

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RELAPSİNG-REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZDA CLUSTERİN
GENETİK POLİMORFİZMLERİ VE DOLAŞIMDAKİ MİKRORNA'LARIN
PLAZMA CLUSTERİN SEVİYESİ VE BİLİŞSEL PERFORMANS ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman Oğuzhan KILIÇ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN

TEMMUZ 2023

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

RELAPSİNG-REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZDA CLUSTERİN GENETİK POLİMORFİZMLERİ VE DOLAŞIMDAKİ MİKRORNA'LARIN PLAZMA CLUSTERİN SEVİYESİ VE BİLİŞSEL PERFORMANS ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Osman Oğuzhan KILIÇ

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN

Tarih: Temmuz 2023

Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin demiyelinizan, otoimmün ve nörodejeneratif kronik bir hastalıdır. Etiyolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşimlerinin rol oynadığı MS'in en yaygın klinik formu RRMS'tir. MS'te, progresyonun bir göstergesi olan bilişsel bozukluğun prevalansı %40-70 arasındadır. Clusterin, hücre yaşama ve ölüm yollarında aktif rol oynamaktadır. Bu proteini kodlayan *CLU* geninde bulunan tek nükleotit polimorfizmleri (SNP) birçok hastalıkla ilişkili bulunmuş olup clusterinin dolaşımdaki seviyelerinin bilişsel performansla ilişkili olduğuna dair bulgular literatürde mevcuttur. Gen ifadesinin düzenlenmesinde rol alan mikroRNA'lar (miRNA) birçok hastalığın teşhisi ve seyri ile ilişkilendirilmiş olup biyobelirteç keşif çalışmalarının önemli odaklarından biridir.

Bu tez çalışması kapsamında RRMS riski ile *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin ilişkilerinin incelenmesi ve plazma clusterin konsantrasyonu ile *CLU* ekspresyon seviyesine etki ettiği bilinen miR-21-5p ve miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyelerinin hastalık riski ve bilişsel

bozukluk ile ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda iki çalışma grubu oluşturulmuştur. Grup-1, 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyden oluşurken Grup-2, 30 naif RRMS hastası, 30 tedavi alan RRMS hastası ve 30 kontrol bireyden oluşmaktadır. Grup-1'deki RRMS hastalarının genotiplenmeleri PCR-RFLP ve RT-PCR ile gerçekleştirilmiştir. Grup-2'deki katılımcıların bilişsel değerlendirilmeleri BICAMS bataryası ile gerçekleştirilmiştir. Grup-2 katılımcılarının plazma miR-21-5p ve miR-195-5p ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile; plazma clusterin konsantrasyonu ise ELISA ile belirlenmiştir. Tüm örnekler Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Polikliniği'nden alınmıştır.

Bu tez çalışmasında rs3087554 T/C SNP'sinin C alelinin hem RRMS riski hem RRMS progresyonu ile ilişkili olduğu görülmüştür. RRMS ile ilişkileri incelenen miR-21-5p ve miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyelerinin RRMS teşhisi için biyobelirteç olabilecekleri görülmüştür. Ayrıca, miR-21-5p'nin potansiyel bir terapötik biyobelirteç olabileceğine dair bulgulara ulaşılmıştır. Buna ilave olarak, hem miR-21-5p'nin hem de miR-195-5p'nin MS'te kullanılan enjektabl immünomodülatör tedavilerin terapötik hedefi olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasıyla birlikte clusterinin MS'teki rolü genotip, fenotip ve bilişsel seviyede değerlendirilmiştir. *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri ile RRMS riski arasındaki ilişki ilk defa bu tezde çalışılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada ilk defa RRMS hastalarının plazma clusterin seviyesi, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile bilişsel performansları arasındaki ilişkiler incelenmiştir. RRMS'in teşhisi ve prognozunun takibi için plazmadaki potansiyel biyobelirteç adaylarını ortaya koyan bu çalışmanın geliştirilecek biyosensörlere, tedavi ajanlarına ve tanı kitlerine yol göstereceği öngörülmektedir. Multidisipliner bir yaklaşımın ürünü olan bu tez, bahsi geçen yönleriyle Biyomedikal Mühendisliği alanına katkı sağlayan bir çalışma niteliğindedir.

Anahtar Kelimeler: Clusterin, Multipl skleroz, Tek nükleotit polimorfizmi, mikroRNA, Bilişsel performans.

ABSTRACT

Master of Science

INVESTIGATION OF CLUSTERIN GENETIC POLYMORPHISMS AND THE EFFECTS OF CIRCULATING MICRORNAs ON PLASMA CLUSTERIN LEVEL AND COGNITIVE PERFORMANCE IN RELAPSING-REMITTING MULTIPLE SCLEROSIS

Osman Oğuzhan KILIÇ

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Biomedical Engineering Science Programme

Supervisor: Assoc. Prof. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN

Date: July 2023

Multiple Sclerosis (MS) is a demyelinating, autoimmune, and neurodegenerative chronic disease of the central nervous system. Complex interactions of genetic and environmental factors play an important role in the etiology of MS, the most common clinical form of which is relapsing-remitting MS (RRMS). The prevalence of cognitive impairment, an indicator of progression in MS, ranges from 40% to 70%. Clusterin plays a major role in cell survival and cell death pathways. Single nucleotide polymorphisms (SNP's) in the *CLU* gene, which encodes clusterin protein, have been associated with many diseases, and there is evidence in the literature suggesting an association between clusterin level in circulation and cognitive performance. MicroRNAs involved in the regulation of gene expression have been associated with the diagnosis and progression of many diseases and they are important foci of biomarker discovery studies.

In this thesis, the aim was to investigate the relationships between RRMS risk and the *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T, and rs1532278 C/T SNPs, as well as to determine the associations between plasma levels of clusterin and plasma

relative expression levels of miR-21-5p and miR-195-5p, which are known to target *CLU* gene, with disease risk and cognitive impairment. For this purpose, there are two study groups: Group-1 consisted of 310 RRMS patients and 310 healthy controls, while Group-2 consisted of 30 treatment-naïve RRMS patients, 30 injectable disease modifying therapy (DMT)-receiving RRMS patients, and 30 healthy controls. Genotypes of RRMS patients in Group-1 were determined by PCR-RFLP and RT-PCR. Cognitive evaluations of participants in Group-2 were carried out by applying the BICAMS test battery. Plasma relative expressions levels of miR-21-5p and miR-195-5p were determined by qRT-PCR, and plasma clusterin concentrations were analyzed with ELISA. The samples were collected from Ankara City Hospital Neurology Clinic.

In this thesis, it was observed that the C allele of the rs3087554 T/C is associated with both RRMS risk and progression. The plasma relative expression levels of miR-21-5p and miR-195-5p were found to have the potential to be biomarkers for the diagnosis of RRMS. Moreover, the findings suggested that miR-21-5p could be a potential therapeutic biomarker. In addition, both miR-21-5p and miR-195-5p are thought to be therapeutic targets of injectable DMT's used in MS.

With this thesis, the role of clusterin in MS was evaluated at genotype, phenotype, and cognitive level. The relationship between rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T, rs1532278 C/T SNP's, and RRMS risk was investigated for the first time in this thesis. In addition, for the first time in this study, the relationships between plasma clusterin levels, plasma miR-21-5p and miR-195-5p relative expression levels, and cognitive performance of RRMS patients were investigated. With this study, which identifies potential biomarker candidates in plasma for the diagnosis and prognosis of RRMS, will guide the development of biosensors, therapeutic agents, and diagnostic kits. This thesis, which is a product of a multidisciplinary approach, is a study contributing to the field of Biomedical Engineering in the aforementioned aspects.

Keywords: Clusterin, Multiple sclerosis, Single nucleotide polymorphisms, microRNA, Cognitive performance

TEŞEKKÜR

Öncelikle, bana ekibinde çalışma fırsatı vererek tüm çalışmalarımız boyunca rehberliği ve tecrübesiyle akademik gelişimime kıymetli katkılar sunan saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. Birsen Can Demirdöğen'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca çok değerli bilgi ve tecrübelerini en güzel şekilde sunan değerli TOBB ETÜ Biyomedikal Mühendisliği öğretim üyelerine şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışmasında kullanılan tüm örneklerin ve katılımcıların çalışmaya dahil olmasına yardımcı olan başta Doç. Dr. Semra Mungan Öztürk olmak üzere Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Polikliniği'ne teşekkür ederim.

Tez jüri üyelerim saygıdeğer Prof. Dr. Fatih Büyükserin ve Doç. Dr. Semra Mungan Öztürk'e kıymetli eleştirileri, önerileri ve rehberlikleri için şükranlarımı sunarım.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca daima tecrübelerini ve arkadaşlıklarını benimle paylaşan eski mesai arkadaşlarım Ahmet Ersin Meydan, Ece Bayrak, Elif Naz Karagülle, Farhad Nassehi, Hatice Ferda Özgüzar ve Merve Çelik'e ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Bana çalışmanın, azmin ve emeğin ne olduğunu öğreten değerli kardeşim Nazmi Yılmaz ve kıymetli büyüğüm Erdem İnanç Budak'a ayrıca teşekkür ederim.

Çalışmakta bulunduğum kurumda ilk günden bu yana aile sıcaklığını hissettiren mesai arkadaşlarım Ahmet Furkan Kola, Ebru Pekel Özmen, Feyzi Alkım Aktaş, Mehmet Samet Çakır, Muhammet Emin İnce, Sare Mıtıncık ve Yasemin Korkmaz'a teşekkürlerimi sunarım.

Memleketimde geçirdiğim günlerde dahi gurbet hasretini hissettiren, iyi ve kötü günlerimde hep yanımda olan başta sevgili büyüğüm Canan Koçan Akçin olmak üzere değerli kardeşlerim Ata Ayhan Yılmaz, Buse Aydın ve Mekselina Kalmaz'a sevgi ve şükranlarımı sunuyorum.

Meşakkatli eğitim hayatım boyunca her zaman desteklerini hissettiğim aile büyüklerim annem Nigar Kılıç'a, babam Nazmi Kılıç'a ve ablam Gonca Kılıç'a teşekkür ederim.

Sevgisine mazhar olma lütfuyla beni fanilerin en mesuduna dönüştüren; anlayışı, sabrı ve neşesiyle bu süreçte bana katlanan sevgili eşim Hilal Nurten Kılıç'a teşekkürlerin en büyüğünü sunuyorum.

Bu çalışmayı, hayatımda en güzel sayfaları açan sevgili küçüğüm kızım İpek Meyra'ya ithaf ediyorum.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xxi
KISALTMALAR	xxvii
SEMBOL LİSTESİ	xxxii
1. GİRİŞ	1
1.1 Multipl Skleroz	1
1.1.1 Multipl sklerozun tarihçesi.....	2
1.1.2 Multipl sklerozun epidemiyolojisi	3
1.1.3 Multipl sklerozun etyopatogenezi	5
1.1.3.1 Çevresel faktörler	6
1.1.3.2 Genetik faktörler	8
1.1.4 Multipl sklerozun patolojisi ve immünpatogenezi.....	9
1.1.5 Multipl sklerozun tanısı ve klinik tipleri.....	12
1.1.5.1 Multipl sklerozun tanısı	12
1.1.5.2 Multipl sklerozun semptomları ve klinik tipleri	15
1.1.6 Multipl sklerozda fiziksel engelliliğin değerlendirilmesi	17
1.1.7 Multipl sklerozda bilişsel bozukluklar	18
1.1.7.1 Bilgi işleme hızı & çalışan bellek	20
1.1.7.2 Bellek işlevleri	21
1.1.7.3 Görsel algılama işlevleri	22
1.1.8 Bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesi	22
1.1.8.1 Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRB-N)...	23
1.1.8.2 Minimal Assessment of Cognitive Function in MS (MACFIMS). 23	
1.1.8.3 Brief International Cognitive Assessment of MS (BICAMS)	24
1.1.9 Multipl sklerozda tedavi.....	24
1.1.9.1 İnterferon beta	25
1.1.9.2 Glatiramer asetat	25
1.2 Clusterin	26
1.2.1 Clusterin ve multipl skleroz	28
1.2.2 Clusterin ve bilişsel performans.....	28
1.3 Genetik Polimorfizmler.....	30
1.3.1 Tek nükleotit polimorfizmi (SNP)	30
1.3.2 <i>CLU</i> geni ve tek nükleotit polimorfizmleri.....	31
1.3.2.1 <i>CLU</i> rs11136000 C/T.....	31
1.3.2.2 <i>CLU</i> rs3087554 T/C.....	32
1.3.2.3 <i>CLU</i> rs2279590 C/T.....	33
1.3.2.4 <i>CLU</i> rs1532278 C/T.....	33
1.4 mikroRNA'lar	34
1.4.1 mikroRNA'ların genomik yerleşimi ve biyogenezi.....	36

1.4.2	Dolaşımdaki mikroRNA'lar	37
1.4.3	Multipl sklerozda mikroRNA'ların rolü	38
1.4.4	hsa-miR-21-5p.....	40
1.4.5	hsa-miR-195-5p.....	42
1.5	Çalışmanın Amacı	45
2.	MATERYALLER VE METOTLAR	49
2.1	Kullanılan Materyaller	49
2.1.1	Çalışma grupları ve popülasyonlar.....	49
2.1.2	Numunelerin toplanması	52
2.1.2.1	Genotipleme için tam kan örneklerinin toplanması	52
2.1.2.2	Plazma örneklerinin toplanması	52
2.1.3	Kullanılan malzemeler	53
2.1.4	Kullanılan cihazlar	53
2.1.5	Primerler.....	53
2.1.5.1	Genotipleme çalışmalarında kullanılan primerler	53
2.1.5.2	Plazma mikroRNA ekspresyon seviyesi belirlemede kullanılan primerler	54
2.2	Metotlar	54
2.2.1	Tam kandan DNA izolasyonu ve genotipleme çalışmalarına hazırlanması	54
2.2.1.1	Tam kandan DNA izolasyonu prosedürü:	54
2.2.1.2	Genomik DNA'nın kalitatif ve kantitatif analizi.....	55
2.2.2	<i>CLU</i> rs11136000 ve rs3087554 tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplenmesi	55
2.2.2.1	<i>CLU</i> rs1113600 için genotipleme	55
2.2.2.2	<i>CLU</i> rs3087554 için Genotipleme.....	60
2.2.3	<i>CLU</i> rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplenmesi	64
2.2.3.1	<i>CLU</i> rs2279590 C/T için genotipleme	66
2.2.3.2	<i>CLU</i> rs1532278 C/T için genotipleme	68
2.2.4	Bilişsel değerlendirme.....	69
2.2.5	Plazma mikroRNA ekspresyon seviyesinin tayini için kullanılan metotlar.....	71
2.2.5.1	Toplanan periferik tam kanlardan plazma elde edilmesi	72
2.2.5.2	Plazmalardan RNA izolasyonu	72
2.2.5.3	Total RNA kalitesinin ve konsantrasyonunun belirlenmesi:.....	74
2.2.6	Ters transkriptaz PCR metodu ile cDNA sentezi	74
2.2.7	Kantitatif eş zamanlı PCR ile mikroRNA'ların ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi	75
2.2.8	Plazma numunelerin clusterin proteini seviyesinin ELISA ile belirlenmesi	78
2.2.9	İstatistiksel analiz için kullanılan metotlar	80
3.	BULGULAR	83
3.1	Çalışma Grupları	83
3.1.1	Grup-1'in demografik bilgileri.....	83

3.1.2	Grup-2'nin demografik bilgileri.....	84
3.2	<i>CLU</i> SNP'lerinin Genotiplenmesi	85
3.2.1	<i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin genotiplenmesi.....	85
3.2.1.1	<i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin PCR sonuçları.....	85
3.2.1.2	<i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin kesim sonuçları	86
3.2.2	<i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sinin genotiplenmesi.....	87
3.2.2.1	<i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sinin PCR sonuçları	87
3.2.2.2	<i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sinin kesim sonuçları	88
3.2.3	<i>CLU</i> rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotiplenmesi ...	88
3.3	Grup-1'de Yapılan İstatistiksel Analizler	89
3.3.1	Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik bilgileri	89
3.3.2	<i>CLU</i> SNP'lerinin genotip ve alel frekansları	93
3.3.2.1	<i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	93
3.3.2.2	<i>CLU</i> rs087554 T/C SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	95
3.3.2.3	<i>CLU</i> rs2279590 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	97
3.3.2.4	<i>CLU</i> rs1532278 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	100
3.3.2.5	<i>CLU</i> SNP genotiplerinin kombinasyonları ile gerçekleştirilen analizler	102
3.3.3	<i>CLU</i> SNP'leri ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler..	104
3.3.3.1	<i>CLU</i> rs11136000 C/T ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler	104
3.3.3.2	<i>CLU</i> rs3087554 T/C ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler	107
3.3.3.3	<i>CLU</i> rs2279590 C/T ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler	110
3.3.3.4	<i>CLU</i> rs1532278 C/T ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler	113
3.3.4	Lojistik regresyon analizleri.....	118
3.3.4.1	Orta ila yüksek düzey EDSS riski için yapılan analizler	118
3.3.4.2	Hızlı MS progresyon riski için yapılan analizler	123
3.4	Grup-2'de Yapılan Analizler.....	128
3.4.1	Grup-2'nin klinik bilgileri.....	128
3.4.2	Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerde plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri	131
3.4.3	Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerde BICAMS test skorları	134
3.4.4	Korelasyon Analizleri	138
3.4.4.1	Naif RRMS hastalarında yapılan korelasyon analizleri	138
3.4.4.2	Tedavi alan RRMS hastalarında yapılan korelasyon analizleri ...	139
3.4.4.3	Kontrol grubunda korelasyon analizleri.....	141
3.4.5	Bilişsel bozukluk ile ilişkili analizler	142
3.4.5.1	Naif RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkili parametreler.....	142

3.4.5.2	Tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkili parametreler.....	146
3.4.6	Plazma clusterin konsantrasyonu ile <i>CLU</i> SNP genotipleri arasındaki ilişkiler.....	149
3.4.6.1	Plazma clusterin konsantrasyonunun rs11136000 C/T ile ilişkisi	150
3.4.6.2	Plazma clusterin konsantrasyonunun rs3087554 T/C ile ilişkisi .	153
3.4.6.3	Plazma clusterin konsantrasyonunun rs2279590 C/T ile ilişkisi .	156
3.4.6.4	Plazma clusterin konsantrasyonunun rs1532278 C/T ile ilişkisi .	159
3.4.7	Plazma clusterin konsantrasyonuna miRNA rölatif ekspresyon seviyeleri ve rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri	163
3.4.7.1	Plazma clusterin konsantrasyonuna miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ve rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri	163
3.4.7.2	Plazma clusterin konsantrasyonuna miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ve rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri	166
3.4.8	Lojistik Regresyon Analizleri	168
3.4.8.1	Gruplar arasında gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri.....	168
3.4.8.2	Bilişsel bozukluk riski için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri	174
3.4.9	Receiver operating characteristics (ROC) analizleri	180
3.4.9.1	Gruplar arası gerçekleştirilen ROC analizleri	180
3.4.9.2	Bilişsel bozukluk için gerçekleştirilen ROC analizleri	190
4.	TARTIŞMA	195
4.1	Çalışma Gruplarının Demografik ve Klinik Profili.....	196
4.1.1	Grup-1'in demografik ve klinik profili	196
4.1.1.1	Grup-1'in demografik profili	196
4.1.1.2	Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik profili	198
4.1.2	Grup-2'nin demografik ve klinik profili	201
4.1.2.1	Grup-2'nin demografik profili	201
4.1.2.2	Grup-2'nin klinik profili.....	202
4.2	<i>CLU</i> SNP Genotipleri ile RRMS Arasındaki İlişkiler	205
4.2.1	<i>CLU</i> rs1113600 C/T	206
4.2.2	<i>CLU</i> rs3087554 T/C	209
4.2.3	<i>CLU</i> rs2279590 C/T	212
4.2.4	<i>CLU</i> rs1532278 C/T	215
4.2.5	<i>CLU</i> SNP'lerinin Kombinasyonları	216
4.3	<i>CLU</i> SNP'lerinin RRMS Hastalarının Klinik Bulgularına Etkileri	217
4.3.1	<i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin etkileri	217
4.3.2	<i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri	217
4.3.3	<i>CLU</i> rs2279590 SNP'sinin etkileri	218
4.3.4	<i>CLU</i> rs1532278 C/T SNP'sinin etkileri	218
4.4	RRMS Hastalarının Engellilik Durumları ve Progresyon Hızları ile İlişkili Parametreler.....	219
4.5	Plazma Clusterin Konsantrasyonu ve miRNA Seviyelerinin RRMS ile İlişkileri.....	221
4.5.1	Plazma clusterin konsantrasyonunun RRMS ile ilişkileri.....	221

4.5.2	Plazma miRNA rölatif ekspresyon seviyeleriyle RRMS arasındaki ilişkiler	223
4.5.2.1	Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS ile ilişkisinin incelenmesi	230
4.5.2.2	Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS ile ilişkilerinin incelenmesi	234
4.6	Bilişsel Durum ile İlişkili Analizler	237
4.6.1	Grup-2'nin bilişsel profili	237
4.6.2	Plazma clusterin konsantrasyonu ve miRNA rölatif ekspresyon seviyelerinin bilişsel parametrelerle ilişkileri	241
4.6.2.1	BICAMS test skorları ile ilişkileri	241
4.6.2.2	Bilişsel bozuklukla ilişkileri	242
4.6.2.3	Bilişsel bozuklukla ilişkili diğer parametreler	243
4.7	Plazma Clusterin Konsantrasyonuna Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi	246
4.7.1	<i>CLU</i> SNP'lerinin plazma clusterin konsantrasyonuna etkileri	246
4.7.1.1	<i>CLU</i> rs11136000 C/T ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki	246
4.7.1.2	<i>CLU</i> rs3087554 T/C ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki	247
4.7.1.3	<i>CLU</i> rs2279590 C/T ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki	247
4.7.1.4	<i>CLU</i> rs1532278 C/T ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki	248
4.7.2	Plazma clusterin konsantrasyonuna rs3087554 T/C ve miRNA'ların etkileri	249
5.	SONUÇ	253
	KAYNAKLAR	265
	EKLER	299



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Normal sinir hücresi ve MS'e bağlı hasarlar sonucu sinir hücresinin temsili görünümü.	1
Şekil 1.2: MS Atlas'ının 3. Edisyonuna göre prevalanslara göre ülkelerin görünümü.	4
Şekil 1.3: MS'in gelişmesinde rol oynayan başlıca çevresel ve genetik risk faktörleri.	5
Şekil 1.4: MS'in patogenezinin temsili bir özeti.	10
Şekil 1.5 Klinik MS tipleri ve zaman içerisindeki aktivitelerinin engelliliğe olan etkilerinin temsili görünümü.	16
Şekil 1.6: EDSS skorlarının engellilik durumlarına göre derecelendirilmesi.	18
Şekil 1.7: Clusterin proteinin 3D yapısı.	27
Şekil 1.8: miRNA biyogenezinin temsili gösterimi.	37
Şekil 2.1: PCR ile çoğaltılan rs11136000 C/T SNP'sini içeren bölgenin dizisi ve <i>ApoI</i> restriksiyon endonükleaz enziminin tanıdığı dizinin gösterimi.	56
Şekil 2.2: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sini içeren bölgenin çoğaltılması için kullanılan PCR programının temsili gösterimi.	57
Şekil 2.3: <i>ApoI</i> restriksiyon enziminin tanıma bölgesi	58
Şekil 2.4: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin PCR-RFLP metodu ile genotiplenmesi işleminin şematik gösterimi.	60
Şekil 2.5: PCR ile çoğaltılan rs3087554 T/C SNP'sini içeren bölgenin dizisi ve enzimin adını yaz restriksiyon endonükleaz enziminin tanıdığı dizinin gösterimi.	61
Şekil 2.6: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sini içeren bölgenin çoğaltılması için kullanılan PCR programının temsili gösterimi.	62
Şekil 2.7: <i>AciI</i> enziminin tanıma bölgesi ..	62
Şekil 2.8: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sinin PCR-RFLP metodu ile genotiplenmesi işleminin şematik gösterimi.	63
Şekil 2.9: TaqMan problemlerinin çalışma mekanizması.	66
Şekil 2.10: rs2279590 C/T eş zamanlı reaksiyonunun sonucunda elde edilen alelik dağılım haritası.	68
Şekil 2.11: rs1532278 C/T eş zamanlı reaksiyonunun sonucunda elde edilen alelik dağılım haritası.	69
Şekil 2.12: Plazma ayırımı iş akışının temsili gösterimi.	72
Şekil 2.13: Ekspresyon seviyesi çalışmalarında kullanılan primerlerin erime eğrisi sonuçları (a) ve bu çalışmada elde edilen amplifikasyon eğrileri (b).	77
Şekil 2.14: Plazma clusterin seviyesinin ELISA ile tayini iş akışının temsili gösterimi.	79
Şekil 3.1: Tez çalışması kapsamındaki çalışma gruplarının özeti.	83
Şekil 3.2: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'si için gerçekleştirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.	86

Şekil 3.3: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP genotipleme için gerçekleştirilen kesim işlemi ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.	86
Şekil 3.4: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'si için gerçekleştirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.	87
Şekil 3.5: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP genotipleme için gerçekleştirilen kesim işlemi ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.	88
Şekil 3.6: Grup-1'deki RRMS hastalarının (n=310) <i>CLU</i> SNP'lerinin resesif ve dominant modellerine göre EDSS skorlarının dağılımı.	116
Şekil 3.7: Grup-1'deki RRMS hastalarının (n=310) <i>CLU</i> SNP'lerinin resesif ve dominant modellerine göre MSSS'lerinin dağılımı. *: $P < .05$	117
Şekil 3.8: Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) plazmalarındaki clusterin proteini seviyeleri	132
Şekil 3.9: Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazmalarındaki (a) miR-21-5p ve (b) mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri.	133
Şekil 3.10: SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS (n=30) ve kontrol grupları (n=30) arasında dağılımları.	136
Şekil 3.11: SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının yaşa ve eğitim yılına göre düzenlenmiş değerlerinin Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS (n=30) ve kontrol gruplarındaki (n=30) dağılımları.	137
Şekil 3.12: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre plazma clusterin seviyelerinin dağılımı.	142
Şekil 3.13: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre plazma miR-21-5p (solda) ve miR-195-5p (sağda) rölatif ekspresyon seviyelerinin dağılımı.	144
Şekil 3.14: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre T1 ve T2 lezyon sayılarının dağılımı.	147
Şekil 3.15: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre serum lipit seviyelerinin dağılımı.	149
Şekil 3.16: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı.	153
Şekil 3.17: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs3087554 T/C SNP'sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı.	155
Şekil 3.18: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs2279590 C/T SNP'sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı	159
Şekil 3.19: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs1532278 C/T SNP'sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı.	162

Şekil 3.20: Plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan naif RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.....	183
Şekil 3.21: Plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan tedavi alan (n=30) ve naif RRMS hastalarının (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.....	184
Şekil 3.22: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan naif RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.....	186
Şekil 3.23: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.	187
Şekil 3.24: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan tedavi alan (n=30) ve naif RRMS hastalarının (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.	189
Şekil 3.25: Grup-2’deki tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) T1 lezyon sayısı kullanılarak bilişsel bozukluk durumunu sınıflandırmak için yapılan ROC analizinin eğrisi.	191
Şekil 3.26: Grup-2’deki tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) T2 lezyon sayısı kullanılarak bilişsel bozukluk durumunu sınıflandırmak için yapılan ROC analizinin eğrisi.	193
Şekil Ek.1: SDMT testi	305
Şekil Ek.2: CVLT-II testi.....	306
Şekil Ek.3: BVMT-R testi.....	307
Şekil Ek.4: Grup-1’deki RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizlerinin oluşturulması.	308
Şekil Ek.5: Grup-1’deki RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizlerinin oluşturulması.	309
Şekil Ek.6: Grup-2’de naif RRMS (n=30) tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireyler (n=30) ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için kullanılan lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.	310
Şekil Ek.7: Grup-2’de naif RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.	311
Şekil Ek.8: Grup-2’de tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.	312



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1: MS tanısı için 2017 Revize McDonald kriterleri.....	14
Çizelge 2.1: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmakta kullanılan PCR ana karışımının içerikleri.	57
Çizelge 2.2: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'si için hazırlanan restriksiyon endonükleaz enzimi içeren ana karışım içeriği.	59
Çizelge 2.3: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP bölgesini çoğaltmakta kullanılan PCR ana karışımının içerikleri.	61
Çizelge 2.4: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'si için hazırlanan restriksiyon <i>Acil</i> endonükleaz enzimi içeren ana karışım içeriği 63	63
Çizelge 2.5: <i>CLU</i> rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP genotipleme kitlerinde alellere spesifik problemlerin taşıdıkları floresan boyalar.	65
Çizelge 2.6: Eş zamanlı PCR için reaksiyon içerikleri 67	67
Çizelge 2.7: <i>CLU</i> rs2279590 C/T ve rs1532278'nin genotiplemesi için gerçekleştirilen eş zamanlı PCR döngüsü.	67
Çizelge 2.8: Ters transkriptaz PCR reaksiyonu karışımının içeriği.	75
Çizelge 2.9: RT-PCR reaksiyonu için kurulan program.	75
Çizelge 2.10: Plazma miRNA ekspresyon seviyesi çalışmalarında kullanılan primerlerin bilgileri 76	76
Çizelge 2.11: qRT-PCR işleminde kullanılan karışım içeriği..... 76	76
Çizelge 2.12: qRT-PCR işleminde kullanılan termal döngü programı.	77
Çizelge 2.13: AUC değerlerine göre analizin başarı derecelendirmesi.	81
Çizelge 3.1: Grup-1'deki RRMS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin demografik bilgileri.	83
Çizelge 3.2: Grup-2'deki naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerin demografik bilgileri..... 84	84
Çizelge 3.3: Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik bilgilerinin cinsiyetlere göre dağılımları.	90
Çizelge 3.4: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonucu..... 93	93
Çizelge 3.5: Grup-1'de <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. 94	94
Çizelge 3.6: <i>CLU</i> rs11136000 C/T SNP'sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve <i>P</i> değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir..... 94	94
Çizelge 3.7: <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP'sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonuçları.	95
Çizelge 3.8: Grup-1'de <i>CLU</i> rs3087554 SNP'sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması..... 96	96

Çizelge 3.9: Grup-1’de <i>CLU</i> rs3087554 T/C SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve <i>P</i> değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.	96
Çizelge 3.10: <i>CLU</i> rs2279590 C/T SNP’sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonuçları.	98
Çizelge 3.11: Grup-1’de <i>CLU</i> rs2279590 C/T SNP’sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması.	99
Çizelge 3.12: Grup-1’de <i>CLU</i> rs2279590 C/T SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve <i>P</i> değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.	99
Çizelge 3.13: <i>CLU</i> rs1532278 C/T SNP’sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonuçları.	100
Çizelge 3.14: Grup-1’de <i>CLU</i> rs1532278 C/T SNP’sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması.	101
Çizelge 3.15: Grup-1’de <i>CLU</i> rs1532278 C/T SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve <i>P</i> değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.	101
Çizelge 3.16: <i>CLU</i> rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP’lerinin bir aradaki kombinasyonlarının Grup-1’deki RRMS ve kontrol gruplarındaki dağılımlarının karşılaştırılması.	103
Çizelge 3.17: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs11136000 C/T SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.	105
Çizelge 3.18: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs3087554 T/C SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.	108
Çizelge 3.19: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs2279590 C/T SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.	111
Çizelge 3.20: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs1532278 C/T SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.	114
Çizelge 3.21: Grup-1’de RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için yapılan LR analizleri modelleri.	120
Çizelge 3.22: Grup-1’deki RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için yapılan ikili lojistik regresyon analizinde anlamlı çıkan modeller ve EDSS>3 riski ile ilişkili bulunan parametreler.	122
Çizelge 3.23: Grup-1’de RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için yapılan LR analizleri modelleri.	125
Çizelge 3.24: Grup-1’deki RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için yapılan ikili lojistik regresyon analizinde anlamlı çıkan modeller ve MSSS>5 riski ile ilişkili bulunan parametreler.	127
Çizelge 3.25: Grup-2’deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerin klinik bilgileri.	129
Çizelge 3.26: Grup-2’deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri.	132

Çizelge 3.27: Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS ve kontrol bireylerin BICAMS test sonuçlarının yaş ve eğitim yılına göre düzenlenmiş ve düzenlenmemiş değerlerinin gruplar arasındaki dağılımı.....	135
Çizelge 3.28: Grup-2'deki naif RRMS hastalarında düzenlenmiş BICAMS skorları ile deneysel parametrelerin aralarındaki korelasyonun incelenmesi.....	139
Çizelge 3.29: Tedavi alan RRMS hastalarında düzenlenmiş BICAMS skorları ile deneysel parametrelerin aralarındaki korelasyonun incelenmesi.....	140
Çizelge 3.30: Grup-2'deki kontrol grubunda düzenlenmiş BICAMS skorları ile deneysel parametrelerin aralarındaki korelasyonun incelenmesi.....	141
Çizelge 3.31: Grup-2'deki naif RRMS hastalarının (n=30) plazma clusterin, miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleriyle klinik bilgilerinin bilişsel bozukluk durumuna göre kıyaslanması.	143
Çizelge 3.32: Grup-2'deki naif RRMS hastalarının serum lipit paneli, 25-(OH) D ₃ ve Vitamin B ₁₂ seviyelerinin bilişsel bozukluk durumuna göre karşılaştırılması.	145
Çizelge 3.33: Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin, miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleriyle klinik bilgilerinin bilişsel bozukluk durumuna göre kıyaslanması.	146
Çizelge 3.34: Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarının serum lipit paneli, 25-(OH) D ₃ ve Vitamin B ₁₂ seviyelerinin bilişsel bozukluk durumuna göre karşılaştırılması.	148
Çizelge 3.35: Plazma clusterin konsantrasyonunun Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde <i>CLU</i> rs11136000 C/T genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.	151
Çizelge 3.36: Plazma clusterin konsantrasyonlarının Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde <i>CLU</i> rs3087554 T/C genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.	154
Çizelge 3.37: Plazma clusterin konsantrasyonunun Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde <i>CLU</i> rs2279590 C/T genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.	157
Çizelge 3.38: Plazma clusterin konsantrasyonunun Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde <i>CLU</i> rs1532278 C/T genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.	160
Çizelge 3.39: Grup-2'deki tüm katılımcıların rs3087554 T/C genotiplerindeki clusterin konsantrasyonlarının plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırılmaları.	164
Çizelge 3.40: Grup-2'de plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS, tedavi alan RRMS, tüm RRMS hastaları ve kontrol grubu içinde plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırmaları.	165
Çizelge 3.41: Grup-2'deki tüm katılımcıların rs3087554 T/C genotiplerindeki clusterin konsantrasyonlarının plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırılmaları.....	166
Çizelge 3.42: Grup-2'de plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS, tedavi alan RRMS, tüm RRMS hastaları ve kontrol grubu içinde plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırmaları.	167

Çizelge 3.43: Grup-2’de bulunan naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS hastalarının (n=30) ve kontrollerin (n=30) ikili olarak karşılaştırıldıklarında gruplarla ilişkili parametreleri belirlemek için yapılan lojistik regresyon analizleri modelleri..	170
Çizelge 3.44: Grup-2’de bulunan naif RRMS hastaları (n=30) ve kontrol grubu (n=30) arasında yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde anlamlı çıkan modeller ve RRMS riski ile ilişkili bulunan parametreler.	171
Çizelge 3.45: Grup-2’de bulunan tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve naif RRMS hastaları (n=30) arasında yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde anlamlı çıkan modeller ve tedavi alan RRMS olma durumu ile ilişkili bulunan parametreler.....	172
Çizelge 3.46: Grup-2’de bulunan naif RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk riski ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri modellerinin oluşturulması.	175
Çizelge 3.47: Grup-2’de bulunan tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk riski ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri modellerinin oluşturulması.	178
Çizelge 3.48: Grup-2’de bulunan tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk riski için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizinde anlamlı çıkan modeller ve bilişsel bozukluk riski ile ilişkili bulunan parametreler.....	179
Çizelge 3.49: Grup-2’deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol gruplarının (n=30) ikili olarak karşılaştırıldıklarında grupların sınıflandırılmaları ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için yapılan ROC analizlerinden istatistiksel olarak anlamlı bulunanlar	182
Çizelge 3.50: Tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar arasında yapılan ROC analizlerinden istatistiksel olarak anlamlı bulunanların sonuçları.	182
Çizelge 3.51: Plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasındaki hata matrisi analizi.	183
Çizelge 3.52: Plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif ve tedavi alan RRMS hastaları arasındaki hata matrisi analizi.	185
Çizelge 3.53: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasındaki hata matrisi analizi.	186
Çizelge 3.54: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki hata matrisi analizi.	188
Çizelge 3.55: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif ve tedavi alan RRMS hastaları arasındaki hata matrisi analizi.	189
Çizelge 3.56: T1 lezyon sayısının tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk olan ve olmayanlar arasındaki hata matrisi analizi.	191
Çizelge 3.57: T2 lezyon sayısının tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk olan ve olmayanlar arasındaki hata matrisi analizi.	193
Çizelge 4.1: Ülkemizde farklı bölgelerdeki ve ülke çapındaki MS hastalarının kadın/erkek oranları.....	197
Çizelge 4.2: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs11136000 C/T SNP’sinin T alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.	207

Çizelge 4.3: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs3087554 T/C SNP'sinin C alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.	209
Çizelge 4.4: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs2279550 C/T SNP'sinin T alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.	213
Çizelge 4.5: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs1532278 C/T SNP'sinin T alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.	216
Çizelge 4.6: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda plazma clusterin konsantrasyonlarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.	222
Çizelge 4.7: Literatürde serum veya plazmada RRMS ile ilişkili bulunan miRNA'lar.	223
Çizelge 4.8: Literatürde serum veya plazmada RRMS ile ilişkili bulunan miRNA'ların hedefleri ve MS ile ilişkileri.	225
Çizelge Ek.1: Kullanılan malzemelerin katalog numaraları, üretici firmaları ve üretim yerleri.....	302
Çizelge Ek.2: Kullanılan cihazların modelleri ve üretim yerleri	303
Çizelge Ek.3: PCR-RFLP metodu ile genotipleme çalışmalarında kullanılan primerlerin dizileri ve üreticileri	304
Çizelge Ek.4: Eş zamanlı PCR ile genotipleme çalışmalarında kullanılan kitlerin bilgileri	304



KISALTMALAR

25-(OH) D₃	: 25-Hidroksivitamin D ₃
3D	: Üç boyutlu
AGO	: Argonaute
APO	: Apolipoprotein
AUC	: Area Under the Curve
BDNF	: Brain-derived neurotrophic factor
BICAMS	: Brief International Cognitive Assessment of MS
BOS	: Beyin-omurilik sıvısı
BRB-N	: Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test
BVMT-R	: Brief Visuospatial Memory Test-Revised
cDNA	: Komplementer DNA
COGIMUS	: Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis
Ct	: Cycle threshold
CVLT-II	: California Verbal Learning Test-II
DGCR8	: DiGeorge Sendromu Kritik Bölge 8
D-KEFS	: Delis-Kaplan Executive Function System
DN	: Doğru negatif
DP	: Doğru pozitif
DPBS	: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline
EAE	: Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
EBV	: Epstein-Barr virüsü
EDSS	: Expanded Disability Status Scale
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetat
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EtBr	: Etidyum Bromür
FED	: Fuch's Endotelyal Distrofisi
FRET	: Förster rezonans enerji transferi
GA	: Glatiramer Asetat
GNDF	: Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor
GM-CSF	: Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor
HBB	: Hafif bilişsel bozukluk
HDL	: High density lipoprotein
HLA	: Human Lökosit Antijeni
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HRP	: Horse Radish Peroxidase
IFN-β	: İnterferon beta
IFN-γ	: İnterferon gama
Ig	: İmmunglobulin
IL	: İnterlökin
IMSGC	: International Multiple Sclerosis Genetics Consortium
JAK2/STAT3	: Janus Kinaz 2/Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
KBB	: Kan-Beyin Bariyeri

KİS	: Klinik İzole Sendrom
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LD	: Linkage disequilibrium
LDL-	: Low density lipoprotein
LRA	: Luciferase reporter assay
MACFIMS	: Minimal Assessment of Cognitive Function in MS
MAF	: Minör Alel Frekansı
MBP	: Miyelin Bazik Protein
MHC-1	: Majör Histocompatibility Complex-I
miRNA	: MikroRNA
MMSE	: Mini Mental State Examination
MoCA	: Montreal Cognitive Assesment
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MSSS	: Multiple Sclerosis Severity Score
NAWM	: Normal Appearing White Matter
nCLU	: Clusterin proteininin nükleer formu
NF-L	: Neurofilament Light Chain
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NMO	: Nöromiyelitis Optika
NPM-1	: Nucleophosmin-1
OKB	: Oligoklonal Bant
PASAT	: Paced Auditory Serial Addition Test
PCDD4	: Programmed Cell Death 4
PCR	: Polymerase Chain Reaction-Polimeraz zincir reaksiyonu
PCR-RFLP	: Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism
PKMH	: Periferik Kan Mononükleer Hücreleri
PPMS	: Primer progresif MS
PPRα	: Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör α
qRT-PCR	: Quantitative Real-Time PCR
RA	: Romatoid Artirit
RISC	: RNA-induced Silencing Complex
RİS	: Radyolojik İzole Sendrom
ROC	: Receiver operating characteristic
RRMS	: Relapsing-remitting MS
SAA	: Serebral Amiloid Anjiyopati
sCLU	: Clusterin proteininin salgılanan formu
SDMT	: Symbol Digit Modalities Test
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SPART	: Spatial Recall Test
SPMS	: Sekonder progresif MS

T1D	: Tip-1 Diyabet
T2D	: Tip-2 Diyabet
TBE	: Tris-Borat-EDTA
TGF-β	: Tumor Büyüme Faktörü- β
TLR	: Toll-like Receptor
TMB	: Tetrametil Benzidin
TNF-α	: Tumor Nekroz Faktörü- α
UTR	: Untranslated Region
UV	: Ultraviyole
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule
VEP	: Visual Evoked Potential
VLA-4	: Very Late Antigen-4
VLDL	: Very low density lipoprotein
WLG	: Word List Generation
XFG	: Eksfoliyatif Glokom
XFS	: Eksfoliyasyon Sendromu
YN	: Yanlış Negatif
YP	: Yanlış Pozitif



SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

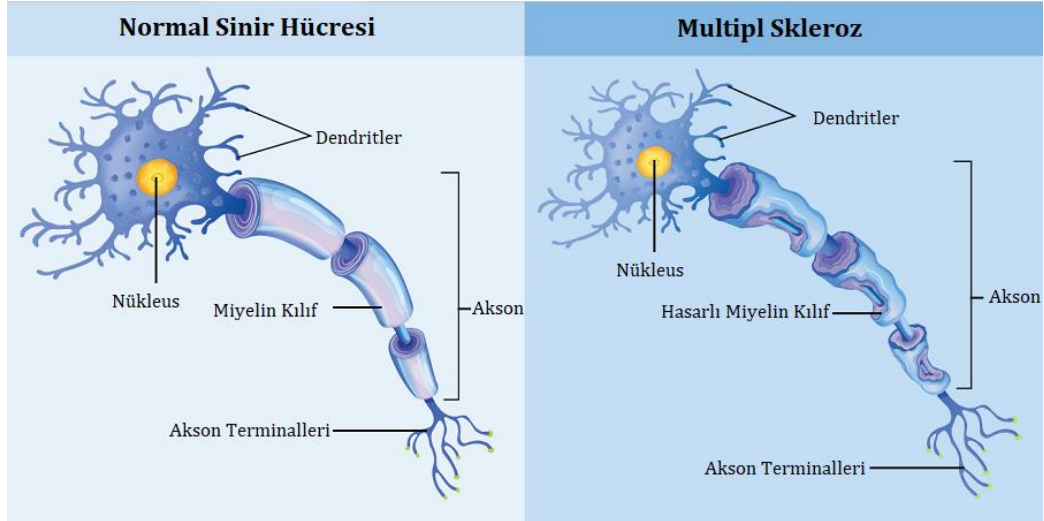
Simgeler	Açıklama
α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
$\Delta\Delta\text{Ct}$	Delta delta Ct
γ	Gama
κ	Kappa
%	Yüzde
nM	Nanomolar
mM	Milimolar
g	Gram
ng	Nanogram
μL	Mikrolitre
μg	Mikrogram
kb	Kilobaz
bç	Baz çifti
U	Unit
V	Vol
χ^2	Ki-kare
<	Küçüktür
>	Büyüktür
\geq	Büyük eşittir
\leq	Küçük eşittir
\approx	Yaklaşık
=	Eşittir
+	Artı
\pm	Artı-eksi



1. GİRİŞ

1.1 Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin (MSS) demiyelinizan, otoimmün ve nörodejeneratif kronik bir hastalığı olup genç erişkinlerde travma harici engelliliğe neden olan en yaygın hastalıktır (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Filippi vd., 2018). Sinir hücrelerinin kendiliğinden reaktif olan (otoreaktif) immün hücrelerin saldırılarıyla miyelin kılıflarının hasar alması sonucunda oluşan yara (skar) görünümünden kaynaklanan lezyonlar, hastalığın karakteristik özelliğidir (Yiğit, 2018) (Şekil 1.1). Bu demiyelinizan lezyonlar beyinde ve omurilikte beyaz ve gri cevherde görünmektedir. Demiyelinizasyon nedeni ile sinirsel iletimdeki bozukluklara eşlik eden sinir hücrelerinin enerji metabolizmasındaki aksaklıklar nörodejenerasyona da neden olabilmektedir (Al-Badri & Castorina, 2018; Lassmann, 2013). MSS'deki bu hasarların yorgunluk, hissizlik ve güç kaybına neden olması hastaların engellilik derecelerini arttırmaktadır (Hemmer vd., 2015; Thompson vd., 2018).



