MR images of MS patients more efficiently.

Key Words: Multiple Sclerosis, Pathogenesis, Immunology, Disease Model, Magnetic Resonance Imaging

Plan:

Kısım I

1. Giriş
2. Histopatolojik çalışmalar
 - 2.1. İncelemede kullanılan yöntemler
 - 2.2. Plak çeşitleri
 - 2.3. Aktif plak paternleri
 - 2.3.1 Dört patern hipotezi
 - 2.3.2 Paternlerin evrimi hipotezi
 - 2.3.3 İleri evrelerde plak paternleri
 - 2.4. Gölge plaklar
 - 2.5. Kortikal plaklar

Kısım II

3. Hastalığın doğuşu: DAE modelinden öğrenilenler
 - 3.1. Modeller
 - 3.2. İlk başta neler oluyor?
 - 3.2.1 Birinci dalga ve immünsüreyans kavramı
 - 3.2.2 İkinci dalga: Lenfosit olimpiyatları ve kemokinler
 - 3.3. İmmün hücrelerin kan-beyin bariyerinden geçişi
 - 3.4. Relaps ve remisyonların üç silahşörü
4. Manyetik rezonans görüntülemenin öğrettikleri
 - 4.1. Konvansiyonel MRG'nin öğrettikleri
 - 4.2. Non-konvansiyonel MRG'nin öğrettikleri
5. Sonuç

Geliş tarihi : 20.07.2015 • Kabul tarihi: 03.03.2016

İletişim.

Dr. Atay Vural

E-posta : atayvural@gmail.com

Tel: 0 312 305 18 06

Faks: 0 312 309 34 51

Hacettepe Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı Sıhhiye, 06100
Ankara

1. Hastalığın Doğuşu: DAE modelinden öğrenilenler

3.1. Modeller

MS araştırmalarında kullanılan hayvan modellerine deneysel alerjik ensefalit (DAE) modeli adı verilir. İsminden de anlaşılacağı gibi bu model ilgili deney hayvanına, sıklıkla da fare veya sıçanların cilt altına, alerjik yanıt (tip 4/gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu) oluşturmak amacıyla miyelin yapısında bulunan proteinlerin yüksek miktarda enjekte edilmesiyle oluşturulur. Böylece normalde santral sinir sistemi içerisinde immün sistemden korunmuş olan bu proteinlere karşı, bağışıklık sisteminde sensitizasyon gelişir. Bunun için seçilen deney hayvanının eksprese ettiği MHC II allelinin, dolayısıyla CD4 T-lenfositlerinin, verilen proteinle sensitize olmaya uygun olması gereklidir. Her insanda MS gelişmediği gibi, her deney hayvanı türünde de DAE gelişmemesinin nedenlerinden birisi budur. Ancak bu da DAE (veya MS) gelişimi için yeterli değildir. Sensitize olmuş CD4 pozitif lenfositlerin lenfoid dokularda miyelin antijeniyle tekrar karşılaşarak aktive olması ve santral tolerans mekanizmalarından da kaçabilmesi gereklidir. Miyelin proteinleri (PLP, MBP, MOG gibi), lenfoid dokularda antijen sunan hücreler tarafından CD4 + T-lenfositlere sunulur. Bu, bazen antijen sunan hücrelerin (ASH) SSS'den servikal lenf nodlarına migrasyonu, bazen de çözünmüş miyelin proteinlerinin lenfoid dokulara ulaşımını ASH'larca işlenmesiyle meydana gelebilir. CD4 + lenfosit aktivasyonunun ardından bu hücrelerin KBB'yi (kan beyin bariyeri - kan-BOS bariyeri) geçişi gerçekleşir (1). İnflamasyonu takiben SSS'de demiyelinizasyon, aksonal hasar, gliosis gibi MS için tipik bulgular meydana gelir.

Bu model MS hastalığının birebir eşdeğer modeli değildir. Hastalığın bazı özelliklerini yansıtmaktan yoksundur. Bu nedenle değişik proteinler ve değişik genetik temele sahip deney hayvanları kullanılarak ideal modele yaklaşılma çabası sürmektedir. Bununla birlikte en sık kullanılan yöntem olan MOG

proteini ile sensitizasyon oluşturulmasına dayanan model sayesinde SSS'nin immünolojik sistemle ilişkisine dair hem MS'te hem de enfeksiyon ve diğer immünolojik hastalıklarda rol oynaması kuvvetle muhtemel çok önemli biyolojik mekanizmalar saptanmıştır. Bu modelde MOG proteininin subkutan enjeksiyonu sonrası yaklaşık 14. günde özellikle spinal kordda yoğun lökosit infiltrasyonu-plak oluşumu/Gd geçirgenliği/motor semptomlar oluşur. Bu modelde hız kısıtlayıcı basamak periferik lenfoid dokularda sensitizasyonun gerçekleştiği basamaktır. İkinci bir yöntem olan adoptif-transfer modelinde ise aktive T lenfositleri immünize hayvandan ayrıştırılarak ayrı bir deneye transfer edilir. Periferik sensitizasyon basamağı atlanmış olduğu için bu modelde 3-4 gün sonra hastalık oluşur (2).

