

Multiple Skleroz Hastalığının Değerlendirilmesinde ACKR2 Gen İfadesinin Önemi

Importance of ACKR2 Gene Expression in The Evaluation of Multiple Sclerosis Disease

Nilgün GÜLER*

ÖZET

Hücreler arasındaki doğrudan etkileşimler, hücre ile hücre dışı matris arasındakiler gibi, çok hücreli canlıların gelişim ve fonksiyonları için son derece önemlidir. Peptid hormonlar, nöropeptidler ve büyüme faktörlerinin sitokinler gibi hedef hücrelerinin plazma zarlarını geçme yetenekleri olmadığından küçük sitokinlerden olan ACKR2 gibi hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak aktivite gösterirler. Bu nedenle ACKR2 reseptörü protein yapısında olduğundan gen ifadesi hücrede fonksiyonellik açısından önem arz etmektedir. A tipik kemokin reseptörleri (ACKR2, ACKR3 gibi); diğer kemokin reseptörlerinin aksine eritrosit, lenfatik veya damar endotel hücrelerinde bulunurlar ve özellikle ACKR2 ve ACKR3 lökositlerde saptanırlar. Lökosit göçünde MS hastalığı seyrinde etkilidir. Bu yüzden ACKR2 gen ifadesi için, insan tam kanı alınarak lökositler izole edilebilir ve RT-PCR yönteminden yararlanılarak yapılacak moleküler analizler ile tespit yapılabilir. Bu gen ifadesindeki sayısal veri bulguları Multiple skleroz (MS) üç aşamalı hastalık tiplerinde farklılıklar gösterecektir. Bu çalışmada amaç, gen ifadesi için hastalığa en uygun genin seçimi, kantitatif, moleküler analizlerinin doğru yapılması ve hastalık seyrine göre değerlendirilmesinin önem arz etmesidir. Gen ifade olması gereken zaman, durum ve miktarı kişinin metabolik faaliyetlerine bağlı değişkenlik gösterecektir. Metabolizmal faaliyetlerin hızı ve durumu kişiden kişiye de farklılıklar gösterecektir. Bu durum hastaların yaşam şartları, inkontinans durumu, yaşı, klinik gözlemler, enflamatuvar ve immünolojik verileri ile değerlendirildiğinde kişiye özgü tanı-teşhis yapılmasında yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Çoklu Skleroz, Kemokin reseptör, Lökositler, Sitokinler.

Sorumlu Yazar:

Adı Soyadı: Dr. Öğr.Üyesi Nilgün GÜLER

Adres: Kayseri Üniversitesi, Mustafa Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulu, Kimya Teknolojisi Programı, Kayseri, Türkiye.

e-mail: nilgunkusculu@kayseri.edu.tr

ABSTRACT

Direct interactions between cells, such as those between the cell and the extracellular matrix, are extremely important for the development and function of multicellular organisms. Since peptide hormones, neuropeptides, and growth factors do not have the ability to cross the plasma membrane of their target cells like cytokines, they bind to receptors on the cell surface such as ACKR2, which is a small cytokine. Therefore, since the ACKR2 receptor is a protein structure, gene expression is important in terms of functionality in the cell. A typical chemokine receptors (such as ACKR2, ACKR3); unlike other chemokine receptors, they are found in erythrocytes, lymphatic or vascular endothelial cells, and ACKR2 and ACKR3 are especially detected in leukocytes. Leukocyte migration is also effective in the course of MS disease. Therefore, for ACKR2 gene expression, leukocytes can be isolated by taking human whole blood and can be detected by molecular analysis using the RT-PCR method. Numerical data findings in this gene expression will differ in the three-stage disease types of Multiple Sclerosis (MS). The aim of this study is to select the most appropriate gene for the disease for gene expression, to perform quantitative and molecular analyses correctly and to evaluate it according to the course of the disease. The time, condition and amount of gene expression will vary depending on the metabolic activities of the person. The speed and condition of metabolic activities will also vary from person to person. This situation will help in making a personalized diagnosis when evaluated with the patients' living conditions, incontinence status, age, clinical observations, inflammatory and immunological data.