Şekil 1.1: Normal sinir hücresi ve MS'e bağlı hasarlar sonucu sinir hücresinin temsili görünümü (URL-1).

MS, farklı hastalık seyirlerinin görüldüğü 4 alt klinik tipe sahiptir. Hastalığın en yaygın formu olan ataklarla seyreden formunda semptomlar atak dönemlerinde artıp atak

sonrasında kısmi veya tam düzelmeler görülürken, progresif formları olan primer ve sekonder progresif MS’te ise zamanla artan ve kalıcı olan nörolojik hasarlar görülmektedir. MSS’de gerçekleşen ve objektif klinik bulgularla destekli ilk mikropsuz enflamatuvar atak ise klinik izole sendrom (KİS) olarak bilinmektedir (Dobson & Giovannoni, 2019; Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018).

Hem etiyojisi hem de patogenezi bakımından kompleks bir hastalık olan MS’in kesin bir tedavisi bulunmamaktadır (Filippi vd., 2018; Wildner vd., 2020). Kompleks gen-çevre etkileşimleri sonucunda ortaya çıktığı düşünülen MS için belirli risk faktörleri bulunmasına rağmen bu konuda yeni yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Dobson & Giovannoni, 2019; Yamout & Alroughani, 2018). Tek başına ölümcül bir hastalık olmasa da hayat süresine ve kalitesine olumsuz etkileri olan MS’in özellikle genç erişkinlerde görülmesi sosyoekonomik açıdan da topluma zarar vermektedir. Bu yüzden, yalnızca hastalara değil daha geniş kapsamlı organizasyonlara etki ettiğini göz önünde bulundurmak gerekmektedir (Filippi vd., 2018; Nabizadeh vd., 2022).

1.1.1 Multipl sklerozun tarihçesi

Yazılı kaynaklara geçmiş olan en eski MS hastası olan Schiedam’lı “Bakire Lidwina” yalnızca bu alanda ilk olması ile ünlü değildi. 30 yılı aşkın yaşadığı ıstırapların, çevresindeki insanların günahlarını yüklediği için çektiğine olan inanış onu tanınır kılmış ve azize unvanı alarak “St. Lidwina” olarak da anılmasını sağlamıştı (Başoğlu-Köseahmet, 2017; Çakmak, 2009; Murray, 2005). 19. yüzyılın başına kadar birkaç hasta ve hekimin günlüklerinde MS’i düşündürecek bulgular mevcut olsa da MS dahil birçok hastalığın anlaşılmasında kilometre taşı olacak olan o çalışma Charles Prosper Oliver d’Angers tarafından 1824 yılında yayımlanarak omurilik ile bel altı felçleri arasındaki ilişkiyi açıklığa kavuşturmuştur (Gezer, 2016; Kasımay, 2017). Nörolojik hastalıklarda sınıflandırmanın henüz çok ilkel olduğu dönemde “titremeli felç (paralysis agitans)” olarak daha genel bir tanım yapılsa da genç insanlarda daha sık görülen bu sınıflandırılmamış paraplejinin karakteristik özelliğinin felç olmadığı fikrini destekleyen parlak zihinlerden biri de Charcot olmuştur. Nörolojinin babası olarak da anılan Charcot, gerçek anlamda diğer hastalıklardan farklı olduğunu net bir şekilde “sclérose en plaque disseminée” olarak ifade edip MS’i diğer nörolojik hastalıklardan ayırdığında 19. yüzyılın ikinci yarısı geçilmişti (Mohammadi, 2021;

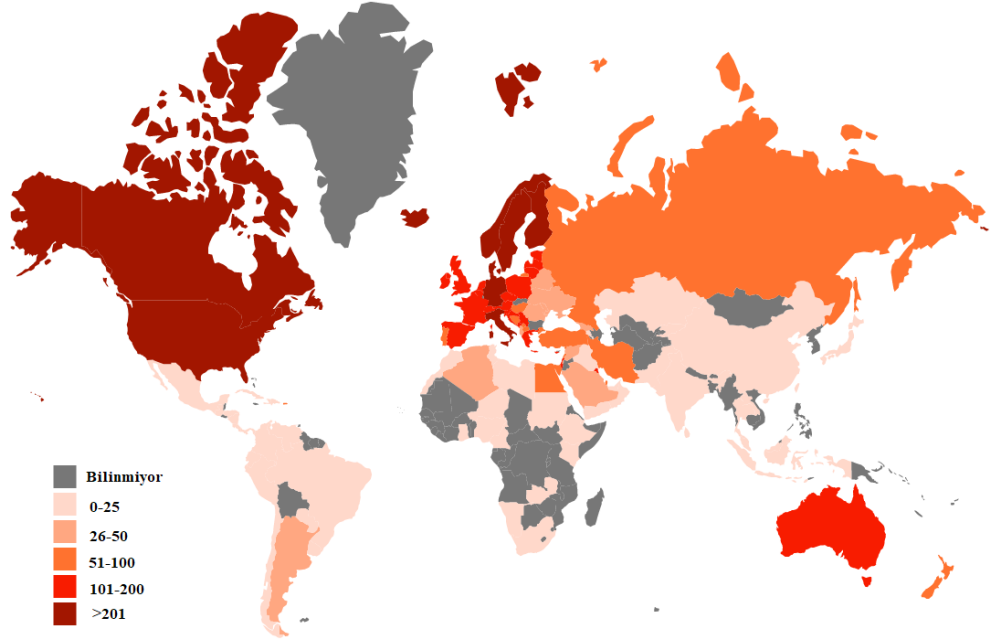
Murray, 2005). Takip eden yıllarda, 1916-1918 yılları arasında Dawson'ın MS'in patolojisi üzerine çalışmaları, hastalığın sinir sistemindeki etkilerinin daha iyi bir şekilde anlaşılmasını sağladı (Gezer, 2016; Mohammadi, 2021). Sonraki yıllarda hastalığın artık bilinir olması ile artan çalışmalar hastalığın nedenleri üzerine gidip sorunun kaynağını bulmaya çalışsa da MS'in tek bir nedenden kaynaklanmayan bir hastalık olduğu görüşü son 40 yılda daha çok kabul edilmiştir. Günümüzde dahi bilinmeyen birçok yöne sahip bu hastalık hakkında yapılan araştırmaların nitelikleri ilerleyen teknolojiyle paralel seyretmektedir (Murray, 2005).

1.1.2 Multipl sklerozun epidemiyolojisi

MS yaygın görülen bir hastalık olmamakla birlikte genç erişkinlerde travma harici engelliliğin birincil sebebidir (Hauser & Cree, 2020; Labbé vd., 2018). II. Dünya Savaşı öncesinde yapılan çalışmalarda görülme oranının her iki cinsiyette benzer olduğu görülse de, günümüzde yapılan çalışmalar açıkça kadınlarda görülme oranının erkeklerden 2-3 kat daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır (Dobson & Giovannoni, 2019). Mevcut verilere göre tüm dünyada yaklaşık olarak 2.8 milyon MS hastası vardır (MSIF, 2020). MS prevalansı ülkelere göre değişiklik göstermektedir. Avrupa kökenli soylarda daha yaygın olarak gözlemlenen MS, Asya, Afrika ve Afroamerika kökenli bireylerde daha az ortaya çıkmaktadır (Amezcuca & McCauley, 2017; Nakatsuka vd., 2020). Hastalığın en sık görüldüğü yer Almanya (303/100.000) iken 2.8 milyon hastanın 900.000'den fazlası Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunmaktadır (208/100.000) (MSIF, 2020) (Şekil 1.2).

MS prevalansı sadece ülke sınırları bazında değil, coğrafi konuma göre de değişiklik gösterebilmektedir. Özellikle, istisnai durumlar haricinde, MS prevalansı ile enlem dereceleri arasında ilişki olduğu düşünülmektedir. Simpson ve arkadaşlarının, yaş, cinsiyet, çalışma yılı ve *HLA-DRB1* alel frekanslarını da göz önünde bulundurarak yaptıkları meta-analizde Avrupa kökenli soyların yoğun olarak yaşadığı ülkelerde enlem derecelerinin daha yüksek olduğu yerlerde MS'in prevalansının daha yüksek olduğu bulunmuştur (Simpson vd., 2011). Bunun bir istisnası olarak İtalya'nın güneyinde prevalansın, kuzeye göre daha yüksek olması ise *HLA-DRB1* alel frekanslarının bu ülkedeki özgün dağılımına yorulmaktadır (Ballerini vd., 2004). Bu yüzden, bu coğrafi etmenin altında yatan sebebin ultraviyole (UV) ışınlarına

maruziyetin, D vitamini seviyesinin ve güneşlenme süresinin etkileşimlerinden kaynaklanan kompleks bir çevresel faktör olduğu da yaygın bir biçimde kabul görmektedir (Dobson & Giovannoni, 2019; Kim & Patsopoulos, 2022; Wang, 2021).



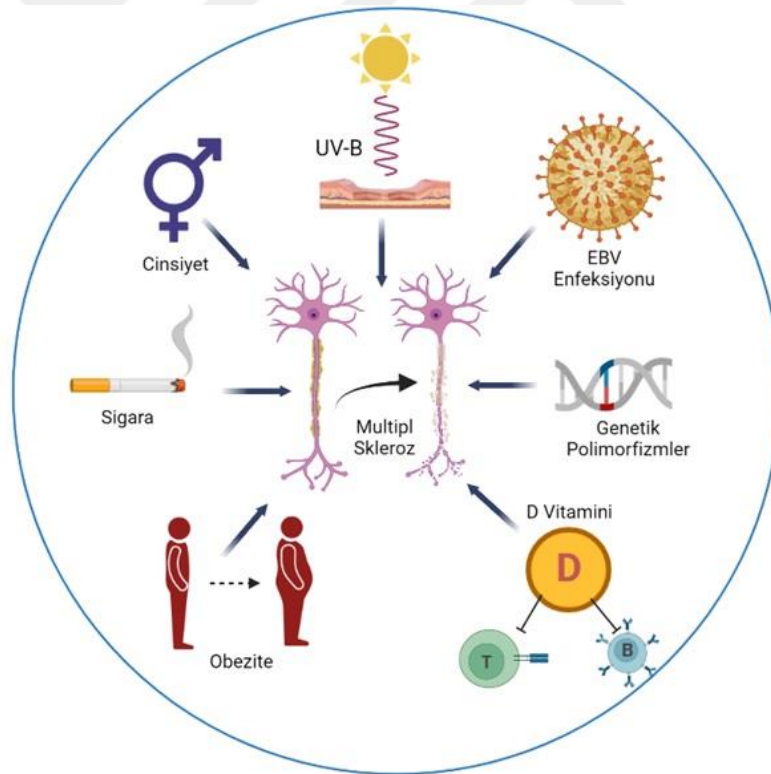
Şekil 1.2: MS Atlas'ının 3. Edisyonuna göre prevalanslara göre ülkelerin görünümü. Anahtardaki sayılar 100.000'deki görülme sıklığını göstermektedir (MSIF, 2020).

Farklı epidemiyolojik çalışmalarda prevalansı değişkenlik gösterse de 2016 yılında global çapta yapılan epidemiyoloji çalışmasında Türkiye'de MS görülme sıklığı 61.4/100.000 olarak bulunmuşken, MS Atlasının son verilerine göre bu oran 70.0/100.000'e çıkmış görülmektedir (MSIF, 2020; Wallin vd., 2019). Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasındaki geçiş bölgesinde olmasından kaynaklanan fiziki ve beşeri çeşitlilikleri nedeniyle bölgeler arasında prevalansın değiştiği bilinmektedir. Edirne bölgesinde yapılan çalışmada prevalans 33.9/100.000 olarak bulunurken, Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde 68.9/100.000 olduğu görülmüştür (Çelik vd., 2011; Türk-Börü vd., 2018). 2006'da Türk-Börü ve arkadaşlarının İstanbul'da yaptığı çalışmada ise 101.3/100.000 ile hastalığın hayli yüksek bir prevalansa sahip olduğu tespit edilmiştir (Türk-Börü vd., 2006). Orta Karadeniz'de yapılan çalışmada ise bu oran 43.2/100.000 olarak bulunmuştur (Soydar, 2020).

Coğrafi olarak Ortadoğu ile Avrupa arasında köprü olarak konumlanmış olan ülkemizin komşularının prevalanslarında farklılıklar gözlemlenmektedir. Doğu ve güney sınır komşularımızda en yüksek prevalansa sahip ülke İran olurken (90/100.000), Suriye (40/100.000) ve Irak'ta (12/100.000) MS daha nadir görülmektedir. Türkiye'nin komşuları arasında en yüksek prevalansa sahip olan ülke ise Yunanistan'dır (124/100.000) (MSIF, 2020).

1.1.3 Multipl sklerozun etyopatogenezi

Her ne kadar etiyojisi hakkında farklı dönemlerde farklı teoriler öne sürülse de günümüzde MS'in tek bir nedenden kaynaklanmayan, multifaktöriyel etiyojiiye sahip bir hastalık olduğu görüşü kabul edilmektedir. Hem genetik hem de çevresel etmenlerin MS'in ortaya çıkmasında etkili olduğu bilinmekle birlikte bu faktörlerden bazıları diğerlerine göre daha fazla ön plana çıkmaktadır (Angeloni vd., 2021; Mohammed, 2020; Murray, 2005) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3: MS'in gelişmesinde rol oynayan başlıca çevresel ve genetik risk faktörleri.

1.1.3.1 Çevresel faktörler

Genetik faktörlere nazaran daha geniş bir yelpazede ele alınabilen ve birçok ayrı önemli risk faktörünü kapsayan çevresel faktörler, hastalığın ortaya çıkmasında etmen olmakla birlikte hastalığın seyrine de etki edebilmektedir. MS'in ortaya çıkması söz konusu olduğunda, özellikle çocukluk ve gençlik döneminde maruz kalınan çevresel faktörlerin etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır (Alrouji vd., 2019; Dobson & Giovannoni, 2019; Thompson vd., 2018).

MS'in ortaya çıkmasında potansiyel tehdit olarak görülen birçok viral ve mikrobiyal ajan mevcuttur; fakat, yapılan çalışmalar Eppstein-Barr virüsünün (EBV) rolünün öneminin daha fazla olduğunu vurgulamaktadır (Dobson & Giovannoni, 2019; Mohammed, 2020). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda MS hastalarının neredeyse tamamının EBV seropozitif olması ve EBV negatif bireylerde MS oluşma riskinin çok düşük olması bu durumu destekler niteliktedir (Thompson vd., 2018). EBV'nin gençlerde yol açtığı enfeksiyöz mononükleoz geçiren bireylerde MS gelişme olasılığının önemli ölçüde artması da EBV'nin ciddi bir risk faktörü olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, tüm EBV pozitif bireylerde MS oluşmaması nedeniyle tek başına tüm etiyojolojiyi açıklamakta yetersiz kalmaktadır (Filippi vd., 2018; Mathur vd., 2021). Genelde, EBV epitoplarının miyelin bazik protein (MBP) epitoplarına olan benzerliği veya bu epitopların oluşmasında rol alan genetik diğer faktörlerle etkileşerek hastalığa neden olduğu hipotezleri öne sürülse de, şimdiye kadar bu mekanizma net olarak ortaya konulmamıştır (Läderach & Münz, 2021; Lomakin vd., 2017).

Epidemiyolojik çalışmalarda açıkça görülen enlem etkisi esasında D vitamini sentezlenmesinde önemli bir role sahip olan ultraviyole B (UV-B) ışınlarından yararlanmayla ilişkilidir (Breuer vd., 2019). Artan enlemlerde daha dar açılarda alınan UV-B ışınlarının hem kalitesi hem de yararlanım süresindeki düşüş ile özellikle ışınları daha verimsiz absorbe eden açık ten rengi ile birleştiğinde daha düşük D vitamini seviyeleri gözlemlenmektedir. Özellikle çocukluk ve gençlik çağında düşük D vitamini ilerleyen dönemde MS oluşma riski ile ilişkilidir. Yetişkin MS hastalarının sağlıklı kontrollere nazaran daha düşük D vitamini seviyelerine sahip olması da D vitaminin hastalığın farklı evrelerinde rol oynadığını göstermektedir. Özellikle MS oluşumuna olan etkisi göz önünde bulundurulduğunda, aktif formu olan 25-

hidroksivitamin D₃'ün (25-(OH) D₃) immün hücrelerin farklılaşması ve immün hücrelerin yanıtının düzenlenmesinde aktif olarak rol alması nedeniyle düşük 25-(OH) D₃ seviyesinin bir risk faktörü olduğunu desteklemektedir (Parnell & Booth, 2017; Sintzel vd., 2018; Yadav vd., 2015).

Birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olan sigara tüketiminin MS hastalığı oluşumu riskini de arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Gallucci vd., 2020; Rosso & Chitnis, 2020; Subhan vd., 2022; Yardımcı & Ecdar, 2019). 2001 yılında 100.000 kadar hemşire ile yapılan boylamsal bir çalışmada sigara kullananlarda, hiç kullanmayanlara göre 1.60 kat daha fazla MS geliştiği görülmüştür. Bu veri, daha sonra yapılan geriye dönük meta-analizlerle de desteklenmiş ve sigara içenlerde 1.51 kat daha fazla MS geliştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, diğer risk faktörlerinden farklı olarak, maruziyet yaşının önemli olmadığı ve dolayısıyla her yaşta sigara kullanımının bu riski kapsadığı da düşünüldüğünde, görece düşük risk oranlarına rağmen yaşam boyu tehdit eden bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Filippi vd., 2018; Michel, 2018). Diğer etmenlerle birlikte değerlendirildiğinde ise bu oranın daha da arttığını görülmektedir. Örneğin, genetik olarak *HLA-DRB1*15:01* risk alelini taşıyan ve koruyucu *HLA-A*02* alelini taşımayan kişilerde sigara içmemeleri durumunda MS oluşma riski 5 katken, sigara içenlerde bu riskin 14 kata kadar çıktığı gösterilmiştir (Nishanth vd., 2020). Sigara bileşenlerinin direkt olarak akciğer dokusunda yarattığı tahribatın sonucu oluşan kronik enflamasyon veya dolaylı olarak peribronşiyal lenfatik doku üzerinden sistemik bir etki nedeniyle bu riskin arttığı görüşü öne sürülmektedir (Filippi vd., 2018). Ayrıca, sigaranın bileşenlerinden olan nitrik oksit kan beyin bariyerinde (KBB) adezyonu tetiklemekte ve bu bariyerin yapısını bozarak geçirgenliğini arttırmaktadır (Alrouji vd., 2019).

Beslenme tarzı ve onun getirdiği durumlar da hem MS oluşumunda hem de progresyonunda yukarıda bahsedilen risk faktörleri kadar etkilidirler (Michel, 2018). Son yıllarda artış gösteren çocukluk çağı obezitesi sistemik bir şekilde vücudun enflamasyon düzeyini arttırdığı için MS oluşumunda bir risk faktörü olarak görülmektedir (Klenewietfeld vd., 2013). İleri yaşlarda çok etkili olmasa da 20 yaş ve öncesinde görülen obezitenin MS riskini iki kat arttırdığı görülmüştür. Ayrıca, dolaşımdaki D vitamini seviyesinin de azalmasına sebep olarak dolaylı yoldan da MS riskini arttırmaktadır. Vücut kitle indeksinden bağımsız olarak, tuz alımının da

proenflamatuvar bir sitokin olan İnterlökin-17 (IL-17) seviyelerinin yükselmesine neden olup otoimmün süreçlerin başlamasına neden olabilen reaktif T hücrelerinin seviyesini arttırdığı bilinmektedir (Calder vd., 2011). Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda da tuz yönünden zengin diyeteye tabi tutulan farelerin MS'in hayvan modeli olan deneysel otoimmün ensefalitin (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis; EAE) daha şiddetli bir formuna neden olduğu görülmüştür (Michel, 2018).

1.1.3.2 Genetik faktörler

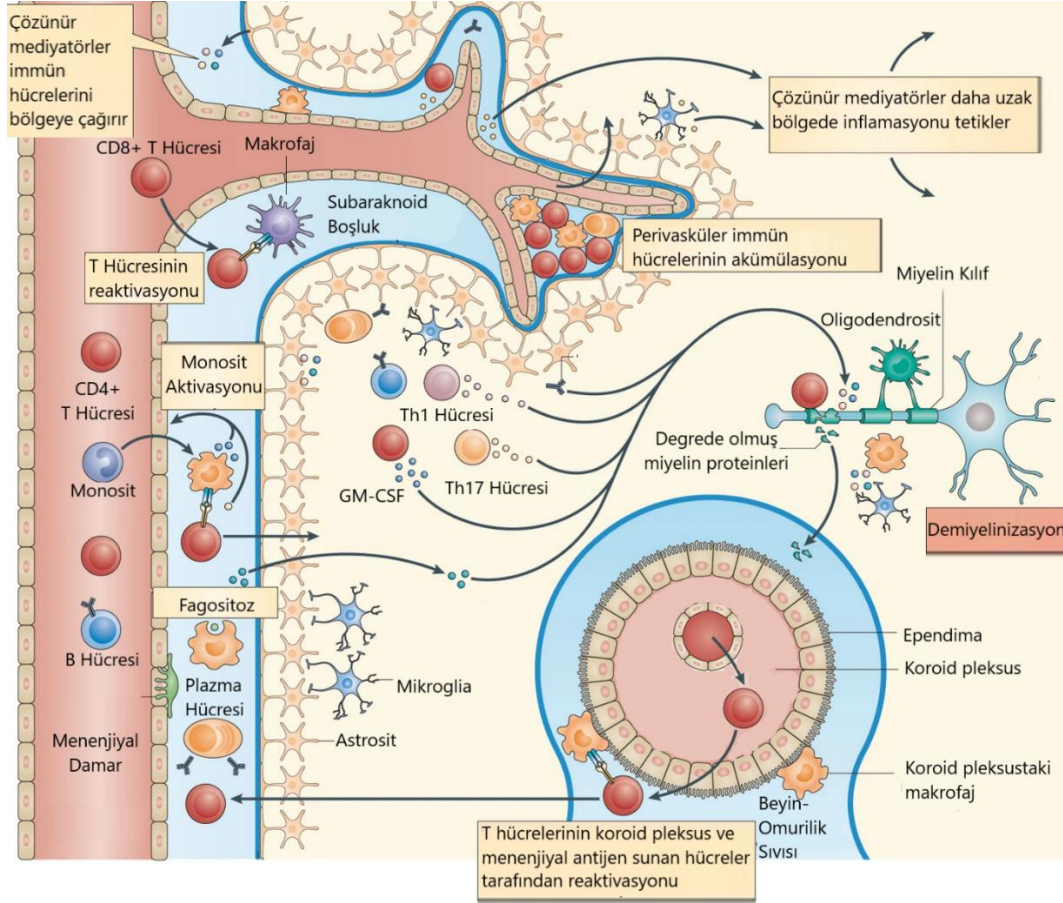
MS'in oluşmasında genetik faktörlerin önemi aşikârdır (Gourraud vd., 2011). Özellikle, kardeşlerle ve ailelerle yapılan çalışmalarda yakınlık derecesi arttıkça hastalık oluşma riskinin de artması genetik risk faktörlerinin önemini vurgulamaktadır. Kardeşlerde %3 olan MS oluşma riski, çift yumurta ikizlerinde %6 olarak görülürken bu risk oranı tek yumurta ikizlerinde %35'e kadar çıkmaktadır (Filippi vd., 2018). Otoimmün yönü göz önünde bulundurulduğunda özellikle T ve B hücrelerinin aktivasyonları ve regülasyonlarının bozulmasına yol açacak mekanizmalarla ilişkili olabilecek genler akla ilk gelen adaylar olmaktadır (Baranzini, 2011). Bunu destekler nitelikte, immün sistemi düzenleme görevi olan hücre yüzey proteinleri insan lökosit antijenlerini (Human Leukocyte Antigen-HLA) kodlayan 6. kromozomdaki *HLA* genlerindeki polimorfizmler MS için risk varyantları olarak bilinmektedirler (Filippi vd., 2018). Bu keşfi takip eden dönemlerdeyse *HLA* olmayan diğer risk varyantlarının da arayışına girilmiştir. Son yıllarda yapılan tüm genom analiz çalışmalarında *HLA* ile ilişkili olmayan birçok yeni risk faktörü bulunmuştur. Günümüzde MS ile ilişkilendirilmiş 200'den fazla genetik risk varyantı bulunmaktadır ve yapılan kapsamlı çalışmalarda bu risk varyantlarının sayısı gittikçe artmaktadır. Yakın zamanda International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC) tarafından yapılan tüm genom analizi çalışmasında MS'e yakınlığı arttırdığı tespit edilen 48 yeni varyantın %22'sinin başka otoimmün hastalıklarla da ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Beecham vd., 2013). Yine de, MS'in kompleks doğası göz önünde bulundurulduğunda bu varyantları bağımsız olarak değil, bir araya geldiklerindeki kümülatif etkiler neticesinde MS'e yakınlığı arttırdıklarını söylemek daha doğru olacaktır (Axisa & Hafler, 2016).

1.1.4 Multipl sklerozun patolojisi ve immünpatogenezi

MS'in en karakteristik patolojisi beyin, beyin sapı, optik sinir, omurilik dahil olmak üzere MSS boyunca görülebilen lezyonlardır (Loma & Heyman, 2011). Hem beyaz hem de gri maddede görülebilen ve "plak" olarak da adlandırılan bu lezyonlar demiyelinizasyonun fokal olarak gerçekleştiği yerlerdir (Filippi vd., 2018). Hastalığa adını da veren skar görünümünün MSS'de birçok yerde bulunduğu 150 yıldan fazladır bilinse de bu lezyonların zamansal ve mekânsal yayılım gösterdiği manyetik rezonans görüntüleme (MRG) sayesinde keşfedilmiştir (Reich vd., 2018). Lezyonların mekânsal yayılımı ve anatomik konumları hastalığın farklı klinik tipleri ile ilişkili olmakla birlikte hastalığın erken evrelerinde daha heterojen bir tablo mevcuttur. Ayrıca, hastalığın erken evrelerinde, özellikle klinik izole sendromlu (KİS) ve ataklarla seyreden formunda olan hastalarda, demiyelinizan beyaz madde lezyonları lenfosit, makrofaj ve zaman zaman da mikrogliya bakımından yüklü ve aktif haldedirler. Progresif klinik seyre sahip veya hastalık süresi uzun olan hastalarda ise beyaz maddede sınırları keskin bir şekilde belli olan inaktif lezyonlar daha hakim görünmektedir. Gri madde lezyonları ise özellikle kortikal bölgedeki enflamatuvar demiyelinizasyona işaret etmekte olup korteks ve beyincikte görülmektedir. Bu lezyonlar genellikle menenjlerde ve beyin omurilik sıvısında halihazırda salınmış olan proenflamatuvar mediyatörlerin yönlendirmesiyle oluştuğu için beyaz madde lezyonlarına nispetle daha az enflamasyonun, KBB yıkımının olduğu fakat daha hızlı rejenerasyonun olduğu görülmektedir. Buna rağmen, özellikle bu bölgelerde sinaps ve nöral yoğunluğun azaldığı gözlenmiştir (Filippi vd., 2018).

Tüm bu patolojiye yol açan mekanizmanın nasıl işlediğine dair birçok veri mevcut olsa da nasıl başladığına dair kuvvetli fakat kesin olmayan farklı varsayımlar bulunmaktadır. Hastalığın seyrinde nöroenflamasyonun, nörodejenerasyona sekonder olarak ortaya çıktığını öne süren görüşlerin de olmasına rağmen bugün bilinmektedir ki MS, otoimmün süreçlerin sonunda ortaya çıkan nöroenflamatuvar yanıtın görüldüğü bir hastalıktır (Yadav vd., 2015). Bu duruma yol açan otoimmün yanıtın özellikle CD4⁺ T lenfositleri aracılığı ile gerçekleştiğine dair işaretler bulunmaktadır. Bu T lenfositlerinin aktivasyonlarının nedeni miyelin epitopu ile çapraz reaksiyon verebilecek benzer bir antijeni içeren mikrobiyal ajanlar olabileceği gibi miyelin proteininin yıkılmasına neden olan bir olay sonrası kendi miyelin antijenlerinin CD4⁺

T hücrelerine sunulması da muhtemel olarak görülmektedir (Comabella & Khoury, 2012). Buna ek olarak bu durumun her zaman MS'e yol açmaması otoreaktif T lenfositlerinin aktivitesinden ziyade düzenleyici T lenfositlerinin öz toleransını kaybetmelerinin de otoimmün sürecin başlamasında etkili olduğunu göstermektedir (Comabella & Khoury, 2012; Hemmer & Selter, 2013) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4:MS'in patogenezinin temsili bir özeti (Dendrou vd., 2015).

Aktivasyonlarına müteakip, miyelin-reaktif T hücrelerinin MSS'nin immün-ayrıcıklı bir alan olmasını sağlayan KBB'nin belirli bölgelerinden içeriye doğru göç ettikleri bilinmektedir. Bu göç süreci, adezyon molekülleri, kemokinler ve matris metalloproteinazlar (MMP) ile sağlanmaktadır (Yamout & Alroughani, 2018). Özellikle, aktive olan lenfositler yüzeylerindeki $\alpha 4 \beta 1$ integrinin (Very Late Antigen-4; VLA-4) KBB'deki vasküler hücre adezyon molekülü-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule; VCAM-1) ile etkileşime girmesiyle ekstrasvazyonlarını gerçekleştirmektedir. MMP'lerin bu noktadaki rolü KBB yapısını bozarak lenfosit ve

lökosit göçünü kolaylaştırmak olsa da demiyelinizasyon ve aksonal hasara da sebep oldukları gösterilmiştir (Comabella & Khoury, 2012).

KBB'yi aşır MSS'ye giriş yapan lenfositler burada enflamatuvar bir yanıt başlatırlar (Şekil 1.4). Miyelin-reaktif CD4⁺ T hücreleri miyelin antijenini tanıdıktan sonra enflamatuvar süreci başlatmak için proenflamatuvar kemokin ve İnterferon- γ (IFN- γ) gamma başta olmak üzere proenflamatuvar sitokinlerin salınımını uyararak makrofajların, mikrogliaların ve sitotoksik CD8⁺ T hücrelerinin KBB'yi aşarak MSS'ye girmesini sağlar. Yakın dönemlerde yapılan çalışmalar ışığında CD4⁺ T hücrelerine yardımcı olarak Th17 hücrelerinin de enflamasyon sürecinde granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörü (Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor; GM-CSF) salgılanmasını sağlayarak nöroenflamasyona yol açtığı EAE modeli üzerinde yapılan çalışmalarda görülmüştür (Yadav vd., 2015). CD8⁺ T hücreleri ise patogeneizde direkt etkili olarak CD4⁺ T hücrelerinin yönlendirmesiyle miyelin antijenini majör doku uygunluk kompleksi-I (Major Histocompatibility Complex-I; MHC-I) ile ifade eden nöron ve oligodendrosit hücrelerine saldırarak hasar vermektedir (Hemmer & Selter, 2013)

B lenfositleri, MS'in immünopatogenezinde rol oynayan bir diğör önemli faktördür. Önceleri T hücre aracılı bir hastalık olduğu düşünölen MS'in ortaya çıkmasında ve progresyonundaki rolü deneysel bulgular ışığında aydınlatılmıştır. MS hastalarının beyin-omurilik sıvılarında (BOS) oligoklonal bantların bulunması ve MSS'deki lezyonlarda CD20⁺ B hücrelerinin bulunması B hücrelerinin hastalıkta doğrudan rolü olduğunu göstermektedir. Periferde otoreaktif T hücrelerine miyelin benzeri antijeni sunulduğuna dair bulgulara ilave olarak MSS'de oligodentrositleri hedef alan antikor üretimi ve IL-6 salınımı ile demiyelinizasyona katkı vermektedirler (Hemmer & Selter, 2013; Yadav vd., 2015). Antikor üreten plazma hücrelerinin klonal olarak çoğalmalarının hastalığın kronikleşmesine neden olduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur (Comabella & Khoury, 2012).

Lenfositler haricinde, monosit türevi makrofajlar ve mikroglialar da proenflamatuvar bir role evrilirler. CD4⁺ T, Th1 ve Th17 hücreleri aracılığı ile salınan IFN- γ , IL-1 β , Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α), GM-CSF gibi proenflamatuvar sitokinlerle bu yönde programlanan makrofajlar ve mikroglialar lezyon bölgelerinde demiyelinizasyonda aktif rol oynamaktadırlar (Yadav vd., 2015).

Remiyelinizasyon süreci ise, regülatör T hücrelerin (T_{reg}) ve naif B hücrelerinin devreye girip antiinflamatuvar sitokinleri salması ve sitotoksik T hücreleri olan $CD8^+$ T hücrelerin yardımıyla bu sürecin sonlandırılıp iyileşme dönemine girilmesiyle sağlanır (Loma & Heyman, 2011). Hastalığın başlangıcında ve ataklarla seyreden formlarında proenflamatuvar/anti-enflamatuvar dengenin bozulması ve/veya T_{reg} hücrelerinin toleransının zayıflamasından dolayı hafıza B hücreleri aracılığıyla aynı süreçler tekrar görülmekte ve klinik atak dönemleri yaşanmaktadır (Comi vd., 2021).

Hastalığın ilerlemesiyle birlikte periferden KBB'yi aşır MSS'de gerçekleşen bu tekrarlı süreçlerin artık iyice yerleştiği ve nöroenflamatuvar süreçlerin kronikleştiği görülür. Demiyelinizasyonu takip eden oligodendrosit hasarıyla remiyelinizasyonda yetersizlik oluşur (Chen vd., 2016; Koudriavtseva & Mainero, 2016). İnce ve tamir edilememiş yetersiz miyelin kılıfın iletim aksaklıklarından veya aksonal tahribattan dolayı enerji metabolizması bozulan nöronun immün sistemin aktivasyonlarının da etkisiyle oksidatif stresinin artması, hücre dışı demir birikimi, yetersiz nörotrofik faktörlerle birlikte ilerleyen nörodejeneratif süreçler nöral ve aksonal kaybı zamanla arttırmakta ve bu durum hastada fiziksel ve bilişsel kayıplara yol açmaktadır (Filippi vd., 2018)

1.1.5 Multipl sklerozun tanısı ve klinik tipleri

1.1.5.1 Multipl sklerozun tanısı

MSS'deki lezyonların farklı lokasyonlarda bulunabilmelerinden dolayı heterojen bir klinik tabloya sahip olan MS hastalığı için bilim ve teknikteki ilerlemelerle farklı tanı kriterleri konulmuş ve zamanla revize edilmişlerdir (Çizelge 1.1)(Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Filippi vd., 2018). MS'in tanısını koyarken MSS içindeki lezyonların ve bunlara bağlı olarak ortaya çıkan klinik tablonun hem zamansal hem de mekânsal olarak yayılımının gösterilmesi ve diğer benzer hastalıkların dışlanması metodu izlenir. Alternatif klinik tabloların çokluğuyla birlikte MS'in klinikte ve laboratuvarında ayırıcı bir biyobelirteci olmadığı göz önünde bulundurulduğunda bir dizi standardize edilmiş tanı kriterlerinin belirlenmesinin önemi ortaya çıkmaktadır (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018).

20. yüzyılın ikinci yarısından bu yana birçok farklı tanı kriteri, döneminin de imkan ve birikimleri düzeyinde, standardize edilmiştir (Başoğlu-Köseahmet, 2017). Alanında ilk olmasıyla daha sonraki tüm tanı kriterlerine de öncülük eden ve temel oluşturan tanı kriterleri 1965 yılında Schumacher ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir. Temel olarak MSS'deki tablonun zamansal ve mekânsal yayılımının klinik sonuçları üzerinde duran bu kriterler zamanla revize edilmiş olsa da zamansal yayılım, mekânsal yayılım, atak gibi terimler için yaptığı tanımlar günümüzde de korunmaktadır (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Soydar, 2020).

Laboratuvar ve nörogörüntüleme çalışmalarındaki ilerlemeler sayesinde 1983 yılında Poser tarafından belirlenmiş olan tanı kriterlerinde MRG ve BOS incelemeleri de yer almıştır. Burada kesin MS ve olası MS tanısı olmak üzere derecelendirilmiş teşhis olmakla birlikte bu iki ihtimal de klinik veya laboratuvar destekli olabilmektedir (Soydar, 2020). Uzun yıllar kullanılan bu tanı kriterleri yerini 2001 yılında McDonald tanı kriterlerine bırakmıştır. MRG'nin öneminin artırılması, progresif MS tanı kriterlerinin belirlenmesi, görsel uyarılmış potansiyellere (VEP) önem arz edilmesi, BOS bulgularının katkılarına ilave olarak IgG indeksinin de tanı destekleyici olması gibi yenilikler sayesinde ilk atakta bile MS tanısı koyma imkanı sunmuştur (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018). 2005'te revize edilen bu kriterlerde BOS ve MRG bulgularının yorumlanmasını kolaylaştıracak sadeleştirilmelere gidilirken 2010 revizyonu ile birlikte zamansal ve mekânsal yayılımın tanımları sadeleştirilerek daha az MRG ile kesin tanı sunmaya olanak sağlayacak hale getirilmiştir (Polman vd., 2011). 2016 ve 2017 yıllarında kriterlerin revizyonu için tekrar bir araya gelen kurul 2017 yılında bir dizi karar alarak günümüzde yaygın olarak kullanılan 2017 Revize McDonald Kriterleri'ni belirlemiştir. Önceki temel prensiplere ilave olarak, BOS'a özgü oligoklonal bant (OKB) bulgusu ve mekânsal yayılımın olması durumunda OKB varlığı zamansal yayılım yerine geçmiştir. Ayrıca jukstakortikal lezyonlar ile kortikal lezyonlar eş olarak değerlendirilmiştir. Kontrast tutan lezyonlar için zamansal; spinal ve infratentorial lezyonlar içinse mekânsal yayılım kriterlerinde semptomatik ve asemptomatik ayrımı da kaldırılmıştır (Çizelge 1.1) (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Yamout & Alroughani, 2018).