Özellikle immün sisteme karşı başka hiçbir organda bulunmayan ayrıcalıklarla (immune-privilege) korunan SSS'ye bağışıklık hücrelerinin nasıl olup da ve ne yollarla geçebildiği bu modeller ile yapılmış son yıllardaki çalışmalar sayesinde bugün büyük oranda bilinir hale gelmiştir (3). Bu bilgiler sayesinde hâlihazırda kullanılan tedaviler geliştirilmiş ve nice potansiyel tedavi hedefleri de saptanmıştır.

3.2. İlk başta neler oluyor?

Ransahoff'un (4) 2009 yılında Nature'daki yorum yazısında özetlediği gibi aynı yıl peşpeşe yayınlanan iki araştırma yazısı ile en baştan itibaren periferde sensitize olmuş immün hücrelerin SSS'ye nereden ve nasıl geçtikleri, hedefleriyle (miyelin proteinleri) nasıl karşılaştıkları, diğer immün hücreleri SSS'ye nasıl çağırdıkları, çağrılan hücrelerin SSS'ye hangi yolla geçtikleri ayrıntılı olarak gösterilmiştir. İlk aşama "birinci dalga", ikinci aşama ise "ikinci dalga" olarak adlandırılmıştır ve aşağıda bahsedilecektir (4).

3.2.1 Birinci dalga ve immünsurve-yans kavramı

Reboldi ve arkadaşlarının (5) çalışması ile "ilk dalga"nın oluşumu detaylarıyla gösterilmiştir. Buna göre periferde

sensitize olmuş Th17 hücrelerinin CXCR6 reseptörü ifade eden alttıpleri *koroid pleksustaki* venüllerden stromaya geçerler ve koroid epitelin stromal tarafındaki CXCL20 ligandı ile karşılaştıktan sonra BOS'a geçerek subaraknoid alan boyunca yayılarak beyin ve spinal korddaki tüm perivasküler alanlara ve diğer tüm beyin yüzeyine ulaşma imkânı elde ederler. Buralarda ilgili antijeni (örn. MOG) barındıran antijen-sunan-hücrelerle karşılaşmalar ve reaktif olarak karşılaştıkları yerlerde KBB'yi aktifleştirirler ve diğer immün hücreleri SSS'ye çağırırlar. Bu yola CXCR6-CXCL20 eksenini adı verilir. Bu bulguya delil olarak CXCR6 geni taşımayan farelerde diğer bütün T_H17 fonksiyonları normal olmasına rağmen bu hücreler koroid pleksustan BOS'a geçememekte ve neticede DAE oluşmamaktadır. Hatta bu hücreler başka bir yolla aktifleşmiş KBB'ye girebilmelerine rağmen henüz inflamasyon oluşmamış SSS'ye girme yetileri kaybolmuştur. Yabancılardan az sayıda T_H17 hücresi transferi yapıldığında ise bu hayvanlarda da MOG uygulanmasını takiben DAE'nin oluştuğu gözlenmiştir (5).

İnsanlarda da bu mekanizmanın geçerli olduğuna dair bazı önemli bulgular aynı yazıda sunulmuştur. Örneğin, insanda da koroid epitelyum hücreleri CXCL20 eksprese ederler, ayrıca ilk MS atağında BOS'ta CXCR6 eksprese eden T-hücre sayısı yüksek bulunmuştur. Hasta olmayan bireylerde CXCL20 hemen tamamen koroid pleksus epitelinde bulunurken, MS hastalarında ileri evrelerde astrositler de CXCL20 eksprese etmeye başlarlar (5)?.

Sonuç olarak bu çalışma ile CXCR6-CXCL20 ekseninin DAE oluşumunda ve SSS immünsurveyanısında temel rol oynadığı gösterilmiştir(5)?.

3.2.2 İkinci dalga: Lenfosit olimpiyatları ve kemokinler

Birkaç ay sonra Bartholomäus ve arkadaşlarının (6) yayınladığı çalışma ile de "ikinci dalga" aydınlatılmıştır. Bu çalışma ile ileri düzey mikroskopi teknikleri kullanılarak adoptif-transfer yöntemi ile DAE modeli oluşturulmuş hayvanlarda T-lenfositlerin KBB'yi ge-

çerek parenkime nasıl ulaştıkları gerçek-zamanlı video kayıtları ile kaydedilmiştir. (6, <http://www.nature.com/nature/journal/v462/n7269/supinfo/nature08478.html>). Bu videolarda görüldüğü gibi T-hücreleri şekilden şekle girerek ve venüller içinde ve etrafında adeta akrobatik hareketlerle önce perivasküler alana oradan da parenkime geçmektedirler. T-lenfositleri aktive olmuş KBB'ye ulaştıklarında önce yavaşlarlar, ardından yuvarlanma hareketleri başlar. Kısa bir süre sonra, genellikle kan akımının aksi yönüne doğru, emekleme hareketleri ile lenfositler diapedez için uygun bir yer tararlar. Bulduklarında, çok hızlı bir şekilde trans-endothel yolla diapedez gerçekleşir ve lümenin öteki tarafındaki gezinme ve tarama aktivitesi başlar. Lenfositler perivasküler alandaki antijen sunan hücrelerle, özellikle de makrofajlarla, tek tek iletişim kurarlar. Bu iletişim görsel olarak iki hücrenin birbirine sarılmasına benzer. Lenfositler bu esnada uygun antijenle karşılaştıkları takdirde ikinci kez uyarılmış olurlar ve de parenkime invaziv olarak inflamasyonu başlatırlar. Bu görüntüler Ransohoff tarafından güzel bir benzetmeyle "Lenfosit olimpiyatları" olarak isimlendirilmiştir (4). Okuyucuların bu etkileyici videoları izlemeleri tavsiye edilir.