Key Words: Multiple Sclerosis, Chemokine receptor, Leukocytes, Cytokines

GİRİŞ

Çoklu skleroz (MS), merkezi sinir sistemimizdeki miyelin ve akson kaybıyla karakterize bir otoimmün hastalıktır. Bir otoimmün atak sırasında vücut, savunma hücreleri olan lökositlerin üretimini artırır ve MS atağı, merkezi sinir sistemine göç eden lökositlerde bir artışla başlar (Brück ve Stadelmann, 2005; Lazibat ve diğerleri, 2018). Atipik kemokin reseptörleri (ACKR'ler) proteinlerin küçük bir alt kümesini temsil etmesine rağmen; kemokin reseptörlerine önemli ölçüde benzerler ve lenfatik endotel hücreleri, trofoblastlar ve alveolar makrofajlar ve doğuştan benzeri B hücreleri gibi bazı lökositler tarafından ifade edilirler (Hansell vd., 2015). Son yıllarda, ACKR'lerin işlevi giderek daha açık hale gelmektedir. Çünkü bunların bir süpürücü reseptör olarak hareket ederek kemokin aktivitesinin gradyan oluşumunu veya kemokin transitozunu teşvik ederek inflamasyonu düzenledikleri bulunmuştur (Salvi vd., 2017). Burada Lökosit göçü MS atağına neden olduğu ve A tipik kemokin reseptörleride lökositler tarafından ifade olduğu için bu reseptörlerin mesajcı RNA ile başlayan transkripsiyon ile sonlanan ifade prosesi önemli olmaktadır. Genetik bilgi taşıyıcı hücre bölünmesi esnasında histon proteinleri ile paketlenen DNA yani kromozom yapısıdır. Fakat protein sentezinde DNA zincirindeki nükleotit dizileri rol oynar. Üç nükleotit bir aminoasite karşılık geldiğinden DNA dizilimindeki bir parçanın kendisini amino asit dizilişi yani protein olarak ifade etmesi dolayısıyla gen ifadesi kavramı ortaya çıkmıştır. Mesajcı ribonükleik asidin deoksiribonükleik asitten aldığı genetik dizilim sayesinde başlayacak transkripsiyon ile polipeptit ve protein yapıları (hormon, reseptör, enzim) oluşacaktır. Her doku ve organda bulunan DNA yapısı aynı olduğundan problemsiz işleyen transkripsiyon ve transkripsiyon ile ifade olunan protein yapıları ve hücreler arası iletişimde rol alan reseptörler ilgili dokunun, sistemin fonksiyonunu

sağlıklı bir şekilde yerine getirmesi sağlanacaktır (Jiang vd., 2004). Son zamanlarda ACKR reseptörlerinin gen ifadesi üzerine yapılmış birkaç çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada ACKR 2'nin, RRMS hastalarından alınan periferik kandaki mononükleer lökosit hücreleri (PBMCs) den izole mesajcı RNA düzeyindeki ifadesine yer verilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak ACKR2'nin gen ifadesinde sadece tek tür RRMS hastaları kullanıldığında bile azalma olduğu tespit edilmiştir. Fakat aynı çalışma üç farklı tür MS hastaları için yapılarak türler arasındaki etkisine bakılmamıştır (Saçmacı ve Özcan, 2020). MS hastalığı dışında ACKR2, bağışıklık kompleksi glomerulo nefritinin tedavisinde terapötik bir hedef olarak hizmet edebilen bir kemokin PAKMAN olarak kabul edilmektedir (Gowhari vd., 2022).

Reseptörler ve Ms Reseptörleri

Kemokin sistemi: Kemokinler (kemotaktiksitokinler) heparin bağlayıcı küçük sitokinlerdir. İnflamasyon sırasında lökosit kemotaksisini uyarma yetenekleriyle tanımlanan kemokinler, fizyolojik koşullar altında homeostatik lökosit trafiği, immün hücrelerin canlılığı ve farklılaşması gibi pek çok biyolojik süreçte rol alırlar (Richard, 2009). Kemokinler etkilerini membranı 7 kez geçen G-protein ilişkili yüzey reseptörlerine (7 transmembrane G-protein coupled receptor; GPCR) bağlanarak gösterirler. Hücrelerin aktivasyon ve farklılaşma düzeyine göre de reseptörlerin ekspresyonu tetiklenebilir veya ekspresyon düzeyi değişebilir. Özellikle büyüme faktörleri, hormonlar ve inflamatuvar sitokinler kemokin reseptörlerinin ekspresyonunu etkiler (Charo ve Ransohoff, 2006; Rossi ve Slotnik, 2000; Olson ve Ley, 2002). Genellikle aracı moleküllerin üretimi transkripsiyonel, transkripsiyonel ve salgılanma aşamaları sırasında kontrol altında tutulur. Ancak kemokinler salgılandıkları bölgeden ötede biyolojik aktivitelerini gösterebilirler. Bu nedenle kemokin ya-