Çizelge 1.1: MS tanısı için 2017 Revize McDonald kriterleri.

Atak Sayısı	Lezyon Sayısı ^a	Tanı için Gerekli İlave Veri
1'den fazla	2 veya daha fazla	Yok ^b
1'den fazla	1 ve öyküde 1 atak ^{a,c}	Yok ^b
1'den fazla	1 lezyon	MSS'de farklı bir lezyona ilişkin yeni atak veya MRG'de mekânda yayılım görülmesi ^d
1 atak	2 veya daha fazla	1 klinik atak veya MRG ^e ile zamanda yayılımın gösterilmesi veya BOS'a özgü OKB ^f bulgusu.
1 atak	1 lezyon	MSS'de farklı bir lezyona ilişkin yeni atak veya MRG'de mekânda yayılım görülmesi ^d ve ek bir atak veya MRG'de zamanda yayılımın görülmesi ^e veya BOS'a özgü OKB ^f bulgusu.
Sinsi İlerleme	0 ^g	İnfratentoryal, kortikal/jukstakortikal, periventriküler (MS Tipik) alanlarda en az bir lezyon veya omurilikte iki veya daha fazla lezyon veya BOS'a özgü OKB bulgusu şartlarından en az ikisi.

^a: Lezyon sayısı, yansız klinik bulgulara dayanmalıdır. ^b: MRG zamanda ve mekanda yayılım için yeterlidir fakat tüm hastalara uygulanmalıdır. Eğer klinik ve MRG bulguları tanıyı desteklemekte yeterli gelmezse ve hasta tipik özellikler dışındaysa ek olarak omurilik MRG'si ve BOS incelemesi yapılmalıdır. Bu testler negatif sonuçlandıysa ya da imkan yetersizliğinden yapılamazsa kesin MS tanısı koymadan önce alternatif tanıların d olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. ^c: Atak söz konusu olduğunda en güvenilir tanı, yansız nörolojik bulgulara dayanarak konulandır. Eğer bu şekilde bir nörolojik bulgu kayda geçirilmemişse, hasta öyküsündeki bulgunun klinik gelişme karakteristikleri ve semptomları tipik bir enflamatuvar demiyelinizan olaya ait olmalıdır. Yansız klinik bulgular yoksa dikkatli olmak gerekmektedir. ^d: MRG'de mekanda yayılım, MS tipik 4 alanın (infratentoryal, kortikal/jukstakortikal, periventriküler) en az ikisinde bir veya daha fazla lezyon bulunması anlamına gelir. ^e: Herhangi bir zamanda uygulanan MR ile görüntülenen lezyonların kontrast tutan ve tutmayanların aynı anda bulunması veya çekildiği zamandan bağımsız olarak takip MRG'si referans alındığında yeni bir kontrast tutan lezyonun veya T2 hiperintens lezyon varlığı MRG'de zamanda yayılım anlamına gelmektedir. ^f: BOS'a özgü OKB bulgusu zamanda yayılım göstergesi olmamakla birlikte tanı kriterlerinde zamanda yayılıma ikamedir. ^g: Lezyon bulunmasa bile ileriye veya geriye dönük öyküde ataktan bağımsız bir ilerleme görülmesi gerekmektedir.

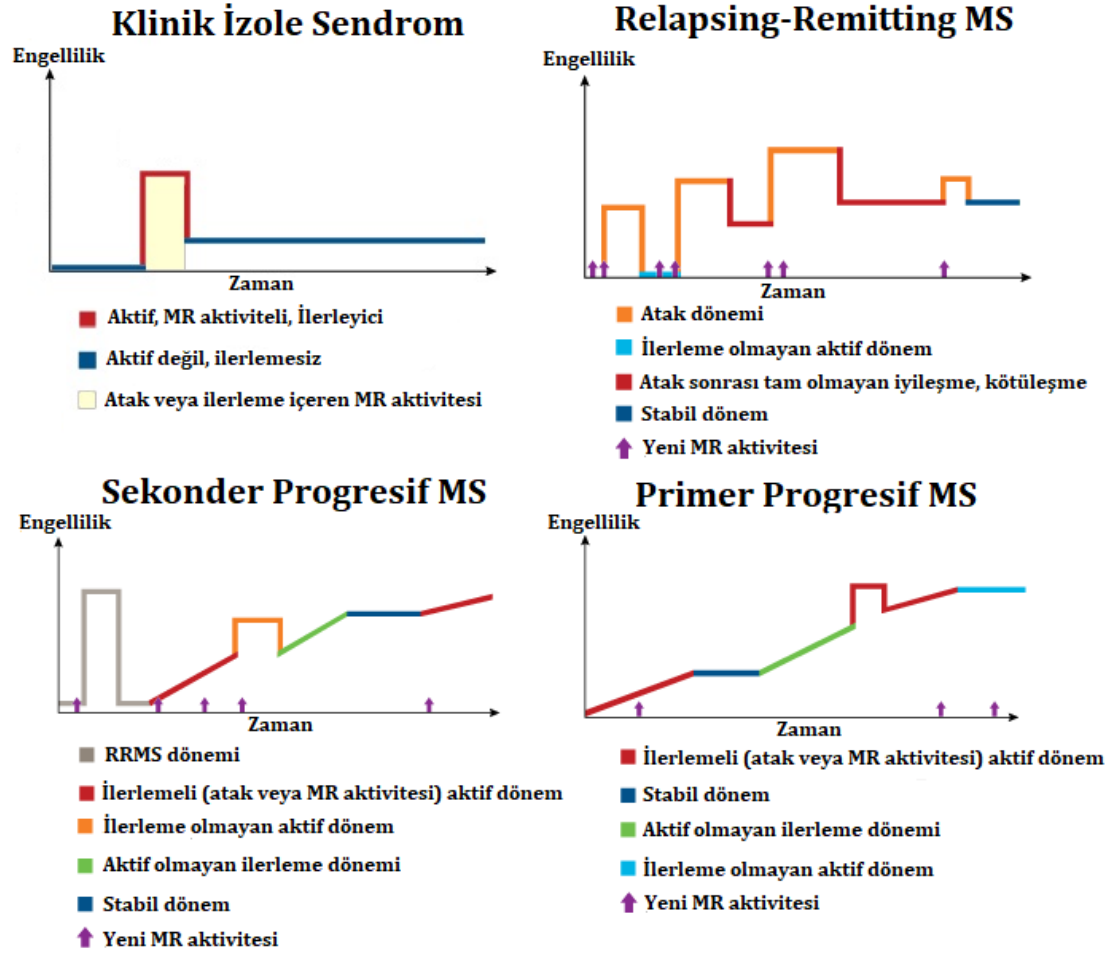
1.1.5.2 Multipl sklerozun semptomları ve klinik tipleri

Klinik olarak heterojen bir tablo sergileyen MS'in semptomları, lezyonların tutulum gösterdiği anatomik bölgeler ile ilişkili olup görsel, duyuşsal, motor, beyin sapı ve omurilikteki yolakları etkileyip birçok farklı şekilde ortaya çıkabilirler. Yorgunluk, spastisite, tremor, boşaltım sistemi sorunları, ağrı ve yanma hissi, uyuşma, görme bozuklukları, cinsel işlev bozuklukları ve bilişsel bozukluklar en sık görülen semptomlardır (Yamout & Alroughani, 2018; Yiğit, 2018).

MS, hastalığın seyrinde görülen farklılıkları tanımlamak için alt klinik tiplerine sınıflandırılmıştır (Şekil 1.5). MSS'de görülen ve atak öyküsünü içeren ilk enflamatuvar demiyelinizan olayın objektif klinik bulgularla desteklendiği nörolojik tablo KİS olarak adlandırılır (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018). Optik nörit, beyin sapı sendromları ve transversal miyelit en sık görünen klinik bulgulardır. KİS'li hastaların kesin MS tanısı alması ise değişkenlik gösterebilmektedir. Çekya'da yapılan bir çalışmada 2 yıl boyunca takip edilen 64 KİS hastasının 2 yıl sonunda %70.7'sinin kesin MS tanısı aldığı görülmüştür (Kolçava vd., 2020). Aynı süre içinde Doğu Hindistan'da yapılan benzer bir çalışmada ise bu oran yalnızca %37.8'dir (Banerjee vd., 2019). Ülkemizde yakın dönemde yapılan benzer bir çalışmadaysa 24 aya kadar takip edilen 41 KİS'li hastanın %85.4'ünün bu süre içinde kesin MS tanısı aldığı görülmüştür (Piri-Cinar & Ozakbas, 2018).

Kesin MS tanısını alan hastaların birçoğu, hastalığın en yaygın (%85) klinik tipi olan Relapsing-remitting MS (RRMS) fenotipini göstermektedir. Buradaki relapsing, hastalık seyrindeki "atak" terimine tekabül etmekte olup, akut enfeksiyon ve ateş haricinde MSS'de akut demiyelinizan enflamasyon sonucu önceki hastalık bulgularının arttığı veya yeni bulguların ortaya çıktığı en az 24 saat süren kötüleşme durumu anlamına gelmektedir (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Yamout & Alroughani, 2018; Yiğit, 2018). Tedavi edilmedikleri durumda sekeller bırakan bu atak dönemleri sonucu remisyon denilen tam ya da tama yakın iyileşmelerin gerçekleştiği döneme girilir. Atak dönemlerinde ekstremitelerde güçsüzlük ve/veya ataksi, Lhermitte etkisi, mesane bozukluğu, diplopi, bilişsel bozukluk gibi semptomlar görülebilir. Ataklarla ve kısmi iyileşmelerle geçen bu dönemde kümülatif bir engellilik

durumu hastalarda gözlenebilir (Öztürk, 2014). İlerleyen dönemlerde hastalık ataklı formdan progresif bir forma evrilmektedir.



Şekil 1.5 Klinik MS tipleri ve zaman içerisindeki aktivitelerinin engelliliğe olan etkilerinin temsili görünümü (URL-2).

İkincil progresif MS (Secondary Progressive MS, SPMS), RRMS fazından sonra bazı hastalarda ortaya çıkabilen, akut atakların sık görülmediği fakat fiziksel engellilik ile nörodejenerasyonun ataktan bağımsız bir şekilde arttığı ve iyileşme dönemlerinin olmadığı klinik tiptir. RRMS hastalarının %25-40'ı hastalığın başlangıcından sonraki 15 yıl içinde bu faza geçmektedir (Filippi vd., 2018).

MS'in bir diğer formu olan primer progresif MS (Primary Progressive MS, PPMS) hastalarında ise başlangıçtan itibaren ataktan bağımsız olarak hastalığın devamlı ilerlediği ve nörolojik engelliliğin arttığı görülür (Thompson vd., 2018). Genellikle daha ileri yaşta teşhis alan hastalarda görülen bu formun görülme oranı %10-15

arasında değişmektedir (Loma & Heyman, 2011). PPMS, hastalığın progresyonuna veya aktifliğine göre dönemsel olarak da değişebilen şu dört farklı formda olabilir:

- Aktif, progresif
- Aktif olmayan, progresif
- Aktif olmayan, progresif olmayan
- Aktif, progresif olmayan

Burada aktiflik, akut atak veya MRG’de görüntülenen bir aktiviteye karşılık gelirken; progresyon, hastada klinik olarak görülen ilerlemeye karşılık gelmektedir (Lublin vd., 2014).

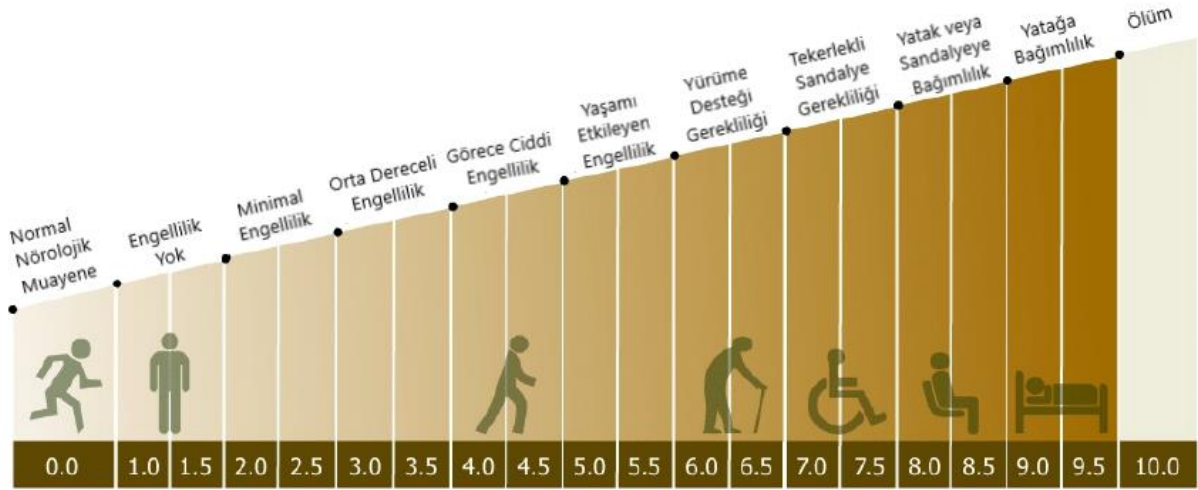
Bazı vakalarda, hastanın MRG sonuçlarında MS’i düşündürülen verilerin olmasına karşın hastalarda herhangi bir semptom olmadığı gözlemlenebilir. Bu hastalar radyolojik izole sendrom (RİS) olarak sınıflandırılır; fakat, objektif gerekli klinik bulgular elde edilene kadar MS teşhisi almamaktadırlar (Soydar, 2020). Bunlara ilave olarak, 15 yıllık süreçte EDSS’si 3’ü geçmeyen ve atakları sekel bırakmayan hastalara geriye dönük olarak “benign MS” tanısı koyulabilmektedir (Amato vd., 2019).

1.1.6 Multipl sklerozda fiziksel engelliliğin değerlendirilmesi

Klinik tipinden bağımsız olarak MS hastalarında farklı seviyelerde görülebilen bu özürlülük durumunun seviyesini belirtmek için klinikte kullanılan ölçek, genişletilmiş engellilik durum ölçeğidir (Expanded Disability Status Scale, EDSS). İlk olarak 1954 yılında Kurtzke tarafından oluşturulan engellilik durum ölçeği (Disability Status Scale, DSS), MS hastalarının izoniazid tedavisine yanıtının değerlendirilmesinde fiziksel engelliliğin derecesini tayin etmek amacıyla kullanılmıştır (Kurtzke & Berlin, 1954). Daha sonra Kurtzke, DSS’nin MS hastaları için bir engellilik skalası olabileceğini öne sürmüştü ve bu değerlendirmede kullanılacak olan 8 fonksiyonel grubu tanımlamıştır (Kurtzke, 1970). İlerleyen dönemde “fonksiyonel grup” terimi yerine “fonksiyonel sistem” terimi kullanılmaya başlanmış ve son halini 1983 yılında alarak EDSS olarak yayınlanmıştır (Kurtzke, 1983; Piri-Çınar & Güven-Yorgun, 2018).

MS hastaları için hazırlanmış olan EDSS, klinikte hastanın takibi ve durumunun değerlendirilmesi için düzenli olarak kullanılmaktadır. Bu değerlendirmede piramidal, serebellar, beyin sapı, görsel, duyuşal, serebral, bağırsak ve mesane fonksiyonları,

diğer fonksiyonlar ile ambulasyon durumu dikkate alınmaktadır. Bu skalada 0-10 arasında değişen özürölülük dereceleri değerleri 0.5 aralıklarla artmakta olup EDSS=0 özürölülüğün olmadığı duruma karşılık gelirken, EDSS=10, MS'e bağlı nedenlerden ölüm anlamına gelmektedir (Kurtzke, 1983) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6: EDSS skorlarının engellilik durumlarına göre derecelendirilmesi (Buzzard vd., 2012)

Kullanılmaya başlandığı 1983 yılından bu yana majör bir değişiklik geçirmeyen EDSS, birçok farklı zamanda ve dünyanın dört bir tarafında farklı kliniklerde kullanılmasına rağmen tutarlı sonuçlar vermektedir. 1991 ve 2001 yılında iki farklı kohort ile yapılan çalışmada gruplardaki EDSS dağılımının benzemesi de tutarlılığının bir göstergesidir (Piri-Çınar & Güven-Yorgun, 2018). Buna rağmen MS hastalarının durumlarını değerlendirmede yetersiz kaldığı yönler de bulunmaktadır. Özellikle üst ekstremitenin ve bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesinde eksik kalması en bilinen dezavantajı olarak öne çıkmaktadır (Öztürk, 2014; Yiğit, 2018). Ayrıca, dereceli bir skala olmasına karşın 1 birimlik artış her seviyede aynı anlama gelmemekte ve bu derecelerde geçirilen hastalık süreleri arasında farklılıklar görülmektedir. Yine de bu dezavantajlarına rağmen EDSS klinikte önemini muhafaza etmektedir (Piri-Çınar & Güven-Yorgun, 2018).

1.1.7 Multipl sklerozda bilişsel bozukluklar

Biliş, bilgi işleme, algısal-motor işlev, dil, öğrenme, bellek, karmaşık dikkat ve sosyal biliş gibi birbiriyle ilişkili ve birbirine bağlı birkaç bilişsel alan dahil olmak üzere

beyindeki bilgilerin işlenmesinde yer alan çeşitli nöral yolların işlevini temsil etmektedir (Islas & Ciampi, 2019). MS hastalarının bilişsel durumlarına dair değerlendirmeler tarih boyunca farklılık göstermektedir. Jean Charcot'nun MS üzerine ikinci dersine ait 1877 yılında yazdığı notlarında “hafızanın mecalsiz kaldığı, düşüncelerin oluşmasının daha yavaş gerçekleştiği” vurgulanmaktadır (Benedict vd., 2017). 1920'lerin başına kadar birçok nörolog duygudurumunda yaşanan öfori, depresyon gibi bozuklukları ve bilişsel bozuklukları hastalığın organik bir parçası olarak görmekteydi. Takip eden yıllarda ise bu görüş yerini, bilişsel bozuklukların ancak ileri düzey fiziksel engelliliği olan hastalarda görüldüğü savına bırakmıştı. Öyle ki, bilişsel bozuklukların incelenmesi için uluslararası MS kongrelerinde görüş bildirenlere 1970'li yıllarda bile tepki gösterilmekteydi. Bu durum, bilişsel çalışmaların ve psikometrik yöntemlerin henüz çok yaygın bir şekilde kullanılmamasından kaynaklanıyordu (Murray, 2005). MRG tekniklerindeki ilerlemeler ve psikometrik yöntemlerdeki gelişmeler sayesinde son 30 yıldır MS hastalarının bilişsel fonksiyonlarının etkilendiği ve bunun fizyolojik temellerinin olduğu bugün yaygın ve geçerli olan yaklaşımdır (Sumowski vd., 2018).

Bilişsel bozukluğun MS hastalarında prevalansı %40-70 arasında olup bu oranlar alt klinik tiplerde değişebilmektedir (Amato vd., 2019). MS'in progresif fenotiplerinde bilişsel bozukluk, RRMS'e göre daha yaygın olmakla birlikte KİS hastalarında nadiren görülmektedir. Bu oranlardaki değişikliklerin bir nedeni de MS hastaları için üzerinde görüş birliğine varılmış bir bilişsel test olmadığı için farklı psikometrik bataryaların kullanılması olabilir. Bu bölümde yalnızca bu tez kapsamında da kullanılmış olan Brief International Cognitive Assessment of MS (BICAMS) bataryasının kullanıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlara değinilecektir. Çek popülasyonunda yapılan bir çalışmada MS hastalarında bilişsel bozukluk görülme oranı %55 olarak bulunmuştur. Bu oran, Macar popülasyonunda %57.1, Brezilya popülasyonunda ise %70'tir (de Caneda & de Vecino, 2016; Sandi vd., 2017). Yunanistan'da yapılan validasyon çalışmasında MS hastalarında bilişsel bozukluğun görülme oranı %47 olarak belirlenmiştir (Polychroniadou vd., 2016). Ülkemizde Özakbaş ve arkadaşları tarafından yapılan validasyon çalışmasında tüm MS hastalarında bilişsel bozukluğun görülme oranı %45.1 olup bu oran progresif hastalarda %66.7'ye çıkarken RRMS hastalarında %42.4'tür (Ozakbas vd., 2017). Her ne kadar bu sonuçlar aynı bilişsel

bataryadan çıkmış olsa da BICAMS için şu ana kadar belirlenmiş normatif değerler bulunmadığını ve üzerinde uzlaşmış bir kesme değeri olmadığını da göz önünde bulundurmak gerekmektedir.

Nöropatolojik açıdan değerlendirildiğinde bilişsel yolakların karmaşık yapısından, bilişsel rezervler ve ödünleyici mekanizmaların hastalar arasında farklılık göstermesinden dolayı bilişsel fonksiyonlardaki bozukluklar ve MRG sonuçları arasında güçlü bir korelasyon bulunmamaktadır (Lisak vd., 2021). Bu yüzden, bilişsel fonksiyonlardaki bozuklukların ne tam olarak subkortikal ne de kortikal hasarlardan kaynaklı olarak ortaya çıktığını söylemek mümkün değildir (Calabrese vd., 2011). Yine de bazı göze çarpan patolojik özellikler mevcuttur. Beyaz madde lezyonlarının bilişsel bozuklukla ilişkisi göz önüne alındığında, total lezyon yükünden ziyade bilişsel yolaklarda görülen normal görünümlü beyaz madde (Normal Appearing White Matter; NAWM) hasarlarının bilişsel disfonksiyonlar ile ilişkili olabileceği görülmektedir. Bilişsel bozukluklarda daha çok ilgi gören neokortikal ve subkortikal hasarlar incelendiğinde kortikal kalınlıktaki azalmanın bilişsel bozukluk görülen hastalarda daha fazla olduğu görülmüştür (Calabrese vd., 2011). Anatomik olarak merkezi bir konumda bulunup birçok düzenleyici ve entegre edici bilişsel işlevin gerçekleştiği nükleuslardan oluşan talamusta görülen atrofi ve lezyonlar da MS hastalığının bir parçası olup bilgi işleme hızı, hafıza ve dikkat gibi bilişsel süreçlerdeki bozukluklar ile ilişkilidir (Amin & Ontaneda, 2021).

MSS'deki beyaz madde, gri madde ve kortikal lezyonların yoğunluğu ve yerine göre değişkenlik göstermekle birlikte MS hastalarında en çok etkilenen işlevler bilgi işleme hızı ve epizodik hafıza olarak öne çıkmaktadır (Benedict vd., 2017). Bunlara ilave olarak yürütücü işlev, görsel mekânsal işlevler, dikkat, dil ve sosyal biliş de diğer zarar gören bilişsel işlevlerdir (Amin & Ontaneda, 2021). Bu bilişsel işlevler farklı nörobilişsel etki alanlarının alt parçaları olmakla birlikte bilişin karmaşık doğasından dolayı birbirlerinden ayrı olarak değerlendirilmemektedirler.

1.1.7.1 Bilgi işleme hızı & çalışan bellek

Bilgi işleme hızı, seçici dikkat, sürekli dikkat, bölünmüş dikkatle birlikte birçok uyarandan ilgili olanları seçip ilgisizleri göz ardı etme becerisi olarak tanımlanan kompleks dikkatin dört bileşeninden biridir ve çalışan bellek modeli ile ilişkilidir.

Çalışan bellek ise, sözel veya görsel bilginin kısa süreli tutulduğu ve manipüle edildiği aktif bir hafıza modelidir. Zihinsel veya duyumsal uyarıların dikkat süreçleri ile getirildiği yürütücü işlevler (executive functions) bilgileri fonolojik döngü ile sözel, görsel-mekânsal yazı tahtası ile uzamsal, epizodik tampon aracılığı ile de kronolojik olarak tutup aktif olarak bu alt birimleri yönetmekte ve bilgiyi işlemek için diğer bilişsel birimler ile etkileşmektedir (Radvansky & Ashcraft, 2014). Bu uyarıların işlenmesi ve gerekli dikkat işlevlerinin yönlendirilmesinin süresi ise bilgi işleme hızıyla ilişkilidir (Islas & Ciampi, 2019). MS hastalarında genellikle bilgi işleme hızının düştüğü ve çalışan bellek işlevlerinin bozulduğu görülmektedir (Yiğit, 2018). Yürütücü işlevler karar alma, planlama, inhibisyon, esneklik gibi temel birçok fonksiyona sahip olup MS hastalarının %25'inde bu işlevlerin bozulduğu bildirilmektedir. Bilgi işleme hızı ise MS hastalarında bozukluğu en çok göze çarpan fonksiyon olup %15-50 oranında bu bozukluk görülmektedir (Islas & Ciampi, 2019). Bu açıdan mühim olan bilgi işleme hızını değerlendirmek için kullanılan en hassas ve etkili test Sembol Sayısal Modaliteler Testi (Symbol Digit Modalities Test; SDMT) olarak kabul edilmektedir (Sumowski vd., 2018).

1.1.7.2 Bellek işlevleri

Bellek, bilgilerin kodlanması, tutulması ve geri çağırılması yeteneğidir. Atkinson & Shiffrin'in standart bellek modelinde kısa ve uzun süreli olmak üzere bilginin tutulma süresine göre ikiye ayrılmaktadır. Tulving, uzun süreli belleği bilincin herhangi bir müdahalesi olmadan düşünce ve davranışı etkileyen örtük bellek ve bilinçli bir şekilde çağrılan bilgiyi ifade eden açık bellek olmak üzere iki kısımda incelemiştir. Açık belleğin iki bileşeninden biri olan epizodik hafıza kişisel deneyimlerin tutulduğu kısımdır ve bilgi bu kısımda sözel, görsel gibi birçok farklı formda tutulabilir (Radvansky & Ashcraft, 2014). MS hastalarının yaygın olarak bellek ile ilişkili fonksiyonlarda zorluk çektikleri bilinmekle birlikte, en çok zarar gören kısım epizodik hafıza olarak ön plana çıkmaktadır (Amin & Ontaneda, 2021; Islas & Ciampi, 2019). Bazı çalışmalar, bilginin geri çağırılma aşamasında yaşanan problemleri sorunun kaynağı olarak gösterirken, bu durumun öğrenme aşamasında yaşanan bozukluklardan ortaya çıktığını da öne süren çalışmalar bulunmaktadır (Benedict vd., 2017; Oreja-Guevara vd., 2019). Özellikle yürütücü işlevler, dikkat ve bilgi işleme hızındaki olumsuzluklar da öğrenmeyi bozucu etkilere neden olabilmektedir (Oreja-Guevara

vd., 2019). Epizodik bellekteki bu aksaklıkları telafi etmede, öğrenme süresi ve tekrarın artması ile birlikte sağlıklı bir bireyin seviyesine gelebildiği gösterilmiştir (Benedict vd., 2017). Bu bilişsel bölgenin değerlendirilmesi için kullanılan testler olarak Seçici Hatırlama Testi (Selective Reminding Test; SRT) ve California Verbal Learning Test-II (CVLT-II) ön plana çıkmaktadır.

1.1.7.3 Görsel algılama işlevleri

Görsel algılama beynin görsel olarak gelen uyarıları alma, yorumlama ve yanıt verme becerilerinin toplamıdır. Bu işlev görsel ayırım, görsel hafıza, görsel-mekânsal bellek, görsel form tutarlılığı gibi farklı bilişsel beceri ve kapasitelerin bir arada çalışması ile yürütülür. Kortekste iyi bilinen özelleşmelerden biri olan görsel algı, görsel uyarının talamustaki lateral genikulat nükleusta değerlendirilip birincil görme alanına geldikten sonra (V1) iki farklı yolakta ilerleyerek tanımlamayı ve konumlandırmayı sağlar. Ventral akışta uyarı, V1-V2-V4-Inferiyotemporal korteks yolunu izler ve obje, form tanıma işlemleri bu akışta gerçekleşir. Bu akışa “ne yolağı” da denir. Dorsal akışta ise V1-V2-V6-V5 üzerinden posterior parietal kortekse ulaşır. Bu yol “nerede-nasıl yolağı” olarak adlandırılıp uyarının nerede olduğunu ve nasıl hareket ettiğini işlemektedir (Radvansky & Ashcraft, 2014). MS hastalarında optik nörite bağlı görme kaybı yaygın olmakla birlikte görsel algılama işlevlerinin, optik nöritten bağımsız olarak %25 oranında azaldığı görülmektedir (Oreja-Guevara vd., 2019). Özellikle yüz tanıma ve görsel-mekânsal bellek işlevlerinde bozulmalar görülen MS hastalarının bu durumu dorsal ve ventral akış bölgelerindeki demiyelinizasyondan kaynaklanıyor olabileceği gibi yönetici işlevlerdeki aksaklıklar ve dikkate bağlı organizasyon becerilerindeki bozulmalar da bu durumun ortaya çıkmasında etkindir (Benedict vd., 2017; Oreja-Guevara vd., 2019; Yiğit, 2018). MS hastalarının görsel mekânsal algılarını değerlendirmek için farklı testler uygulansa da günümüzde en yaygın uygulama olarak Revize Kısa Görsel-Mekânsal Bellek Testi (Brief Visuospatial Memory Test-Revised; BVM-T-R) kullanılmaktadır.

1.1.8 Bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesi

Bilişsel bozukluğun ve bilişsel performanstaki azalmanın hastalığın progresyonunun, tedavi yanıtının ve agresifliğinin bir göstergesi olduğu göz önünde bulundurulduğunda kliniğin bir parçası olması gerektiği kabul edilmektedir (Efendi & Yandım-Kuşçu,

2018; Islas & Ciampi, 2019). Bununla birlikte, ülkemizde ve dünyada birçok yerde kliniklerdeki istihdam ve imkânların yetersizliğinden dolayı MS hastalarının nöropsikolojik değerlendirmeleri birinci planda bulunmamaktadır (Islas & Ciampi, 2019). Ayrıca, MS’te birçok bilişsel işlevin yaygın olarak etkilenmesi ve bunların hepsini bir arada ölçebilecek tek bir test olmayacağı için tek bir test yerine test bataryaları kullanılarak hastaların bilişsel durumlarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Bütün bu durumlar birlikte değerlendirildiğinde MS hastalarının bilişsel durumlarının değerlendirilmesi için kısa, spesifik, seçici, güvenilir test bataryalarına ihtiyaç olduğu görülmektedir (Benedict vd., 2017). Günümüze kadar bu amaçla kullanılan bazı test bataryaları aşağıdaki gibidir:

1.1.8.1 Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRB-N)

1991 yılında Rao ve ekibinin MS’li hastaların bilişsel profillerini çıkarmak için yaptıkları kapsamlı çalışmadan ilham alınarak ABD’deki Ulusal MS Derneği’nin Bilişsel İşlevler Çalışma Grubu tarafından oluşturulmuştur (Benedict vd., 2002; Oreja-Guevara vd., 2019). Yaygın kullanımı olan bu bataryanın yüksek spesifikliği (%94) olsa da hassasiyeti %71 seviyesindedir. Bu batarya ile MS hastalarının epizodik hafızaları, kompleks dikkati ve yönetici işlevleri yaklaşık 45 dakikada değerlendirilmektedir. Sözel bellek değerlendirilmesi için SRT, görsel-mekânsal bellek için 10/36 Uzamsal Hatırlama Testi (Spatial Recall Test; SPART), bilgi işleme hızı için SDMT, yine bilgi işleme hızı ve çalışan bellek işlevleri için Tempolu İşitsel Ardışık Toplama Testi (Paced Auditory Serial Addition Test; PASAT) ve sözel akıcılık değerlendirmesi için Sözel Akıcılık Testi (Word List Generation; WLG) testi uygulanmaktadır (Cinar vd., 2017; Oreja-Guevara vd., 2019; Sumowski vd., 2018).

1.1.8.2 Minimal Assessment of Cognitive Function in MS (MACFIMS)

Benedict ve arkadaşları tarafından BRB-N bataryasının kapsamının genişletilmesiyle 2001 yılında oluşturulan bu bataryanın uygulanma süresi 90 dk’dır. Bataryanın tanıtılması sonrası birçok ülkede validasyonu gerçekleştirilmiş ve yaygın olarak araştırmalarda kullanılmış olsa da klinik açıdan pratik görülmemiştir (Benedict vd., 2017; Oreja-Guevara vd., 2019). Bu bataryada WLG’nin yerine Kontrollü Sözel Kelime Çağrışım Testi (Controlled Oral Word Association Test; COWAT) ile sözel akıcılık değerlendirilmiş ve görsel mekânsal bilgi işleme için Çizgi Oryantasyonu

Yargısı (Judgement of Line Orientation; JOLO) testi kullanılırken görsel mekânsal bellek için BVMT-R testi bataryaya dahil edilmiştir. Bilgi işleme hızı ve bellek işlevleri için PASAT'ın üçüncü sürümünün yanı sıra SDMT testi de bataryada bulunmaktadır. Bunlara ilave olarak yönetici işlevlerin değerlendirilmesi de Delis Kaplan Yönetici İşlev Sistemi (Delis-Kaplan Executive Function System; D-KEFS) ile gerçekleştirilmektedir. Sözel bellek değerlendirilmesi için ise BRB-N'de bulunan SRT yerine CVLT-II testi bu bataryaya dahil edilmiştir (Sumowski vd., 2018; Yiğit, 2018).

1.1.8.3 Brief International Cognitive Assessment of MS (BICAMS)

Klinik olarak MS hastalarının bilişsel durumunu takip etme amacıyla kısa ve uygulanabilir bir test bataryasının ihtiyacının belirginleşmesiyle birlikte bu konuda uzmanların bulunduğu BICAMS komitesince oluşturulan bu bataryada MS hastalarının en çok etkilenen bilişsel işlevleri göz önünde bulundurulmuştur (Langdon vd., 2012). SDMT, CVLT-II'nin öğrenme aşaması ve BVMT-R'dan oluşan bu batarya ile bilgi işleme hızı, sözel bellek, görsel mekânsal bellek ve bunlarla ilişkili çalışan bellek işlevleri, görsel tarama gibi bilişsel işlevler 15 dk. içerisinde değerlendirilebilmektedir (Benedict vd., 2017; Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Sumowski vd., 2018). Yüksek hassasiyetinin (%94) yanı sıra güvenilir derecedeki spesifikliği (%84) ile kısa ve klinik açıdan pratik olması sayesinde yaygın kullanıma müsait olan bu batarya, ülkemiz de dahil olmak üzere birçok yerde valide edilmiş ve kullanılmaktadır (Cinar vd., 2017). Özakbaş ve arkadaşları tarafından yapılan validasyon çalışması ile Türkçe olarak da uygulanabilen bu batarya, tez kapsamı çalışmasında katılımcıların bilişsel değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Ozakbas vd., 2017).

1.1.9 Multipl sklerozda tedavi

MS'in kesin bir tedavisi mevcut değildir. Buna karşın, hastalık seyrini olumlu yönde değiştirebilecek hastalık modifiye edici tedaviler (Disease-Modifying Therapies, DMT), akut atak tedavileri ve semptomatik tedavilerden faydalanılarak hastanın hayat kalitesi artırılabilir. Bu tedaviler birinci, ikinci ve üçüncü basamak tedavileri olarak sınıflandırılabilir gibi, kullanım ve etkileri göz önünde bulundurularak immünomodülatör enjektabl tedaviler, oral immünomodülatör tedaviler, oral immün

baskılayıcı tedaviler, intravenöz immün baskılayıcı tedaviler ve immün rekonstrüksiyon/indüksiyon tedavileri olarak da sınıflandırılabilir (Dobson & Giovannoni, 2019; Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Soydar, 2020). Bu tez çalışması kapsamında MS’te birinci basamak tedavisinde kullanılan immünomodülatör enjektabl tedaviler (interferon beta ve glatiramer asetat) hakkında kısaca bilgi verilecektir.

1.1.9.1 İnterferon beta

İnterferon beta (IFN- β), IFN- β 1a ve IFN- β 1b olmak üzere iki rekombinanta sahiptir. 1993 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi’nden (Food and Drug Administration, FDA) MS’te kullanım için onay alan ilk ilaç olan enjektabl IFN- β 1b’nin (Betaferon) ülkemizde kullanımı için 2000 yılında ruhsat alınırken IFN- β 1a (Avonex) için 2007 yılında kullanım ruhsatı alınmıştır (Coyle, 2009; Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018). Bu rekombinantlar farklı uygulama dozu ve frekansına sahip olsa da etkileri bakımından özdeşler (Aharoni, 2010). Özellikle proenflamatuvar bir sitokin olan IFN- γ ’nın etkilerini inhibe etmesi amacıyla kullanılmaya başlasa da daha sonraları aynı etkiyi TNF- α üzerinde de gösterdiği görülmüştür. Ayrıca Th17 de dahil olmak üzere T hücrelerinin aktivitelerini inhibe ederek proenflamatuvar sitokinlerinin azalması, KBB geçirgenliğini arttıran adezyon moleküllerinin ekspresyon seviyesini azaltması ve MMP-9 seviyesini azaltarak KBB yapısını koruması gibi birçok farklı yoldan hastalığın etkilerini azalttığı görülmüştür (Aharoni, 2010; P. K. Coyle, 2009). Enjektabl bir tedavi ajanı olan IFN- β ’ların en yaygın yan etkileri ise enjeksiyon yeri reaksiyonları ve grip benzeri semptomlardır. Ülkemizde EDSS skoru 0-5.5 arasında olan RRMS tanılı hastaların tedavilerinde nöroloji uzmanı doktorların uygun görmesi durumunda kullanılabilir (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018).

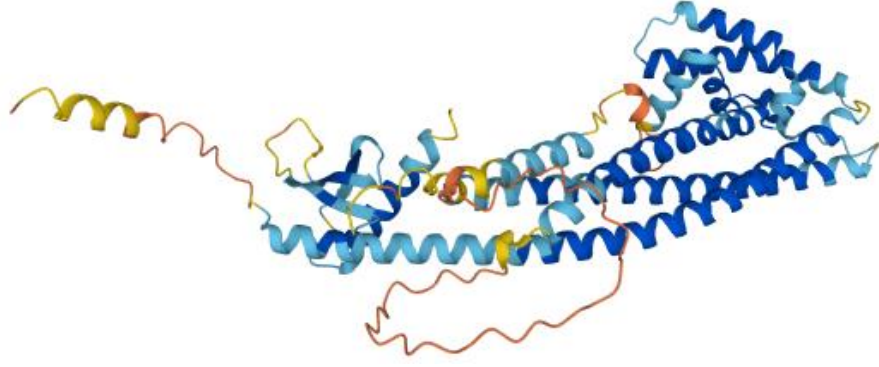
1.1.9.2 Glatiramer asetat

MS tedavisinde kullanılan bir diğer immünomodülatör enjektabl tedavi de glatiramer asetatıdır. Ülkemizde 2006 yılında 20 mg/mL’lik dozu için ruhsat verilmiş olup MS tedavisinde kullanılmaktadır. Asıl amacı miyelin otoantijeni olan MBP’yi taklit etmek olup belirli molar oranlarında L-alanin, L-lizin, L-tirozin ve L-glutamik asitin bir araya getirilmesiyle oluşmaktadır (Aharoni, 2010; Çetin, 2020). MBP ile yarışa girip dendritik hücreler ve monositlere etki edip Th2 ve Th3 hücrelerini uyarak

antienflamatuvar sitokinlerin salınımını indüklediği görülmüştür. Ayrıca, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinin, Th17 hücrelerinin proenflamatuvar yönlerini modüle ederek antienflamatuvar yönünde düzenleme sağlamaktadır (P. K. Coyle, 2009; Loma & Heyman, 2011). Enjektabl tedavi olması nedeniyle enjeksiyon yerinde reaksiyon görülmesi yaygın bir yan etki olup ani enjeksiyon sonrası reaksiyonlar da görülebilmektedir (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018).