İlk dalgada koroid pleksustan BOS'a geçişte kilit rol oynayan CXCR6-CXCL20 ekseninden; ikinci dalgada da aktive lenfositlerin KBB'yle karşılıklı etkileşiminden ve bu sayede parenkime geçtiklerinden bahsedilmiştir. Bu ikinci etkileşimin integrinler, kemokinler ve onların reseptörleri sayesinde gerçekleştiği bilinmektedir. DAE modelinde önemli rolü olan kemokinler popüler bir araştırma konusudur ve tedavi potansiyeli açısından önemli bir hedef teşkil etmektedirler. Hâlihazırda klinikte çok önemli bir yeri olan natalizumab bir integrin ($\alpha 4\beta 1$) antagonistidir. Sağladığı başarıya karşın ciddi yan etkilerinin olması nedeniyle kemokinleri ve reseptörlerini hedef alacak yeni ajanların geliştirilmesi halen önemli bir tedavi potansiyeli taşımaktadır. Kemokin ve reseptörlerinden ön plana çıkan üçü CCR4, CCR7 reseptörleri ve endothel hücrelerinde ifade edilen CXCL12 li-

gandır. CXCL12 sağlıklı bireylerde endothel hücrelerin abluminal yüzeyinde ifade edilen bir kimyasal çekici moleküldür. Abluminal yüzeyde kaldığı sürece CXCR4 ifade eden lenfositler damar içinde kalır. DAE gibi hastalık durumlarında ise CXCL12 ifadesi abluminal taraftan luminal tarafa kayarak lenfositler üzerinde bulunan özellikle CXCR4 ve bazen de CXCR7 reseptörleri ile etkileşime müsait hale gelir. Böylece lenfositlerin KBB'ye adezyonu sağlanır ve KBB'yi geçişini sağlayan diğer moleküler mekanizmalar aktive olur. İnsanda da otopsi materyallerinde, MRG ile saptanan demiyelinizan plaklarda beyin diğer kısımlarına oranla lenfositlerde CXCR4, endothelde ve astrositlerde de CXCL12 ifadesinin arttığı gösterilmiştir (7). Başka bir çalışmada, CXCR7'nin endothel hücrelerinde de ifade olabildiği, iltihabi durumlarda artış göstererek CXCL12'nin internalizasyonuna ve luminal tarafa geçişinde rol oynadığı gösterilmiştir. Deneysel olarak CXCR7 bloke edildiğinde VCAM ifadesi (integrin reseptörü) azalmıştır hastalık aktivitesi de hafiflemiştir (8).

3.3. İmmün hücrelerin kan-beyin bariyerinden geçişi

Birinci dalga ile veya aktive T-lenfositler sayesinde aktive olmuş KBB bölgelerinde, integrinler ve kemokinlerin etkisiyle lenfositler önce yavaşlarlar, ardından endothel hücreler üzerinde yuvarlanırlar daha sonra endothel yüzeyde emekleyerek tarama hareketini gerçekleştirirler (6). Uygun bir yer bulunduğu diapedez iki yoldan birisiyle, ya paraselüler yolla endothel hücreler arasından ya da trans-endothel yolla hücre içinde oluşan bir kanalla endothel hücrenin direkt içinden gerçekleşir (9). Filopodya adı verilen ayakçı çıkıntılarla endothel hücrelerine tutunan lenfositler farklı moleküler araçlar sayesinde iki yoldan birisiyle önce endothel hücrelerin abluminal tarafına ulaşırlar. Elektron mikroskopi (EM) çalışmaları ile hem filopodyalar, hem de endothel hücreleri içinde oluşmuş migrasyon kanalı gösterilebilmiştir (10). Bu küçük kanal içerisinden lenfositler sıkışıp uzayarak geçebilmektedir. Burada önce perisit

uzantıları, ardından bazal membran yapısındaki açıklıklardan geçerek perivasküler alana geçerler. Konfokal mikroskopi çalışmaları ile de mikrodamarların etrafını çepeçevre saran bazal membranın yapısında seyrek olarak küçük açıklıkların bulunduğu gösterilmiştir. Lenfositlerin çoğu zaman akım yönünün aksi istikametinde yaptıkları emekleme ve tarama hareketinin, diapedez için uygun bir tarz noktaları bulmak olduğu düşünülmektedir (6).