nıtlarının sınırlandırılması ve düzenlenmesi için ek mekanizmaların varlığı zorunludur. Kemokinler pre-protein formunda salgılanırlar ve inflamatuvar yanıt sırasında açığa çıkan proteazlar öncül kemokin proteinini genellikle amino terminalinden kırpar. Bu proteolitik işlem sonrasında, kemokinler reseptörlerine bağlanacak konformasyona kavuşur ve aktif hale geçerler (Murdoch ve Finn, 2000; Ambrosio vd., 2003). Sonuçta, immün ve nonimmün hücrelerin aktivasyonunda Mikroglia fenotip ve fonksiyonunda görev almaktadır.

Kemokinler özgül işlevsel reseptörleri dışında sinyal iletmeyen tuzak reseptörlere de sahiptir. Bu reseptörler A tipik kemokin reseptörler (ACKRs) olarak adlandırılan yeni kemokin reseptörleridir. Bu reseptörler hücre göçüne neden olmazlar. A tipik kemokin reseptörünün her birine pek çok kemokin bağlanabildiği bilinmektedir. Bu reseptörler bağladıkları kemokinleri internalize eder ve hücre içinde yıkılmalarına neden olabilir. Ayrıca bazı kemokinleri internalize ettikten sonra yine hücre dışına salıverebildikleri de gösterilmiştir (Bonecchi vd.,2009). Sonuç olarak kemokinlerin etkisi sadece üretim dinamikler ile değil, salgılandıktan sonra proteazlar ve atipik reseptörler aracılığı ile düzenlenmektedir.

A tipik kemokin reseptörleri, kemokin reseptörlerinin aksine eritrosit, lenfatik veya damar endotel hücrelerinde bulunurlar özellikle ACKR2 ve ACKR3 lökositlerde saptanırlar. ACKR kemokinlere yüksek affinite ile bağlanırlar ve G protein aracılığı ile çalışmadıklarından hücre göçünü indüklemeyiz. Gerçekten B-arrestin ilişkili pathway ile kemokinleri modüle ederler. ACKR ekspresyon düzenleyerek kemokinleri ya da diğer kemokin reseptörlerini modüle ederler. ACKR'nin nöroinflamasyondaki rolü işaret edilmekte olup bu kontrol oldukça kompleks görünmektedir. ACKRs ailesi 4 farklı protein içermektedir. Bunlar; KR1, ACKR2, ACKR3, ACKR4'dür. Diğer proteinler CCRL2 ve PITPNM3 de

ACKR5 VE ACKR6 olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca ACKR ailesi dört farklı reseptörden oluşur: DARC (ACKR1), D6 (ACKR2), CXCR7 (ACKR3) ve CCX-CKR (ACKR4). Bu reseptörler ligandlar için yem, temizleyici, taşıyıcı ve depo görevi görür ve bu ligandlardan kaç tanesinin ligandları için mevcut olduğunu kontrol ederler (Bachelierie vd., 2014; Bonecchi & Graham, 2016). Son birkaç yılda ACKRs'in inflamasyondaki rolü daha fazla anlaşılmaya başlanmıştır.

ACKR1: CC ve CXC ailesi olarak bilinen 20 kemokine sahiptir. Eritrosit, serebellar Purkinje hücresi, postkapiller venül ve kapiller endotel hücrelerinde ekspres edilir. Hücresel ekspresyonlarına bağlı olarak biyolojik fonksiyonları da oldukça farklıdır. ACKR1 kemokin internalizasyonuna katkıda bulunur. Nöroinflamasyonda deneysel EAE modellerinde gösterildiği gibi inflamatuvar kemokinler kan beyin bariyerini geçerek hastalığın patogeneze katkıda bulunur.