1.2 Clusterin

Clusterin, 8. kromozomda bulunan ve yalnızca *CLU* (8p.21.1) geninde kodlanan farklı izoformlara sahip multifonksiyonel bir glikoproteindir (Jones & Jomary, 2002; Nuutinen vd., 2009). 1983 yılında Irving Fritz ve ekibinin laboratuvarında keşfedilen bu protein adını kırmızı kan hücrelerini çöktürüp öbikleştirmesinden almaktadır (Charnay vd., 2012; Jones & Jomary, 2002). Evrimsel süreçte oldukça korunmuş olan *CLU* geni neredeyse tüm memeli hayvanlarda ifade edilmektedir. Farklı izoformlara sahip clusterinin ilk olarak salgılanan formu (sCLU) bulunmuş olsa da ilerleyen zamanlarda nüklear bir formu (nCLU) olduğu da keşfedilmiştir (Charnay vd., 2012). Salgılanan formu şaperon benzeri işlev görerek hücrel yaşam yollarını desteklerken nüklear formu proapoptotik yollarda görev almaktadır (Woody & Zhao, 2016). Bu ikili doğası ve farklı izoformları ile hücrel yaşam ve ölüm yollarında kritik rollere sahip bir protein olarak karşımıza çıkan clusterinin bir diğer adı da Apolipoprotein J'dir (Demirkaya-Budak, 2018). İndirgeyici koşullarda 40 kDa'luk iki alt birime ayrılan, totalde 80 kDa büyüklüğündeki ve 449 amino asitten meydana gelen sCLU heterodimer yapıda olup α ve β alt birimleri 5 disülfid bağı ile birbirlerine bağlıdır (Jones & Jomary, 2002). Nüklear formu ise çoğunlukla ikinci ekzonunun, diğer durumlarda beşinci ekzonunun alternatif splay yöntemiyle çıkarılmasıyla oluşturulduğu için salgılanan formundan daha küçüktür (416 amino asit, 55 kDa) (Nuutinen vd., 2009). Clusterinin üç boyutlu (3D) yapısı Şekil 1.7'de gösterilmektedir. Burada renklendirmeler, modelin güvenilirliğini göstermektedir. En güvenilir bölgeler koyu maviyken renk spektrumunda açık maviden sarı ve turuncuya gidildikçe 3D yapının güvenilirliği azalmaktadır.



Şekil 1.7: Clusterin proteinin 3D yapısı (URL-3).

Clusterinin yapısı itibari ile asıl fonksiyonunu şaperon olarak görev alması olsa da stres ve hasar durumlarında apoptoz yollarında görev alan formu da bulunmaktadır. Salgılanan formunun yapısında tıpkı ısı-şok proteinlerinde olduğu gibi üç amfipatik ve iki α sarmalı bulunmaktadır. İkincil yapısında bulunan eriyik globül alanı (molten globule domain) sayesinde biyomoleküllere yüksek afinite fakat düşük özgüllük ile bağlanarak birçok proteinle etkileşimde bulunabilmektedir (Nuutinen vd., 2009). Bu sayede, yanlış katlanmış proteinleri ve biyomolekül birikimlerini temizleyerek sitoprotektif özelliğini ön plana çıkarmaktadır ve ilk çalışmalarda clusterinin bu rolü üstlenerek hücrel yaşamı desteklediği düşünülmekteydi (Daimon vd., 2011; Nuutinen vd., 2009). İlerleyen zamanlarda *CLU* knock-out farelerde yapılan çalışmalarda hipoksi-iskemi ile indüklenmiş beyin hasarı sonucu artması beklenen hücre ölümünün azalması nedeniyle farklı bir rolü olduğu da tespit edilmiştir. Daha sonraları hücrel ölüm yolları çalışmalarında hücre çekirdeğinde farklı bir izoformu bulunan clusterinin zıt çalışan farklı bir izoformu olduğu da ortaya çıkmıştır. Monomerik polipeptit yapısında ve çoğunlukla glikolize olmamış nükleer formu hücrel ölüm yollarında görev alarak proapoptotik yüzünü göstermektedir (Jones & Jomary, 2002).

Neredeyse tüm doku ve salgılarda bulunan clusterinin hücrel stres ve hasar durumlarında, normal olmayan hücre çoğalmalarında, doku farklılaşmasında ve yaşlanmada çokça ifade edildiği görülmüştür (García-Aranda vd., 2017). Başta nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz, kanser ve travmalarda olmak üzere bir çok hastalıkta ekspresyon seviyesinin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Charnay vd., 2012; Daimon vd., 2011; Demirdöğen vd., 2020). Özellikle patolojik

hücre dışı matriks birikimlerinde bolca bulunan clusterinin Alzheimer hastalığındaki amiloid plaklarda ve damar sertliğine neden olan ateroskleroz plaklarda fiziksel olarak mevcut olduğu bilinmektedir (Aghajanian vd., 2019; Nuutinen vd., 2009). Apoptotik rolü nedeniyle birçok kanser türünde ifade seviyesinin değiştiği bilinen clusterin, genetik seviyede de bir kemoterapi yanıt belirteci olarak karşımıza çıkmaktadır (Charnay vd., 2012; García-Aranda vd., 2017; Wiggs vd., 2018). Yine başta Alzheimer olmak üzere Parkinson ve MS hastalarında da ifade seviyesinin arttığına dair bulgular bulunmaktadır (Polihronis vd., 1993; Rithidech vd., 2009; Schrijvers vd., 2011; Vranová vd., 2010). Parkinson hastalarının erken evrelerinde, kontrollere göre BOS'ta daha çok eksprese edilen clusterinin ifade seviyesi travmatik beyin hasarlarında da artış göstermektedir (Troakes vd., 2017).

1.2.1 Clusterin ve multipl skleroz

Clusterinin ekspresyon seviyesini MS hastalarının çeşitli dokularında inceleyen çalışmalar literatürde mevcuttur (Polihronis vd., 1993; Rithidech vd., 2009; Van Luijn vd., 2016). MS ile clusterin arasındaki ilişkinin incelendiği ilk çalışmalardan birinde aralarında MS hastalarının da olduğu, nöropatolojik bir bulgusu olan hastaların ve kontrol grubunun BOS'unda clusterin konsantrasyonu ölçülmüştür. Bu çalışmada, MS hastalarının BOS'unda clusterin seviyesinin kontrollere göre daha fazla olduğu görülmüştür (Polihronis vd., 1993). Bununla birlikte, postmortem MS hastalarının lezyonlarında yapılan bir başka çalışmada *CLU* ekspresyon seviyesinin ak madde lezyonlarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Van Luijn vd., 2016). Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada ise MS hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMH) kontrollere göre *CLU* mRNA rölatif ekspresyon seviyesinin arttığı görülmüştür (Razia vd., 2022). Pediatrik MS hastalarının plazma proteomik profilini araştıran bir diğer çalışmada da pediatrik MS hastalarının plazma clusterin seviyesinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu bulunmakla birlikte (Rithidech vd., 2009), bunun haricinde MS'te plazma clusterin konsantrasyonunu ölçümleyen bir başka çalışmaya rastlanmamıştır.

1.2.2 Clusterin ve bilişsel performans

Yaşlanma, yaralanma ve hücrel stres durumlarında ifade edilme seviyesi artan clusterin proteininin MSS hasarlarını tespit ve takipte iyi bir biyobelirteç olabileceğine

dair ipuçları da bulunmaktadır. Plazmanın ve serumun BOS'a göre daha kolay erişiminin olması ve protein açısından zengin olması, MSS hastalıkları ile ilişkili biyobelirteç araştırmalarında kaynak olarak kullanımını kolaylaştırmaktadır (Rithidech vd., 2009). Clusterinin kandaki seviyesi ile bilişsel performans arasında ilişki olduğuna dair bulgular da literatürde mevcuttur. Nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığında amiloid plaklarının birikiminde, depolanmasında ve toksisitesinde önemli rol oynayan clusterinin plazmadaki seviyesi ile hastalık arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiştir (Güven, 2020; Schürmann vd., 2011; Thambisetty vd., 2012). Alzheimer, Hafif Bilişsel Bozukluk (HBB) ve sağlıklı kontrollerle yapılan çok merkezli ve geniş kapsamlı bir çalışmada plazma clusterin seviyesi ile Alzheimer hastalığının progresyonu ve bilişsel performans arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur. Bu çalışmada, plazma clusterin konsantrasyonu daha yüksek olan hastaların bilişsel performanslarının daha hızlı düştüğü ve entorhinal korteksteki atrofinin plazma clusterin seviyesini ile arttığı ortaya konmuştur (Thambisetty vd., 2010). Dolaşımdaki apolipoproteinlerin (ApoA1, ApoA2, ApoB, ApoC3, ApoE, ApoH ve ApoJ) seviyelerinin yaşlanma ve bilişsel performansla ilişkisini araştıran bir başka çalışmada da plazma clusterin seviyesi arttıkça genel olarak bilişsel performansın düşüş gösterdiği ve ilerleyen yaşla birlikte plazma clusterin seviyesinin arttığı görülmüştür. Bununla birlikte dikkat çeken bir başka sonuç da plazma clusterin seviyesi yüksek olan hastalarda daha fazla beyaz madde atrofisi olduğunun görülmesidir (Song vd., 2012). Alzheimer ve HBB hastalarıyla yapılan başka bir çalışmada ise plazma clusterin konsantrasyonu yüksek olan bireylerin sağ posterior atrofisinin daha fazla olduğu bulunurken, bilişsel performansla bir ilişkisi bulunmamıştır (Hsu vd., 2017). HBB hastaları ve sağlıklı kontrollerle yapılan bir başka çalışmada ise HBB hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu arttıkça beyin atrofi hızının da arttığı görülmüştür (Thambisetty vd., 2012). HBB için önemli bir risk faktörü olan tip-2 diyabet (T2D) hastalarıyla yapılan bir çalışmada ise HBB görülen bireylerin plazma clusterin konsantrasyonunun, görülmeyenlere kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Cai vd., 2016). Kandaki clusterin konsantrasyonu ile bilişsel performans arasındaki ilişkinin çalışıldığı hastalıklar yalnızca HBB ve Alzheimer ile sınırlı değildir. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) teşhisi koyulmuş kişilerden oluşan bir çalışmada katılımcıların serum clusterin konsantrasyonu arttıkça MMSE (Mini Mental State Examination) skorlarının, bir başka ifadeyle, bilişsel

performanslarının, düştüğü gösterilmiştir (Li vd., 2013). Bu çalışmalar plazma clusterin konsantrasyonunun hem beyinde bölgesel atrofiler ile hem de bilişsel performansla ilişkili olabileceğini açıkça göstermektedir.

1.3 Genetik Polimorfizmler

Her ne kadar popülasyonlar türdeş canlıları içerse de kalıtsal veya çevresel etmenler nedeniyle DNA dizileri bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir. Nükleotit dizilerindeki bu farklılıkların, popülasyonda görölme sıklığının %1'den fazla olması durumu genetik polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. DNA dizisindeki farklılıklar tek bir nükleotitten olabileceği gibi bir diziden de kaynaklanıyor olabilir. Gen üzerindeki tek bir nükleotitten kaynaklanan genetik polimorfizmler tek nükleotit polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism; SNP) olarak adlandırılmaktadır (Koçan, 2018). Bu tez çalışması kapsamında yalnızca SNP'ler üzerinde durulacaktır.

1.3.1 Tek nükleotit polimorfizmi (SNP)

Yukarıda da bahsedildiği üzere bir popülasyondaki bireyler arasında tek nükleotitten kaynaklanan gen dizilimi farklılıklarının görölme sıklığının %1'den fazla olması durumunda bu varyasyon SNP olarak adlandırılır (Koçan, 2018). İnsan genomunda yaklaşık 1000 nükleotitte 1 göröllebilen SNP'ler genomda oldukça yaygın olmakla birlikte genin farklı bölgelerinde bulunabilmektedirler (Pratt vd., 2014). Genomda milyonlar seviyesinde bulunan SNP'lerin konumları ve etkileri farklılık göstermektedir (Auton & Abecasis, 2015; de Sousa vd., 2021; Shastri, 2009). Genin protein kodlayan sekansı olan ekzonlarda bulunduğu durumlarda SNP'ler aminoasit değişikliklerine neden olarak sentezlenen proteinin post-translasyonel modifikasyonunu ve fonksiyonunu etkileyebilmektedir. Ayrıca, ekzonlardaki SNP'ler aminoasit değişikliğine neden olmadığı durumlarda da mRNA'nın yapısına, stabilitesine ve ifade edilen proteinin katlanmasına etki edebilir (Deng vd., 2017). Her ne kadar translasyona uğramasa da introndaki polimorfizmler, splay sırasında tanınan bölgelerin nükleotit dizisini değiştirerek üretilen proteinde farklılıklara neden olabilmektedir. Genin 5' transle edilmeyen bölgesinde (Untranslated Region; UTR) bulunan SNP'ler translasyon verimine ve transkripsiyon aktivitesine etki etmektedir (Deng vd., 2017). Gen ifadesinin verimliliğinde önemli bir rol oynayan bir diğer bölge

olan 3' UTR'de bulunan SNP'ler translasyonun sonlanmasına veya mikroRNA (miRNA) aracılı post-transkripsiyonel inhibisyonuna etki ederek genin ifade seviyesinde değişikliklere neden olabilmektedir (Demirkaya-Budak, 2018; Deng vd., 2017). Promotor bölgesindeki SNP'ler de transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerinde ve epigenetik mekanizmalarda değişikliklere yol açmak suretiyle genin ifade seviyesini değiştirebilmektedir (Deng vd., 2017). Kısacası, SNP'ler buldukları genlerin ifade seviyelerine ve ürünlerine çeşitli şekillerde etki etmekte ve bu durumlar hastalıklara yol açabilmektedir (Demirkaya-Budak, 2018; Koçan, 2018).

1.3.2 *CLU* geni ve tek nükleotit polimorfizmleri

İnsanlarda 8p.21.1 lokasyonunda bulunan *CLU* geni 11 ekzon içermektedir. Farklı izoformları mevcut olan clusterin proteininin nükleer formunda ikinci veya beşinci ekzon çıkarılmaktadır (Koltai, 2014; URL-4). Yapısında birçok polimorfizm bulduran *CLU* geninin şu 4 SNP'si bu çalışma kapsamında incelenecektir:

- rs11136000 C/T
- rs3087554 T/C
- rs2279590 C/T
- rs1532278 C/T.

1.3.2.1 *CLU* rs11136000 C/T

CLU rs1113600 SNP'si, genin 3. intronunda bulunan 8:27607002 pozisyonundaki tek nükleotit varyantıdır. Minör aleli T olan bu SNP'nin global minör alel frekansı (gMAF) 0.392 olmakla birlikte dünya çapında bölgelere göre farklılıklar gözlemlenmektedir (URL-5). Bu SNP'nin intronda bulunması dolayısıyla alternatif sprints mekanizmasına etki ederek clusterin proteininin farklı izoformlarının ifade seviyesini değiştirebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda rs11136000 SNP'sinin C aleli s*CLU* formunun ifade seviyesini azaltırken T alelinin de n*CLU* formunun ifade seviyesini arttırdığı görülmüştür (Ling vd., 2012; Szymanski vd., 2011). Buna karşın, yapılan bir *in-silico* analizde bu SNP'nin transkribe edilen mRNA'nın yapısında veya ifade seviyesinde önemli bir değişikliğe yol açmadığı görülmüştür (Aghajanpour-Mir vd., 2019). rs11136000 SNP'sinin C alelinin Alzheimer hastalarında daha düşük plazma clusterin seviyesiyle ilişkili olduğunu

gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur (Schürmann vd., 2011; Woody & Zhao, 2016). Bunun yanı sıra, hem Parkinson hem de T2D hastalarında bu SNP ile bilişsel bozukluk görülme riski arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur (Cai vd., 2016; Sampredo vd., 2020). Alzheimer hastalık riski için yapılan çalışmalarda ise Avrupa popülasyonlarında rs11136000 ile Alzheimer arasında anlamlı ölçüde bir ilişki olduğu görülmüştür (Lambert vd., 2009; Seshadri vd., 2010; Woody & Zhao, 2016). Buna ilave olarak Çin popülasyonunda da rs11136000'in Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Liu vd., 2014; Ma & Qiu, 2022). Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rs11136000 Çin popülasyonunda Alzheimer ile ilişkili bulunsa da aynı popülasyonunda bu SNP ile Alzheimer arasında bir ilişki olmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur (Liu vd., 2014; Lu vd., 2014; Zhu vd., 2018). Bu çalışmaların bulgularının detayları tartışma bölümünde ayrıca ele alınmıştır. Bu SNP ile MS arasındaki ilişki daha önce çalışılmamıştır.

1.3.2.2 *CLU* rs3087554 T/C

CLU rs3087554 T/C SNP'si, pozitif iplikte 8:27597925 baz çifti konumunda bulunmaktadır. Minör aleli olan C aleli için MAF değeri popülasyonlara göre farklılık göstermekte olup global seviyede 0.184'tür. *CLU* geninin 3' UTR'sinde bulunan bu SNP aynı zamanda çözümlenir epoksit hidrolazı kodlayan *EPHX2* geninin aşağı akış yönünde bulunmaktadır (URL-6). Bu SNP'nin C aleli olması durumunda, clusterin proteininin s*CLU* formunun nispeten daha fazla ifade edildiği görülürken n*CLU* formunun ifade seviyesini etkilememektedir (Szymanski vd., 2011). Genin 3' UTR'sinde bulunması dolayısıyla miRNA'ların da bağlanma bölgesinde bulunan bu SNP, *CLU* ifade seviyesiyle ilişkili olduğu bulunan miR-195-5p'nin bağlanma bölgesinin 33 nükleotit uzağındadır (Ma vd., 2018). Ayrıca, yapılan veri tabanı araştırmalarında T alelinden C aleline dönüşümünün genin ifade seviyesinin etkileneceğini öngören sonuçlarla birlikte bu değişimin nötr bir sonucu olacağını gösteren veriler de mevcuttur (URL-7). Etiyolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı ekfoliyasyon sendromu (XFS) ve ekfoliyatif glokom (XFG) hastalıklarıyla ilişkisini inceleyen bir çalışmada ise TT ve CC genotipli XFG hastalarının aköz hümlerindeki clusterin miktarının, XFS ve kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. XFS ve XFG riski için yapılan çalışmalarda ise hem hastalıkla ilişkili olduğuna hem de ilişkili olmadığına dair karşıt sonuçlar elde edilmiştir (Burdon vd.,

2008; Demirkaya-Budak, 2018; Fan vd., 2015). Alzheimer hastalığı ile ilişkisini inceleyen başka bir çalışmada ise hastalık riskiyle ilişkili bulunmamıştır (Guerreiro vd., 2010). Bu çalışmaların bulgularının detayları tartışma bölümünde ayrıca ele alınmıştır. Bu SNP'nin MS ile ilişkisi daha önce çalışılmamıştır.

1.3.2.3 *CLU* rs2279590 C/T

CLU rs2279590 SNP'si, 7. intronda ve 8:27598736 lokasyonunda bulunmaktadır. Farklı popülasyonlara göre MAF değeri değişen bu SNP'nin gMAF değeri 0.386'dır (URL-8). Bu SNP'nin fonksiyonuna dair yapılan çalışmalarda, *CLU* ifade seviyesini düzenleyici rolü olabileceği görülmüştür. HEK293 hücre hattında yapılan bir çalışmada rs2279590 C/T SNP'nin de bulunduğu 115 bç'lik bölge çıkarıldığında hem sCLU hem de nCLU seviyesinin azaldığı görülmüştür. Yine bu çalışmada, T alelinin *CLU* ifade seviyesini azalttığı görülmüştür. (Padhy vd., 2017). Bir başka çalışmada da CC genotipli XFS hastalarının lens kapsüllerinde, TT genotiplilerden 2 kat daha fazla *CLU* ekspresyonu olduğu görülmüştür (Padhy vd., 2014). Aynı ekibin bir diğer çalışmasında, bu SNP'nin nöronal gelişim ve enflamatuvar yanıt oluşumunda rol alan protein-tirozin kinazı kodlayan *PTK2B* ve nöroprotektif bir rol oynayan çözümler epoksit hidrolazı kodlayan *EPHX2* genlerinin ifade seviyelerini de etkilediği görülmüştür (Padhy vd., 2023). Bunların yanı sıra, Alzheimer hastalığının başlangıcında frontal, singulat ve temporal korteksteki amiloid beta birikimleriyle ilişkili bulunmuştur (Tan vd., 2016). Yine Alzheimer hastalarında yapılan bir çalışmada T alelini taşıyan bireylerde yüksek yoğunluklu lipoprotein (High Density Lipoprotein, HDL) kolesterol seviyesinin daha fazla, serum trigliserit seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Alzheimer riski bakımından da çalışılan bu SNP'nin hastalık riskini arttırdığını gösteren çalışmalar olsa da herhangi bir ilişkisi olmadığını gösteren çalışmalar da literatürde mevcuttur (Chen vd., 2012; Lambert vd., 2009; Yu vd., 2010; Zhang vd., 2020). Bu çalışmaların bulgularının detayları tartışma bölümünde ayrıca ele alınmıştır. Bu SNP'nin MS ile ilişkisi daha önce çalışılmamıştır.

1.3.2.4 *CLU* rs1532278 C/T

CLU rs1532278, 8:27608798 konumunda bulunan ve genin 3. intronunda lokalize bir SNP'dir. Minör alel olan T alelinin frekansları toplumlar arası farklılık göstermekle birlikte global ölçekte bakıldığında 0.374 olarak tespit edilmiştir (URL-9). Bu tez

kapsamında çalışılan bir diğer SNP olan rs11136000 C/T ile aynı intronda bulunan rs1532278 C/T'nin de *CLU* geninin ifade seviyesinde düzenleyici bir rolü olabileceği öne sürülmektedir (Bettens vd., 2012). Yapılan *in-silico* bir çalışmada transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasıyla ilişkili bulunmuş olan rs1532278 SNP'sinin *CLU* geninin ifade seviyesine etki edebileceği gösterilmişse de deneysel olarak bu sonucu destekleyecek çalışmalar bu aşamada mevcut değildir (Rosenthal vd., 2014). Alzheimer hastalarıyla yapılan bir çalışmada, bu SNP'nin hastalığın başlangıcında frontal ve singulat korteksteki amiloid beta birikimleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Tan vd., 2016). Ayrıca, Serebral Amiloid Anjiyopati (SAA) hastalarındaki ciddi beyaz madde hiperintensiteleri ile de ilişkili olduğu görülmüştür (Montañola vd., 2016). Farklı popülasyonlarda Alzheimer ile ilişkisi çalışılan rs1532278'in beyaz ırkta bu hastalık için önemli bir risk faktörü olduğu görülmektedir (Lambert vd., 2009; Naj vd., 2014). Buna karşın, Lu ve arkadaşlarının Çin popülasyonunda yaptığı çalışmada Alzheimer ile herhangi bir ilişkisi bulunmamıştır (Lu vd., 2014). Bu çalışmaların bulgularının detayları tartışma bölümünde ayrıca ele alınmıştır. Bu SNP'nin MS ile ilişkisi daha önce çalışılmamıştır.

1.4 mikroRNA'lar

Yaklaşık 18-24 nükleotitten oluşan miRNA'lar genlerin ifade seviyelerine post-transkripsiyonel düzenlemelerle etki edebilen küçük kodlamayan RNA'lardır (Zhao vd., 2019). 1993 senesinde Cell dergisinde yaptıkları yayında Ambros, Lee ve Feinbalum model organizmalardan olan ipliksi solucanda (*Caenorhabditis elegans*) gelişim döneminde lin-14 genini baskılayan lin-4 genini izole ettiklerinde, onun protein kodlamadığı, hatta lin-14 genine komplementer bir diziyeye sahip olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Lee, 1993). Hedef mRNA'lara bağlanmasını sağlayan bu komplementer diziler "çekirdek dizi" olarak adlandırılmakla birlikte miRNA'ların hedef ve fonksiyonlarını anlamakta kullanılan dizi eşleşme kuralında da kullanılmaktadır. Transkripsiyon sonrası mRNA'lara çekirdek dizilerinin eşleşmesi durumunda komplementer olarak bağlanmak suretiyle genlerin ekspresyonlarını inhibe eden miRNA'lar protein kodlayan genlerin yaklaşık %80'inin ifade seviyesini regüle etmektedir (Melo & Esteller, 2014). Genellikle mRNA'ların 3' UTR kısmına bağlanarak işlevlerini gerçekleştirdikleri bilinse de günümüzde yapılan çalışmalarda,

miRNA'ların bağlandığı bölgeler olarak bilinen miRNA yanıt elementlerinin 5' UTR ve kodlayan bölgelerde de olabildiği ve hatta bazı miRNA-hedef etkileşimlerinin klasik çekirdek dizi eşleşme yolu haricinde de gerçekleştiği görülmüştür (Catalanotto vd., 2016).

Tek hücreli alglerden memelilere kadar neredeyse tüm ökaryotlarda bulunan miRNA'lar buldukları canlılara göre adlandırılmakta ve adlandırmaları belirli kurallar dahilinde yapılmaktadır. İlk olarak tür adını simgeleyen kısaltmalarla başlayan miRNA adları (Ör: hsa: Homo Sapiens; cel: Caenorhabditis Elegans) "mir" kısaltması ile devam eder. Olgun miRNA'ların kısaltmada "r" harfi büyük olarak yazılırken (ör: hsa-miR-) olgun olmayan miRNA formlarında "r" harfi küçük olarak (ör: hsa-mir-) yazılmaktadır. Takip eden sayılar, keşfedilme sıralarına göre verilirken (ör: hsa-miR-21-) benzer dizilere sahip olma durumunda birbirlerinden ayırt edilmeleri için harf alabilirler (ör: hsa-miR-24a ve hsa-miR-24b). Son olarak miRNA'nın biyogenezinde öncül miRNA'nın hangi kolundan orijin aldığına göre "-5p" (hsa-miR-24a-5p) veya "-3p" (hsa-miR-24b-3p) son ekini almaktadırlar (Desvignes vd., 2015; Guerau-de-Arellano vd., 2012).

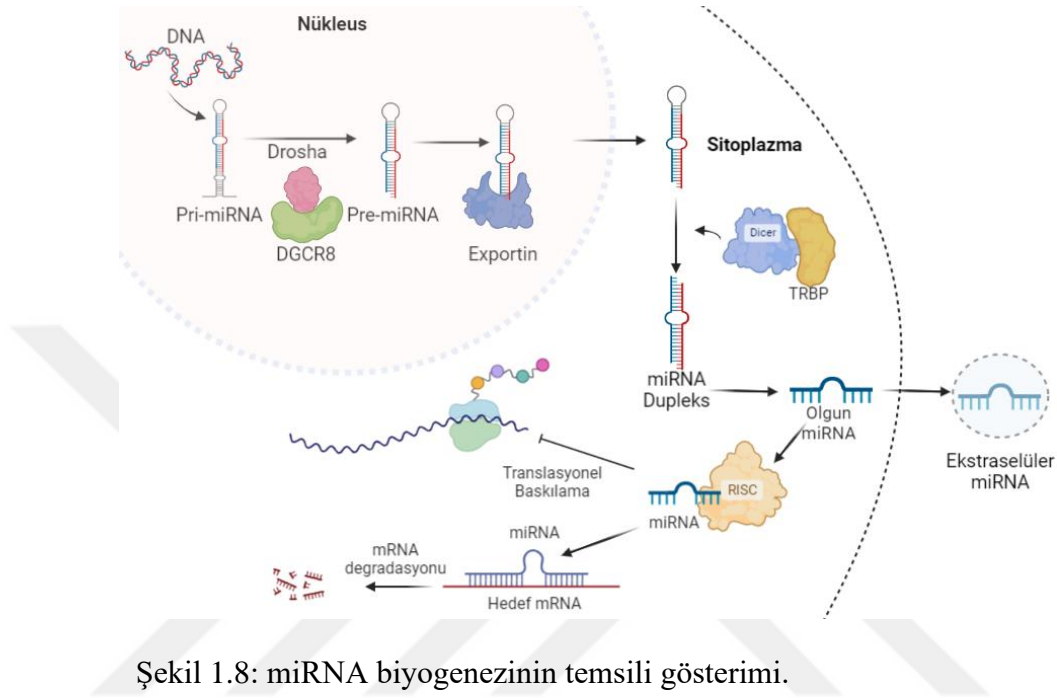
Gen ifadesinin düzenlenmesinde kritik role sahip miRNA'lar pek çok hastalıkta tanınan, terapötik ve prognostik biyobelirteç keşif araştırmaları kapsamında sıkça çalışılmaktadır (Kacperska vd., 2016). Bu alandaki araştırmalar sayesinde miRNA'lar hem biyobelirteç hem de terapötik hedef olarak değerlendirilmektedir. Günümüzde birçok önemli biyoteknolojik ilaç firması tarafından miRNA tabanlı tedavi stratejileri geliştirilmektedir. Geliştirilen ürünler, miRNA'ların hastalıktaki rolüne göre değişmektedir. Genel olarak hastalıklardaki miRNA disregülasyonunu düzeltmek amacıyla izlenen stratejilerden biri ekspresyon seviyesi patolojik sebeplerden dolayı baskılanıyorsa bunu arttırmak için spesifik miRNA mimiklerinin kullanımına gidilmesidir. Aksine, miRNA eğer hastalığın ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde aktif rol oynuyorsa ekspresyonunu azaltmak için antagomiR'ler kullanılarak bu spesifik miRNA'ların fonksiyonlarını engellenmeye yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmek de bir diğer stratejidir (Bonneau vd., 2019).

1.4.1 mikroRNA'ların genomik yerleşimi ve biyogenezi

Birçok hastalıkla olan ilişkisinden dolayı miRNA'ların genomik lokasyonları ve ekspresyon seviyelerinin nasıl düzenlendiği önem arz etmektedir (Liu vd., 2019). Günümüzde tanımlanmış miRNA'lar genlerin içinde (intragenik) veya genler arasında (intergenik) bulunabilmektedir (O'Brien vd., 2018). İntragenik miRNA'lar ise gen içindeki buldukları yerlere göre adlandırılmaktadır. İntron bölgesindeki miRNA'lar intronik miRNA; ekzon bölgesindeki miRNA'lar ekzonik miRNA, genin kodlandığı ipliğin karşı ipliğinde kodlanan miRNA'lar ise antisens miRNA olarak adlandırılır (Liu vd., 2019). İntragenik miRNA'ların, genellikle buldukları genlerle eş zamanlı ve bir bakıma bağımlı olarak RNA polimeraz II aracılığıyla regüle edildiği bilinse de son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda bu miRNA'ların her zaman buldukları genle birlikte eş zamanlı olarak regüle edilmediği, hatta buldukları genin transkripsiyon sonrası stabilizasyonuna etki ederek ifade seviyesini değiştirdiği gösterilmektedir (Gao vd., 2012; Liu vd., 2019). İntergenik miRNA'lar ise kendi promotorlarıyla birlikte genler arasında bölgelerde bulunarak tüm tanımlanmış miRNA'ların yaklaşık yarısını oluşturmaktadırlar. İfade seviyeleri ise kendi promotorları aracılığıyla RNA Polimeraz II veya RNA Polimeraz III aracılığıyla düzenlenebilmektedir (Liu vd., 2019; O'Brien vd., 2018).

Genomik yerleşimde olduğu gibi biyogenezleri bakımından da kanonik ve kanonik olmayan yolak olmak üzere ikiye ayrılırlar da miRNA'lar genellikle kanonik yolak ile üretilmektedir (Goodall vd., 2013; O'Brien vd., 2018). Kanonik yolda RNA Polimeraz II aracılığı ile transkripsiyonu sonrası saç tokası yapısını alan miRNA'ların öncülü olan uzun pri-miRNA'lar, bir RNA bağlayıcı protein olan DiGeorge Sendromu Kritik Bölge 8 (DGCR8) ve bir RNaz III endonükleazı olan Drosha'dan oluşan mikroişlemci birimi tarafından kesilerek pre-miRNA'lara dönüşürler (Bielska vd., 2022; Kinoshita vd., 2021). Nükleusta gerçekleşen bu kesim sonrası 3' tarafında iki nükleotidi boşta kalacak şekilde saç tokası yapısını koruyan yaklaşık 70 nükleotit uzunluğundaki pre-miRNA, eksportin 5/RanGTP kompleksi eşliğinde sitoplazmaya geçer. Sitoplazmadaki pre-miRNA, bir başka RNaz III endonükleazı olan Dicer tarafından saç tokası yapısının terminal döngü kısmından kesilerek olgun miRNA dupleksine dönüşürler. Bu dupleksin hangi tarafında olduğuna göre -5p veya -3p son ekini alan olgun miRNA'lar, Argonaute (AGO) proteinlerinden birine bağlanarak (İnsanlar için

AGO-1, AGO-2, AGO-3, AGO-4) RNA-teşvikli susturma komplekslerini (RNA-induced silencing complex, RISC) oluşturup işlevlerini yerlerine getirirler (O'Brien vd., 2018). Transkribe edilmiş mRNA'ların 3' UTR'leri ile etkileşime girerek translasyonel baskılama veya mRNA yıkımına neden olabilirler (Kinoshita vd., 2021) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8: miRNA biyogenezinin temsili gösterimi.

1.4.2 Dolaşımdaki mikroRNA'lar

Kan, BOS, göz yaşı, idrar gibi pek çok vücut sıvısında da bulunabilen miRNA'lar daha önce de belirtildiği üzere pek çok hastalıkta tanısal, terapötik ve prognostik biyobelirteç adayları olarak odak konusudur (Kacperska vd., 2016). Apoptoz, enflamasyon, doku hasarı vb. etmenlerden dolayı pasif olarak hücre dışına salınabileceği gibi mikro veziküller veya HDL, AGO-2, nükleofosmin-1 (Nucleophosmin-1; NPM-1) gibi RNA bağımlı proteinler aracılığıyla aktif olarak hücre dışına çıkarılabilirler. Diğer RNA'ların aksine vücut sıvılarında da eksprese edildiğinin ve oldukça dayanıklı olduğunun keşfi ile hücreler arası iletişimdeki rolleri üzerine araştırmalar da gerçekleştirilmiştir (Turchinovich vd., 2013). Biyogenezinin gerçekleştiği hücrede olduğu gibi dolaşıma geçerek başka dokularda da gen ekspresyonuna etki edebilen miRNA'lar nörogenez, anjiyogenez, hücre çoğalması ve apoptoz sinyallerinin iletilmesi gibi birçok düzenleyici yolda görevler alabilirler (Kacperska vd., 2016; Zhao vd., 2019).

Dolaşımdaki miRNA'ların hücre içine girmesi ise vezikül bağımlı veya serbest olmasına göre değişebilmekle birlikte, hakkında daha az bilginin olduğu bir konudur. Mikroveziküllerdeki miRNA'lar endositoz, fagositoz veya direkt füzyon yoluyla hücre içine girebilirken serbest miRNA'lar için yüzeyde özel reseptörlerin bulunması gerekebilmektedir. Ayrıca, HDL-bağılı yolakla hücre dışına çıkan dolaşımdaki miRNA'ların HDL reseptörleri ile hücre içine alınabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (O'Brien vd., 2018; Zhao vd., 2019).

1.4.3 Multipl sklerozda mikroRNA'ların rolü

Keşfedildikleri günden beri miRNA'ların dolaşımda ve vücut sıvılarında stabil olmaları sayesinde hastalıkların teşhisi, aktivitesi ve prognozuna dair biyobelirteç keşif çalışmalarında birçok hastalıkla ilişkisi çalışılmıştır (Bajan & Hutvagner, 2020; Eftekharian vd., 2019; Peng & Croce, 2016). Etiyolojisi ve prognozunda genetik ve çevresel birçok faktörün rol oynadığı MS hastalığının karanlıkta kalmış yönlerinin aydınlatılması ve görünen yüzünün anlaşılması umuduyla birçok kompleks hastalıkta olduğu gibi MS ile de ilişkisi oldukça çalışılmıştır (Baulina vd., 2018; Fenoglio vd., 2016; Kacperska vd., 2016).

MSS'nin otoimmün bir hastalığı olarak bağışıklık hücrelerindeki anormal aksiyonların MS'in patofizyolojisinde rol oynamasından dolayı bu hücrelerdeki bozulmalarla ilişkilerini inceleyen çalışmalarda bazı miRNA'ların seviyelerinin değiştiği görülmüştür (Mansoor vd., 2020). MS hastalarında CD4⁺ T hücrelerinde miRNA'ların rollerini incelemeye yönelik yapılan öncül çalışmaların birinde T hücre farklılaşmasının negatif regülatörü olan Ets-1'i baskılayan miR-326'nın RRMS hastalarının Th17 hücrelerinde çokça eksprese edildiği görülmüştür (Du vd., 2009). Lindberg'in CD4⁺, CD8⁺ T hücreleri ve B hücreleri ile gerçekleştirdiği 365 miRNA'yı incelediği çalışmada ise lenfosit gelişimini düzenleyen PI3K/Akt yolağının regülasyonunda görev alan miR-17-5p'nin CD4⁺ T hücrelerinde ifade seviyesinin arttığı görülürken B hücrelerinde miR-193a'nın ekspresyonunun azaldığı görülmüştür (Lindberg vd., 2010). 723 miRNA'nın incelendiği bir başka çalışmada ise T_{reg} hücrelerinde *CDKN1A* ve *BCL2L1* genlerini susturarak Tümör Büyüme Faktörü-β (Tumor Growth Factor-β; TGF-β) sinyalinin regülasyonunu sağlamakla görevli miR-106, miR-25, miR-19a ve miR-19b'nin anlamlı ölçüde arttığı görülmüştür (Guerau-

de-Arellano vd., 2012). Miyazaki ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada ise lenfotoksin ve TNF- α ekspresyonuna etki eden miR-132'nin RRMS hastalarının B hücrelerinde yüksek seviyede ifade edildiği görülmüştür (Miyazaki vd., 2014). Bu örnek çalışmalar, MS'te miRNA'ların rollerinin anlaşılmasına yönelik araştırmaların çok küçük bir kısmını temsil etmekle birlikte bu kapsamda yapılan diğer çalışmalara tartışma bölümünde değinilecektir.

Hücre seviyesindeki miRNA çalışmaları MS de dahil olmak üzere birçok hastalıkta benzer şekilde devam etmektedir. Buna karşın, miRNA'ların vücut sıvılarında çokça bulunması ve hücrelerden bağımsız olarak serum ve plazma gibi sıvılardan direkt olarak çalışılabilmesi avantajlarına sahip olmaları nedeniyle dolaşımdaki miRNA'lar da MS'te biyobelirteç çalışmalarının konuları arasında bulunmaktadır (Jagot & Davoust, 2016; Kacperska vd., 2016). Bu miRNA'lar hem MS'in teşhisinde hem de ayırıcı tanısında kullanılabileceği gibi tedavi yanıtının değerlendirilmesinde de önemli bir parametre olabilmektedirler. Fenoglio ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada PPMS ve sağlıklı kontrolleri miR-223'ün %80, miR-15b'nin %75 doğruluk oranında ayırabildiği görülmüştür (Jagot & Davoust, 2016). Sondegaard'ın PKMH'lerde, serumda ve plazmada yaptığı miRNA profillemesi çalışmasında bu üç numune tipinde de anlamlı ölçüde kontrollere göre daha fazla ifade edilen miR-145'in plazmadaki seviyesi ile MS hastaları ve kontrolleri %78.5 doğrulukta ayırabildiği görülmüştür. Bu oran PKMH'de aynı kalırken serum numunelerindeki belirlenen kesme değeri ile %98.1 oranında MS hastaları ve kontrolleri ayırt edebildiği görülmüştür (Søndergaard vd., 2013). Bunlara ilave olarak, miRNA'lar atak döneminde ve sonrası için de belirteç olabilmektedir. Niwald ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada plazma miR-310 ve miR-155 seviyelerinin post-akut ve stabil dönemde atak dönemine göre plazmada daha fazla eksprese edildiği görülmüştür (Niwald vd., 2017). Bunun yanı sıra, kullanılan tedavilerin etkinliğinin değerlendirilmesi için de uygun olabileceğine dair örnek bir çalışma Giuliani ve ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir. Dimetil fumarat tedavisi başlayan naif hastaların 4 ay sonunda plazmalarındaki miR-125a-5p ve miR-146a-5p ekspresyon seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu miRNA'lardan miR-125a-5p başlangıçta RRMS hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha fazla eksprese edildiği görülürken miR-146a-5p ise sağlıklı kontrollerde RRMS hastalarına göre daha fazla eksprese edilmektedir. 1 yıllık bir periyot sonunda değerlendirildiğindeyse, EDSS ve

yıllık atak oranı artan RRMS hastalarının plazma miR-146a-5p ve miR-125a-5p seviyelerinin daha düşük olduğu bulunmuştur (Giuliani vd., 2021). Kısacası, plazma miRNA ekspresyon seviyelerinin MS'in teşhisinde, ayırıcı tanısında, tedavi yanıtında ve prognozunun değerlendirilmesinde kullanışlı bir biyobelirteç kaynağı olabileceğine dair önemli örnek çalışmalar bulunmaktadır.

1.4.4 hsa-miR-21-5p

İnsanlarda 17. kromozomdaki *TMEM49* geninin 10. intronunda bulunan *MIR21* geninde kodlanan hsa-miR-21-5p, birçok kanserle olan ilişkisinden dolayı başlangıçta “onkomir” olarak sınıflandırılmıştır. İntronik bir miRNA olan hsa-miR-21-5p, *TMEM49*'un promotorundan bağımsız bir promotora sahip olup bu promotor aktivatör protein-1 (Activator Protein-1;AP-1) ve PU.1 aktivasyon proteinleri için uygun bağlanma bölgelerine sahiptir (Garo & Murugaiyan, 2016; Jazbutyte & Thum, 2010). Birçok kanser türü ile olan ilişkisinin yanı sıra immün sistemin bir regülatörü olarak da görev yapmaktadır. Genellikle Nükleer Faktör- κ B (NF- κ B) ve miyeloid farklılaşma birincil yanıtı 88 (Myeloid differentiation primary response 88; MyD88) aracılığı ile Toll-benzeri reseptörünün (Toll-like Receptor; TLR) uyarılması sonucu ifade edilme seviyesi artan miR-21-5p, bazı durumlarda programlanmış hücre ölümü proteini 4 (Programmed Cell Death 4; PCDD4)'ü hedefleyerek NF- κ B'nin seviyesinin azalmasıyla antienflamatuvar bir sitokin olan IL-10'un seviyesinin artmasına da etki etmektedir (Garo & Murugaiyan, 2016; Slota & Booth, 2019).