KBB'nin immün hücrelere karşı bariyer özelliğini yitirdiği kronik evrelerde ise reaktif astrositler bu görevi yerine getirmektedir. Beyindeki yara oluşumu olarak bilinen, her türlü SSS hasarında görülen reaktif gliozisin (veya astrositozis) kronik MS plaklarında özellikle perivasküler alanlarda yoğun olarak görüldüğü ve KBB'yi geçerek perivasküler alana ulaşmış inflamatuvar hücrelere karşı adeta ikinci bir bariyer görevi gördüğü gösterilmiştir. Genetik olarak gliozisin engellendiği deney hayvanlarında oluşturulmuş EAE modellerinde hastalığın belirgin olarak daha ağır seyrettiği tespit edilmiştir (11).

3.4. Relaps ve remisyonların üç silahşörü

Hastalığın başlangıcında önemli rol oynayan mekanizmalardan bahsettikten sonra bu noktada devam eden hastalıkta relaps ve remisyonlarla ilişkisi gösterilmiş üç molekülden söz etmek yerinde olacaktır (12). Bu moleküllerden ilki $\alpha 4\beta 1$ integrin moleküldür. Bu molekül lenfositler üzerinde bulunan bir hücre adezyon moleküldür. MS ve DAE'de T-lenfositlerin endotele adezyonunda temel rol oynayan molekül olduğu bilinmektedir. Bu moleküle karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikorun (natalizumab) MS tedavisindeki başarı bu molekülün ve ligandlarının hedeflenmesinin akılcı bir tedavi hedefi olacağını göstermiştir. Bu molekülün endothel yüzeyinde bulunan ligandlarından ilki VCAM'dir (vascular cell adhesion molecule). Daha az bilinen ikinci ligandı ise *osteopontin*dir. Bu kuvvetli proinflamatuvar molekül tıpkı tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi ismi nedeniyle MS patogenezi ile ilişkisiz görünse de, MS plaklarında en çok ifade edilen be-

şinci moleküldür ve endotel dışında pek çok hücrede de üretilir. Endotel yüzeyinde $\alpha 4\beta 1$ integrin ile etkileşmesi sonucu lenfositlerde nükleer faktör kapp B (NF- κ B) yolu aktive olur, Th1, Th2, Th17 lenfosit farklılaşması gerçekleşir ve IFN- γ , IL-17 gibi proinflatuar sitokinler salıverilir (13). İkinci ana etkisi ise bu molekül lenfositler içerisinde FOXO3A yolu aracılığıyla apoptozu inhibe ederek otoreaktif T-lenfositlerin ömrünü uzatmasıdır. Bu durumla uyumlu olarak DAE modelinde rekombinan osteopontin verilmesi relapsı başlatır (14). Relaps sırasında verilmesi ise remisyonu engelleyerek hastalığın kronikleşmesine katkıda bulunur. İnsanda osteopontin serum konsantrasyonunun relapslar sırasında arttığı saptanmıştır (15). Tedavide en sık kullanılan ajanlardan biri olan interferon- β 'nın dendritik hücreler ve mikroglialar üzerindeki tip 1 IFN reseptörlerine bağlanarak intraselüler osteopontini inhibe ettiği ve böylece IL-17 ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (16). Bu molekülün insanlardaki polimorfizmlerinin hastalığın klinik seyri ile ilişkisi olabileceğini gösteren bulgular da vardır ve RRMS'ten SPMS'e geçişte rolü olabileceği düşünülmektedir (17).

Relaps lehine olan bu iki molekülün aksine $\alpha\beta$ kristalin remisyonda önemli rol oynar. $\alpha\beta$ kristalin bir ısı şok proteindir ve MS plağında transkripsiyonu en fazla olan moleküldür (13). Miyelin kılıfta ve astrosit son ayaklarında bol miktarda bulunur. $\alpha 4\beta 1$ integrin ve osteopontin ikilisine stratejik olarak yakın yer alır. Anti-inflatuar etkisi vardır, sitokin salınımını azaltıp, lenfosit apoptozunu arttırarak osteopontinin etkilerini geri çevirir. Bunu lenfositler, dendritik hücreler ve astrositlerde NF- κ B ve mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK) yollarını inhibe ederek gerçekleştirir (18). Bu molekülün verilmesi DAE modellerinde remisyonu başlatmaktadır (12). Hem DAE modellerinde hem insanda bu molekülün çok ilginç bir özelliği tespit edilmiştir. MS'in erken evrelerinden itibaren bu koruyucu moleküle karşı hem otoreaktif T-hücrelerince hem antikor üretimi ile yoğun bir saldırı gerçekleştiği saptanmıştır (19). Bu durum hastalığın

gün gardiyanına saldırmasına benzetilmiştir. İnsanda, osteopontine benzer şekilde, $\alpha\beta$ kristalin polimorfizmleri de hastalık seyriyle ilişkili bulunmuştur (20). Hem bu mekanizmanın hem de osteopontinin hedeflenmesi ileride tedavi amaçlı olarak kullanılmaya adaydır.