ACKR2: CC kemokinlerin çoğu geniş inflamatuvar bir pannelenfosit, keratinosit, lökosit ve çoğunlukla B hücrelerden sekrete olurlar. EAE modellerindeki çalışmalarda ACKR fonksiyonları içerik bağımlıdır. Gerçekten ACKR2 varlığı farelerde beklenmedik bir şekilde ensefalit benzeri cevaplar açısından dirençlidir. ACKR2 eksikliği son zamanlarda abartılmış EAE fenotipi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. ACKR2 eksikliği fareler immünize edildiğinde (MOG peptid harici bir protein) abartılmış bir immün yanıt oluşabilmektedir. Otoimmün hastalıklardaki ACKR2 rolü tartışmalıdır. Son yıllarda ACKR2 eksikliği otoreaktif T hücre yanıtını baskılamamakta hatta TH-17'ye karşı T hücre polarizasyonunu artırabilir. ACKR2 inflamatuvar yanıtı kemokin temizleyiciliği ile azaltıyor olmasına aşırı lökosit cevabını da azaltır. ACKR2 lökositlerden ekspres edilir ancak proinflamatuvar fenotipini in-

hibe eder. Bu metinden anlaşıldığı üzere ACKR2 fonksiyonu bir tümör supresör gen gibi inflamatuvar yanıt oluşturan dokuyu limitlendirmektedir (Bonecchi vd., 2016). ACKR3: CXCL12 ve CXCL11 olmak üzere 2 protein bağlanır. Endotel hücreleri, bazı hematopoetik hücreler, mezenkimal hücreler, nöron ve astrositlerden ifade edilir. ACKR3 CXCL12'yi internalize edip ve CXCR4 ekspresyonlarını modüle ederler. Böylece ACKR3 CXCR4 protein seviyelerini kontrol ederek ve CXCL12 aktivitesini kortikal inter nöronlarda temizleme aktivitesi gösterir. CXCL12 kaybı CXCR4 ekspresyonunu sınırlandırarak kan beyin bariyerinin abluminal yüzeyinden MSS girişini sınırlandırır. EAE sırasında ACKR3 ekspresyonu endotelial yüzeylerde artış gösterir. MSS parankimine endotelial bariyerler ile lökositlere giriş için CXCL12 ve onun aktivasyonu gereklidir. ACKR3 yönetimi kan beyin bariyerinde spesifik antagonist CCX771 ile CXCL12 seviyelerinin yükselmesi ile olur ve EAE de klinik semptomatolojinin oluşmasına neden olur. Bununla birlikte EAE sırasında ACKR3 antagonizması aksanal integritinin korunmasına yardımcı olur. Farelerde ACKR3 remiyelinizasyonda oligo dendrosit progenitorlarının göçünde upregüle olur. Son zamanlarda ACKR3 ekspresyonu aktive mikrogliyalardan sorumludur ve hastalığın şiddeti ile korele olduğu gösterilmiştir. Gerçekte ACKR3 nötralize antikorlar EAE semptomlarının düzenlenmesi ve mikrogliya kemotaksisini modüle eder (Salvi vd., 2017).

ACKR4: CC kemokinleri CCL19, CCL21, CCL25 e bağlanır ve CXCL13 e düşük afinitelidir. ACKR4 timikepitel, keratinosit ve lenfatik endotel hücrelerden salgılanır. Kemokin bağlanması sonrasında ACKR4 internalize olur. EAE modellerinde ACKR4 eksikliğinde hastalık daha şiddetli ve daha ciddi olmaktadır. Bu erken cevap dalak Th17 yanıtının artışı ile ilişkilendirilmiştir. IL-23

transkripsiyonu ve CCL21 deki artış ile korele bulunmuştur (Ford vd., 2014).

Multipl Skleroz (MS) İmmünpatogenetik Özellikler

MS birincil olarak genç erişkinleri etkileyen santral sinir sisteminin demiyelinizasyon ve aksanal dejenerasyonla seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Ayrıntılı klinik ve patolojik özellikleri geçtiğimiz yüzyılda tanımlanmasına rağmen patogenezi bugün için bile net bilinmemektedir. Patofizyolojisi tam olarak anlaşılmamışsa da kan beyin bariyer bozukluğu, lökositlerin merkezi sinir sistemine göçü ve lezyon oluşumuna ilişkin birçok faktör konusunda önemli adımlar atılmıştır.