Makrofajlarda TNF- α salınımını engelleyerek antienflamatuvar etkileri düzenleyen miR-21-5p T hücrelerinde ise iki yönde de etki etmektedir. Yardımcı T hücrelerinin farklılaşmasında rol oynayarak Th2 hücrelerine dönüşü teşvik eden ve Th1/Th2 dengesini düzenleyerek antienflamatuvar özellik gösteren miR-21-5p'nin IL-17 proenflamatuvar sitokinini üreten Th17 hücrelerine farklılaşmayı da teşvik ettiği görülmektedir. Özellikle EAE modeli ile yapılan çalışmalarda elde edilen bu sonuç, miR-21-5p'nin MS'le olan ilişkisini ortaya koymaktadır. EAE modeli ile yapılan bir başka çalışmada da *MIR21* ^{-/-} farelerde EAE gelişimine karşı anlamlı ölçüde bir direncin olduğu ve bu farelerde EAE gelişme ihtimalinin azaldığı gözlemlenmiştir (Al-Ghezi vd., 2019). Bir başka çalışmada da EAE gelişen farelerde miR-21-5p ekspresyon seviyesinin kontrollere göre daha fazla olduğu ve stres gelişen farelerde bu ekspresyon

seviyesinin daha da arttığı gözlemlenmiştir (Gerrard vd., 2017). CD4⁺ T hücrelerinin aktivasyonları ve miRNA'lar arasındaki ilişkiyi inceleyen bir başka çalışmada miR-21-5p'nin RRMS hastalarında kontrollere göre daha çok ifade edildiği fakat progresif MS hastalarında kontrollerle benzer profillere sahip olduğu görülmüştür (Fenoglio vd., 2011). Ayrıca, miR-21-5p'nin MS hastalarının lezyonlarında da daha çok eksprese edilmekte ve atak döneminde PKMH'lerde ifade seviyeleri artmaktadır (Wang vd., 2016).

İmmün yanıtın düzenlenmesinde proenflamatuvar ve antienflamatuvar süreçlerde etkin rol alan hsa-miR-21-5p MS'in farklı dönemlerinde başvurulabilecek bir biyobelirteç adaydır. MS hastalarının BOS'larında yapılan bir çalışmada hsa-miR-21-5p seviyesinin MS'te önemli bir biyobelirteç olan nörofilament hafif zincir (Neurofilament Light Chain; NF-L) seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdiği ve kontrast tutan lezyonu olan MS hastalarının BOS'larında, olmayanlara göre anlamlı seviyede daha fazla ifade edildiği gösterilmiştir (Munöz-San Martín vd., 2019). MS'te dimetil fumaratın etkisini incelemek üzere yapılan bir diğer çalışmada, dimetil fumarat tedavisi alan MS hastalarının CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinde *MIR21* geninin promotor bölgesinde metilasyonun arttığı gözlemlenmiş ve *in-vitro* ortamda da CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri fumarik asit esterleri ile muamele edildiğinde de yine aynı sonucun alındığı görülmüştür (Ntranos vd., 2019). RRMS hastalarının atak ve remisyon dönemleri incelendiğindeyse PKMH'lerdeki hsa-miR-21-5p seviyesinin remisyon döneminde, atak dönemine nazaran daha fazla olduğu görülmüştür (Baulina vd., 2018).

MS hastalarının BOS'unda, T hücrelerinde ve lezyonlarında görülen miR-21-5p ifade seviyesindeki artışın, hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynayan oksidatif stres ve Th17 hücre farklılaşmasında görev alan TGF- β ile ilişkili olduğuna dair bulgular literatürde mevcuttur (Cheng vd., 2009; Li vd., 2021). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, kardiyak miyosit hücrelerinde oksidatif hasar oluşturulduğunda miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Cheng vd., 2009). Li ve arkadaşlarının çalışmasında ise karaciğer fibröz dokularında TGF- β 'nin indüklendiği durumda bu dokulardaki miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Li vd., 2021). Bu bulgular, MS hastalarında miR-21-5p'nin ifade seviyesinin artmasına açıklık getirmektedir.

Birçok hastalıkla ilişkili olan miR-21-5p'nin bilişsel performansla da ilişkili olabileceğine dair bulgular literatürde mevcuttur (Giuliani vd., 2021; Sessa vd., 2019; Szwed vd., 2021; Varma-Doyle vd., 2021; Yuan vd., 2022). Alzheimer hastalarıyla yapılan bir çalışmada ağır bilişsel bozukluk teşhisi alan hastalarda, bilişsel bozukluk görülmezlere göre plazmada miR-21-5p'nin rölatif ekspresyon seviyesinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Giuliani vd., 2021). İnme geçiren hastalarda yapılan bir çalışmada hastaların MMSE skorları ile serum miR-21-5p ekspresyon seviyesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (Yuan vd., 2022). Post mortem beyin dokusunda yapılan bir çalışmada miR-21-5p'nin yaşa bağılı bilişsel bozuklukla ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Sessa vd., 2019). By-pass ameliyatı geçiren hastalarda operasyon sonrası bilişsel bozuklukla ilişkisinin incelendiği bir çalışmada ise bilişsel bozukluk görülen hastalarda plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Szwed vd., 2021). Bu miRNA ile MS hastalarının bilişsel performansları arasındaki ilişki ise daha önce çalışılmamıştır.

MS'le birçok açıdan ilişkili olan, birçok farklı yoldan hastalığın seyrine etki eden ve bilişsel performansla ilişkili olduğuna dair bulgular olan miR-21-5p'nin deneysel olarak kanıtlanmış hedeflerinden biri de clusterin mRNA'sıdır. Yapılan bir *in vitro* çalışmada miR-21-5p'nin *CLU* ekspresyonunu azalttığı ve miR-21-5p'nin *CLU*'nun 3' UTR'sinde bağlanma bölgesi olduğu yine lusiferaz bildirici (luciferase reporter assay, LRA) test ile teyit edilmiştir (Mydlarz vd., 2014). Hamile kadınlarda yapılan ve anormal invazif plasantasyon tanısı için biyobelirteç keşfi çalışmasında hsa-miR-21-5p'nin plazmadaki ekspresyon seviyesi arttığında plazma clusterin seviyesinin anlamlı ölçüde azaldığı görülmüştür (Timofeeva vd., 2021). Bu açıdan bakıldığında, miR-21-5p'in hem MS hem de clusterin ile olan ilişkisinden dolayı bu tez çalışmasında bulunması ile daha kapsamlı ve detaylı sonuçlara ulaşmak mümkün olacaktır.

1.4.5 hsa-miR-195-5p

İnsanlarda 17. kromozomda bulunan *MIR195* geninde kodlanan hsa-miR-195-5p, aynı ailede bulunan microRNA-15a/b/16/195/49 diğer üyeler gibi 5' ucunda AGCAGC nükleotit dizisine sahiptir (He vd., 2011; Yu vd., 2018). Birçok onkogen ve tümör baskılayıcı genle olan ilişkilerinden dolayı disregülasyonu başta meme, akciğer, prostat olmak üzere farklı kanser türleriyle ilişkilendirilmiş olan miR-195-5p, esasında

koruyucu bir rolde olup, hücre döngüsünde ve apoptozda görevli proteinlerin mRNA'larının seviyelerinin düzenlenmesinde önemli görevlere sahiptir. Hepatoselüler karsinoma hücreleri ile yapılan bir çalışmada miR-195-5p'nin siklin D1, siklin bağımlı kinaz-6 (Cyclin Dependent Kinase 6; CDK6), ve *E2F3*'ün mRNA'larının 3' UTR'sine bağlanarak ifade seviyelerinin azalmalarına yol açtığı ve hücrenin G1/S geçişini gerçekleştirmediği görülmüştür. İnsan embriyonik kök hücre çalışmalarında ise G2/M fazı geçişinde görev alan *WEE1* geninin ekspresyon seviyesini baskılayarak G2/M geçişini düzenlediği görülmüştür. Ayrıca, kolorektal kanser hücre hatları olan HT29 ve LoVo hücre hatlarında yapılan çalışmalarda miR-195-5p'nin *BCL2* ekspresyon seviyesini azaltarak apoptozu indüklediği görülmüştür (He vd., 2011). Bu sonuçlar, miR-195-5p'nin tümör oluşumunu önleyici ve azaltıcı rollerde görev aldığını göstermekle birlikte birçok kanser türüyle neden ilişkili olduğu sorusuna da cevap vermektedir.

MS'te doku seviyesinde, hücre seviyesinde veya dolaşımında yapılan miRNA profillemeye çalışmalarında ön plana çıkmamış ve daha önce MS ile ilişkisi de ayrıca çalışılmamış olan miR-195-5p'nin MSS'nin nörodejeneratif hastalıklarından olan Parkinson ve Alzheimer ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Ardashirova vd., 2020; Dobricic vd., 2022; Samadian vd., 2021). Ding ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Parkinson hastalarının dolaşımdaki miRNA'ları incelendiğinde kontrollere göre daha fazla eksprese olduğu görülen 5 miRNA'dan biri de miR-195-5p'dir (Ding vd., 2015). Parkinson hastalarının serumlarında yapılan bir diğer çalışmada, miR-195-5p'nin ekspresyon seviyesinin anlamlı ölçüde arttığı gözlemlenmiştir (Ardashirova vd., 2020). ApoE kaynaklı fosfatidil inositol bifosfat (Phosphatidylinositol Bisphosphate; PIP₂) homeostazındaki değişikliklerinin Alzheimer hastalığının ortaya çıkmasında etkili olması ApoE/PIP₂ yoluna etki eden miRNA'ların keşif çalışmalarını da tetiklemiştir. Cao ve arkadaşlarının bu yolaktaki en etkin miRNA olarak tespit ettikleri miR-195-5p'nin ApoE4 aleli bakımından heterozigot olan hastaların beyin dokularında, ApoE4 aleli taşımayanlara nazaran daha düşük seviyede eksprese edildiği görülmüştür. Ayrıca, hastalık ve yaş ilerledikçe beyindeki miR-195-5p seviyesinin de azaldığı görülmüştür (Cao vd., 2021).

Yukarıda bahsedildiği üzere birçok yolakta etkili olan miR-195-5p'nin immün sistemle ilişkisini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Alkol kaynaklı olmayan

karaciğer yağlanması geliştirilmiş olan farelerde yapılan çalışmalarda, miR-195-5p'nin CD40⁺ B hücrelerini inhibe ettiği ve Th17 hücrelerinin oranını azalttığı görülmüştür (Li vd., 2020). Difüz büyük B hücreli lenfoma hastaları ile yapılan bir çalışmada ise artan miR-195-5p seviyesi ile PD-1⁺ T hücrelerindeki IFN- γ ve TNF- α ve IL-10 seviyesini indüklediği görülmüştür (He vd., 2018). Bu sonuçlar, MS'in immünopatolojisinde proenflamatuvar rol oynayan IFN- γ , TNF- α gibi sitokinlerle ve hastalığın ortaya çıkması veya atak dönemlerinde etkin bir faktör olan Th17/Treg dengesiyle ilişkili olması MS'te miR-195-5p'nin rolü olabileceğini göstermektedir.

MSS'nin nörodejeneratif hastalıklarıyla ilişkisinden yukarıda bahsedilmiş olan miR-195-5p'nin bilişsel performansla da ilişkili olabileceğine dair bulgular literatürde mevcuttur (Cao vd., 2021; Huang vd., 2020; Pan vd., 2021; Papa vd., 2018; Zhai vd., 2020). Alzheimer hastalarının BOS'ları ve MMSE performansları değerlendirildiğinde BOS'larındaki miR-195-5p rölative ekspresyon seviyesi ve MMSE skorları arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür. Benzer şekilde, ApoE4 aleli taşıyan farelerde ise miR-195-5p ifade seviyesinin artmasıyla birlikte amiloid plak birikiminin, tau hiperfosforilasyonunun ve bilişsel bozuklukların azaldığı görülmüştür (Cao vd., 2021). Alzheimer hastaları ve sağlıklı kontrollerin post-mortem beyin dokuları ile yapılan bir başka çalışmada, Alzheimer hastalarının entorhinal korteksindeki miR-195-5p ekspresyonunun sağlıklı bireylerinkine nazaran anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür. Bunu takip eden validasyon çalışmasında Alzheimer hastalığı modeli olan P310S farelerinde de aynı sonucun alındığı görülmüştür (Dobricic vd., 2022). İnme geçiren hastalarla yapılan bir çalışmada serum miR-195-5p rölative ekspresyon seviyesiyle Montreal Bilişsel Değerlendirme (Montreal Cognitive Assessment; MoCA) skorları arasında negatif bir korelasyon görülmüştür (Zhai vd., 2020). Amerikan Futbolu oyuncularıyla yapılan bir çalışmada serum miR-195-5p seviyesi yüksek olan oyuncuların bilişsel performanslarının daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Papa vd., 2018). Tedavi almayan şizofreni hastalarıyla yapılan bir çalışmada kadın hastaların serum miR-195-5p rölative ekspresyon seviyesi arttıkça bilişsel performanslarının düştüğü görülürken şizofreni hastalarıyla yapılan bir başka çalışmada PKMH hücrelerinde artan miR-195-5p ekspresyon seviyesiyle bilişsel performansın azaldığı görülmüştür (Huang vd., 2020; Pan vd., 2021). Bu sonuçlar miR-195-5p'nin bilişsel performansla ilişkili

olabileceğini göstermektedir. Bu miRNA'nın MS hastalarının bilişsel performansı ile ilişkisini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Clusterin mRNA'sının, miR-195-5p'nin hedefi olduğu deneysel olarak gösterilmiştir. Kemoterapi ilaç direncinde önemli bir faktör olan clusterinin ifade seviyesinin artması, tedavinin etkilerini önemli ölçüde azaltabilmektedir (Koltai, 2014). Prostat kanseri hücre hattı olan DU145 ve dozetaksel dirençli DU145 hücrelerinde yapılan çalışmalarda miR-195-5p ekspresyon seviyesinin artmasıyla *CLU* ekspresyon seviyesinin ve ilaç direncinin azaldığı görülmüştür. Ayrıca, miR-195-5p'nin clusterin mRNA'sının 3'UTR'sinde bağlanma bölgesi olduğu LRA ile doğrulanmıştır (Ma vd., 2018). Gastrik kanser hücre hatları olan MGC-803 ve MGC-803/5 FU ile yapılan çalışmalarda da miR-195-5p seviyesinin artmasıyla clusterin seviyesinin azaldığı; miR-195-5p seviyesinin azalmasıyla da clusterin seviyesinin arttığı görülmüştür (Mu vd., 2020). Bu sonuçlar, deneysel olarak clusterinin miR-195-5p hedeflerinden olduğunu göstermektedir.

1.5 Çalışmanın Amacı

MS, daha çok genç yetişkinleri etkileyen ve bu yaş grubunda travma harici engelliliğin en yaygın sebebi olan otoimmün, nöroenflamatuvar ve nörodejeneratif bir MSS hastalığıdır (Filippi vd., 2018). Ölümcül olmamakla birlikte hastanın yaşam süresi ve yaşam kalitesini önemli ölçüde olumsuz yönde etkileyen MS'in ortaya çıkmasında tek bir etmen bulunmadığı gibi kesin bir tedavisi de mevcut değildir (Dobson & Giovannoni, 2019). İkizlerde ve ailelerde yapılan çalışmalarla genetik yönü de ortaya çıkan MS'in risk faktörlerinin keşfine olan ihtiyaç günümüzde de devam etmektedir. Fiziksel engelliliğin yanı sıra bilişsel olarak da kişileri etkilemekte ve bu bilişsel bozukluklar hastalığın ilerlemesiyle veya tedavinin yanıtsızlığıyla da ilişkili olabilmektedir (Benedict vd., 2017; Comabella & Khoury, 2012; Reich vd., 2018).

Apolipoprotein ailesinin bir üyesi olan clusterin proteini hücre ölümü ve yaşam yollarında rol oynayan ve başta beyin olmak üzere tüm dokularda eksprese edilen multifonksiyonel bir glikoproteindir (Charnay vd., 2012; Jones & Jomary, 2002). *CLU* SNP'lerinin, nörodejeneratif bir MSS hastalığı olan Alzheimer'ın risk faktörü olduğu birçok çalışmada gösterilmiş olup bu SNP'ler bilişsel bozukluklarla da ilişkili olabilmektedir (Chen vd., 2020; Montañola vd., 2016; Tan vd., 2016; Woody & Zhao,

2016). Ayrıca, plazmadaki clusterin seviyesinin Alzheimer, KOAH ve HBB hastalarında bilişsel bozukluk ve bölgesel atrofilerle ilişkili olduğu bilinmektedir (Aghajpour-Mir vd., 2019; Li vd., 2013; Thambisetty vd., 2010, 2012). Buna karşın, şu ana kadar yetişkin MS hastalarının plazmadaki clusterin seviyesinin hastalıkla ve/veya bilişsel performansla ilişkisine dair bir çalışma yapılmamıştır. Ayrıca, clusterin genetik polimorfizmleri MS hastalık riski bakımından daha önce kapsamlı olarak çalışılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı MS hastalığı riski ile *CLU* SNP'lerinin ilişkilerini incelemek ve plazma clusterin seviyesi ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin hem hastalık riski hem de bilişsel bozukluk ile ilişkilerini belirlemektir. 310 RRMS hastası ve 310 kontrolden oluşan büyük çalışma grubunda *CLU* rs11136000, rs3087554, rs2279590 ve rs1532278 SNP'lerinin RRMS hastalığı riski ve klinik bilgileri ile ilişkisinin kapsamlı bir şekilde incelenmesi amaçlarımızdan ilkidir. 30 naif (herhangi bir MS tedavisi almayan) RRMS hastası, enjektabl tedavi alan 30 RRMS hastası ve 30 sağlıklı kontrollerden oluşan küçük çalışma grubuyla gerçekleştirilen çalışmalarda katılımcıların plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri ile hastalık riski ve bilişsel performansları arasındaki ilişkiler incelenecektir. Yetişkin RRMS hastalarında ilk defa ölçülecek olan plazma clusterin seviyesi *CLU* SNP genotiplerine göre analiz edilecek olup, ayrıca enjektabl tedavi alan ve naif RRMS hastalarındaki seviyeleri de karşılaştırılacaktır. Plazma clusterin seviyesinin kapsamlı bir şekilde MS hastalığıyla ilişkisini inceleyen bu çalışmada ayrıca *CLU* ekspresyon seviyesine etki ettiği bilinen hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p miRNA'larının dolaşımdaki seviyesi ile clusterinin plazma seviyesi arasındaki ilişki de belirlenmiş olacaktır. Ayrıca, bu miRNA'ların MS riski, tedavi durumu ve bilişsel performansla ilişkisi de ortaya koyulacaktır. Bu sayede, clusterinin, *CLU* genetik polimorfizmlerinin ve *CLU* ifade seviyesine etki eden miRNA'ların MS için faydalı biyobelirteçler olup olmayacağı belirlenecektir. Bu kapsamda belirlenen hedeflere ulaşmak için tasarlanan çalışma planı aşağıdaki gibidir:

- Genetik polimorfizmlerin belirleneceği büyük çalışma grubunda, kesin RRMS tanısı alan bireylerden ve sağlıklı kontrollerden tam kan alınması,

- Bu çalışma grubundan alınan tam kandan, modifiye edilmiş tuzla çöktürme yöntemi ile DNA izolasyonunun gerçekleştirilmesi,
- Bu çalışma grubunda, polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) kullanılarak rs11136000 ve rs3087554 SNP bölgelerini içeren spesifik bölgelerin çoğaltılması,
- PCR ile çoğaltılan bu bölgelerin uygun enzimler kullanılarak restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP) yöntemi kullanılarak genotiplerinin belirlenmesi,
- Yine bu büyük çalışma grubundan elde edilen DNA'lar kullanılarak eş zamanlı PCR (Real-Time PCR) metodu kullanılarak rs2279590 ve rs1532278 SNP'lerinin genotiplerinin belirlenmesi,
- Plazma clusterin seviyesinin belirleneceği ve bilişsel test yapılacak küçük çalışma grubundaki naif RRMS hastaları, enjektabl tedavi alan RRMS hastaları ve sağlıklı kontrollerden tam kan alınması ve bu katılımcılara BICAMS testinin yapılması,
- Bu çalışma grubundan alınan tam kan numunelerinden iki saat içinde plazmaların elde edilmesi,
- Bu elde edilen plazma numunelerinden RNA izolasyonunun gerçekleştirilmesi,
- Elde edilen RNA'lardan ters transkriptaz PCR metodu kullanılarak cDNA'larının sentezlenmesi,
- Bu cDNA'lar kullanılarak kantitatif eş-zamanlı PCR (Quantitative Real-Time PCR; qRT-PCR) yöntemi ile plazma hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p rölatif ifade seviyesinin belirlenmesi,
- Yine bu elde edilmiş plazmalardan enzim bağlı immünosorban testi (Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA) ile clusterin seviyesinin belirlenmesi,
- Elde edilen *CLU* SNP genotiplerinin ve alel frekanslarının MS hastaları ile kontrol bireyler arasında karşılaştırılması, hastalık riski açısından ve klinik parametrelerle ilişkilerinin incelenmesi,
- Plazma clusterin konsantrasyonu ile hastalık riski ve tedavi alma durumu arasındaki ilişkinin incelenmesi,

- Plazma hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p ifade seviyesi ile hastalık riski ve tedavi alma durumu arasındaki ilişkinin incelenmesi,
- Plazma hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p ifade seviyesi ile plazma clusterin seviyesi arasındaki ilişkinin incelenmesi,
- Plazma clusterin konsantrasyonu ile *CLU* genotipleri arasındaki ilişkinin incelenmesi,
- Plazma clusterin konsantrasyonu ile BICAMS test skorları arasındaki ilişkinin incelenmesi,
- Plazma hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p ifade seviyesi ile BICAMS test skorları arasındaki ilişkinin incelenmesi,
- Plazma clusterin konsantrasyonu, hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p ifade seviyelerinin MS hastalarının diğer klinik parametreleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi,
- Elde edilen deneysel veriler ile klinik bulguların uygun istatistiksel analiz yöntemleri kullanılarak analizlerin gerçekleştirilmesi.

2. MATERYALLER VE METOTLAR

2.1 Kullanılan Materyaller

2.1.1 Çalışma grupları ve popülasyonlar

Bu tez çalışması kapsamında MS hastalığı için *CLU* genetik polimorfizmleri risk faktörü olarak incelenmiş ve plazma clusterin seviyesinin ve *CLU* geninin ifade seviyesine etki eden miRNA'lerden hsa-miR-21-5p ve hsa-mir-195-5p'nin MS hastalarının bilişsel performansları ile ilişkisi irdelenmiştir. Bunun için, çalışmamız iki farklı popülasyonla yürütülmüştür. Genetik polimorfizm çalışması için Ankara Şehir Hastanesi Etik Kurulu'na başvurulmuş ve E1-21-1957 nolu çalışma 06.10.2021 tarihinde oy birliği ile etik bakımdan uygun bulunmuştur (EK-1).

Plazma clusterin seviyesi ve dolaşımdaki mikroRNA'ların bilişsel performansla ilişkinin incelenmesi için ikinci bir çalışma grubu bulunmaktadır (Grup 2). Bu çalışma için de Ankara Şehir Hastanesi 1 No'lu etik kurula başvurulmuş ve E1-21-1588 kodlu çalışmanın 03.03.2021 tarihinde etik açıdan uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir (EK-2).

Genetik polimorfizm çalışması için (Grup-1) Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Kliniği'ne başvuran ve 2017 McDonald Revize Kriterleri'ne göre kesin MS teşhisi konmuş hastalardan RRMS tanısı alanlar arasından araştırma kriterlerine uyan ve gönüllü olanlar hasta grubuna dahil edilmiştir (Efendi & Yandım-Kuşçu, 2018; Thompson vd., 2018). Benzer şekilde çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun gönüllü sağlıklı bireyler de kontrol grubunu oluşturmuştur. Bu kriterler klinik muayene, MRG, hasta öyküsü, dışlayıcı kriterler içeren bir dizi kompleks süreci içermekle birlikte bir önceki bölümde Çizelge 1.1'de verilmiştir. Bu tanı kriterleri aralarındaki hiyerarşik ilişkiye göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır: Atak sayısı, objektif klinik olarak tespit edilmiş lezyon sayısı ve diğer gerekli ek verilerdir.

Bu kapsamda 310 RRMS hastası ve 310 kontrol birey çalışmaya dahil olma kriterlerini karşılayıp dahil olmama kriterlerini dışlamışlardır. Genetik çalışmaların gerçekleştirileceği Grup-1 için bu kriterler aşağıdaki gibidir:

Hasta grubu için:

- 18-65 yaş grubunda olması
- Revize McDonald 2017 kriterlerine göre kesin MS hastalığı tanısı konmuş olması
- RRMS tanısı konmuş olması
- Bu çalışma için onay veren hastalar

Kontrol grubu için:

- 18-65 yaş grubunda olması
- Demografik özellikleri vaka grubuna benzer olması
- Klinik geçmişinde MS kaydı bulunmaması
- Bu çalışma için onay vermesi

Bu çalışma için araştırmaya dahil olmama kriterleri ise aşağıdaki gibidir:

- Serebrovasküler hastalığı olanlar
- Akut enfeksiyon, ateşli hastalıklar, travma
- Bilinen malign hastalığı olanlar
- Romatolojik hastalıklar
- Kardiyovasküler olay veya kardiyovasküler cerrahi geçirenler
- Renal replasman tedavisi yapılan son dönem böbrek yetmezliği

Araştırma kriterlerinin tamamını yerine getirmeyen veya araştırmaya dahil edilmeme kriterlerinden en az birine sahip olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Plazma clusterin seviyesi ve dolaşımdaki mikroRNA'ların bilişsel performansla ilişkisinin incelenmesi için oluşturulan ikinci çalışma grubu (Grup-2) 30 naif RRMS hastası, 30 enjektabl immünomodülatör tedavi gören RRMS hastası ve 30 sağlıklı kontrol bireyden oluşmaktadır. Bu gruptaki MS hastalarını da 2017 Revize McDonald Tanı Kriterleri'ne göre MS teşhisi almış olan RRMS hastaları oluşturmaktadır. Bu çalışma kapsamında hasta grupları ve kontrol grupları için araştırmaya dahil edilme

kriterleri bulunmaktadır. Naif hastalar için çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- 18-65 yaş grubunda olması
- Revize McDonald 2017 kriterlerine göre kesin MS hastalığı tanısı konmuş olması
- RRMS tanısı konmuş olması
- Daha önce MS tedavisine başlanmamış olması
- Eğer MS dışında başka bir nedenden dolayı kullandıysa, en az üç aydır immünomodülatör veya immünosüpresif ilaç kullanmamış olması
- En az 4 haftadır atak geçirmemiş olması ve herhangi bir atak semptomu göstermemesi
- Bu çalışma için onay vermiş olması

İmmünomodülatör tedavi alan gruba dahil olan hastalar için çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- 18-65 yaş grubunda olması
- Revize McDonald 2017 kriterlerine göre kesin MS hastalığı tanısı konmuş olması
- RRMS tanısı konmuş olması
- Glatiramer asetat veya IFN- β ilaç gruplarından birini kullanıyor olması
- En az 4 haftadır atak geçirmemiş olması
- Herhangi bir atak semptomu göstermemesi
- Bu çalışma için onay vermiş olması

Kontrol grubu için çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- 18-65 yaş grubunda olması
- Demografik özellikleri hasta grubuna benzer olması
- Klinik geçmişinde MS kaydı bulunmaması
- Bu çalışma için onay vermesi
- Son 3 ay içinde immün-modülatör ve immün-baskılayıcı ilaç kullanmaması
- Bilinen bilişsel bozukluğu olmaması

Bu çalışma için gönüllülerin çalışmaya dahil edilmeme kriterleri aşağıdaki gibidir:

- Akut enfeksiyon, travma, ateşli hastalıkları olanlar
- Bilinen malign hastalığı olanlar
- Romatolojik veya diğer otoimmün hastalığı olanlar
- Bilinen nörodejeneratif bir hastalığı olanlar
- Araştırma kriterlerinin tamamını yerine getirmeyen hastalar
- Çalışmaya katılmak istemeyen hastalar
- Katılımcının kendi isteğiyle araştırma grubundan çıkmak istemesi

Araştırma kriterlerinin tamamını yerine getirmeyen veya araştırmaya dahil edilmeme kriterlerinden en az birine sahip olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

2.1.2 Numunelerin toplanması

2.1.2.1 Genotipleme için tam kan örneklerinin toplanması

Genetik polimorfizm çalışma grubu olan Grup-1'e katılmak için gönüllü olan RRMS tanılı hastalar ve kontrol bireyler araştırmaya dahil edilme kriterlerini sağlayıp dahil edilmeme kriterlerini dışladıkları durumda çalışmaya alınmışlardır. Bu çalışmaya dahil olan bireylerin tam kan örnekleri Na-EDTA'lı tüplere alınmış ve teslim alınana kadar -20 °C'de derin dondurucularda saklanmıştır. Hastaneden teslim alınan kan örnekleri soğuk kutu içerisinde laboratuvara getirilmelerinin ardından -86 °C'ye kaldırılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilene kadar saklanmışlardır.

2.1.2.2 Plazma örneklerinin toplanması

Dolaşımdaki mikroRNA ekspresyon seviyesinin ve plazma clusterin seviyesinin ölçümünün yapılacağı çalışma grubu olan Grup-2'ye katılmak için gönüllü olan bireyler araştırmaya dahil edilme kriterlerini sağlayıp dahil edilmeme kriterlerini dışladıkları durumda çalışmaya alınmışlardır. Katılımcıların Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Polikliniği'nde bilişsel değerlendirmeleri yapılmış ve 10 mL'lik Na-EDTA'lı tüplere tam kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri en fazla iki saat içerisinde laboratuvara soğuk kutular içerisinde getirilmiş ve +4 °C'de santrifüj edilerek plazma fazları ayrılmıştır. Plazma fazı, RNase ve DNase içermeyen tüplere alikotlanarak kullanımlarına kadar -86 °C'de saklanmışlardır. Santrifüjleme işlemleri Hettich

Universal 320R (Tuttligen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Plazma alikotlarının hacimleri, dondurma-çözme döngüsü yaşanmasını engellemek için çalışmalarda gerekli olacak miktarlar dikkate alınarak belirlenmiş ve herhangi bir alikot çözdürüldükten sonra tekrar saklanmamıştır.

2.1.3 Kullanılan malzemeler

Bu çalışmada kullanılmış olan malzemeler, üretici firma adları ve üretim yerleriyle birlikte EK-3'te liste halinde verilmişlerdir. Kullanılan malzemelerin, moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarına uygun olmasına özen gösterilmiştir.

2.1.4 Kullanılan cihazlar

Bu çalışma için kullanılan cihazlar, üretici firma adları ve üretim yerleriyle birlikte EK-4'te liste halinde verilmişlerdir.

2.1.5 Primerler

2.1.5.1 Genotipleme çalışmalarında kullanılan primerler

Genetik polimorfizm çalışma grubunun SNP'lerinden PCR-RFLP metodu ile genotipleri belirlenecek olan rs11136000 ve rs3087554 için birer çift primer temin edilmiştir. Bu primerlerin dizileri için, ekibimizde daha önce bu SNP'leri XFS ve XFG hastalarında çalışmış olan Sinem Demirkaya Budak'ın tez çalışmasına başvurulmuştur (Demirkaya-Budak , 2018). Primerlerin dizileri ve üretim yerleri EK-5'te verilmiştir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) saflaştırılmalı olarak temin edilen liyofilize primerler üretici firmanın önerdiği miktarda distile su ile çözdürülerek 100 pmol/mL konsantrasyona getirilmiş ve kullanılacakları zamana kadar alikotlanarak -20 °C'de saklanmıştır. Primerler, 10 pmol/mL konsantrasyonda kullanılmışlardır.

Eş zamanlı PCR (RT-PCR) ile genotipleme çalışmaları yapılacak olan rs2279590 ve rs1532278 SNP'leri için TaqMan SNP Genotyping Assay kitleri kullanılmıştır. Bu genotipleme kitleri floresan işaretli TaqMan prob teknolojisine sahiplerdir. Bu SNP'lerden rs1532278 için üretilmiş olan kit valide edilmişken rs2279590 SNP'si için üretilmiş kit fonksiyonel olarak üretici firma tarafından test edilmiştir. Genotipleme kitlerinin bilgileri EK-5'te verilmiştir.

2.1.5.2 Plazma mikroRNA ekspresyon seviyesi belirlemede kullanılan primerler

Bu çalışma kapsamında plazmadaki hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p ifade seviyelerini tespit etmek için qRT-PCR metodu kullanılmıştır. Bu çalışma kapsamında iki hedef miRNA (hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p), sentetik spike-in kontrol (UniSp6) ve referans miRNA (hsa-miR-16-5p) için valide ve optimize edilmiş olan miRCURY LNA miRNA PCR Assay primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin bilgileri, üretim yerleri ve miRNA'ların olgun dizileri Çizelge 2.11'de verilmiştir.

2.2 Metotlar

2.2.1 Tam kandan DNA izolasyonu ve genotipleme çalışmalarına hazırlanması

2.2.1.1 Tam kandan DNA izolasyonu prosedürü:

Genotiplerin belirlenmesi için tam kan numunelerinden DNA izolasyonu, Lahiri ve Schnabel'in tarif ettiği tuzla çöktürme metodunun modifiye edilmiş versiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Koçan, 2018). 750 µL tam kan numunesinin 2 mL'lik DNase/RNase içermeyen mikrosantrifüj tüplerine alınmasının ardından eşit hacimde TKM tamponu (pH 7.6; 10 mM Trizma bazı, 10mM KCl, 2mM EDTA.H₂O, 4 mM MgCl₂) ile dilüe edilir ve hafifçe karıştırıldıktan sonra 20 µL Triton X-100 bu karışıma ilave edilerek tüp kapağı kapalı bir şekilde alt üst edilir. Sabit açılı rotora sahip santrifüjde 10 dk 1.000 g'de santrifüj edildikten sonra kırmızı kan hücreleri yoğunluklu süpernatant atılır ve 750 µL TKM tamponu eklenerek pelet çözdürüldükten sonra tekrar aynı koşullarda santrifüj işlemi gerçekleştirilir. Kırmızı kan hücrelerinin kontaminasyonu elimine edilene kadar bu işlem tekrarlanır. Pelette görünür bir kırmızılık kalmamasının ardından 200 µL TKM tamponunda çözdürülür ve akyuvarları içeren bu karışıma %10'luk sodyum dodesil sülfat çözeltisinden 10 µL eklenip 58 °C'de 10 dk inkübe edilir. İnkübasyon sonunda soğuk ve doymuş NaCl çözeltisinden 75 µL ilave edilip tüpler birkaç defa alt-üst edilir. +4 °C'de 10 dk boyunca 14.000 g'de santrifüj edilen tüpler santrifüj işlemi sonrasında yavaşça alınarak oluşan faz farkının kaybolmamasına dikkat edilmelidir. Dipteki peleti rahatsız etmeyecek şekilde, süpernatanttan yaklaşık 300 µL alınıp yeni bir 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Bu yeni tüpte bulunan süpernatantın üstüne, hacminin iki misli kadar soğuk etanol ilave edilerek DNA'nın presipitasyonu sağlanmış olur.

Tüpün birkaç defa hızlı bir şekilde alt-üst edilmesiyle DNA'nın bir araya gelmesi sağlanır ve 30 dk boyunca -20 °C'de inkübe edilir. İnkübasyon sonunda DNA'nın pelet olarak elde edilmesi amacıyla +4 °C'de 10 dk boyunca 10.000 g'de tüpler santrifüj edilir ve santrifüj sonunda süpernatant fazı atılır. Etanolün buharlaşarak uzaklaşması için bir süre beklendikten sonra pelet 100 µL Tris-EDTA (TE, pH 8.0; 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA.H₂O) tamponunda çözündürülerek 37 °C'de 3 saatten az olmayacak sürede inkübe edilir. İnkübasyonunun ardından izole edilen DNA'lar -20 °C'de saklanmıştır.

2.2.1.2 Genomik DNA'nın kalitatif ve kantitatif analizi

Numunelerden izole edilen DNA'nın konsantrasyonunun ve kalitesinin belirlenmesi için spektrofotometrik metotlara başvurulmuştur. Bu işlem için laboratuvarında bulunan Thermo Scientific NanoDrop™ One Microvolume UV-Vis spektrofotometresi (Wisconsin, ABD) kullanılmıştır. Bunun için çalışma öncesinde distile su ile cihazın pedalları silinmiş ve DNA'nın çözdürüldüğü TE tamponu kullanılarak cihaza kör (blank) tanıtılmıştır. Bu işlem sonrasında DNA örneklerinden 2 µL kullanılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Cihaz, barındırdığı yazılım sayesinde otomatik olarak 260, 280 ve 230 nm'de ölçümler alarak Beer-Lambert yasasına uygun bir şekilde DNA konsantrasyonunu hesaplayarak kantitatif analizi gerçekleştirirken aynı anda DNA safsızlıklarını da belirlemektedir. A260/280 oranının 1.8 civarında olması durumunda DNA'nın gerekli saflıkta olduğuna karar verilirken bu oranın 1.8'den yüksek olması RNA kontaminasyonuna yorulmaktadır. 1.8'den daha düşük oranlar ise protein kontaminasyonuna yorulur.

2.2.2 CLU rs11136000 ve rs3087554 tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplenmesi

2.2.2.1 CLU rs1113600 için genotipleme

CLU rs11136000 SNP'sinin genotiplenmesi için Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism, PCR-RFLP) metodu kullanılmıştır. Bunun için ilk olarak genin hedef bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve sonrasında PCR'ı başarılı gerçekleştirdiği tespit edilen numuneler uygun kesim enzimi ile inkübe edilmiştir. Kesim

işlemi sonrası oluşan parçaların uzunlukları agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiş ve bu şekilde genotipleme işlemi gerçekleştirilmiştir.

CLU rs11136000 SNP'sini de içerecek şekilde genin uygun bir bölümünün hedeflenmesi gerekmektedir. Bunun için EK-5'te dizisi belirtilen ileri ve geri primerler kullanılmıştır. Bu primerlerin tanıdığı gen bölgesinin nükleotit dizileri Şekil 2.1'de verilmiştir. Burada mavi kutucuk içindeki alanlar ileri ve geri primerlerin bağlandıkları bölgeyi göstermektedir. Kırmızı çerçeve içindeki kısım *ApoI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesini gösterirken, yeşil işaretli alel polimorfizmin olduğu nükleotidi belirtmektedir.

```
CATCTTCAAAGCAGGCTG CAGACTCCCTGAATCTTACCTTTCTATTGCAACC  
ATGCCTCCTGGCGTGCAAAGGGAATGGCAGGCATTCAGCACCAAAGCCACACC  
AGCTATCAAAA[C/T]TC TCTAACGGGCCCTTGCCACTTGACCCAATAATTCT  
GTAAGAATCTGTCTCAGGCCAGGTGCGGCAGCTGACACCTGTAATCCCAGCAC  
TTTGGGAGGCCGAGGCAG GCATATTACTTGGGGTCAGG AGTTTGAGACCAGCC
```

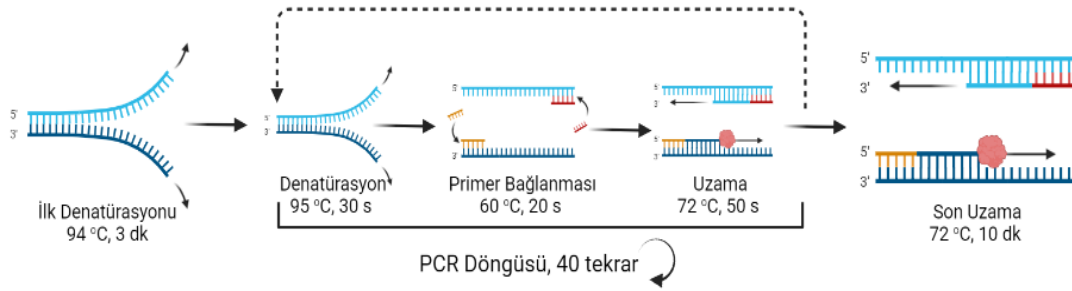
Şekil 2.1: PCR ile çoğaltılan rs11136000 C/T SNP'sini içeren bölgenin dizisi ve *ApoI* restriksiyon endonükleaz enziminin tanıdığı dizinin gösterimi.

PCR işlemi Eppendorf Mastercycler® Nexus (Hamburg, Almanya) termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun içerik ve cihazın çalışma koşulları bakımından optimizasyonu için Demirkaya-Budak'ın tez çalışmasına başvurulmuştur (Demirkaya-Budak, 2018). Buna göre, 200 ng kalıp DNA kullanılarak çalışmanın yapılması planlanmış ve amonyum sülfatlı amplifikasyon tamponunun kit üreticisinin önerdiği son konsantrasyonda kullanılmasına karar verilmiştir. Optimize koşullara göre $MgCl_2$ 2.0 mM, primerler 400 nM ve serbest nükleotitleri içeren dNTP karışımı ise 200 μM son konsantrasyonda olacak şekilde kullanılırken reaksiyonu gerçekleştiren Taq Polimeraz enziminin son konsantrasyonu 1.25 ünitidir. Reaksiyonlar, 50 μL hacimde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1: *CLU* rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmakta kullanılan PCR ana karışımının içerikleri.