4. Manyetik rezonans görüntülemenin öğrettikleri

Nörologlar olarak ister başlangıç evresinde ister ileri evrede olsun bir MS hastasını değerlendirirken dört MRG serisini takip ederiz: T1, T1-gadolinium (T1-Gd) ve T2 veya FLAIR. 20 yılı aşkın süredir kullanılan bu tekniklerle ilgili çok sayıda klinik-radyolojik korelasyon ve prognoz tayin etme çalışması yapılmıştır ve ciddi bir bilgi birikimi oluşmuştur. Bugün artık bu serilerin hem hastada gelişmekte olan patolojiyi anlamada hem de uzun dönem prognoz hakkında oldukça kısıtlı bilgi verebildiği bilinmektedir. Örneğin, T2-lezyon yükü ile EDSS arasında yalnız erken evrede geçerli olan zayıf bir ilişki saptanabilmiştir. Gd tutan lezyon yükü de benzer şekilde, relaps hızlarıyla korele olmakla birlikte, EDSS ve kalıcı hasar oranı ile zayıf ilişki göstermektedir. Bu iki önemli bulguya "*klinik-MR paradoksu*" denilmektedir (21). Bu paradoks çok sayıda yeni MR tekniklerinin, kontrast maddelerinin ve cihazlarının geliştirilmesine yol açmıştır.

4.1. Konvansiyonel MRG'nin öğrettikleri

Konvansiyonel MRG'nin en önemli kısıtlılıkların başında, radyolojik olarak MS plaklarının göstergesi olan T2-hiperintensitesinin patoloji hakkında hiçbir bilgi sağlamaması gelmektedir. Temelde T2-hiperintensitesi dokudaki su miktarındaki artışı yansıtır. Ödem, inflamasyon, demiyelinizasyon, akson kaybı, Wallerian dejenerasyon gibi doku olumsuz faktörlerle ilişkili olabileceği gibi; remiyelinize gölge plaklar veya belirgin hasar olmaksızın mikrogliya infiltrasyonunu gibi olumlu faktörlerle de ilişkili olabilir (22). MS plaklarının

dinamik olduklarından ve remiyelinizasyonun en erken dönemde başladığından bahsedilmisti. Kişiler arası remiyelinizasyon kapasitesindeki farklılıklar göz önüne alındığında plak yükü çok fazla görünen pek çok hastanın klinik olarak nasıl iyi seyredebildikleri daha iyi anlaşılır.

Klinikte kontrast madde olarak KBB geçirgenliğindeki artışı gösteren gadolinium maddesi kullanılmaktadır. Gd akut plakları göstermede etkili bir ajandır. Kontrast tutulumu 3-6 hafta arası sürer, bu nedenle akut plakların önemli bir kısmı MRG ile görüntülenmeden kontrast tutulumları kaybolur (23). T1-Gd, kronik plaklarda da pozitif olabilir. Ayrıca KBB'nin bozuk olduğu her durumda Gd tutulumu görülmeyebilir. Progresif evrede kontrast tutulumu olmaksızın aktif inflamasyon ve doku hasarı görülmesi sıktır. T1-Gd pozitif plakların sayısı ve sıklığı o hastadaki relaps hızını göstermede etkili olmakla birlikte uzun dönem prognozla yalnızca zayıf bir ilişki gösterir (24).

Uzun dönem prognoza dair bilgiyi T1'deki kara deliklerin sayısı verir (25). Ancak her T1-hipointens alan kara delik değildir. T1'de görülen hipointens lezyonların %40-80'i aylar içinde remiyelinize olarak izointens hale gelirken, %20-60'ı kara delik halinde kalıcı olur (22). Büyük, uzun süren, halka-şeklinde kontrast tutan lezyonlardan kara delik gelişme riski daha yüksektir. Ancak bu tip lezyonların bile tama yakın remiyelinize olabildikleri de görülmüştür. Ayrıca hipointensitenin derecesi de önemlidir. Postmortem analiz çalışmalarında lezyon ne kadar hipointens ise akson miktarının o kadar az olduğu gösterilmiştir (26). Lezyonların hangi parteni göstereceği hastadan hastaya değişmektedir, bazı hastalarda kontrast tutan lezyonlar büyük oranda izointens kalırken diğer bazı hastada plakların çoğu kara deliğe dönüşebilir. Ayrıca sekonder progresif evrede de kara delik oluşumu daha sıktır.

T1'den elde edilebilecek bir diğer bilgi serebral atrofının derecesidir. Serebral atrofının derecesi nörolojik fonksiyon kaybı ile orta-dereceli ilişkilidir, spinal

kord atrofisi ise kuvvetli ilişki göstermektedir (27). PPMS'lerde spinal kord atrofisi serebral atrofiden daha belirgindir. Ayrıca gri cevher atrofisinin, beyaz cevher atrofisinden daha hızlı ilerlediği de gösterilmiştir. İlginç ve önemli bir bulgu, histopatoloji kısmında da vurgulandığı gibi, serebral kortikal atrofi daha klinik izole sendrom (KİS) evresinde saptanabilmektedir. Dahası en hızlı ilerlediği dönem de bu erken evrelerdir. Yıllık atrofi oranları (tüm beyin hacmindeki azalma olarak) KİS'te %0,8, erken RRMS'te %0,7, geç RRMS'te %0,6 olarak bulunmuştur. Atrofinin erken evrelerde dikkat çekmemesinin ve konvansiyonel yöntemlerle saptanamamasının en önemli sebebi erken evrelerde inflamasyon yoğunluğu nedeniyle aynı zamanda dokudaki ödemin de fazla olması ve psödo-normalizasyona yol açmasıdır. İleri evrelerde ise hem atrofinin kümülatif olarak artması hem de inflamasyonun geri planda kalması nedeniyle serebral atrofi belirgin hale gelir (27).