MS genetik ve çevresel etmenlerin rol oynadığı kronik, inflamatuvar ve nörodejenatif otoimmün bir hastalıktır. MS, T hücre aracılı otoimmün bir hastalıktır. Hastalığın başlangıç fazında kazanılmış immünite ve CD4-TH1, TH17 ve CD-8 hücreler rol oynar. Bu hücreler regülatör hücreler (Treg), B hücreler ve doğal öldürücü hücreler tarafından modüle edilirler. Hastalık progresyonunda ise doğumsal immünite rol oynar. Merkezi sinir sistemi (MSS) içindeki kompleks kaskadın açılması ve sürdürülmesi epitop yayılması ile gerçekleşir. Epitop yayılması yeni atakları tetikler ve kronik inflamasyona yol açan doğumsal immüniteyi aktive eder (Mikrogliya, dendritik hücre, astrosit, B hücre). MS niçin inflamatuvar demiyelinizan fazdan nörodejenerasyonun egemen olduğu sekonder progresif faza dönüşür. Bu soru hem hastalık patogenezinin anlaşılmasında hem de tedavide yanıtlanması gereken en önemli sorundur (Bachelerie vd., 2015).

MS immünpatogenezinde rol alan hücreler:

Hastalığın başlangıcında:

- 1) CD4+T hücreler, CD8+T hücreler
- 2) TH-17 hücreler; IL-17 A,F, IL-21, IL-22, IL-2, IL-6, IL-9, TNF alfa, GM-CSF, granzim ürünlerini salgılatır. (IL-9, TH-17'nin önemli bir mediyatörüdür. Bu nedenle IL-

9'un inflamasyonda önemli rolü vardır. IL-9 ayrıca TH-17'nin MSS göçünü artırır. Bunu da CCL-20 aracılığı ile yapar.)

3) B-hücreler, MS T hücre aracılı inflamasyon olsada kan ve BOS' da myeline yönelik antikorlar saptanmaktadır. Miyelin antikorları deneysel modellerde doku zedelenmesine yol açsa da MSS'de immün aktiviteyi başlatmaz. Hastalarda miyeline reaktif B hücre yanıtları ve periferde lenfoid foliküllerin gelişimi daha genç yaşta daha ağır özürüllüğe sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca B hücre folikülleri olmayan hastalardan daha çok kortikal lezyona sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular antikor oluşumunun gri cevher lezyon formasyonunun önemli olduğunu göstermektedir (Bonecchi ve Graham, 2016).

Hastalığın Remisyonunda:

T regulatuar hücreler (CD4, CD25, FOXP3 ekspresyonu) Treg ile TH-17 arasında da karşılıklı etkileşimler söz konusudur. Geçerli güncel görüş; TH-17 ve TH-1 hücrelerinin, IL-17 ve IFN gama aracılığıyla hastalık patogenezinde önemli rol oynadığıdır.

Bu varsayımlara göre MS inflamatuvar demiyelinizasyonla başlar, eş zamanlı ya da ardıl nörodejenerasyon kliniko patolojik durumu belirler. Uzun süreden beri gündemde olan bu varsayıma göre sistemik dolaşımda aktive olan otoreaktif T hücreler merkezi sinir sistemine (MSS) göç ederler ve orada ısrarlı bir şekilde kalarak önceden normal olan MSS dokusunu zedeleyecek kaskadı başlatırlar. Çoklu Skleroz (MS) da başta miyelin peptidleri, miyelin temel protein= MBP, myelinoligodendrositglikoprotein=MOG, myelinassociatedglikoprotein=MBP en önemli otoantijen olarak düşünülmektedir (Iuliano vd., 2008).

TARTIŞMA VE SONUÇ

MS hastalığı ve ACKR2 gen ifadesi arasındaki bağlantıyı içeren çalışmalarla ilgili literatür araştırmasında