İçerik	Gerekli Hacim (1 tüp için)	Stok konsantrasyonu	Son konsantrasyon (50 µL)
Steril Su	Değişken	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄ içeren Buffer	5 µL	10X	1X
Magnezyum Klorür	4 µL	25 mM	2.0 mM
dNTP karışımı	1 µL	10 mM	200 µM
İleri primer	2 µL	10 pmol/µL	20 pmol (400 nM)
Geri primer	2 µL	10 pmol/µL	20 pmol (400 nM)
Taq DNA polimeraz	0.25 µL	5 U/µL	1.25 U
DNA	Değişken		

CLU rs11136000 SNP'sini içeren bölgenin çoğaltılması için optimize termal döngü programı Şekil 2.2'de temsilen gösterilmektedir.



Şekil 2.2: *CLU* rs11136000 C/T SNP'sini içeren bölgenin çoğaltılması için kullanılan PCR programının temsili gösterimi.

PCR reaksiyonu sonucunda oluşan ürünler agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir. Kullanılan primerlerin dizileri ve çoğaltıldıkları bölgeler dikkate alındığında PCR ürününün 246 bp boyutunda olması beklenmektedir. Bunların tespiti için %2'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce, jelin döküleceği kalıp, tarak ve diğer malzemeler %70'lik etanol ile temizlenmişlerdir. 2 g toz agaroz hassas terazi yardımıyla tartıldıktan sonra son konsantrasyonu 0.5X olan 100 mL Tris-Borat-EDTA (TBE, pH 8.3; 45 mM Trizma bazı, 45 mM Borik asit, 1 mM EDTA.2H₂O) ile erlen içerisinde karıştırılır. Mikrodalga fırında ısı yardımıyla çözdürülen agarozun karıştırdığından emin olunduktan sonra su altında hazırlanan jel karışımı yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulur. Stok konsantrasyonu 10 mg/mL olan etidyum bromürün (EtBr)

son konsantrasyonu 0.5 µg/mL olacak şekilde ayarlanarak 5 µL eklenir ve dumani solunmamaya çalışılarak iyice karıştırılır ve karışım kalıba dökülür. Jelde oluşan hava kabarcıkları giderildikten sonra tarak yerleştirilir ve jel katılaşmaya bırakılır. Elektroforez işleminin gerçekleştirileceği tankta elektriksel alanın düzenli dağılmasını sağlamak amacıyla jel hazırlanırken kullanılmış olan 0.5X konsantrasyonundaki TBE tamponu ile elektroforez tankı doldurulur. Çalışmalarda kullanılmış olan midi boy elektroforez tankı yaklaşık 400 mL 0.5X TBE tamponu ile yeterli seviyede dolmaktadır. Jel, katılaştıktan sonra tarak kısmı katota gelecek şekilde yerleştirilir ve üstünde kalan tampon seviyesi ise jelin yaklaşık olarak 1 mm üzerinde olmalıdır. Tarak dikkatli bir şekilde çıkarıldıktan sonra PCR ürünleri, jel yükleme tamponu ile karıştırılarak yüklenir. 2 µL jel yükleme tamponu µL (10 mM Tris-HCl (pH 7.6), 0.03% bromofenol mavisi, 0.03% xylene cyanol FF, 60% gliserol ve 60 mM EDTA) 15 µL PCR ürünü ile karıştırılarak kuyucuklara yüklenir ve 4-10 V/cm kuralı dikkate alınarak 120 V'ta 45 dk ürünler yürütülür. Yürütülme sonrasında jel Vilber-Lourmat UV görüntüleme cihazı (Collégien, Fransa) kullanılarak görüntülenmiş ve jel görüntüleri kaydedilmiştir. 246 bç boyutunda, tek bant olarak görünen numunelerin PCR'nın başarılı bir şekilde gerçekleştiği kabul edilmiştir ve bu numunelere kesim işlemi gerçekleştirilmiştir.

Kesim işlemi, ilgili SNP'nin genotiplemesine imkân verecek tanıma bölgesine sahip uygun enzim kullanarak gerçekleştirilmiştir. *CLU* rs11136000 SNP'sinin genotiplenmesi için uygun enzim olarak *ApoI* enzimi kullanılmıştır. *ApoI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3: *ApoI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi (URL-10).

Burada Y sitozin veya timin (C veya T) olabilirken R adenin veya guanin (A veya G) olabilmektedir. Buna göre, numunede polimorfik nükleotidin T olması durumunda enzim diziyi tanıırken, C nükleotidi olması durumunda ise enzim diziyi tanımayacak ve herhangi bir kesim işlemi gerçekleşmeyecektir. Cinsiyet kromozomları hariç her bir kromozomun çiftler halinde genetik materyalde bulunduran diploit canlıların

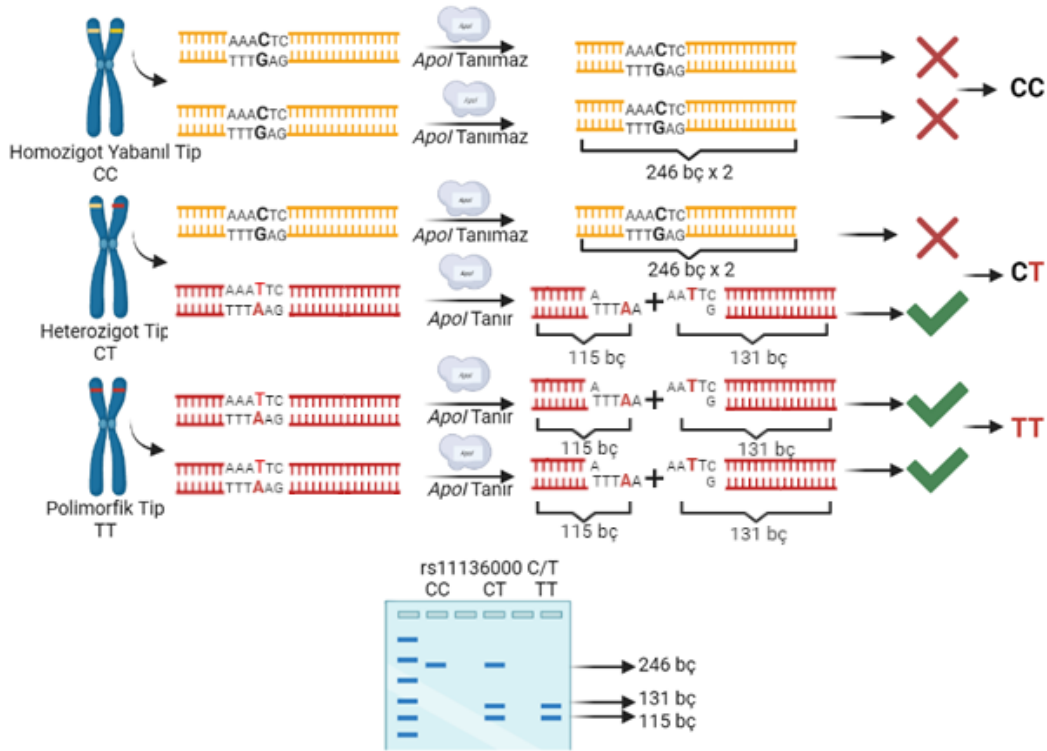
genotipleri aleller olarak gösterilmektedir. Bu yüzden, *CLU* rs11136000 C/T SNP'sinin genotipleri de CC, CT veya TT olarak belirlenmiştir.

Kesim işlemi, PCR'ı başarılı bir şekilde gerçekleştiren ürünlere uygulanmıştır. Kesim reaksiyonu için kullanılan ana karışımın içeriği Çizelge 2.2'de verilmiştir. Reaksiyon tamponunun karışımdaki son konsantrasyonu 1X olacak şekilde karışıma eklenirken 10 µL PCR ürünü için 10 U *ApoI* enzimi kullanılmıştır. Son reaksiyon hacmi 30 µL'dir. Bu SNP'nin kesiminde kullanılan *ApoI* enzimi için üretici firmanın önermiş olduğu reaksiyon koşulları 5-15 dakika arasında olmasına karşın yapılan optimizasyon çalışmalarında en uygun koşulun 50 °C'de 40 dakika olduğu görülmüştür. BioSan marka termostat blokta inkübe edilerek kesimi gerçekleştirilen ürünler, jelde yürütülecekleri zamana kadar +4 °C'de muhafaza edilmişlerdir.

Çizelge 2.2: *CLU* rs11136000 C/T SNP'si için hazırlanan restriksiyon endonükleaz enzimi içeren ana karışım içeriği.

İçerik	Gerekli hacim (1 tüp için)	Stok konsantrasyon	Son konsantrasyon (30 µL'de)
Steril Su	16 µL	---	---
NEB buffer 3.1	3 µL	10 X	1 X
<i>Apo I</i>	1 µL	10000 U/ml	10 U
PCR ürünü	10 µL	---	---

Kesim ürünleri % 2.5'lik agaroz jel kullanılarak analiz edilmiştir. Agaroz jel, bölüm 2.2.3.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanmış olup farklı olarak yalnızca son konsantrasyonun %2.5 olabilmesi için 2.5 gr agaroz kullanılmıştır. 15 µL kesim ürünü ile 2 µL jel yükleme tamponu karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiştir. Sonuçlar, UV görüntüleme cihazı kullanılarak görüntülenmişlerdir. TT genotipe sahip numuneler 131 ve 115 bç olmak üzere yalnızca iki bant halinde görüntü verirken CC genotipli olanlar 246 bç boyutunda tek bant halinde görüntü vermektedir. CT genotipli numuneler ise 246, 131 ve 115 bç boyutlarında olmak üzere üç bant olacak şekilde görüntü vermektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: *CLU* rs11136000 C/T SNP'sinin PCR-RFLP metodu ile genotiplenmesi işleminin şematik gösterimi.

2.2.2.2 *CLU* rs3087554 için Genotipleme

CLU rs3087554 SNP'sinin genotiplenmesi için PCR-RFLP metodu kullanılmıştır. Bunun için ilk olarak genin hedef bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve sonrasında PCR'ı başarılı gerçekleştiği tespit edilen numuneler uygun kesim enzimi ile inkübe edilmiştir. Kesim işlemi sonrası oluşan parçaların uzunlukları agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiş ve bu şekilde genotiplenme işlemi gerçekleştirilmiştir.

CLU rs3087554 SNP'sini de içerecek şekilde genin uygun bir bölümünün hedeflenmesi gerekmektedir. Bunun için 2.1.5.1. numaralı bölümde belirtilen ileri ve geri primerler kullanılmıştır. Bu primerlerin tanıdığı gen bölgesinin nükleotit dizileri Şekil 2.5'te verilmiştir. Burada mavi kutucuk içindeki işaretli alanlar ileri ve geri primerlerin bağlandıkları bölgeyi göstermektedir. Kırmızı çerçeve içindeki kısım *AclI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesini gösterirken, yeşil işaretli alel polimorfizmin olduğu nükleotidi belirtmektedir.

AGATTGTCGCACCTTGGTCAGAATACATCGACAGTTTTATAATAGAACAGAAA
 AGCTTCCATTTGCAGCAATATATTTTAGTTGGCTTGTGAAACACATCTCTCT
 TCCTGAAAGCAAGCAATTCTTGAAGTGGATCAACCTTGTCATCATATCCCTTT
 TATTCTTCACCCTTTTATTCTTCACTGGTATGACAGTCCCTATAACCATCTTAG
 CCACTGCTTTTTTGTCTACTTATTTCCATCCCCCTGC**C[T/C]GC**CCCC
 CATAGCAAATGAAGGCATGCCGGAAGCAGCAACTCAACATAAAAAGAGGAC
CTCCAAGCGATCAGCTACAAGACAGTTTTATTGAATTAGTTGCATGCAGGA

Şekil 2.5: PCR ile çoğaltılan rs3087554 T/C SNP'sini içeren bölgenin dizisi ve enzimin adını yaz restriksiyon endonükleaz enziminin tanıdığı dizinin gösterimi.

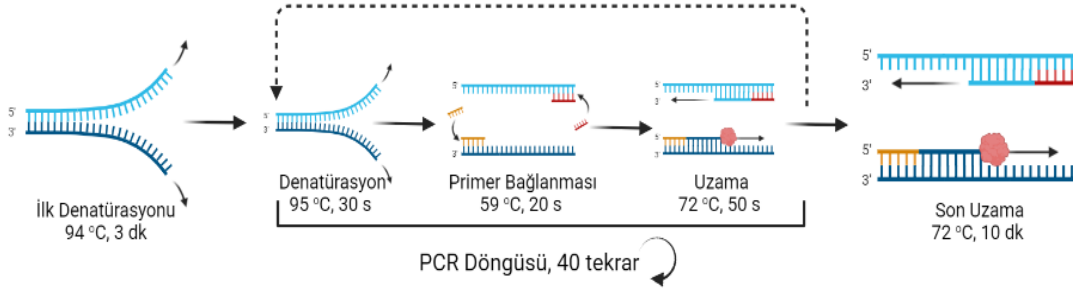
PCR işlemi Eppendorf Mastercycler termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun içerik ve cihazın çalışma koşulları bakımından optimizasyonu için Demirkaya-Budak'ın tez çalışmasına başvurulmuştur. Buna göre, 200 ng kalıp DNA kullanılarak çalışmanın yapılması planlanmış ve amonyum sülfatlı amplifikasyon tamponunun kit üreticisinin önerdiği son konsantrasyonda kullanılmasına karar verilmiştir. Optimize koşullara göre MgCl₂ 1.5 mM, primerler 400 nM ve serbest nükleotitleri içeren dNTP karışımı ise 200 µM son konsantrasyonda olacak şekilde kullanılırken, reaksiyonu gerçekleştiren Taq Polimeraz enziminin son konsantrasyonu 1.25 ünedir. Reaksiyonlar, 50 µL hacimde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2.3)

Çizelge 2.3: *CLU* rs3087554 T/C SNP bölgesini çoğaltmakta kullanılan PCR ana karışımının içerikleri.

İçerik	Gerekli Hacim (1 tüp için)	Stok konsantrasyonu	Son konsantrasyon (50 µL)
Steril Su	Değişken	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄ içeren Buffer	5 µL	10X	1X
Magnezyum Klorür	3 µL	25 mM	1.5 mM
dNTP karışımı	1 µL	10 mM	200 µM
İleri primer	2 µL	10 pmol/µL	20 pmol (400 nM)
Geri primer	2 µL	10 pmol/µL	20 pmol (400 nM)
Taq DNA polimeraz	0.25 µL	5 U/µL	1.25 U
DNA	Değişken		

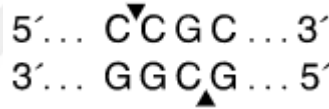
CLU rs3087554 T/C SNP'sini içeren bölgenin çoğaltılması için optimize termal döngü programı Şekil 2.6'da özetlenmiştir. PCR reaksiyonu sonucunda oluşan ürünler agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir. Kullanılan primerlerin dizileri ve çoğaltıldıkları

bölgeler dikkate alındığında PCR ürününün 335 bp boyutunda olması beklenmektedir. Bunların tespiti için %2'lik agaroz jel bölüm 2.2.2.1'de olduğu gibi hazırlanmış ve aynı bölümde anlatıldığı gibi jelin görüntülenmesi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.6: *CLU* rs3087554 T/C SNP'sini içeren bölgenin çoğaltılması için kullanılan PCR programının temsili gösterimi.

Kesim işlemi, ilgili SNP'nin genotiplemesine imkân verecek tanıma bölgesine sahip uygun enzim kullanarak gerçekleştirilmiştir. *CLU* rs3087554 SNP'sinin genotiplenmesi için uygun enzim olarak *AciI* enzimi kullanılmıştır. *AciI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda verilmiştir Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.7: *AciI* enziminin tanıma bölgesi (URL-11).

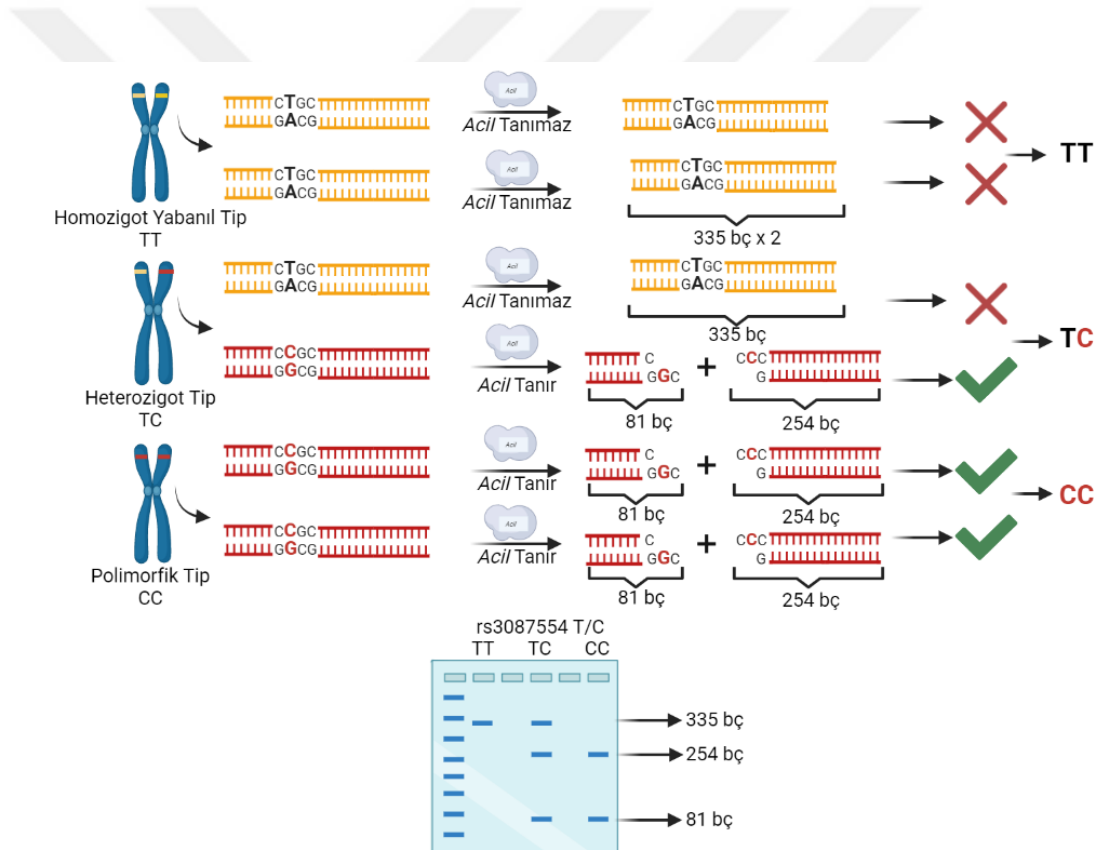
Buna göre, numunede polimorfik nükleotidin C olması durumunda enzim diziyi tanıırken, T nükleotidi olması durumunda ise enzim diziyi tanımayacak ve herhangi bir kesim işlemi gerçekleşmeyecektir. Cinsiyet kromozomları hariç her bir kromozomun çiftler halinde genetik materyalde bulunduran diploit canlıların genotipleri aleller olarak gösterilmektedir. Bu yüzden, *CLU* rs3087554 SNP'sinin genotipleri de TT, TC veya CC olarak belirlenmiştir (Şekil 2.8).

Kesim işlemi, PCR'ı başarılı bir şekilde gerçekleşen ürünlere uygulanmıştır. Kesim reaksiyonu için kullanılan ana karışımın içeriği Çizelge 2.4.'te verilmiştir. Reaksiyon tamponunun karışımdaki son konsantrasyonu 1X olacak şekilde karışıma eklenirken 10 µL PCR ürünü için 10 U *AciI* enzimi kullanılmıştır. Son reaksiyon hacmi 30 µL'dir. Bu SNP'nin kesiminde kullanılan *ApoI* enzimi için üretici firmanın önermiş olduğu reaksiyon koşulları 5-15 dakika arasında olmasına karşın yapılan optimizasyon

çalışmalarında en uygun koşulun 37 °C’de 60 dakika olduğu görülmüştür. BioSan marka termostat blokta kesimi gerçekleştirilen ürünler, yürütülecekleri zamana kadar +4 °C’ye kaldırılmıştır.

Çizelge 2.4: *CLU* rs3087554 T/C SNP’si için hazırlanan restriksiyon *Acil* endonükleaz enzimi içeren ana karışım içeriği

İçerik	Gerekli hacim (1 tüp için)	Stok konsantrasyon	Son konsantrasyon (30 µL’de)
Steril Su	16 µL	---	---
CutSmart buffer	3 µL	10 X	1 X
<i>Acil</i>	1 µL	10000 U/mL	10 U
PCR ürünü	10 µL	---	---



Şekil 2.8: *CLU* rs3087554 T/C SNP’sinin PCR-RFLP metodu ile genotiplenmesi işleminin şematik gösterimi.

Kesim ürünleri % 3’lük agaroz jel kullanılarak analiz edilmiştir. Agaroz jel, bölüm 2.2.3.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. 15 µL kesim ürünü ile 2 µL yükleme tamponu karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiştir. Sonuçlar, UV görüntüleme cihazı

kullanılarak görüntülenmişlerdir. CC genotipe sahip numuneler 254 ve 81 bç olmak üzere yalnızca iki bant halinde görüntü verirken TT genotipli olanlar 335 bç boyutunda tek bant halinde görüntü vermektedir. TC genotipli numuneler ise 335, 254 ve 81 bç boyutlarında olmak üzere üç bant olacak şekilde görüntü verilmektedir (Şekil 2.7).

2.2.3 CLU rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplenmesi

CLU rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotiplenmesi için eş zamanlı PCR (Real-time PCR) cihazında alel-spesifik TaqMan genotiplenme problemleri kullanılmıştır. Kullanılan SNP genotiplenme kitlerin katalog bilgileri, üretim yerleri ve prob dizileri EK-5'te verilmiştir. Kullanılan genotiplenme kitlerinden rs1532278 C/T SNP'si için olan valide edilmişken, rs2279590 C/T için olan kit fonksiyonel olarak test edilmiştir.

Real-time PCR cihazları ile gerçekleştirilen bu genotiplenme metodunda, aynı kuyucuk içerisinde hem PCR reaksiyonu hem de genotiplenme işlemi aynı anda gerçekleşmektedir. Reaksiyon karışımında genotiplenme kiti, genotiplenme ana karışımı ve izole edilmiş genomik DNA'lar bulunmaktadır.

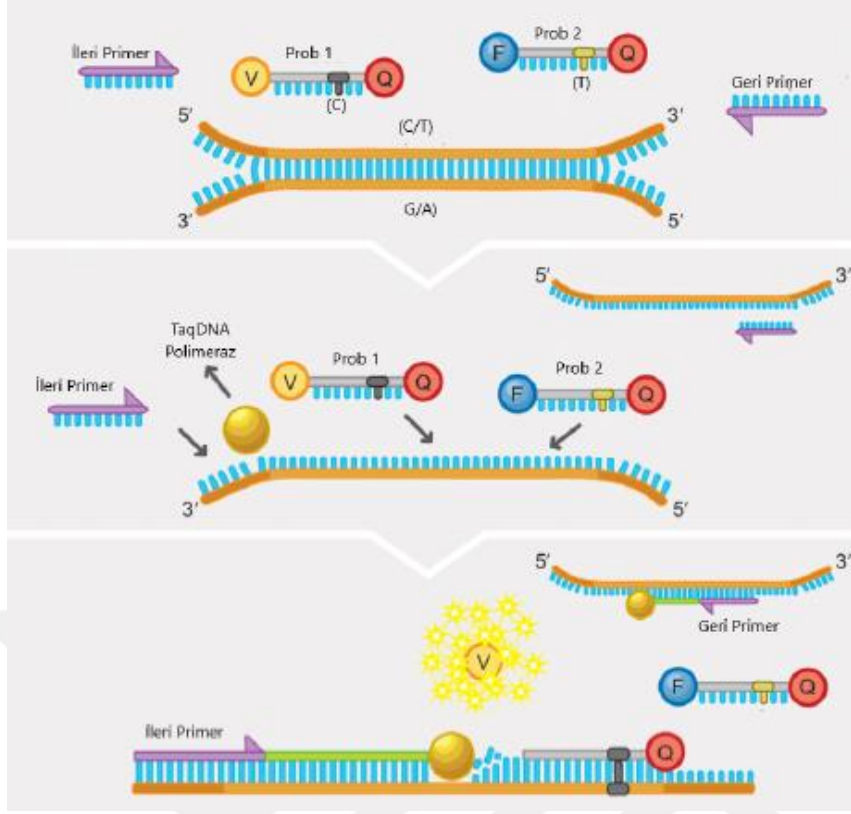
Genotiplenme ana karışımı için TaqMan SNP Genotyping Assay kullanılmıştır. Ana karışım içerisinde reaksiyonu gerçekleştirecek olan AmpliTaq Gold™ DNA polimeraz, pasif referans olan ROX boyası, dNTP'ler ve tamponlar bulunmaktadır. Genotiplenme kitleri ise, SNP bölgesini hedefleyen ileri ve geri primerlerle birlikte SNP'nin alellere spesifik olan iki tip prob içermektedir. Bu problemlerden bir tanesi yabancı tip alele eşleşirken diğer tip prob ise polimorfik alele eşleşmektedir. İki prob da 5' ucunda farklı floresan boyaya sahiptir. Genotiplenme işlemi de bu farklı floresan işaretçilerin farklı dalga boyunda ışınım yapmaları sayesinde gerçekleştirilmektedir. Bu tez çalışması kapsamında genotiplenmede kullanılan SNP genotiplenme kitlerinin alellere karşılık gelen floresan boyalar Çizelge 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 2.5: *CLU* rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP genotipleme kitlerinde alellere spesifik problemlerin taşıdıkları floresan boyalar.

SNP	Katalog ID	FAM	VIC
rs1532278 C/T	C__1522420_1_	T	C
rs2279590 C/T	C__1842470_20	T	C

TaqMan problemleri, hedef bölgeye bağlanabilen tamamlayıcı spesifik dizilere sahip oligonükleotitler olup probun 5' ucunda floresan boyalı işaretçi (reporter) ve 3' ucunda floresan olmayan sönmüleyici (quencher) molekül bulunur. Reporter, normal şartlar altında belirli dalga boyunda aldıkları ışığı yansıtırken, bir quencher yakınından Förster rezonans enerji transferi (FRET) mekanizmasına uygun bir şekilde ışığa quencher molekül tarafından sönmelenmektedir. Bu yöntem ile gerçekleştirilen eş zamanlı PCR reaksiyonunda ilk olarak konvansiyonel metotta olduğu gibi başlangıç denatürasyonunun gerçekleşmesinin ardından döngüsel aşama başlamaktadır. Denatürasyona müteakip gerçekleşen bağlanma aşamasında spesifik bölgenin sınırlarına ileri ve geri primer bağlanırken SNP'yi içeren diziyeye de alel spesifik TaqMan probu bağlanmaktadır. Bağlanan prob, dizide yabancı veya polimorfik tip alel içermesine göre değişiklik gösterecektir. Uzama aşamasında görevli DNA polimerazın 3' ekzonükleaz aktivitesi sayesinde reporter ve quencher'ı fiziksel olarak bir arada tutan probu dağıtarak floresanın tekrardan serbest bir şekilde ışığa yapmasını sağlamaktadır. Her bir döngü sonunda ortamdaki floresan sinyalinin ölçülerek kaydedilmektedir. Bu reaksiyon, Şekil 2.9'da özetlenmiştir.

Reaksiyon sonunda kaydedilen sinyallere göre örnekler, yaydıkları dalga boylarına göre alelik dağılım haritasına dağılmaktadırlar. Alelik dağılım haritasının eksenlerini yabancı tip alel ve polimorfik alel oluşturmaktadır ve yaydıkları sinyal yoğunluklarına göre grafikte bulunmaktadır. Homozigot yabancı tip ve homozigot polimorfik tip olan örnekler X veya Y eksenine yakın olacak şekilde eksen boyunca dizilirken heterozigot örnekler eksenlerin orta bölgesinde yoğunluk göstermektedirler. Örneklerin genotipleri, alınan sinyallerden otomatik olarak cihaz yazılımı tarafından veya manuel olarak belirlenebilmektedir.



Şekil 2.9: TaqMan problemlerinin çalışma mekanizması.

2.2.3.1 *CLU* rs2279590 C/T için genotipleme

CLU rs2279590 C/T SNP'sinin genotiplenmesi için kullanılan SNP genotipleme kitinin bilgileri EK-5'te verilmiştir. Reaksiyon karışımı, genotipleme ana karışımı, genotipleme kiti ve genomik DNA'dan oluşmaktadır.

Reaksiyon sonucunda elde edilen sinyal yoğunluğunun ortamdaki ürün miktarı ile ilişkili olmasından dolayı tüm örneklerden eşit miktarda reaksiyona girmesi gerekmektedir. Bu yüzden tüm örnekler, çalışma öncesinde steril ajirojen su ile dilüe edilmiştir. Konsantrasyonlar, kit üreticisinin önerdiği reaksiyon hacmi ve genomik DNA miktarına göre belirlenmiştir. Kit üreticisinin önerdiği 1-20 ng aralığı olan DNA miktarının 8 ng olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Genotipleme reaksiyonu için kullanılan içerik bilgileri Çizelge 2.6'da bulunmakta olup genotipleme kiti olarak ID'si Çizelge 2.5'te verilmiş olan TaqMan Genotyping Assay kullanılmıştır.

Çizelge 2.6: Eş zamanlı PCR için reaksiyon içerikleri

İçerik	1 Tüp
TaqMan Genotipleme Ana Karışımı (2X)	5 µL
20X TaqMan SNP Genotipleme Kiti	0.5 µL
Genomik DNA	4.5 µL
Toplam	10 µL

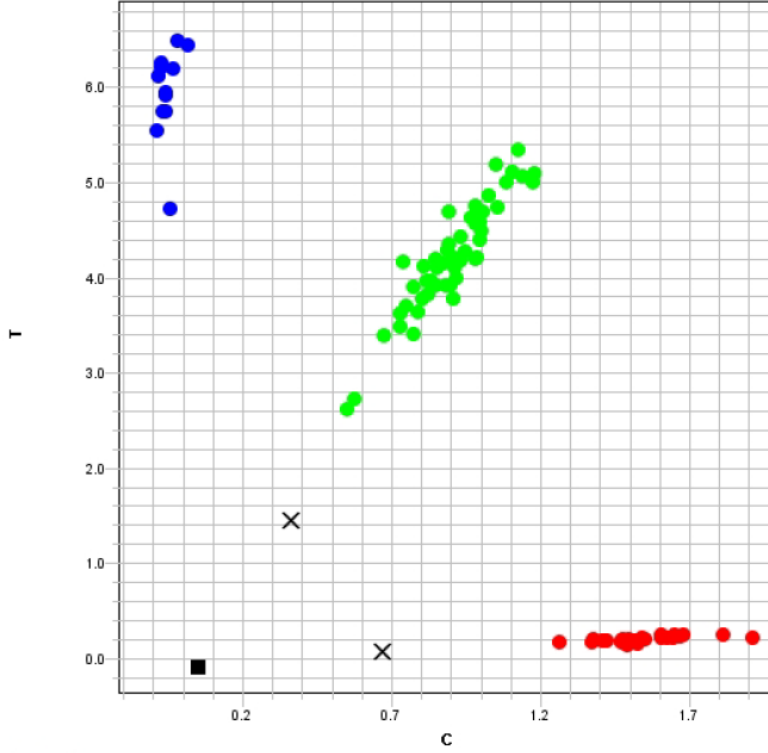
Çalışılacak numune sayısına göre hesaplanan toplam reaksiyon hacmine göre steril 1.5 mL'lik tüpe eklenen genotipleme ana karışımı ve genotipleme kiti içeriği vorteks ile karıştırıldıktan sonra 96 kuyucuklu plakanın kuyucuklarına eklenmiştir. Ardından, numunelerin seyreltilmiş genomik DNA'ları duplike olarak kuyucuklara dağıtılmışlardır. Optik yapışkan bir koruyucunun plaka üzerine kapatılması ardından 2 dk boyunca 2000 RPM'de santrifüj edilmiştir. 96 kuyucuklu plaka StepOne Plus eş zamanlı PCR cihazına (Woodlands, Singapur) yerleştirilip Çizelge 2.7'deki reaksiyon döngüsü cihazın yazılımı olan StepOne Software 2.3 aracılığıyla kurulmuş ve reaksiyon başlatılmıştır.

Çizelge 2.7: *CLU* rs2279590 C/T ve rs1532278'nin genotiplemesi için gerçekleştirilen eş zamanlı PCR döngüsü.

Basamaklar	Sıcaklık	Süre	Döngü
PCR Öncesi Okuma	60 °C	30 saniye	Tek Basamak
DNA Polimeraz Aktivasyonu	95 °C	10 dk	Tek Basamak
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	40 Döngü
Bağlanma ve Uzama	60 °C	60 Saniye	
PCR Sonrası Okuma	60 °C	30 Saniye	Tek Basamak

Reaksiyon sonunda genotipin belirlenmesi işlemi yazılım tarafından otomatik veya belirgin olarak tespit edilememesi durumunda manuel gerçekleştirilmiştir. Yabancıl tip (CC) genotipli örneklerde VIC boyası sinyal verirken polimorfik genotipli örneklerde (TT) FAM boyası sinyal vermektedir. Heterozigot genotipli (CT) numunelerden hem FAM hem de VIC boyası sinyali alınmıştır. Bu sinyal yoğunluğuna göre oluşturulan

alelik dağılım haritası Şekil 2.10'da verilmiştir. Burada yatay eksen C aleliye dikey eksen T aleline karşılık gelmektedir. Mavi renkli daireler TT genotipli; yeşil renklileri CT genotipli ve kırmızı renkli olanlar CC genotipli örneklerle karşılık gelmektedir. Siyah kare negatif kontrol, siyah çarpı işaretleri ise genotipleme yapılamayan örneklerle karşılık gelmektedir.



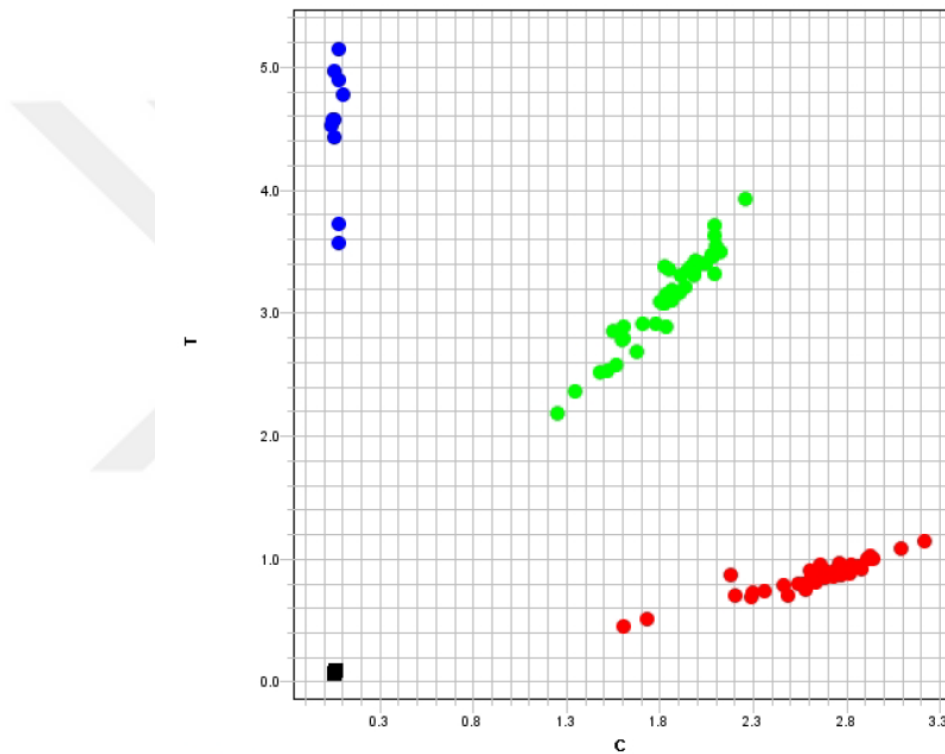
Şekil 2.10: rs2279590 C/T eş zamanlı reaksiyonunun sonucunda elde edilen alelik dağılım haritası.

2.2.3.2 *CLU* rs1532278 C/T için genotipleme

CLU rs1532278 C/T SNP'sinin genotiplemesi için kullanılan SNP genotipleme kitinin bilgileri EK-5'te verilmiştir. Reaksiyon karışımı, genotipleme ana karışımı, genotipleme kiti ve genomik DNA'dan oluşmaktadır.

Çalışma için gerekli olan ana karışım ve çalışılacak numuneler Bölüm 2.2.3.1'de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Karışımında kullanılacak olan malzemelerin miktarları Çizelge 2.6'da verilmiş olup genotipleme kiti olarak Çizelge 2.5'te bu SNP için ID'si verilmiş olan TaqMan Genotyping Assay kullanılmıştır. Plaka cihaza yerleştirildikten sonra Çizelge 2.7'de verilmiş olan döngü programı kurulur ve reaksiyon başlatılır.

Reaksiyon sonunda genotipin belirlenmesi işlemi yazılım tarafından otomatik veya belirgin olarak tespit edilememesi durumunda manuel olarak gerçekleştirilmiştir. Yabancıl tip (CC) genotipli örneklerde VIC boyası sinyal verirken polimorfik genotipli örneklerde (TT) FAM boyası sinyal vermektedir. Heterozigot genotipli (CT) numunelerden hem FAM hem de VIC boyası sinyali alınmıştır. Bu sinyal yoğunluğuna göre oluşturulan alellik dağılım haritası Şekil 2.11’de verilmiştir. Burada, Mavi renkli daireler TT genotipli; yeşil renklileri CT genotipli ve kırmızı renkli olanlar CC genotipli örneklerle karşılık gelmektedir. Siyah kare ise negatif kontrole karşılık gelmektedir.



Şekil 2.11: rs1532278 C/T eş zamanlı reaksiyonunun sonucunda elde edilen alellik dağılım haritası.

2.2.4 Bilişsel değerlendirme

Plazma clusterin ve miRNA ifade seviyelerinin belirleneceği çalışma grubundaki naif RRMS hastalarının, enjektabl immünomodülatör tedavi alan RRMS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin bilişsel değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Bilişsel performans testleri nöroloji uzmanı tarafından klinikte gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden gönüllülerin bilgilendirilmesi ve onam formlarını okuyup çalışmaya katılmayı kabul etmesini takiben BICAMS testi ile bilişsel performansları

değerlendirilmiştir. BICAMS testi birçok ülkede ve ülkemizde geçerliliğini kanıtlamış ve uzmanlar tarafından önerilen bilişsel performans testidir (Ozakbas vd., 2017). BICAMS; SDMT, CVLT-II ve BVMT-R testlerini içerir.

SDMT testi, çalışan bellek ve bilgi işleme hızını ölçen, sürekli dikkat ve odaklanmayı gerektiren bir testtir. 1'den 9'a kadar rakamlarla eşleşen 9 anlamsız sembolün olduğu tablo, sayfanın sağ üst kısmında bulunur ve katılımcıdan bu sembollere karşılık gelen rakamları yazması istenir (Öztürk, 2014). Test süresince bu tablo açık olarak kalmaktadır. İlk aşamada katılımcıya süre sınırı tanınmadan sembollere karşılık gelen rakamları eşleştirmesi istenir ve katılımcı ilk 10 kutuyu doldurana kadar süre tutulmaz (Yiğit, 2018). Pratik aşamasından sonra, bu anlamsız sembollerin rastgele sıralandığı bir dizide her bir sembole karşılık gelen rakamların tabloya uygun bir şekilde 90 saniye içerisinde olabildiğince yazması istenir. Pratik aşaması haricindeki yazılan doğru rakam sayısı, kişinin skoru olarak kaydedilir (Kasımay, 2017; Yiğit, 2018). Bu testte alınabilecek maksimum skor 110'dur. Katılımcılara uygulanan test EK-6'da sunulmuştur.

CVLT-II testi, sözel öğrenme ve hafıza bozukluklarının değerlendirilmesinde sıkça başvuru alan nöropsikolojik bir testtir. Normalde daha kapsamlı bir test olmasına karşın BICAMS testi kapsamında yalnızca ilk beş öğrenme denemesinin kullanılması önerilmektedir (Langdon vd., 2012; Yiğit, 2018). 4 farklı semantik kategoride 16 farklı kelimenin bulunduğu liste, araştırmacı tarafından katılımcıya okunur ve katılımcıdan bu kelimeleri hatırlaması istenir (Öztürk, 2014). Toplamda 5 defa gerçekleştirilen bu denemelerin her birinde liste tekrar okunur ve katılımcının doğru hatırladığı kelimelerin sayısı not edilir. Bu 5 denemede doğru hatırlanan kelime sayısı toplanır ve bu toplam puan kişinin skoru olur. Bu testte alınabilecek en yüksek skor 80'dir (Yiğit, 2018). Katılımcılara sorulan kelime listesinin de bulunduğu bu test EK-7'de sunulmuştur.

BVMT-R testi görsel-mekânsal bellek performansını ölçmektedir. Bu testte katılımcıya bir sayfada 6 soyut sembol gösterilir ve 10 saniye boyunca bakması istenir. Ardından bu sayfa görüş alanından çıkarılır ve sembollerin sırasıyla boş bir sayfaya çizilmesi istenir (Kasımay, 2017). Her bir sembol doğruluğu ve sırasına göre 0-2 arasında puanlanır. Sembolün doğru yerde bulunması 1 puan, doğru çizilmesi de 1 puan olarak değerlendirilir. Bu işlem 3 defa tekrarlanır ve toplam puan bu üç denemede

aldığı puanların toplamına eşittir. Bu testte alınabilecek maksimum skor 36'dır (Yiğit, 2018). Katılımcılara gösterilen anlamsız şekillerin bulunduğu örnek görüntü EK-8'de sunulmuştur.