4.2. Non-konvansiyonel MRG'nin öğrettikleri

Konvansiyonel MRG serilerinin patolojiyi anlamada yetersiz olduklarından ve klinik-radyoloji paradoksundan bahsetmiştik. Bu paradoksu açıklamaya yönelik olarak, özellikle konvansiyonel tekniklerle normal görünen dokuların, yani normal görünen beyaz cevherin ve korteksin, otopsi çalışmalarında görüldüğü gibi *in vivo* olarak da patolojik özellikler gösterebileceği hipotezi ortaya atılmıştır. Bu amaçla farklı MR serileri geliştirilmiş, bunlar araştırma amaçlı kullanılmış ve özellikle patofizyolojiye dair çok değerli bilgiler elde edilmiştir. Yakın gelecekte bu yöntemlerden bazılarının rutin klinikte, bazılarının da klinik faz çalışmalarında kullanıma girmesi kuvvetle muhtemeldir. Bu bölümde MS görüntülemesindeki yeni gelişmelerden bahsedilecektir.

NGBC'nin incelenmesinde temel rol oynayan tekniklerden birisi magnetizasyon transfer görüntüleme (MTG) yöntemidir. Bu yöntemde her voksel için magnetizasyon transfer oranı

(MTR) hesaplanır. Bu oranın azalması akson hasarı ve demiyelinizasyonu gösterir. Aynı bölgede zamansal olarak artması ise remiyelinizasyonu dolayısıyla gölge plak geliştiğini gösterir. Sonradan plak gelişen bazı alanlarda, kontrast tutulumundan 3 ay önce MTR düşüklüğü görülmüş ve bu değerlerin progresif olarak azaldığı saptanmıştır (28). Beklendiği gibi, T2-hiperintens plak alanlarında özellikle de kara deliklerde MTR değeri belirgin olarak düşük bulunur. Ancak NGBC'de de yaygın olarak, daha düşük oranlarda MTR azalması saptanmıştır (29). Bu değişikliklerin KİS döneminde başladığı bulunmuş ve MS gelişimini tahmin etmede rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Bu azalmanın özellikle PPMS ve SPMS hastalarında daha belirgin olduğu tespit edilmiştir (30). Beyaz cevher MTR değişikliklerinin prognoz ile orta dereceli veya kuvvetli korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (31).

Bu bulgular gelişmiş MR spektroskopisi yöntemleriyle de teyit edilmiştir. Tüm beyinden N-asetil-aspartat (NAA) ölçümü yapılmasına izin veren bir yöntem olan H-MRS sayesinde belirgin aksonal hasarın varlığı ve erken evrelerde de görüldüğü gösterilmiştir (32). RRMS hastalarında NGBC'de NAA/Kreatinin oranının zamansal olarak azalmasının EDSS skoruyla kuvvetli ilişki gösterdiği tespit edilmiştir (33). Hem MTR hem de spektroskopisi çalışmalarında gösterilmiş olan NGBC hasarının, T2 hiperintens lezyon yüküyle yalnızca zayıf bir ilişki gösterdiği bulunmuştur (34). Bütün bu bulgular beyaz cevher plaklarının "buz dağının yalnızca görünen kısmı" olduğunu, MS'in tüm beyni tutan yaygın bir hastalık olduğunu göstermektedir. Ayrıca, inflamasyondan ve buna bağlı oluşan Wallerian dejenerasyondan bağımsız olarak aksonal hasara yol açan farklı dejeneratif mekanizmaların varlığını desteklemektedir (35).

Kortikal plakların prognoza büyük katkısı olmasına rağmen, büyük çoğunluğunun mevcut yöntemlerle görüntülenemediği bu nedenle klinik değerlendirmelerde sıklıkla göz ardı edildiğinden bahsedilmiştir. Bu nedenle üç bo-

yutlu FLAIR (3B-FLAIR) ve 3B-double inversion recovery (DIR) teknikleri geliştirilmiştir. 3B-FLAIR ile 2B-FLAIR'a göre 1,7 kat daha fazla sayıda beyaz cevher plağı tespit edilebilmektedir (22). 3B-FLAIR'dan yola çıkılarak geliştirilen 3B-DIR tekniğinde, beyaz cevher ve BOS görsel olarak baskılanır, bu sayede kortikal lezyonlar görülebilir hale gelir. Bu yöntem sayesinde FLAIR'a göre beş kat daha fazla kortikal lezyon saptanabilmektedir. 3B-DIR ile yapılan bir çalışmada PPMS hastalarında kortikal plak oranının beyaz cevherdeki plaklara kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir. MTR ve difüzyon tensör görüntüleme (DTG) çalışmaları da MS hastalarında yaygın kortikal tutulumun erken evrede başladığını ve özellikle SPMS ve PPMS hastalarında daha belirgin olduğunu desteklemektedir (29).