daha çok deney hayvanları ile yapılan çalışmalar yer almaktadır ve bunlarda gen ifadesine az değinilmiştir. Örneğin, Yapılan hayvan deneyi çalışmasında, ACKR2 delesyonu iki farklı model ile immünizasyona verdiği yanıtlar açısından değerlendirilmiştir. Bu çalışmada farelerin immünize edildiği yöntemler MOG35-55 (peptid), MOG1-125 (protein) olmak üzere farklılandırılmıştır. Sonuçta T cell cevabını baskılanmamış yani otoimmünite açısından koruma sağlamamıştır. Hatta IL-17 üretimi ve B lenfosit yanıtı protein ile immünizasyon sonrasında (MOG1-125) artış gösterdiği görülmüştür (Hansell vd., 2015). Peptid immünizasyonunda (MOG35-55) bu sonuç görülmemiştir. Çalışmada ACKR2 eksikliği olan farelerde lenfatik konjesyona neden olmuş ve antijen sunucu hücreler tarafından MOG35-55 ile immünize edilmesi sonrasında deriden lenf kanallarına drenaj oluşmuştur. Bu çalışma daha önceden yapılan çalışmadan farklı sonuçlar vermiştir (Liu vd., 2006). Bu çalışmada ACKR2 eksikliği olan farelerde antijen ile muamaleden sonra yaptığı çalışmada ex vivo değerlendirme ile immünizasyon açısından yetersizlik olduğu görülmüştür. Yani bu hayvanlarda daha az spinalor inflamasyonu ve demiyelinizasyon olduğu görülmüştür. Demiyelinizasyon cevabı ise anti MBP antikor ve anti CD-45 antikor ile değerlendirilmiştir. Hansel vd. ile Liu vd. tarafından yapılan çalışmalar ACKR2 eksikliği olan farelerde farklı sonuçlar vermiştir. Her iki çalışmada EAE modeli başarılı bir şekilde oluşturulmuştur. Hansell ve diğerlerinin yaptığı çalışmada otoimmün hastalıklardaki fare modellerinde patojenik T hücre gelişiminde anlamlı denilecek farklılıklar olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada; ACKR2 ekspresyonu deneysel EAE ve Arthritis modelinde upregüle olduğu görülmüştür. Bu ekspresyon artışının inflame dokular kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Bu veriler ile ACKR2 ilişkili kemokin temizleyiciliğinin hedef doku-

larda klinik semptomların daha da kötüye neden olduğunu göstererek vurgulamışlardır. Bununla birlikte bu semptomların ortaya çıkışı TH-17 yanıtı ile ilişkili olduğu görülmüştür. MOG35-55 ile oluşturulan hayvan modelinde peptidimmünizasyonu sonrasında ACKR2 eksikliği olan hayvanlarda herhangi bir koruma verisi oluşmamıştır. Kontrol grubuna göre daha fazla IL-17 oluşmamıştır. Böylece ACKR2 kaybı olan modelde immünizasyon sonrasında lenf drenajında artış olmadığı düşünülmüştür (Hansell vd., 2015). Daha önceki çalışmalardan yola çıkarak Hansell ve diğerlerinin yaptığı çalışmada kollajen ile oluşturulan deneysel EAE modelinde IL-17 yanıtının artmış olduğu görülmüştür. MOG1-125 proteini ile EAE modeli oluşturulmuş ve gelişmiş TH-17 yanıtı görülmüştür. Protein ile inokulasyon daha çok B lenfosit cevabı ve buna bağlı olarak da TH-17 yanıtındaki yükseliğe neden olmuştur. Ancak peptid immünizasyonu sonrasında B lenfosit aktivasyonu olmamış ve dolayısıyla IL-17 yanıtı değişmemiştir. Peptid modellerinde MOG ilişkili antikor yanıtının olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Kollajen ya da MOG1-125 proteini sonrasında TH-17 yanıtı artış göstermiştir (Hansell vd., 2015).

Bu veriler ışığında MS hastalığı aslında T hücre aracılı bir immünizasyon fizyopatolojisine sahip olmasına rağmen B hücrelerde bu sürece eşlik etmektedir. Multipl sklerozun etyolojisi bilinmemekle beraber hastalığın inflammatuar ve immünolojik özellikleri nedeniyle günümüzde immün sistemi etkileyen tedavi yaklaşımları kullanılmaktadır. MS, Merkezi sinir sisteminin inflammatuar bir hastalığıdır. Akut fazı hem beyaz hem de gri cevher inflamasyonu ile karakterizedir. Her ne kadar inflamasyonu başlatan temel hücre CD4-T hücreler ise de CD8-T hücreler, gama/delta T hücreler, B hücreler, antikorlar, ve doğumsal immünitede rol oynayan mikrogliya/makrofajlar bu kompleks kaskadın başlatılması ve sürdürül-