2.2.5 Plazma mikroRNA ekspresyon seviyesinin tayini için kullanılan metotlar

Plazmadaki miR-21-5p ve miR-195-5p ekspresyon seviyesinin tayininde qRT-PCR metodu kullanılmıştır. Bunun için, tam kandan elde edilen plazma numunelerinden RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonu için Qiagen firmasının plazma ve serum örneklerinden RNA izolasyonun gerçekleştirilmesi için özel olarak geliştirilmiş miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit kullanılmıştır. Elde edilen RNA'ların kalitesi ve miktarı spektrofotometrik metot ile analiz edildikten sonra uygun numunelerden Ters Transkripsiyon-PCR (Reverse Transcriptase-PCR) yöntemi kullanılarak tamamlayıcı DNA'ları (Complementer DNA, cDNA) sentezlenmiştir. Daha sonra numunelerin cDNA örneklerinden hedef miRNA'lar olan miR-21-5p ve miR195-5p'nin, spike-in kontrol olan UniSp6'nın ve referans miRNA olan miR-16-5p'nin ifade seviyeleri qRT-PCR metodu ile tespit edilmiştir. qRT-PCR çalışmalarında, ortamda oluşan ürün miktarı ile orantılı bir şekilde artan sinyal yoğunluğunun cihaz tarafından tespit edilmesi ile analizler gerçekleştirilmektedir. Bu sinyal sağlayıcıları, TaqMan problemleri gibi floresan işaretli problemler olabileceği gibi çift zincirin oluşuna yerleştiği zaman floresan sinyal veren SYBR Green boyası da olabilmektedir. TaqMan problemleri, hedefe spesifik dizileri ile daha spesifik olmakla birlikte hassasiyetleri SYBR Green'e göre daha azdır. SYBR Green ise, çift zincirli DNA fragmanlarının oluklarına yerleştiğinde floresan sinyal verirken serbest halde floresan sinyal vermeyen özel bir boya türüdür. Bu yüzden, ortamdaki hedef bölgenin miktarının PCR döngüsü tamamlanmasına paralel olarak arttıkça alınan sinyal yoğunluğu da daha fazla olacaktır. Bu çalışmada floresan sinyal için SYBR Green boyası kullanılmıştır. Hedef miRNA'lar, referans miRNA olan miR-16-5p'ye göre normalize edildikten sonra hasta ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metoduna göre yapılmıştır (Livak & Schmittgen, 2001).

2.2.5.1 Toplanan periferik tam kanlardan plazma elde edilmesi

Tam kan örneklerinin Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Polikliniği'nden alınmasının ardından plazma fazının eldesi için en geç iki saat içerisinde TOBB ETÜ Teknoloji Merkezi 202 No'lu Laboratuvara getirilmesi sağlanmıştır. Bu işleme ait temsili iş akışı Şekil 2.12'de verilmektedir. Hemolizi ve bozulmayı önlemek için soğuk kutularda sabitlenmiş bir şekilde getirilen 10 mL'lik EDTA'lı tüplerdeki tam kan örnekleri +4 °C'de, 1900 g'de, 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifügasyon sonrası elde edilen plazma fazı 2 mL'lik yeni bir RNase-DNase içermeyen tüpe alınarak safsızlıklarından arındırma amacıyla +4 °C'de 16000 g'de 10 dk boyunca tekrar santrifüj edilmiştir. Elde edilen temiz plazma örnekleri RNA izolasyonu ve ELISA çalışmaları için uygun miktarlarda alikotlara ayrılarak kullanılacakları zamana kadar tutulmak üzere -86 °C'ye kaldırılmışlardır.



Şekil 2.12: Plazma ayırımı iş akışının temsili gösterimi.

2.2.5.2 Plazmalardan RNA izolasyonu

Bölüm 2.2.4.1 elde edilme metodu anlatılan plazma örneklerinden RNA izolasyonu için miRNeasy Serum Plasma/Advanced Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolon bazlı bir metoda sahip olan bu RNA izolasyonunun kitinin kolonları küçük dizi boyutlarına sahip miRNA'ları da tutmaya yönelik özel olarak tasarlanmıştır. Bununla birlikte, laboratuvarımızda yapılan çalışmalar neticesinde kitin prosedürünün modifiye edilmiş bir versiyonunun kullanıldığında daha verimli sonuçlar alındığı görülmüş ve kit üreticisinin talimatları optimize edilerek prosedür düzenlenmiştir.

RNA izolasyonu prosedürü:

Kit kullanım kılavuzunda maksimum hacim olarak belirlenmiş olan 200 µL plazma örneği oda sıcaklığında çözdürüldükten sonra 2 mL'lik DNase/RNase içermeyen bir tüpe alınmıştır. Plazma numunesine, özellikle viral RNA'lar gibi çok düşük

miktarlarda RNA içeren numunelerle yapılan çalışmalarda RNA'ların çökmesine yardımcı olmak için kullanılan carrier RNA'dan 1.9 µL eklenmiştir. Tüp, birkaç defa alt-üst edildikten sonra plazma hacminin 5 katı kadar Qiazol eklenir ve karışım homojen görüntüye ulaşana kadar vorteks yardımıyla veya alt-üst edilerek karıştırılır. Daha sonra faz ayrımını sağlamak amacıyla 300 µL kloroform eklenerek homojen bir görüntü sağlayıncaya kadar vorteks yardımıyla veya alt-üst edilerek karıştırılır. Homojen görünüme sahip olan karışım, +4 °C'de 12.000 g'de 10 dk boyunca santrifüj edilerek karışımın fazlarına ayrılması sağlanır. Santrifüj sonunda elde edilen berrak süpernatant dikkatli bir şekilde yeni bir 2 mL'lik DNase-RNase içermeyen tüpe aktarılır. Bu hacmin, başlangıçta eklenen Qiazol hacminin %60'ını geçmemesine dikkat edilmiştir. Bu aşamada, RNA'yı içeren süpernatanta spike-in olarak kullanılacak olan 1.12×10^{-9} nmol sentetik UniSp6 eklenir ve tüp alt-üst edilerek karıştırılır. Tüpteki süpernatant hacminin yaklaşık 1.5 katı kadar (900 µL) saf etanol eklenerek yine alt-üst etmek suretiyle karıştırılır. Tüpteki içerikten 700 µL'yi geçmeyecek şekilde, miRNeasy Spin Column'a aktarılır ve kolonlar oda sıcaklığında 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilirler. Toplama tüpünde biriken atık atılarak etanol ile karıştırılmış olan süpernatant bitene kadar devam eder. Daha sonra kit içeriğinde bulunan RWT Buffer'dan 700 µL kolona eklenerek aynı koşullarda santrifüj edilerek biriken atık atılır. Bir diğer kit içeriği olan RPE tamponundan 500 µL kolona eklenerek oda sıcaklığında 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilerek toplama tüpünde biriken atık atılır. Bir sonraki adımda, presipitasyon için kullanılacak olan %80'lik etanolden kolona 700 µL eklenir ve oda sıcaklığında 8000 g'de 2 dk boyunca santrifüj edilir. Santrifüj sonunda atık tüpünde biriken sıvı atılır ve bu işlem bir defa daha tekrarlanır. İkinci santrifüj sonunda kolonun atık tüpü atılarak yenisi takılır ve bu sefer kolona herhangi bir şey eklemeden 14.100 g'de 5 dk boyunca santrifüj gerçekleştirilir. Atık toplama tüpü, santrifüj sonunda atılarak RNA'nın aktarılacağı 1,5 mL'lik tüpe kolon yerleştirilir. 16 µL DNase-RNase içermeyen saf su kolonun filtre kısmına denk gelecek şekilde kolona eklenir ve 5 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sonunda tüpe takılı kolonlar 14.100 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edilirler. Bu işlem, 1,5 mL'lik tüpte biriken ve çözünmüş RNA'yı da içeren sıvının RNA konsantrasyonunun artırılması için tekrarlanır. Tüpten alınan sıvı tekrar kolonun filtresine eklenir ve 5 dk'lık inkübasyon sonunda aynı şekilde santrifüj edilerek RNA, 1,5 mL'lik tüpe

aktarılır. Elde edilen RNA'nın miktarı ve kalitesi belirlendikten sonra uygun olan RNA örnekleri -86 °C'ye kaldırılır.

2.2.5.3 Total RNA kalitesinin ve konsantrasyonunun belirlenmesi:

Plazmadan elde edilen RNA'nın kalitesinin ve konsantrasyonunun belirlenmesi için NanoDrop™ One Microvolume UV-Vis spektrofotometresi kullanılmıştır. RNA izolasyonu sonrası en sık görülen kontaminasyonlar fenol, guanidin, EDTA gibi kimyasallardan veya protein kaynaklı olmaktadır. Bu kontaminantlar 230-280 nm aralığında absorbans verdikleri için cihaz otomatik olarak bu aralığı kapsayacak şekilde ölçüm almaktadır. Nükleik asitlerse 260 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir. Ölçüm için, cihaz açıldıktan sonra alt ve üst pedalı saf su ile temizlenmesinin ardından alt pedalına blank olarak 2 µL saf su eklenmiş ve ölçüm işlemi gerçekleştirilmiştir. Ölçüm için aynı miktarda RNA kullanılmıştır. Ölçüm sonucunda A260/280, A230/260 oranları ve cihaz tarafından otomatik olarak belirlenen kontaminasyonlar dikkate alınmıştır. Buna göre A260/280 oranının 2.0 civarı olması RNA'ların protein kontaminasyonu açısından temiz olduğunu gösterirken A260/230 oranının 2.0 - 2.2 olması durumunda kimyasal kontaminasyon bakımından temiz olduğunu gösterir. Kontaminasyonun fenol veya guanidin olması durumunda farklı yollar izlenmiştir. Fenol kontaminasyonu bulunan ürünler kullanılmamışken guanidin kontaminasyonu 100 mM'a kadar kabul edilmiştir. Gerekli durumlarda RNA izolasyonu tekrar edilmiştir. RNA konsantrasyonu Beer-Lambert kanununa göre cihaz tarafından belirlenmiştir ve cihaz konsantrasyonları otomatik olarak hesaplayarak vermiştir.

2.2.6 Ters transkriptaz PCR metodu ile cDNA sentezi

Uygun RNA numunelerindeki miRNA ekspresyon seviyesini qRT-PCR ile belirlemek için komplementerlerini oluşturmak amacıyla ters transkriptaz (Reverse Transcriptase) PCR tekniği kullanılmıştır. Retrovirüslerin genetik materyalini çift zincirli hale getiren ters transkriptaz enzimi ile izotermal olarak gerçekleştirilen bu özel PCR tekniğinde RNA'ların tek zincirini çiftleyecek şekilde dizilerindeki nükleotitlerin eşleri bağlanarak çift zincirli cDNA'lar elde edilir. Bu işlem için miRCURY LNA RT Kit kullanılmıştır. Çalışmalar, kit üreticisinin önerdiği protokole ve uyarılara uygun bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Tüm reaksiyonlardaki RNA miktarları 100 ng'da

eşitlenmiştir. Reaksiyon karışımı için kullanılan içerik bilgileri Çizelge 2.8’de verilmiştir.

Çizelge 2.8: Ters transkriptaz PCR reaksiyonu karışımının içeriği.

İçerik	1 tüp için gereken miktar
RNase/DNase İçermeyen H ₂ O	Değişken
miRCURY Reverse Transcriptase Enzimi (10X)	1.2 µL
SYBR Green Reverse Transcriptase Reaksiyon Tamponu (5X)	2.4 µL
RNA (100 ng)	Değişken
Toplam	12 µL

Reaksiyon karışımı buz üzerinde hazırlanmıştır. Tüplere önce RNase/DNase içermeyen H₂O ve reaksiyon tamponu eklendikten sonra RT enzimi eklenir ve ana karışım vorteks ile hafifçe karıştırılır. Ana karışım tüplere dağıtıldıktan sonra karşılık gelen tüplere RNA örnekleri toplam miktarları 100 ng olacak şekilde eklenir. Reaksiyonun gerçekleştirildiği reaksiyon koşulları Çizelge 2.9’da verilmiştir.

Çizelge 2.9: RT-PCR reaksiyonu için kurulan program.

Ters transkripsiyon aşaması	42°C	60 dk
Reaksiyon sonlandırma	95°C	5 dk
Saklama	4°C	---

Reaksiyon bitiminde cDNA örnekleri öncelikle buz üzerinde alikotlanmış ve bu alikotlar kullanılacağı zamana kadar -20 °C’de saklanmışlardır.

2.2.7 Kantitatif eş zamanlı PCR ile mikroRNA’ların ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi

Bu tez çalışması kapsamında iki hedef miRNA olan miR-21-5p ve miR-195-5p’nin, spike-in kontrol olarak kullanılan UniSp6’nın ve referans miRNA olan miR-16-5p’nin ifade seviyeleri hasta ve kontrol gruplarında belirlenmiştir. Bu çalışmalar için miRCURY LNA miRNA SYBR Green PCR kiti kullanılmıştır. Her bir miRNA için firma tarafından üretilmiş olan valide primerler kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin bilgileri Çizelge 2.10’da verilmiştir.

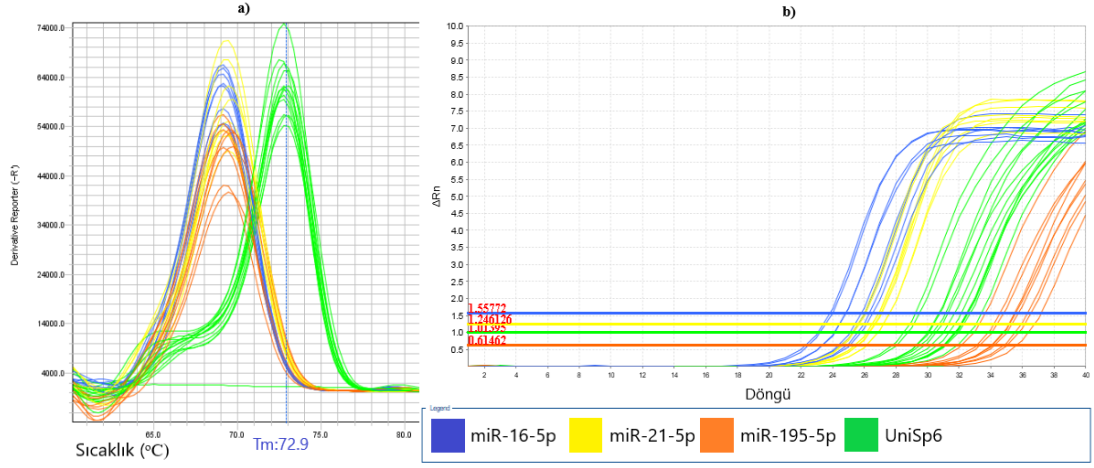
Çizelge 2.10: Plazma miRNA ekspresyon seviyesi çalışmalarında kullanılan primerlerin bilgileri

miRNA	Katalog No	Üretici	Olgun miRNA Dizisi	Katalog kimliği
hsa-miR-21-5p	339306	Qiagen, Almanya	5'UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	YP00204230
hsa-miR-195-5p	339306	Qiagen, Almanya	5'UAGCAGCACAGAAUUAUUGGC	YP00205869
hsa-miR-16-5p	339306	Qiagen, Almanya	5'UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	YP00205702
UniSp6	339306	Qiagen, Almanya	5'CUAGUCCGAUCUAAGUCUUCGA	YP00203954

Çalışma için kit üreticisinin önerdiği protokol ve uyarılar takip edilmiştir. Çalışma için kullanılan karışımın içeriği Çizelge 2.11’de verilmiştir. Reaksiyonlar, 0.1 mL hacimli 96 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirilmiştir. İlk olarak çalışılacak numune sayısına uygun miktarda buz üzerinde her bir miRNA için kendilerine özgü primerler kullanılarak bir ana karışım hazırlanmış ve kuyucuklara dağıtılmıştır. Ardından, numunelere ait olan cDNA’ler, önceden tasarlanmış plate yerleşim düzenine uygun bir biçimde duplike olarak kuyucuklara dağıtılmışlardır. Plakalar, optik bir film ile üstü kapatıldıktan sonra santrifüj edilmiş ve eş zamanlı PCR cihazına yerleştirilmiştir. StepOne Software v2.3 kullanılarak kit üreticisinin bu cihaz için önermiş olduğu termal döngü koşulları ayarlanmış ve plate dizaynı cihaza tanıtılmıştır. Her bir çalışma sonuna, ürün özgüllüğünün değerlendirilmesi için erime eğrisi analizi eklenmiş ve 60-95 °C aralığında bu analiz gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2.12). Çoğaltılmış olan ürünlerin belirli bir sıcaklıkta tek bir tepe noktasına sahip olması durumunda özgül olduğundan emin olunmuştur (Şekil 2.13).

Çizelge 2.11: qRT-PCR işleminde kullanılan karışım içeriği.

İçerik	1 tüp için gereken miktar
RNase/DNase içermeyen H ₂ O	0.5 µL
ROX Boyası	0.5 µL
2X miRCURY SYBR Green Master Mix	5 µL
İleri ve Geri Primerler	1 µL
cDNA	3 µL
Toplam	10 µL



Şekil 2.13: Ekspresyon seviyesi çalışmalarında kullanılan primerlerin erime eğrisi sonuçları (a) ve bu çalışmada elde edilen amplifikasyon eğrileri (b).

Numunelerin rölatif ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için ürün miktarı ile orantılı bir şekilde artan sinyalin belirli bir eşik değerini geçtiği döngü cihaz tarafından tespit edilmektedir. Bu döngüye döngü eşiği (Cycle threshold, C_t) denilir. Duplike çalışılan örneklerin C_t değerlerinin ortalamaları o numunenin C_t değeri olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 2.12: qRT-PCR işleminde kullanılan termal döngü programı.

PCR başlangıcı için aktivasyon ısı	95 °C	2 dk
Denatürasyon	95 °C	10 s
Primer bağlanması ve uzaması	56 °C	1 dk
Reaksiyon Sonlanması	95 °C	15 s
Erime Eğrisi	60°-95 °C	Değişken

Hasta ve kontrol gruplarındaki tüm numunelerin C_t değerleri belirlendikten sonra rölatif ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta\Delta C_t}$ analizi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Livak & Schmittgen, 2001). Bunun için, önce tüm gruplardaki numunelerin miR-21-5p ve miR-195-5p C_t değerlerinden referans miRNA olan miR-16-5p C_t değeri çıkartılmıştır ve ΔC_t değerleri elde edilerek ortalamaları alınmıştır. Ardından hasta grubundaki ortalama ΔC_t değerinden kontrol grubunun ortalama ΔC_t değeri çıkarılarak $\Delta\Delta C_t$ değeri elde edilmiştir. Elde edilen sayı değerinin negatifinin 2 tabanındaki üstel değeri hesaplanarak ve numunelerin rölatif ekspresyon seviyesi belirlenmiştir (Livak & Schmittgen, 2001).

$$\Delta Ct = Ct (\text{Hedef miRNA}) - Ct (\text{Referans miRNA})$$

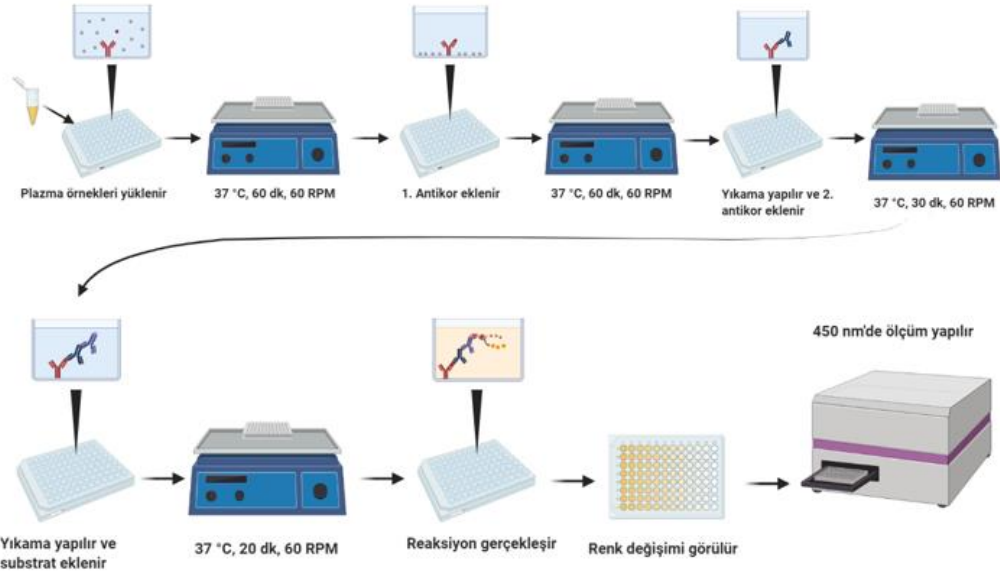
$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{hasta}} - \Delta Ct_{\text{kontrol}}$$

$$\text{Rölatif ekspresyon seviyesi} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

2.2.8 Plazma numunelerin clusterin proteini seviyesinin ELISA ile belirlenmesi

Plazma numunelerindeki clusterin protein seviyesinin belirlenmesi için ELISA yöntemi kullanılmıştır. ELISA, antijen-antikor etkileşiminden yararlanarak ortamdaki analitin yoğunluğunu enzim aktivitesine bağlı olarak kantitatif olarak tayin etmeyi sağlayan hassas bir yöntemdir. Bu tez çalışması kapsamında USCN marka insan clusterin sandviç ELISA kiti kullanılmıştır. Kit içeriğinde bulunan ve reaksiyonun gerçekleştirileceği 96 kuyucuklu mikropalakaların kuyucuklarında clusterin proteinine spesifik antikorlar kit üreticisi tarafından immobilize edilmiştir. Kullanılan standartlar ve numunelerdeki hedef clusterin proteinleri belirli bir epitopundan bu immobilize antikorlara bağlanır. Daha sonra ortama, clusterin proteinine farklı bir epitoptan bağlanacak olan birincil antikorlar verilir ve clusterin proteinleri ile antikorlar arasında “sandviç” analogisine uygun bir görünüm oluşur. Yıkama işlemleri ile bağlanmamış birincil antikorlar uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara bu birincil antikorlara spesifik enzim bağlı ikincil antikorlar verilerek kantitatif ölçüme hazır hale getirilir. İnkübasyon sonrası yıkama yapılarak bağlanmamış ikincil antikorlar uzaklaştırıldıktan sonra ikincil antikordaki enzimin substratını içeren solüsyon ortama verilir ve kuyucuklardaki ürün yoğunluğu belirli bir dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülür. Ortamdaki ürün yoğunluğu ile oluşan sinyal yoğunluğu doğru orantılıdır.

Çalışmalarda kullanılan insan clusterin ELISA kitinin ölçüm aralığı 12.5-800 ng/mL'dir. Plazma numuneleri, kit üreticisinin önerisi dikkate alınarak 500 kat dilüe edilerek kullanılmıştır. Dilüsyon işlemi, ELISA çalışması başlamadan önce gerçekleştirilmiş ve dilüe plazma numuneleri hemen kullanılmıştır. Dilüsyon sıvısı olarak kit üreticisinin önerisi dikkate alınarak Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) kullanılmıştır. Çalışma iş akışı Şekil 2.14'te özetlenmiştir.



Şekil 2.14: Plazma clusterin seviyesinin ELISA ile tayini iş akışının temsili gösterimi.

Çalışmalar başlamadan önce tüm kit içeriği oda sıcaklığına getirilmiştir. Liyofilize clusterin standardı 1 mL standart solüsyonuyla çözdürülerek 4000 ng/mL konsantrasyona getirilmiştir. Kitin ölçüm aralığı dikkate alınarak 800 ng/mL, 200 ng/mL, 50 ng/mL, 12.5 ng/mL konsantrasyonlarında 4 standart ve bir blank (0 ng/mL, standart solüsyonu) hazırlanmıştır. Standartlar, blank ve dilüe edilmiş plazma numuneleri 100 µL duplike olarak mikrolakaya yüklenmiş ve 37 °C'de 50 RPM'de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kuyucuklar boşaltılmış ve biotin bağlı birincil antikorunu içeren Reagent A solüsyonundan tüm kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. 37 °C'de 50 RPM'de 1 saat inkübe edildikten sonra kuyucuklar tekrar boşaltılmış ve yıkama solüsyonundan tüm kuyucuklara 350 µL eklenip 90 saniye beklenmiştir. 90 saniye sonunda kuyucuklar boşaltılmış ve bu yıkama işlemi 3 defa olacak şekilde tekrarlanmıştır. Yıkama işlemleri bittikten sonra streptavidinle konjuge enzim bağlı ikincil antikorunu içeren Reagent B solüsyonundan tüm kuyucuklara 100 µL eklenmiş ve 37 °C'de 50 RPM'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında bir önceki adımda tarif edilen yıkama işlemi 5 defa tekrarlanarak bağlanmamış ikincil antikorlar ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Yıkama sonrası, ikincil antikora bağlı horse radish peroxidase (HRP) enziminin substratı olan tetrametil benzidin (TMB) solüsyonundan her bir kuyucuğa 90 µL eklenmiş ve alüminyum folyo ile ışık almayacak şekilde mikrolakaya kaplanarak 37 °C'de 50 RPM'de 20 dk boyunca inkübe

edilmiştir. İnkübasyon sonunda reaksiyonu sonlandırmak için tüm kuyucuklara 50 µL durdurma solüsyonu eklenmiş ve hemen ölçüme geçilmiştir.

Ölçümler Multiskan™ GO Microplate Spektrofotometresi (Vantaa, Finlandiya) ile yapılmıştır. Bu cihaz, bilgisayara bağlı olup SkanIt yazılımı aracılığı ile kullanılmaktadır. Cihaza plate dizaynı tanıtılmış ve ölçüm protokolü oluşturulmuştur. Standartların absorpsiyon değerlerinden yararlanılarak oluşturulan standart eğri kullanılarak tüm numunelerin clusterin konsantrasyonu kantitatif olarak tayin edilmiştir.

2.2.9 İstatistiksel analiz için kullanılan metotlar

Yaş, plazma clusterin seviyesi, lipit parametreleri, D vitamini, bilişsel testlerin skorları, eğitim yılı gibi sürekli değişkenlerin normallik analizleri grup eleman sayıları 25'ten fazla olması durumunda Kolmogorov-Smirnov ile yapılırken 25'e eşit ve az olan gruplar için Shapiro-Wilk testi ile gerçekleştirilmiştir ve $P > .05$ olması durumunda normal dağıldığı kabul edilmiştir. EDSS ve Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS) değerleri ordinal değerler oldukları için parametrik olmayan testlerle analiz edilmişlerdir. Normal dağılım gösteren grupların ikili karşılaştırılmalarında bağımsız örneklem t-testi kullanılırken ikiden fazla grupların karşılaştırılmasında ise ANOVA testleri kullanılmıştır. Levene varyans homojenitesi testinde $P > .05$ olması durumunda One-way ANOVA uygulanıp anlamlı sonuç çıkması durumunda Bonferroni Post-Hoc testi kullanılmıştır. Levene varyans homojenitesi testinde $P < .05$ olan testlerde ise Welch ANOVA yapılmış olup anlamlı sonuç çıkması durumunda Games-Howell Post-Hoc analizi gerçekleştirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin ikili grup karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanılırken ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis-H testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis-H testinde anlamlı sonuç çıkması durumunda post-hoc analizi için Mann-Whitney U testi gerçekleştirilmiştir.

Kategorik değişkenlerin (Cinsiyet, genotip ve alel frekansı, bilişsel bozukluk durumu, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara, istihdam durumu) analizinde χ^2 testi kullanılmıştır. Analizden önce, genotip ve alel frekanslarının dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliğine uyup uymadığı kontrol edilmiştir. Grup büyüklüğü beşten büyük olduğu durumda χ^2 testi kullanılırken beş veya daha az grup sayılarının

karşılaştırılmasında Fisher's exact test kullanılmıştır. Genotip ve alel frekansları, yaş ve cinsiyete göre düzenlenerek SNPStat programı ile gruplar arasında farklı genotip modelleri kurularak karşılaştırılmıştır. Bu modellerin AIC ve BIC değerlerine bakılarak en uygun genotip modelinin hangisinin olduğuna karar verilmiştir.

Gruplar içinde normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin aralarındaki ilişki Pearson korelasyon analizi ile incelenirken normal dağılım göstermeyen değişkenlerin aralarındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelenmiştir. Klinik, demografik ve deneyler sonucu elde edilen parametrelerin yalnız ve birlikte hastalık riski ve bilişsel bozuklukla olan ilişkilerini incelemek için lojistik regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Anlamlı çıkan parametrelerin biyobelirteç olarak ne kadar yardımcı olabileceğini analiz etmek için Receiver Operating Characteristics (ROC) eğrisi analizleri gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı çıkan ROC eğrisi analizleri için Area Under the Curve (AUC) değerlerine göre analize devam edilmiş ve hata matrisi analizi yapılarak hassasiyet, özgüllük ve doğruluk yüzdeleri hesaplanmıştır. AUC değeri için derecelendirme Çizelge 2.13'e göre yapılmıştır.

Çizelge 2.13: AUC değerlerine göre analizin başarı derecelendirmesi.

AUC	Değerlendirme
0.90-1.00	Mükemmel
0.80-0.90	İyi
0.70-0.80	Orta
0.60-0.70	Kötü
0.50-0.60	Başarısız

AUC değerinin orta ve üzeri seviyeleri olma durumunda hassasiyetin ve özgüllüğün maksimum olduğu değere karşılık gelen Youden's Index değeri hesaplanarak kesme değeri (cut-off) belirlenmiştir. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık değeri $P < .05$ olarak belirlenmiş olup çoklu testlerin gerçekleştirildiği analizlerde Bonferroni düzeltmesi yapılarak anlamlılık değeri α/n olarak düzenlenmiştir. Analizler, SPSS v.26.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

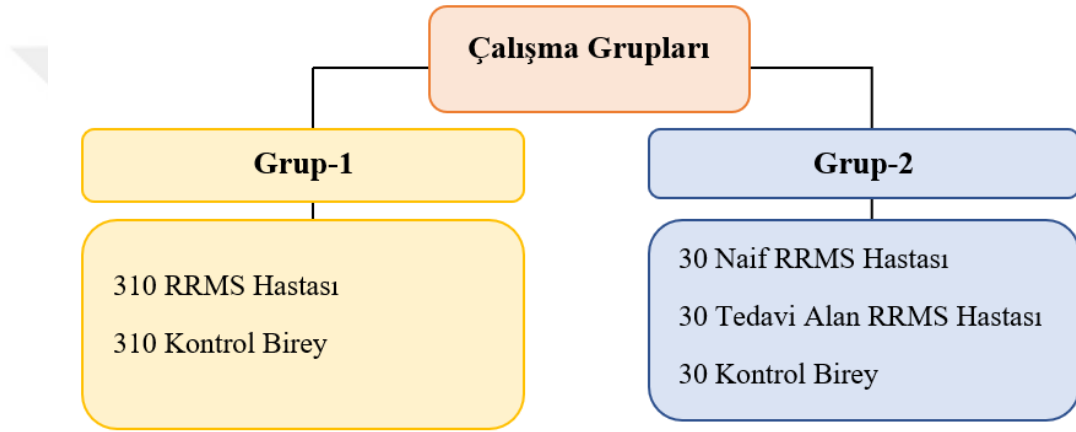


3. BULGULAR

3.1 Çalışma Grupları

3.1.1 Grup-1'in demografik bilgileri

Bu tez çalışması kapsamında bir önceki bölümde de bahsedildiği üzere Grup-1 ve Grup-2 olmak üzere iki çalışma grubu bulunmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Tez çalışması kapsamındaki çalışma gruplarının özeti.

Grup-1, 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyden oluşmaktadır. Bu bireylerden tam kan örnekleri alınmış olup *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotiplenmeleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma grubunun demografik bilgileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1: Grup-1'deki RRMS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin demografik bilgileri.

	RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	P
Yaş (Yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	34.9 ± 9.6 34.0 (27.0-42.0)	34.7 ± 12.2 31.0 (25.0-43.0)	.15 ^a
Cinsiyet Kadın/Erkek Kadın (%)	196/114 63.2	186/124 60.0	.41 ^b

^a: Mann Whitney *U* testi kullanıldı. ^b: χ^2 testi kullanıldı.

Yaş ortalaması RRMS hastalarında 34.9 ± 9.6 , kontrol bireylerde 34.7 ± 12.2 olarak belirlenmiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.15$). Gruplar arası cinsiyet dağılımı incelendiğinde ise RRMS hastalarında %63.2 olan kadın oranının kontrol grubunda %60.0 olduğu görülmekle birlikte gruplar arasında cinsiyet dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.41$).

3.1.2 Grup-2'nin demografik bilgileri

Bu tez çalışması kapsamındaki bir diğer çalışma grubu olan Grup-2, 30 naif RRMS hastası, 30 GA veya IFN- β tedavisi alan RRMS hastası ve 30 kontrol bireyden oluşmaktadır. Bu çalışma grubunun demografik bilgileri Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2: Grup-2'deki naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerin demografik bilgileri.

	Naif RRMS (n=30)	Tedavi Alan RRMS (n=30)	Kontrol (n=30)	P
Yaş (yıl), ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3) aralık (min-max)	29.9 \pm 8.9 30.0 (23.0-32.0) 32.0 (18.0-50.0)	34.6 \pm 10.1 ^a 37.0 (25.0-43.0) 32.0 (21.0-53.0)	26.6 \pm 5.0 24.5 (23.0-32.0) 17 (20.0-37.0)	.008
Cinsiyet (Kadın), n (%)	19 (63.3)	24 (80.0)	19 (63.3)	.27
Eğitim Yılı, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	13.0 \pm 3.8 ^b 13.0 (11.0-16.0)	11.9 \pm 4.4 ^b 12.0 (8.0-16.0)	17.3 \pm 2.6 16.5 (16.0-18.0)	<.001
İstihdam (Çalışıyor), n (%)	16 (53.3)	14 (46.7)	14 (46.7)	.84
Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler üç grup arasında Kruskal-Wallis ile karşılaştırılmıştır. Post-hoc analizleri Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiş olup Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. ^a : kontrol grubuyla kıyaslandığında $P=.006$. ^b : Kontrol grubuyla kıyaslandığında $P<.001$. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler üç grup arasında Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. Min: minimum, max: maksimum.				

Bu çalışma grubunun demografik bilgileri incelendiğinde, gruplar arasında yaş dağılımının farklı olduğu görülmekte olup, bu farklılık tedavi alan RRMS grubunun yaş ortalamasının (34.6 ± 10.1) kontrol grubununkinden (26.6 ± 5.0) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır (Tüm gruplar arası: $P=.008$; tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P=.006$). Gruplar arasında cinsiyet dağılımı incelendiğinde ise her grupta kadınların oranının erkeklerden daha fazla olduğu, fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Naif: %63.3, tedavi alan RRMS: %80.0, kontrol %63.3; $P=.27$).

Gruplar arasında eğitim yılı karşılaştırıldığında eğitim yılının istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı olduğu görülmüştür (naif RRMS=13.00 ± 3.79 yıl, tedavi alan RRMS=11.90 ± 4.41 yıl, kontrol=17.30 ± 2.56 yıl; $P<.001$). Yapılan post-hoc analizlerinde ise kontrollerin eğitim yılının hem naif hem de tedavi alan RRMS hastalarından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür (naif RRMS vs. tedavi alan RRMS: $P<.001$; naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$). Gruplar arasında istihdam durumu karşılaştırıldığında ise istihdamda bulunan kişi oranı bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (naif RRMS: %53.3, tedavi alan RRMS: %46.7, kontrol: %46.7; $P=.84$).

3.2 CLU SNP'lerinin Genotiplenmesi

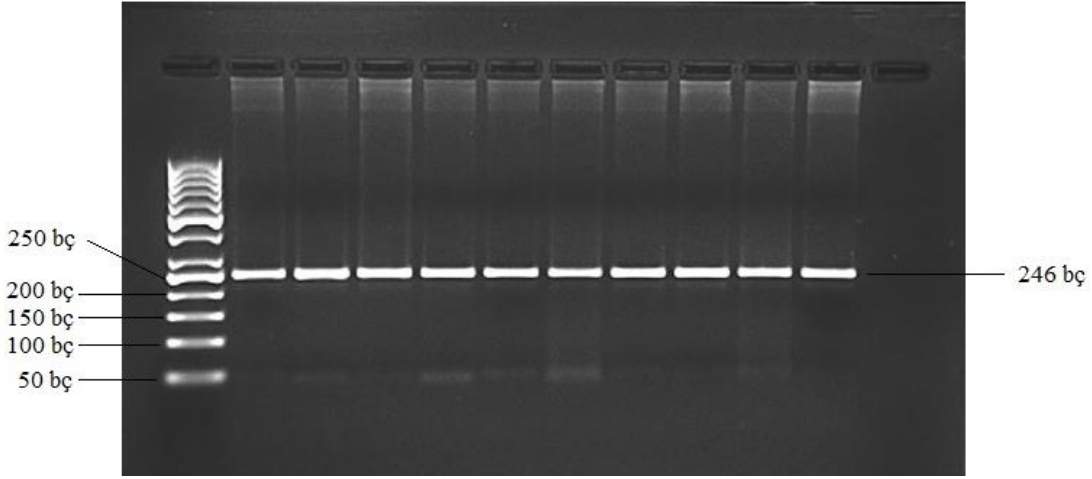
CLU rs11136000 C/T ve rs3087554 T/C SNP'lerinin genotiplenmeleri PCR-RFLP metodu ile gerçekleştirilmiş olup bölüm 2.2.2'de detaylı bir şekilde anlatılmıştır. Bu tez çalışması kapsamında bulunan diğer SNP'ler olan *CLU* rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotiplenmeleri ise RT-PCR ile gerçekleştirilmiş olup bölüm 2.2.3'te detaylarıyla anlatılmıştır.

3.2.1 CLU rs11136000 C/T SNP'sinin genotiplenmesi

3.2.1.1 CLU rs11136000 C/T SNP'sinin PCR sonuçları

Clusterin rs11136000 C/T SNP'sinin bulunduğu gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması işlemi bölüm 2.2.2.1'de detaylarıyla birlikte anlatılmıştır. PCR ürünleri, bölüm 2.2.2.1'de hazırlanışı detaylarıyla anlatılmış olan %2'lik agaroz jele yüklenip yürütülerek kaliteleri değerlendirilmiştir (Şekil 3.2).

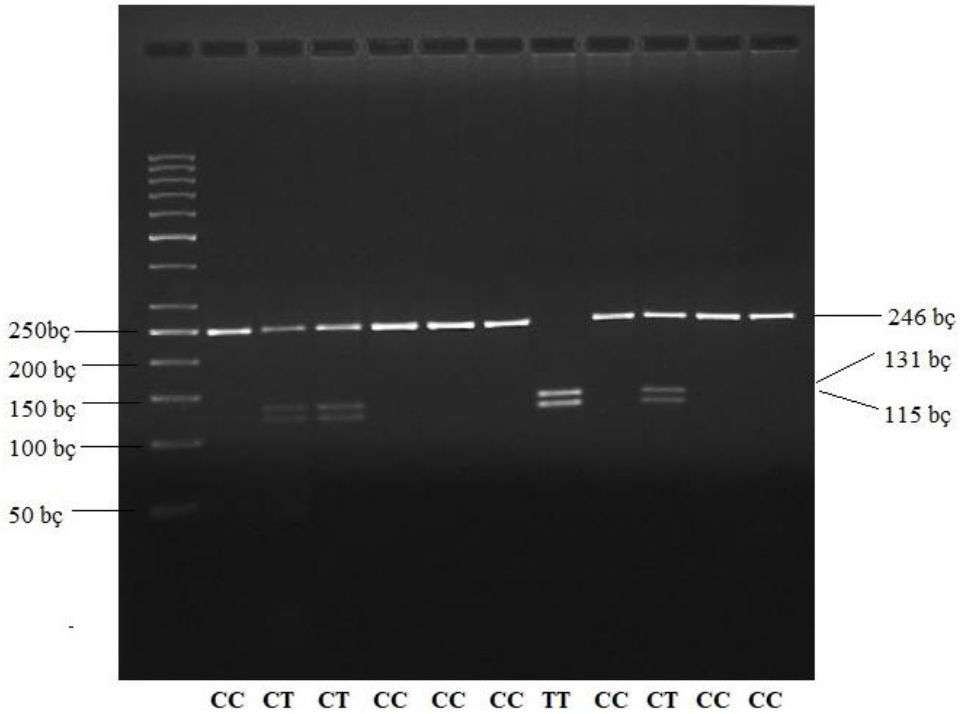
Şekil 3.2'de verilmiş olan örnek görüntüde ilk sırada 50 bç'lik DNA ladder görülmekte olup PCR ürününün boyutunun kontrolü için kullanılmıştır. Bu aşamada PCR ürünlerinin boyutunun 246 bç olması gerekmektedir. Bunun yanı sıra, ürünlerin tek bir bant halinde olması da PCR işleminin düzgün ve hedef bölgeye özgül bir şekilde gerçekleşip istenmeyen bölgelerin çoğaltılmadığına işaret etmektedir. Şekil 3.2'de olduğu gibi 246 bç boyutunda ve tek bant halinde belirgin bir şekilde görünen PCR ürünlerinin yeterli kalitede olduğuna kanaat getirilmiş ve restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim reaksiyonuna geçilmiştir.