MR tekniklerinin yanı sıra yeni kontrast ve işaretleyici maddeler de geliştirilmektedir. Bu maddelerden en sık kullanılanı UKDOP olarak kısaltılan ultra-küçük demir oksit parçacıklarıdır. Süperparamanyetik özellikteki bu nanopartiküller makrofajların içerisine girerek bu hücrelerin MRG'de görüntülenebilmesine olanak verirler. UKDOP ve Gd verilerek yapılan çalışmalarda hem deney hayvanlarında hem de insanlarda farklı özellikte plakların var olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmaların bulgularına göre bazı plaklar UKDOP pozitif iken Gd negatif ve/veya T2 izointens olabilirler. Bazı plaklar ise UKDOP pozitif oluktan birkaç ay sonra Gd pozitifliği gösterebilmektedir. Bu bulgular makrofaj ve lenfositlerin plak oluşmadan çok önce birikmeye başlayabildiğini gösterir (36). Bu bulgular histopatolojik çalışmalardaki bulgularla da korele olmaktadır. Buna göre normal görünen beyaz cevherde yer yer KBB bozulmasına yol açmayan makrofaj ve lenfosit birikimleri oluşmaktadır. Bu odaklardan bazıları plak öncülü olarak davranıp ilerleyen evrelerde Gd pozitif hale gelebilirken, bazıları Gd pozitif plağa hiçbir zaman dönüşmezler (37). Araştırma amaçlı geliştirilen manyetik özellikli antikolar da bulunmaktadır. Örneğin VCAM antiko-

runa paramanyetik özellik kazandırılarak yapılan MRG çalışmasında, DAE modellerinde immün hücrelerin KBB geçişinde anahtar rol oynadığı bilinen VCAM molekülünün ekspresyonunun arttığı ve zaman zaman lezyon öncesi alanlarda Gd tutulumundan önce görülebildiği gösterilebilmiştir (38).

MS plaklarının klasik olarak immün hücrelerin, KBB'nin aktive olması sonucu venlerin etrafında birikmesiyle oluştuğu düşünülür. Ancak özellikle erken evrelerde MS plaklarının parenkim içerisinde, venlerden uzakta oligodendrosit apoptozu neticesinde oluşan myelin parçacıklarını temizlemek için dokuya invaze olan doğal bağışıklık hücreleriyle oluşabileceğini

öne süren görüşten önceki kısımlarda bahsedilmişti. Bu nedenle patogenezle ilişkili olarak merak edilen konulardan biri de MS plakların ne kadarının bir ven etrafında konumlandığıdır. Bu amaçla yüksek çözünürlüklü MRG ile yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (39,40). Üç Tesla'lık MRG ile yapılmış, FLAIR ve SWI kesitlerini üst üste getirerek inceleyen bir çalışmanın bulgularına göre periventriküler lezyonların %91,7'si, periferik beyaz cevher lezyonlarının %73,1'i, infratentorial lezyonların ise %70,8'i bir veya birden fazla ven etrafında konumlanmıştır. Aynı çalışmada diğer pek çok hastalıkta da lezyonların benzer oranlarda perivenüler yerleşim gösterdikleri gösterilmiştir. Yani bu özellik MS'e özgü bir özellik olarak

görülmemektedir (40). Ven etrafında yer almayan plakların patogenezinin diğerlerinden farklı olup olmadığı (plak heterogenezi) merak uyandıran bir konudur.