mesinde rol alırlar. Ancak güncel gelişmeler MS immünpatogenezinde başka T hücre alt gruplarının (TH-17 hücreler ve CD4+CD25+ regulatuar T hücreler=Treg, NK hücreler), B hücreler, aktive dendritik hücreler, mikrogliya ve monositlerinde rol aldığını göstermektedir. Aktive demyelinize lezyonlarda saptanan inflammatuar hücrelerin %10'u T hücre, kalanları infiltrasyon nukleer hücre ve mikrogliya/makrofajlardır. CD4-T hücreler aktif lezyonlarda belirgindir ve kronik lezyonlarda görülmez. Lezyonlardaki T hücre repertuarı hastalığın şiddetine göre değişmektedir (Salvi vd., 2017). Lassman ve Luchinetti'nin önderliğinde yapılan Avrupa-Amerika ortak grup çalışmaları inflamasyonun MS patogenezinde anahtar rol oynadığını, ancak otoimmüniteyi baskılayan geçerli ve güncel tedavilerin inflamasyonu tamamen bastıramadıklarını göstermektedir. Yine inflamasyonun protektif rolü de bu tartışmalara başka bir boyut katmaktadır (Lucchinetti vd., 2000). Çoğu hastada agresif immün tedavilere karşın ataklarını yaşamaya ve progresyon göstermeye devam etmektedir. Patolojik inceleme sonuçları doku hasarında farklı mekanizmaların rol oynadığını düşündürmekte ve multifaktöryel tedavi yaklaşımlarını gerekli kılmaktadır (Trapp ve Nave, 2008). Abakay ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada klinikte hastalarda inkontinans durumunun bazı faaliyetlere etkisi araştırılmıştır (Abakay vd., 2022). MS'de yalnızca klinik özellikleri ile değil, genetik ve patogenetik farklılıkları, bireysel tedavi yanıtı ve prognoz açısından da heterojen bir hastalıktır. Bu heterojen hastalıkta TH-1, TH-17 yanıtlarını suprese edecek, periferde oluşmuş lenfositlerin merkezi sinir sistemine göçünü bloke edecek başlangıçtaki inflamasyonun neden olduğu nörodejenerasyondan miyelin ve aksonu da koruyacak tedavilere gereksinim vardır (Weiner ve James, 2012). Ne yazık ki şimdilik ilaçların etkinliğini değerlendirebileceğimiz

immünolojik kriterlerimiz ve biyobelirteçlerimiz bulunmamaktadır. Hematopoezde sinyal sisteminin yeri (Clements ve Trave, 2013), mikro RNA'ların hastalık gelişiminde ve tedaviye cevap açısından belirleyicilikleri son dönemde ortaya çıkan araştırma konularıdır (Yan vd., 2021). ACKR2'nin vücut sıvıları ve dokulardaki ifadesinin analizi hastalıklar için bir biyobelirteç olarak da kullanılabilir (Gowhari vd., 2022).

MS hastalarından alınan lökositlerden mRNA izolasyonu yapıldıktan sonra cDNA eldesi ve çoğaltılması sonrasında, hedef ACKR2 proteininin geldiği nükleotid dizisini içeren primerler ve housekeeping gen dizilimi yardımıyla hedef genin transkribe ettiği mRNA sayısı ile house keeping genin transkribe olmuş mRNA sayısı kıyaslanarak ve ACKR2 gen ifadesinin ne kadar gerçekleştirdiği ya da neden etkin bir gen ifadesi olmadığı RRMS

(Relapsing-Remitting MS) ve SPMS (sekonder progresif MS) hastaları ve kontrol grupları da dikkate alınarak değerlendirilebilir. RT-PCR cihazına cDNA, primerler, probalar konularak çalıştırılır. Ayarlanan programa göre çalışan cihazda yapılan işlemler sonucunda kontrol ve MS grupları için alınan verilerin istatistiksel analizleri yapılabilir. Analiz sonuçları klinik bulgularla birlikte değerlendirilebilir. MS hastalarında gen ifadesi ve kemokin reseptörler kullanılarak yapılan çalışmalar literatürde nadir olduğundan bu çalışma, literatüre nörobilime katkı sağlamış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abakay, H., Doğan, H., Yetkin, M.F., Güç, A., Talay, Çalış, H., & Demir, Çaltekin, M. (2022). The effects of incontinence on functionality, disability, and quality of life in male and female patients with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis and related disorders*, 66, 104010.
- Ambrosio, D., Panina-Bordignon, P., & Sinigaglia, F. (2003). Chemokine receptors in inflammation: an overview. *J Immunol Methods*, 273, 3-13.
- Bachelier, F., Graham, G.J., Locati, M., Mantovani, A., & Murphy, P.M. (2015). An atypical addition to the chemokine receptor nomenclature: IUPHAR Review 15.Br. *Journal Pharmacology*, 172(16), 3945-9.
- Bachelier, F., Graham, G.J., Locati, M., Mantovani, A., Murphy, P.M., Nibbs, R. (2014). New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Nat Immunol*, 15(3), 207-8.
- Bonecchi, R., Galliera, E., Borroni, E.M., Corsi, M.M., Locati, M., & Mantovani, A. (2009). Chemokines and chemokine receptors: an overview. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 14(2), 540-51.
- Bonecchi, R., Garlanda, C., Mantovani, A., & Riva, F. (2016). Cytokine decoy and scavenger receptors as key regulators of immunity and inflammation. *Cytokine*, 87, 37-45.
- Bonecchi, R., & Graham, G.J. (2016). A typical Chemokine Receptors and Their Roles in the Resolution of the Inflammatory Response. *Front Immunology*, 7, 224.
- Brück, W., & Stadelmann, C. (2005). The spectrum of multiple sclerosis: new lessons from pathology. *Current Opinion in Neurology*, 18(3), 221-224.
- Charo, I.F., & Ransohoff, R.M. (2006). The Many Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Inflammation. *The New England Journal of Medicine*, 354, 610-621.
- Clements, W., & Trave, D. (2013). Signalling pathways that control vertebrate haematopoietic stem cell specification. *Nat Rev Immunology*, 13, 336-348.
- Ford, L.B., Cerovic, V., Milling, S.W., Graham, G.J., Hansell, C.A., & Nibbs, R.J. (2014). Characterization of conventional and atypical receptors for the chemokine CCL2 on mouse leukocytes. *Journal Immunology*, 193(1), 400-11.
- Gowhari Shabgah, A., Jadidi-Niaragh, F., Mohammadi, H., Ebrahimzadeh, F., Oveis, M., Jahanara, A., & Gholizadeh Navashenaq, J. (2022). The Role of Atypical Chemokine Receptor D6 (ACKR2) in Physiological and Pathological Conditions; Friend, Foe, or Both? *Front. Immunol*, 13, 861931.
- Hansell, C.A., MacLellan, L.M., Oldham, R.S., Doonan, J., & Chapple, K.J. (2015). The atypical chemokine receptor ACKR2 suppresses Th17 responses to protein autoantigens. *Immunology Cell Biology*, 93(2), 167-76.
- Iuliano, G., Napoletano, R., & Esposito, A. (2008). Multiple Sclerosis: Relapses and Timing of Remissions. *European neurology*, 59, 44-8.
- Jiang, Y.H., Bressler, J., & Beaudet, A.L. (2004). Epigenetics and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 5, 479-510.
- Lazibat, I., Rubinić Majdak, M. i Županić, S. (2018). Multiple Sclerosis: New Aspects of Immunopathogenesis. *Acta clinica Croatica*, 57(2), 352-360.
- Liu, L., Graham, G.J., Damodaran, A., Hu, T., & Lira, S.A. (2006). Cutting edge: the silent chemokine receptor D6 is required for generating T cell responses that mediate experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal Immunology*, 177(1), 17-21.
- Lucchinetti, C., Brück, W., Parisi, J., Scheithauer, B., Rodriguez, M., & Lassmann, H. (2000). Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurology*, 47(6), 707-17.
- Murdoch, C., & Finn, A. (2000). Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood*, 95, 3032-43.
- Olson, T.S., & Ley, K. (2002). Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 283(1), 7-28.
- Richard, M.R. (2009). Chemokines and Chemokine Receptors: Standing at the Crossroads of Immunobiology and Neurobiology, *Immunology*, 31(5), 711-721.
- Rossi, D., & Zlotnik, A. (2000). The Biology of Chemokines and Their Receptors. *Annual Review of Immunology*, 18, 217-242.
- Saçmacı, H., & Özcan, S.S. (2020). A critical role for expression of atypical chemokine receptor 2 in multiple sclerosis: A preliminary Project. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 38, 101524.
- Salvi, V., Sozio, F., Sozzani, S.I., & Del Prete, A. (2017). Role of Atypical Chemokine Receptors in Microglial Activation and Polarization. *Front Aging Neuroscience*, 26(9), 148.
- Trapp, B.D., & Nave, K.A. (2008). Multiple Sclerosis: An Immune or Neurodegenerative Disorder? *Annual Review of Neuroscience*, 31, 247-269.
- Weiner, H.L., & James, M.S. (2012). Multiple Sclerosis: Diagnosis and Therapy / Edited by Howard L. Weiner, James M. Stankiewicz. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell Print.
- Yan, G., Dong, H., & Juan, F. (2021). Micro RNA in multiple sclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 516, 92-99.