5. Sonuç

Bu makalede multipl sklerozun görünümünün çok ötesinde, tüm beyni ve onu saran meninksleri kapsayan, normal görünen beyaz ve gri cevheri bile tutan, karmaşık bir hastalık olduğu anlaşılmaya çalışılmıştır. Tedaviyi düzenlerken ve prognozu değerlendirirken T1-Gd ve T2 lezyon yükünden başka önemli parametreler de olduğu akıld tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Goverman J. Autoimmune T cell responses in the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 2009;9:393-407.
- Gold R, Lington C, Lassmann H. Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* 2006;129:1953-1971.
- Pachter JS, de Vries HE, Fabry Z. The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:593-604.
- Ransohoff RM. Immunology: In the beginning. *Nature* 2009;462:41-42.
- Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, et al. C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat Immunol* 2009;10:514-523.
- Bartholomaeus I, Kawakami N, Odoardi F, et al. Effector T cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions. *Nature* 2009;462:94-98.
- Moll NM, Cossoy MB, Fisher E, et al. Imaging correlates of leukocyte accumulation and CXCR4/CXCL12 in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009;66:44-53.
- Cruz-Orengo L, Holman DW, Dorsey D, et al. CXCR7 influences leukocyte entry into the CNS parenchyma by controlling abluminal CXCL12 abundance during autoimmunity. *J Exp Med* 2011;208:327-339.
- Nourshargh S, Hordijk PL, Sixt M. Breaching multiple barriers: leukocyte motility through venular walls and the interstitium. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010;11:366-378.
- Lossinsky AS, Shivers RR. Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions. *Review. Histol Histopathol* 2004;19:535-564.
- Voskuhl RR, Peterson RS, Song B, et al. Reactive astrocytes form scar-like perivascular barriers to leukocytes during adaptive immune inflammation of the CNS. *J Neurosci* 2009;29:11511-11522.
- Steinman L. A molecular trio in relapse and remission in multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 2009;9:440-447.
- Chabas D, Baranzini SE, Mitchell D, et al. The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science* 2001;294:1731-1735.
- Hur EM, Youssef S, Haws ME, Zhang et al. Osteopontin-induced relapse and progression of autoimmune brain disease through enhanced survival of activated T cells. *Nat Immunol* 2007;8:74-83.
- Vogt MH, Lopatinskaya I, Smits M, et al. Elevated osteopontin levels in active relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2003;53:819-822.
- Shinohara ML, Kim JH, Garcia VA, et al. Engagement of the type I interferon receptor on dendritic cells inhibits T helper 17 cell development: role of intracellular osteopontin. *Immunity* 2008;29:68-78.
- Caillier S, Barcellos LF, Baranzini SE, et al. Osteopontin polymorphisms and disease course in multiple sclerosis. *Genes Immun* 2003;4:312-315.
- Ousman SS, Tomooka BH, van Noort JM, et al. Protective and therapeutic role for alphaB-crystallin in autoimmune demyelination. *Nature* 2007;448:474-479.
- van Noort JM, van Sechel AC, Bajramovic JJ, et al. The small heat-shock protein alpha B-crystallin as candidate autoantigen in multiple sclerosis. *Nature* 1995;375:798-801.
- van Veen T, van Winsen L, Crusius JB, et al. [Alpha] B-crystallin genotype has impact on the multiple sclerosis phenotype. *Neurology* 2003;61:1245-1249.
- Brex PA, Ciccarelli O, O'Riordan JI, et al. A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2002;346:158-164.

22. Poloni G, Minagar A, Haacke EM, et al. Recent developments in imaging of multiple sclerosis. *Neurologist* 2011;17:185-204.
23. Cotton F, Weiner HL, Jolesz FA, et al. MRI contrast uptake in new lesions in relapsing-remitting MS followed at weekly intervals. *Neurology* 2003;60:640-646.
24. Kappos L, Moeri D, Radue EW, et al. Predictive value of gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for relapse rate and changes in disability or impairment in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Gadolinium MRI Meta-analysis Group. Lancet* 1999;353:964-969.
25. Truyen L, van Waesberghe JH, van Walderveen MA, et al. Accumulation of hypointense lesions ("black holes") on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis. *Neurology* 1996;47:1469-1476.
26. van Walderveen MA, Kamphorst W, Scheltens P, et al. Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;50:1282-1288.
27. Fisher E, Rudick RA, Simon JH, et al. Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurology* 2002;59:1412-1420.
28. Filippi M, Rocca MA, Martino G, et al. Magnetization transfer changes in the normal appearing white matter precede the appearance of enhancing lesions in patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1998;43:809-814.
29. Cercignani M, Bozzali M, Iannucci G, et al. Magnetisation transfer ratio and mean diffusivity of normal appearing white and grey matter from patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:311-317.
30. Tortorella C, Viti B, Bozzali M, et al. A magnetization transfer histogram study of normal-appearing brain tissue in MS. *Neurology* 2000;54:186-193.
31. Agosta F, Rovaris M, Pagani E, et al. Magnetization transfer MRI metrics predict the accumulation of disability 8 years later in patients with multiple sclerosis. *Brain* 2006;129:2620-2627.
32. 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.
33. De Stefano N, Matthews PM, Fu L, et al. Axonal damage correlates with disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. Results of a longitudinal magnetic resonance spectroscopy study. *Brain* 1998;121 (Pt 8):1469-1477.
34. Iannucci G, Rovaris M, Giacomotti L, et al. Correlation of multiple sclerosis measures derived from T2-weighted, T1-weighted, magnetization transfer, and diffusion tensor MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:1462-1467.
35. Filippi M, Rocca MA. MRI evidence for multiple sclerosis as a diffuse disease of the central nervous system. *J Neurol* 2005;252 Suppl 5:v16-24.
36. Vellinga MM, Oude Engberink RD, Seewann A, et al. Pluriformity of inflammation in multiple sclerosis shown by ultra-small iron oxide particle enhancement. *Brain* 2008;131:800-807.
37. Filippi M, Rocca MA, Barkhof F, et al. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2012;11:349-360.
38. Serres S, Mardiguian S, Campbell SJ, et al. VCAM-1-targeted magnetic resonance imaging reveals subclinical disease in a mouse model of multiple sclerosis. *FASEB J* 2011;25:4415-4422.
39. Grabner G, Dal-Bianco A, Scherthaner et al. Analysis of multiple sclerosis lesions using a fusion of 3.0 T FLAIR and 7.0 T SWI phase: FLAIR SWI. *J Magn Reson Imaging* 2011;33:543-549.
40. Lummel N, Boeckh-Behrens T, Schoepf V, et al. Presence of a central vein within white matter lesions on susceptibility weighted imaging: a specific finding for multiple sclerosis? *Neuroradiology* 2011;53:311-317.