Şekil 3.2: *CLU* rs11136000 C/T SNP'si için gerçekleştirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.

3.2.1.2 *CLU* rs11136000 C/T SNP'sinin kesim sonuçları

Yeterli kalitede olan *CLU* PCR ürünleri bölüm 2.2.2.1'de anlatıldığı üzere *ApoI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile inkübe edilerek kesilmişlerdir. Kesim ürünleri, bölüm 2.2.2.1'de anlatıldığı gibi %2.5'lik olarak hazırlanan agaroz jelde yürütülmüş ve UV görüntüleme cihazıyla görüntülenerek genotipleri belirlenmiştir (Şekil 3.3).



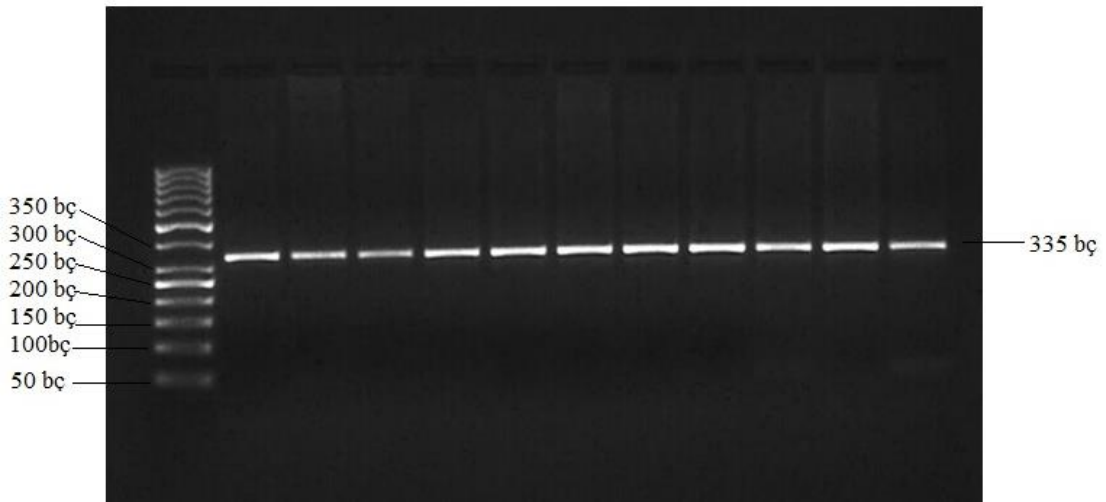
Şekil 3.3: *CLU* rs11136000 C/T SNP genotipleme için gerçekleştirilen kesim işlemi ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.

Her bir ürün için belirlenen genotipler uygun sıranın altına gelecek şekilde belirtilmişlerdir. TT genotipe sahip numuneler 131 ve 115 bç olmak üzere yalnızca iki bant halinde görüntü verirken CC genotipli olanlar 246 bç boyutunda tek bant halinde görüntü vermektedir. CT genotipli numuneler ise 246, 131 ve 115 bç boyutlarında olmak üzere üç bant olacak şekilde görüntü vermektedir.

3.2.2 *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin genotiplenmesi

3.2.2.1 *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin PCR sonuçları

Clusterin rs3087554 T/C SNP'sinin bulunduğu gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması işlemi bölüm 2.2.2.2'de detaylarıyla birlikte anlatılmıştır. PCR ürünleri, bölüm 2.2.2.1'de hazırlanışı detaylarıyla anlatılmış olan %2'lik agaroz jele yüklenip yürütülerek kaliteleri değerlendirilmiştir (Şekil 3.4).



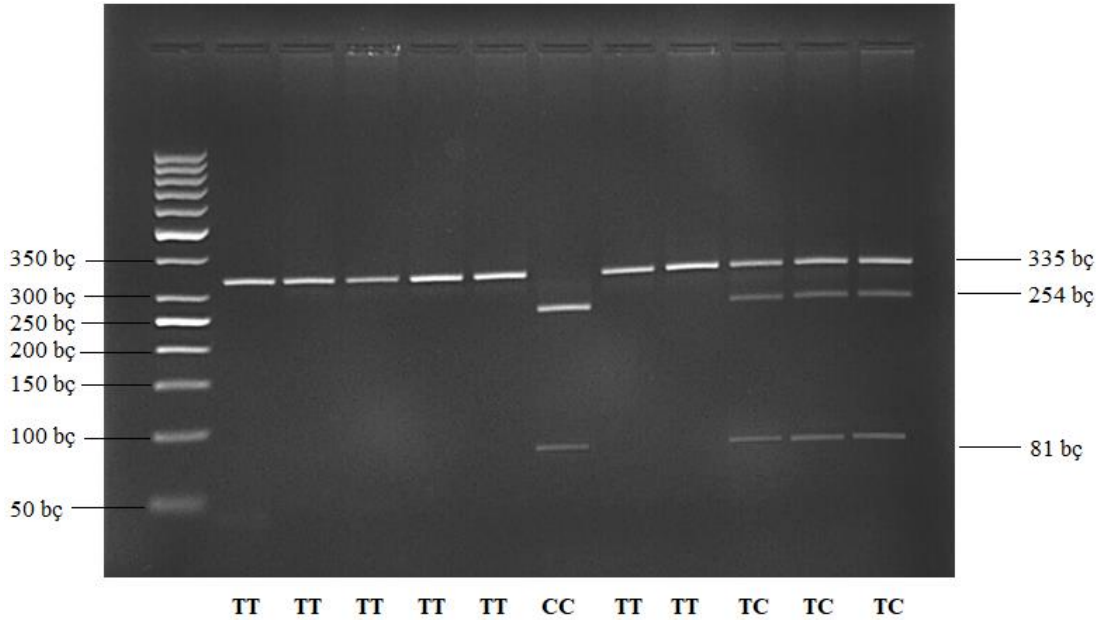
Şekil 3.4: *CLU* rs3087554 T/C SNP'si için gerçekleştirilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.

Şekil 3.4'te verilmiş olan örnek görüntüde ilk sırada 50 bç'lik DNA ladder görülmekte olup PCR ürününün boyutunun kontrolü için kullanılmıştır. Bu aşamada PCR ürünlerinin boyutunun 335 bç olması gerekmektedir. Bunun yanı sıra, ürünlerin tek bir bant halinde olması da PCR işleminin düzgün ve hedef bölgeye özgül bir şekilde gerçekleşip istenmeyen bölgelerin çoğaltılmadığına işaret etmektedir. 335 bç boyutunda ve tek bant halinde belirgin bir şekilde görünen PCR ürünlerinin yeterli kalitede olduğuna kanaat getirilmiş ve restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim reaksiyonuna geçilmiştir (Şekil 3.4).

3.2.2.2 *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin kesim sonuçları

Yeterli kalitede olan *CLU* PCR ürünleri bölüm 2.2.2.2'de anlatıldığı üzere *ApoI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile inkübe edilerek kesilmişlerdir. Kesim ürünleri, bölüm 2.2.2.2'de anlatıldığı gibi %2.5'lik olarak hazırlanana agaroz jelde yürütülmüş ve UV görüntüleme cihazıyla görüntülenerek genotipleri belirlenmiştir (Şekil 3.5).

Her bir ürün için belirlenen genotipler uygun sıranın altına gelecek şekilde belirtilmişlerdir. CC genotipe sahip numuneler 254 ve 81 bç olmak üzere yalnızca iki bant halinde görüntü verirken TT genotipli olanlar 335 bç boyutunda tek bant halinde görüntü vermektedir. TC genotipli numuneler ise 335, 254 ve 81 bç boyutlarında olmak üzere üç bant olacak şekilde görüntü vermektedir.



Şekil 3.5: *CLU* rs3087554 T/C SNP genotiplenmesi için gerçekleştirilen kesim işlemi ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi görüntüsü.

3.2.3 *CLU* rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotiplenmesi

CLU rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotiplenmeleri sırasıyla bölüm 2.2.3.1 ve 2.2.3.2'de detaylarıyla anlatılmıştır. RT-PCR ile gerçekleştirilen çalışmada genotiplenme sonuçları StepOne Software v2.3 ile algılanan sinyallere dayanarak cihaz tarafından otomatik olarak veya otomatik olarak belirlenemediğinde alelleri ayırabilecek uygun sinyalleri vermemesi durumunda manuel olarak belirlenmiştir.

3.3 Grup-1’de Yapılan İstatistiksel Analizler

Grup-1’deki 310 RRMS ve 310 kontrolün genotiplemeleri bölüm 3.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş olup bu tez kapsamındaki her bir SNP’nin Hardy-Weinberg dengesine uyumu test edilmiştir. Bu SNP’lere ait belirlenmiş olan genotip ve alel frekansları farklı genotip modellerine göre gruplar arasında karşılaştırılarak SNP genotiplerinin RRMS riski ile ilişkisi incelenmiştir. Bu karşılaştırmalarda çoklu test uygulandığı için P anlamlılık düzeyi $\alpha < .0125$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca 310 RRMS hastasının klinik bilgileri ile bu tez kapsamındaki *CLU* SNP genotipleri arasındaki ilişkiler de analiz edilmiştir. Son olarak, *CLU* SNP genotipleri ve klinik parametrelerin bir arada olduğu durumda orta ila yüksek EDSS riski ($EDSS > 3$) ve hızlı MS progresyon riski ($MSSS > 5$) ile ilişkileri ayrı ayrı olmak üzere ikili lojistik regresyon analizleri ile incelenmiştir. Analizlerin ve bulguların detayları ilerleyen bölümlerde sunulmuştur.

3.3.1 Grup-1’deki RRMS hastalarının klinik bilgileri

Grup-1’deki 310 RRMS hastasına ait klinik bilgiler rutin nörolojik muayeneleri sırasında belirlenmekte olup bu tez çalışması kapsamında değerlendirilmiştir. Bu bölümde 310 RRMS hastasının klinik bilgileri kadın RRMS hastaları ve erkek RRMS hastaları için ayrı ayrı sunulmuş olup cinsiyetin bu klinik parametrelerin üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla analizler de gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, RRMS hastalarının hastalık süresi, EDSS skorları, MSSS değerleri, tedavi süresi, alınan tedaviler, serum 25-(OH) D₃ seviyesi, serum lipit profili ve sigara içme durumları cinsiyetler arasında karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.3).

Grup-1’deki RRMS hastaları kadınlar ve erkekler olarak ayrıldığında kadın RRMS hastalarının hastalık süreleri (5.0 ± 4.8 yıl) ve erkek RRMS hastalarının hastalık süreleri (5.5 ± 5.6 yıl) arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P = .66$). Buna bağlı olarak, kadın RRMS hastalarının tedavi sürelerini (3.6 ± 3.9 yıl) ve erkek RRMS hastalarının tedavi süreleri (4.2 ± 4.9 yıl) karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P = .63$).

Çizelge 3.3: Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik bilgilerinin cinsiyetlere göre dağılımları.

	Kadın (n=195)	Erkek (n=115)	Toplam (n=310)	P
Hastalık Süresi (yıl), ortalama ± SS	5.0 ± 4.8	5.5 ± 5.6	5.2 ± 5.1	.66
medyan (Q1-Q3)	3.0 (1.0-7.0)	3.0 (1.0-7.0)	3.0 (1.0-7.0)	
EDSS, ortalama ± SS	1.4 ± 1.0	1.7 ± 1.2	1.5 ± 1.1	.03
medyan (Q1-Q3)	1.0 (1.0-2.0)	1.5 (1.0-2.5)	1.0 (1.0-2.0)	
EDSS ≤ 3.0, n (%)	185 (94.9)	101 (87.8)	286 (92.3)	.03
EDSS > 3.0, n (%)	10 (5.1)	14 (12.2)	24 (7.7)	
MSSS, ortalama ± SS	2.52 ± 1.85	2.91 ± 1.93	2.66 ± 1.89	.07
medyan (Q1-Q3)	2.33 (1.13-3.34)	2.44 (1.28-4.55)	2.44 (1.13-3.69)	
MSSS ≤ 2.44, n (%)	99 (50.8)	51 (44.3)	150 (48.4)	.27
MSSS > 2.44, n (%)	96 (49.2)	64 (55.7)	160 (51.6)	
MSSS ≤ 5.00, n (%)	172 (88.2)	95 (82.6)	267 (86.1)	.17
MSSS > 5.00, n (%)	23 (11.8)	20 (17.4)	43 (13.9)	
Tedavi Süresi (yıl), ortalama ± SS	3.6 ± 3.9	4.2 ± 4.9	3.8 ± 4.3	.63
medyan (Q1-Q3)	2.0 (1.0-5.0)	2.0 (0.0-6.0)	2.0 (1.0-6.0)	
Tedavi (n), N/IF/GA/DMF/TF/F/K/MAB	19/26/38/24/42/37/2/7	22/23/11/7/25/22/2/3	41/49/49/31/67/59/4/10	.08
Naif, n(%)	19 (9.7)	22 (19.1)	41 (13.2)	.06
İmmünomodülatör, n(%)	130 (66.7)	66 (57.4)	196 (63.2)	
İmmünoşüpresif, n(%)	46 (23.6)	27 (23.5)	73 (23.6)	

Karşılaştırmalar kadın RRMS hastalarıyla erkek RRMS hastaları arasında gerçekleştirilmiştir. Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. *: Bağımsız örneklem t-testi ile analiz edilmiştir. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. EDSS: Expanded Disability Status Scale, MSSS: Multiple Sclerosis Severity Score, 25(OH)D₃: 25-Hidroksivitamin D₃, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein, N:Naif, IF: İnterferon- β , GA: Glatiramer asetat, DMF: Dimetil fumarat, TF: Teriflunomid, F: Fingolimod, K: Kladrinin, MAB: Monoklonal antikor bazlı ilaçlar.

Çizelge 3.3 (Devamı): Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik bilgilerinin cinsiyetlere göre dağılımları.

	Kadın (n=195)	Erkek (n=115)	Toplam (n=310)	P
25-(OH) D₃ (nmol/L), ortalama ± SS	26.6 ± 20.6	30.0 ± 22.1	27.8 ± 21.2	.23
medyan (Q1-Q3)	21.0 (13.5-33.0)	22.0 (15.0-34.0)	21.0 (14.0-34.0)	
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS	1.34 ± 0.81	1.77 ± 1.06	1.50 ± 0.94	<.001
medyan (Q1-Q3)	1.12 (0.83-1.59)	1.38 (1.01-2.27)	1.24 (0.89-1.84)	
Total Kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	4.63 ± 0.99	4.71 ± 1.11	4.66 ± 1.04	.50*
medyan (Q1-Q3)	4.58 (3.96-5.13)	4.61 (3.94-5.47)	4.58 (3.96-5.28)	
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	2.68 ± 0.81	2.91 ± 0.94	2.77 ± 0.87	.04
medyan (Q1-Q3)	2.59 (2.15-3.13)	2.72 (2.31-3.34)	2.62 (2.15-3.19)	
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	1.37 ± 0.37	1.10 ± 0.24	1.27 ± 0.35	<.001
medyan (Q1-Q3)	1.30 (1.14-1.58)	1.09 (0.96-1.22)	1.22 (1.04-1.48)	
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	0.61 ± 0.34	0.84 ± 0.48	0.70 ± 0.41	<.001
medyan (Q1-Q3)	0.54 (0.39-0.75)	0.65 (0.49-1.09)	0.60 (0.41-0.86)	
Sigara (Evet), n (%)	32 (16.4)	66 (57.4)	98 (31.6)	<.001
Karşılaştırmalar kadın RRMS hastalarıyla erkek RRMS hastaları arasında gerçekleştirilmiştir. Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney <i>U</i> testi ile analiz edilmiştir.*: Bağımsız örneklem t-testi ile analiz edilmiştir. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. EDSS: Expanded Disability Status Scale, MSSS: Multiple Sclerosis Severity Score, 25(OH)D ₃ : 25-Hidroksivitamin D ₃ , HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein, N:Naif, IF: İnterferon- β , GA: Glatiramer asetat, DMF: Dimetil fumarat, TF: Teriflunomid, F: Fingolimod, K: Kladrinin, MAB: Monoklonal antikor bazlı ilaçlar.				

Grup-1'deki RRMS hastalarının EDSS skorları cinsiyetlere göre karşılaştırıldığında kadın RRMS hastalarının (1.4 ± 1.0) erkek RRMS hastalarından (1.7 ± 1.2) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük skorlara sahip oldukları görülmüştür ($P=.03$). Gruplardaki hastalar EDSS skorları üçten büyük ($EDSS>3$) ve üçe eşit veya üçten küçük ($EDSS\leq 3$) olarak ayrıldığında ise erkeklerdeki $EDSS>3$ oranının (%12.2) kadınlardakine göre (%5.1) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür ($P=.03$). Hastalığın progresyon hızı (MSSS) karşılaştırıldığında ise kadın RRMS hastalarının MSSS değerleri (2.52 ± 1.85) ve erkek RRMS hastalarının MSSS değerleri (2.91 ± 1.93) arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ($P=.07$). Ayrıca, RRMS hastaları hızlı progresyon ($MSSS>5$) ve yavaş progresyon ($MSSS\leq 5$) olarak ikiye ayrıldığında kadın RRMS hastalarında hızlı progresyona frekansı ile (%11.8) erkek RRMS hastalarında hızlı progresyon frekansı (%17.4) arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.17$). RRMS hastaları, grup içi MSSS medyan değeri olan 2.44'e göre ikiye ayrıldığında ise $MSSS > 2.44$ olan kadın RRMS hastaların frekansının (%49.2) erkek RRMS hastalarınınkinden (%55.7) istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmüştür ($P=.27$).

Grup-1'deki RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyeleri karşılaştırıldığında, kadın RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyesiyle (26.6 ± 20.6 nmol/L) erkek RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyesi (30.0 ± 22.1 nmol/L) arasında anlamlı bir farklı olmadığı görülmüştür ($P=.23$). Serum trigliserit seviyesi kadın ve erkek RRMS hastaları arasında karşılaştırıldığında ise erkek RRMS hastalarında (1.77 ± 1.06 mmol/L) kadın RRMS hastalarına nazaran (1.34 ± 0.81 mmol/L) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<.001$). Kadın RRMS hastalarında 4.63 ± 0.99 mmol/L, erkek RRMS hastalarında ise 4.71 ± 1.11 mmol/L olarak bulunan serum total kolesterol seviyesi gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemektedir ($P=.57$). Buna karşın kadın RRMS hastalarının LDL-kolesterol seviyesinin (2.68 ± 0.81 mmol/L) erkek RRMS hastalarınınkinden (2.91 ± 0.94 mmol/L) anlamlı derecede düşük olduğu görülürken, HDL-kolesterol seviyesinin kadın RRMS hastalarında (1.37 ± 0.37 mmol/L) erkek RRMS hastalarına kıyasla (1.10 ± 0.24 mmol/L) anlamlı derecede daha düşük olduğu görülmüştür (LDL-kolesterol için: $P=.04$; HDL-kolesterol için: $P<.001$). Son olarak serum VLDL-kolesterol seviyesinin de erkek RRMS hastalarında (0.84 ± 0.48 mmol/L) kadın RRMS

hastalarına göre (0.61 ± 0.34 mmol/L) anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<.001$). Sigara içme durumu karşılaştırıldığında ise erkek RRMS hastalarında sigara içme oranının (%57.4) kadın RRMS hastalarından (%16.4) anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür ($P<.001$)

3.3.2 CLU SNP'lerinin genotip ve alel frekansları

3.3.2.1 CLU rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları

Grup-1'e dahil olan 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyin CLU rs11136000 C/T SNP genotipleme çalışmaları sonucunda elde edilen genotiplerin frekanslarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumu incelenmiştir (Çizelge 3.4). Bu sonuçlara göre kontrol ve RRMS gruplarında gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasında anlamlı bir fark görülmemektedir (kontrol grubu: $P=.88$; RRMS grubu: $P=.94$).

Çizelge 3.4: CLU rs11136000 C/T SNP'sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonucu.

CLU rs11136000 C/T				
Gruplar	Genotipler	Gözlenen Genotip Frekansları	Beklenen Genotip Frekansları	P
Kontrol	CC	123	120.16	.88
	TC	140	145.68	
	TT	47	44.16	
	Total	310	310	
RRMS	CC	128	125.83	.94
	TC	139	143.35	
	TT	43	40.83	
	Total	310	310	

P değerleri χ^2 testi ile belirlenmiştir.

Bir sonraki aşamada, CLU rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları farklı modellerde RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında karşılaştırılmışlardır (Çizelge 3.5). Resesif modelde TT genotipi CC ve CT genotipleri ile karşılaştırıldığında veya dominant modelde TT ve CT genotipleri CC genotipi ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemektedir (resesif model: $P=.65$, dominant model: $P=.68$). Gruplar arasında polimorfik T alel frekansı bakımından da istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemektedir ($P=.60$). CLU rs11136000 C/T SNP'sinin genotip frekansları farklı genotip modellerine göre RRMS ve kontrol grubu arasında karşılaştırılmış olup yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş OR ve *P* değerleri Çizelge 3.6'da sunulmuşlardır.

Çizelge 3.5: Grup-1’de *CLU* rs11136000 C/T SNP’sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

<i>CLU</i> rs11136000 C/T		RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	P
Genotip, n (%)	CC	128 (41.3)	123 (39.7)	0.90 ^a (0.58-1.41)	.65 ^a
	CT	139 (44.8)	140 (45.2)	0.94 ^b (0.68-1.29)	.68 ^b
	TT	43 (13.9)	47 (15.1)		
Alel Frekansı	C	0.637	0.623	0.94 ^c (0.75-1.18)	.60 ^c
	T	0.353	0.377		

Gruplar arası genotip ve alel frekansı karşılaştırması için Pearson χ^2 testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=0.0125$ olarak belirlenmiştir. ^a Resesif model: TT vs. CT & CC, ^b Dominant model: TT & CT vs. CC, ^c T vs. C.

Çizelge 3.6: *CLU* rs11136000 C/T SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve P değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.

Genotip Modelleri	Genotip n (%)	RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	P	AIC	BIC
Kodominant	CC	128 (41.3)	123 (39.7)	0.96 (0.68-1.34) ^a 0.88 (0.54-1.43) ^b	.88	868.5	890.6
	CT	139 (44.8)	140 (45.2)				
	TT	43 (13.9)	47 (15.1)				
Dominant	CC	128 (41.3)	123 (39.7)	0.94 (0.68-1.29) ^c	.69	866.6	884.3
	CT-TT	182 (58.7)	187 (60.3)				
Resesif	CC-CT	267 (86.1)	263 (84.8)	0.90 (0.58-1.42) ^d	.66	866.5	884.3
	TT	43 (13.9)	47 (15.2)				
Overdominant	CC-TT	171 (55.2)	170 (54.8)	0.99 (0.72-1.36) ^e	.94	866.7	884.5
	CT	139 (44.8)	140 (45.2)				
Log-additive	---	---	---	0.94 (0.75-1.18) ^f	.61	866.5	884.2

Gruplar arasındaki genotip frekansı karşılaştırmaları SNPStat programı kullanılarak lojistik regresyon ile analiz edilerek yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş P, OR ve CI değerleri elde edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=0.0125$ olarak belirlenmiştir. AIC: Akaike information criterion. BIC: Bayesian information criterion. ^a: CT vs. CC, ^b: TT vs. CC, ^c: TT & CT vs. CC, ^d: TT vs. CT & CC, ^e: CT vs. CC & TT, ^f: TT vs. CT vs. CC.

Bu analizlerde de resesif modelde ve dominant modelde P değeri yaşa ve cinsiyete göre düzenlendiğinde gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (resesif model: TT vs. CT+TT, $P=.66$, dominant model: TT+CT vs. CC, $P=.69$). Ayrıca, AIC ve BIC değeri en düşük model olan log-additive modele göre de gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (TT vs. CT vs. CC, $P=.61$). Diğer modeller olan kodominant modele ve overdominant modele göre yapılan analizlerde de gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (kodominant model: TT vs. CT vs. CC $P=.88$; overdominant model: CT vs. CC+TT, $P=.94$).

3.3.2.2 CLU rs087554 T/C SNP'sinin genotip ve alel frekansları

Grup-1'e dahil olan 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyin CLU rs3087554 T/C SNP genotipleme çalışmaları sonucunda elde edilen genotiplerin frekanslarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumu incelenmiştir (Çizelge 3.7). Bu sonuçlara göre kontrol ve RRMS gruplarında gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (kontrol grubu: $P>.99$; RRMS grubu: $P=.33$).

Çizelge 3.7: CLU rs3087554 T/C SNP'sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonuçları.

CLU rs3087554 T/C				
Gruplar	Genotipler	Gözlenen Genotip Frekansları	Beklenen Genotip Frekansları	P
Kontrol	TT	232	226.53	>.99
	TC	66	76.94	
	CC	12	6.53	
	Total	310	310	
RRMS	TT	197	196.80	.33
	TC	100	100.39	
	CC	13	12.80	
	Total	310	310	

P değerleri χ^2 testi ile belirlenmiştir.

Beklenen ve gözlenen genotip frekansları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemesi üzerine RRMS ve kontrol grupları arasında rs3087554 T/C SNP'sinin genotip ve alel frekanslarının karşılaştırmaları gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.8). Ayrıca, CLU rs3087554 T/C SNP'sinin genotip frekansları farklı genotip modellerine göre RRMS ve kontrol grubu arasında karşılaştırılmış olup yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş OR ve P değerleriyle Çizelge 3.9'da sunulmuştur.

Çizelge 3.8: Grup-1’de *CLU* rs3087554 SNP’sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

<i>CLU</i> rs3087554 T/C		RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	<i>P</i>
Genotip, n (%)	TT	197 (63.5)	232 (74.8)	1.09 ^a (0.49-2.42)	.84 ^a
	TC	100 (32.3)	66 (21.3)		
	CC	13 (4.2)	12 (3.9)	1.71 ^b (1.21-2.41)	.002 ^b
Alel Frekansı	T	0.797	0.855	1.50 ^c (1.12-2.02)	.007 ^c
	C	0.203	0.145		

Gruplar arası genotip ve alel frekansı karşılaştırması için Pearson χ^2 testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir. ^a Resesif model: CC vs. TC & TT, ^b Dominant model: CC & TC vs. TT, ^c C vs. T.

Çizelge 3.9: Grup-1’de *CLU* rs3087554 T/C SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve *P* değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.

Genotip Modelleri	Genotip n(%)	RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	<i>P</i>	AIC	BIC
Kodominant	TT	197 (63.5)	232 (74.8)	1.82 (1.26-2.63) ^a	.005	858.2	880.4
	TC	100 (32.3)	66 (21.3)				
	CC	13 (4.2)	12 (3.9)	1.26 (0.56-2.83) ^b			
Dominant	TT	197 (63.5)	232 (74.8)	1.73 (1.23-2.45) ^c	.002	857.0	874.7
	TC-CC	113 (36.5)	78 (25.2)				
Resesif	TT-TC	297 (95.8)	298 (96.1)	1.07 (0.48-2.39) ^d	.87	866.7	884.4
	CC	13 (4.2)	12 (3.9)				
Overdominant	TT-CC	210 (67.7)	244 (78.7)	1.80 (1.25-2.59) ^e	.001	856.5	874.3
	TC	100 (32.3)	66 (21.3)				
Log-additive	---	---	---	1.48 (1.11-1.98) ^f	.008	859.7	877.4

Gruplar arasındaki yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş genotip frekansı karşılaştırmaları SNPStat programı kullanılarak lojistik regresyon ile analiz edilmiş ve *P*, OR ve CI değerleri elde edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir. AIC: Akaike information criterion. BIC: Bayesian information criterion. ^a: TC vs. TT, ^b: CC vs. TT, ^c: CC & TC vs. TT, ^d: CC vs. TC & TT, ^e: TC vs. TT & CC, ^f: CC vs. TC vs. TT.

Çizelge 3.8'deki sonuçlar incelendiğinde resesif modelde CC genotipi TC ve TT genotipi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($P=.84$). Dominant modelde ise CC ve TC genotipi TT genotipi ile karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($OR=1.71$, %95 $CI=1.21-2.41$, $P=.002$). Benzer şekilde, C alel frekansı T alel frekansı ile karşılaştırıldığında da C alelinin RRMS hastalarında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür ($OR=1.50$, %95 $CI=1.12-2.02$, $P=.007$).

Çizelge 3.9'daki sonuçlar incelendiğinde, resesif modelde TT genotipi CT+CC genotipi ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.87$). Buna karşın, dominant modelde yaşa ve cinsiyete göre düzenleme yapıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür (CT+TT vs. CC, $OR=1.73$, %95 $CI=1.23-2.45$, $P=.002$). En düşük AIC ve BIC değerine sahip overdominant modele göre de TC genotipi CC ve TT genotipleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($OR=1.80$, %95 $CI=1.25-2.59$, $P=.005$). Kodominant modele göre analiz gerçekleştirildiğinde de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür (OR (TC vs. TT) =1.82, %95 $CI=1.26-2.63$; OR (CC vs. TT) =1.26, %95 $CI=0.56-2.83$, $P=.005$). Bir diğer analiz modeli olan log-additive modeline göre de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($OR=1.48$, %95 $CI=1.11-1.98$, $P=.008$).

3.3.2.3 *CLU* rs2279590 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları

Grup-1'e dahil olan 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyin *CLU* rs2279590 C/T SNP genotipleme çalışmaları sonucunda elde edilen genotiplerin frekanslarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumu incelenmiştir (Çizelge 3.10). Bu sonuçlara göre kontrol ve RRMS gruplarında gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (kontrol grubu: $P=.60$; RRMS grubu: $P=.71$).

Çizelge 3.10: *CLU* rs2279590 C/T SNP'sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonuçları.

<i>CLU</i> rs2279590 C/T				
Gruplar	Genotipler	Gözlenen Genotip Frekansları	Beklenen Genotip Frekansları	<i>P</i>
Kontrol	CC	122	115.84	.60
	TC	135	147.32	
	TT	53	46.84	
	Total	310	310	
RRMS	CC	143	139.56	.71
	TC	130	136.88	
	TT	37	33.56	
	Total	310	310	

P değerleri χ^2 testi ile belirlenmiştir.

Beklenen ve gözlenen genotip frekansları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemesi üzerine RRMS ve kontrol grupları arasında rs2279590 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekanslarının karşılaştırmaları gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.11). Buna göre resesif modelde TT genotipi CC ve CT genotipleri ile karşılaştırıldığında ($P=.06$) veya dominant modelde TT ve CT genotipleri CC genotipi ile karşılaştırıldığında ($P=.09$) istatistiki olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Polimorfik alel olan T alel frekansı gruplar arasında karşılaştırıldığında da gruplar arasında T alel frekansı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P=.03$).

CLU rs2279590 C/T SNP'sinin genotip frekansları farklı genotip modellerine göre RRMS ve kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaları da gerçekleştirilmiş olup yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş OR ve *P* değerleriyle birlikte Çizelge 3.12'de bu sonuçlar sunulmuşlardır. Bu analizlerde, resesif modelde ve dominant modelde *P* değeri yaşa ve cinsiyete göre düzenlendiğinde gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (resesif model: $P=.06$, dominant model: $P=.08$). Diğer modeller olan kodominant modele, overdominant modele ve AIC ile BIC değeri en düşük model olan log-additive modele göre karşılaştırmalar gerçekleştirildiğinde de gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (kodomiant model: CC vs. CT vs. TT, $P=.09$; overdominant model: CT vs. CC+TT, $P=.66$; log-additive model: CC vs. CT vs. TT, $P=.03$).

Çizelge 3.11: Grup-1’de *CLU* rs2279590 C/T SNP’sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

<i>CLU</i> rs2279590 C/T		RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	P
Genotip, n (%)	CC	143 (46.2)	122 (39.4)	0.66 ^a (0.42-1.03)	.06 ^a
	CT	130 (41.9)	135 (43.5)		
	TT	37 (11.9)	57 (17.1)	0.76 ^b (0.55-1.04)	.09 ^b
Alel Frekansı	C	0.671	0.611	0.77 ^c (0.61-0.97)	.03 ^c
	T	0.329	0.389		

Gruplar arası genotip ve alel frekansı karşılaştırması için Pearson χ^2 testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir. ^a Resesif model: TT vs. CT & CC, ^b Dominant model: TT & CT vs. CC, ^c T vs. C.

Çizelge 3.12: Grup-1’de *CLU* rs2279590 C/T SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve P değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.

Genotip Modelleri	Genotip n (%)	RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	P	AIC	BIC
Kodominant	CC	143 (46.2)	122 (39.4)	0.81 (0.58-1.15) ^a	.09	863.9	886.1
	CT	130 (41.9)	135 (43.5)	0.59 (0.36-0.96) ^b			
	TT	37 (11.9)	53 (17.1)				
Dominant	CC	143 (46.1)	122 (39.4)	0.75 (0.55-1.03) ^c	.08	863.7	881.4
	CT-TT	167 (53.9)	188 (60.6)				
Resesif	CC-CT	273 (88.1)	257 (82.9)	0.65 (0.41-1.03) ^d	.06	863.3	881.0
	TT	37 (11.9)	53 (17.1)				
Overdominant	CC-TT	180 (58.1)	175 (56.5)	0.93 (0.68-1.28) ^e	.66	866.5	884.3
	CT	130 (41.9)	135 (43.5)				
Log-additive	---	---	---	0.78 (0.62-0.98) ^f	.03	862.0	879.8

Gruplar arasındaki genotip frekansı karşılaştırmaları SNPStat programı kullanılarak lojistik regresyon ile analiz edilerek yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş P, OR ve CI değerleri elde edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir. AIC: Akaike information criterion. BIC: Bayesian information criterion. ^a: CT vs. CC, ^b: TT vs. CC, ^c: TT & CT vs. CC, ^d: TT vs. CT & CC, ^e: CT vs. CC & TT, ^f: TT vs. CT vs. CC.

3.3.2.4 *CLU* rs1532278 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları

Grup-1'e dahil olan 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyin *CLU* rs1532278 C/T SNP genotipleme çalışmaları sonucunda elde edilen genotiplerin frekanslarının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumu incelenmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.13'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre kontrol ve RRMS gruplarında gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (kontrol grubu: $P=.88$; RRMS grubu: $P=.94$).

Çizelge 3.13: *CLU* rs1532278 C/T SNP'sinin Hardy-Weinberg dengesi uyum analizi sonuçları.

<i>CLU</i> rs1532278 C/T				
Gruplar	Genotipler	Gözlenen Genotip Frekansları	Beklenen Genotip Frekansları	<i>P</i>
Kontrol	CC	123	120.16	.88
	TC	140	145.68	
	TT	47	44.16	
	Total	310	310	
RRMS	CC	128	125.83	.94
	TC	139	143.35	
	TT	43	40.83	
	Total	310	310	

P değerleri χ^2 testi ile belirlenmiştir.

Bir sonraki aşamada, *CLU* rs1532278 C/T genotip ve alel frekansları farklı modellerde RRMS ve kontrol bireyler arasında karşılaştırılmışlardır (Çizelge 3.14). Buna göre resesif modelde TT genotipi CC ve CT genotipleri ile karşılaştırıldığında veya dominant modelde TT ve CT genotipleri CC genotipi ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (resesif model: $P=.65$; dominant model: $P=.68$). Gruplar arasında polimorfik alel olan T alel frekansı bakımından da istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemektedir ($P=.60$). Ayrıca, *CLU* rs1532278 C/T SNP'sinin genotip frekansları farklı genotip modellerine göre RRMS ve kontrol grubu arasında karşılaştırılmış olup Çizelge 3.15'te yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş OR ve *P* değerleriyle birlikte sunulmuşlardır.

Çizelge 3.14: Grup-1’de *CLU* rs1532278 C/T SNP’sinin genotip ve alel frekanslarının dağılımı ve RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

<i>CLU</i> rs1532278 C/T		RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	<i>P</i>
Genotip, n (%)	CC	128 (41.3)	123 (39.7)	0.90 ^a (0.58-1.41)	.65 ^a
	CT	139 (44.8)	140 (45.2)		
	TT	43 (13.9)	47 (15.1)	0.94 ^b (0.68-1.29)	.68 ^b
Alel Frekansı	C	0.637	0.623	0.94 ^c (0.75-1.18)	.60 ^c
	T	0.353	0.377		

Gruplar arası genotip ve alel frekansı karşılaştırması için Pearson χ^2 testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir. ^a Resesif model: TT vs. CT & CC, ^b Dominant model: TT & CT vs. CC, ^c T vs. C.

Çizelge 3.15: Grup-1’de *CLU* rs1532278 C/T SNP’sinin genotip frekanslarının farklı modellerde dağılımlarının RRMS ile kontrol grubu arasında karşılaştırılması. OR ve *P* değerleri yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiştir.

Genotip Modelleri	Genotip n (%)	RRMS (n=310)	Kontrol (n=310)	OR (%95 CI)	<i>P</i>	AIC	BIC
Kodominant	CC	128 (41.3)	123 (39.7)	0.95 (0.68-1.34) ^a	.87	868.5	890.6
	CT	139 (44.8)	140 (45.2)				
	TT	43 (13.9)	47 (15.1)	0.88 (0.54-1.42) ^b			
Dominant	CC	128 (41.3)	123 (39.7)	0.93 (0.68-1.29) ^c	.68	866.6	884.3
	CT-TT	182 (58.7)	187 (60.3)				
Resesif	CC-CT	267 (86.1)	263 (84.8)	0.90 (0.57-1.41) ^d	.65	866.5	884.3
	TT	43 (13.9)	47 (15.2)				
Overdominant	CC-TT	171 (55.2)	170 (54.8)	0.99 (0.72-1.35) ^e	.93	866.7	884.5
	CT	139 (44.8)	140 (45.2)				
Log-additive	---	---	---	0.94 (0.75-1.18) ^f	.60	866.5	884.2

Gruplar arasındaki genotip frekansı karşılaştırmaları SNPStat programı kullanılarak lojistik regresyon ile analiz edilerek yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş *P*, OR ve CI değerleri elde edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir. AIC: Akaike information criterion. BIC: Bayesian information criterion. ^a: CT vs. CC, ^b: TT vs. CC, ^c: TT & CT vs. CC, ^d: TT vs. CT & CC, ^e: CT vs. CC & TT, ^f: TT vs. CT vs. CC.

CLU rs1532278 C/T SNP'sinin genotip frekansları farklı genotip modellerine göre RRMS ve kontrol grubu arasında karşılaştırılmış olup Çizelge 3.15'te yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş OR ve *P* değerleriyle birlikte sunulmuşlardır. Bu analizlerde de resesif modelde ve dominant modelde *P* değeri yaşa ve cinsiyete göre düzenlendiğinde gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (resesif model: TT vs. CT+CC, *P*=.65, dominant model: TT+CT vs. CC, *P*=.68). Ayrıca, AIC ve BIC değeri en düşük model olan log-additive modele göre de gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (TT vs. CT vs. CC, *P*=.60). Diğer modeller olan kodominant modele ve overdominant modele göre yapılan karşılaştırmalarda da gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (kodominant model: TT vs. CT vs. CC, *P*=.87; overdominant model: CT vs. CC+TT, *P*=.93).

3.3.2.5 *CLU* SNP genotiplerinin kombinasyonları ile gerçekleştirilen analizler

Bu kısımda tez çalışması kapsamındaki *CLU* SNP'lerinin dörtlü kombinasyonlarının RRMS ve kontrol grupları ile ilişkisi incelenmiştir. Genotip kombinasyonlarının frekansının en az birinin beş veya beşten az olması durumunda Fisher's exact test kullanılırken, her iki grupta da beşten fazla olması durumunda Pearson χ^2 testi kullanılmıştır (Çizelge 3.16).

Bu tez çalışması kapsamında çalışılan dört SNP olan rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin dörtlü kombinasyonları ile yapılan analizlerde çoklu test yapıldığı için anlamlılık derecesi kombinasyon sayısına bölünmüş ve yeni anlamlılık sınırı $\alpha < .0125$ olarak belirlenmiştir. Bu genotip kombinasyonlarından CCTCCTCC, CTTTCCCT, TTTTCCTT, TTTTCTCT genotipleri RRMS hastalarında kontrollere göre istatistiki olarak anlamlı ölçüde daha fazla görülmektedir (CCTCCTCC: *P*=.002; CTTTCCCT: OR=19.05, %95 CI=2.53-143.59, *P*<.001; TTTTCCTT: *P*=.002; TTTTCTCT: *P*=.007). Öte yandan, CTTTCTCT ve TTTTTTTT kombinasyonları ise kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla görülmektedir (CTTTCTCT: OR=0.56, %95 CI=0.39-0.81, *P*=.002; TTTTTTTT: OR=0.48, %95 CI=0.28-0.83, *P*=.007).

Çizelge 3.16: *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin bir aradaki kombinasyonlarının Grup-1'deki RRMS ve kontrol gruplarındaki dağılımlarının karşılaştırılması.

Genotiplerin Kombinasyonları	RRMS	Kontrol	RRMS vs. Kontrol	
	n=310	n=310	OR (%95 CI)	P
CCTTCCCC	52	68	0.72 (0.48-1.07)	.10
CCTTCTCC	4	1	4.04 (0.45-36.35)	.37*
CCTTCTCT	3	6	0.50 (0.12-2.00)	.50*
CCTTTTCC	1	0	-	>.99*
CCTTTTTT	5	1	5.07 (0.59-43.61)	.22*
CCTCCCCC	35	36	0.97 (0.59-1.59)	>.99
CCTCCCCT	1	0	-	>.99*
CCTCCTCC	10	0	-	.002*
CCTCCTCT	4	2	2.01 (0.37-11.07)	.69*
CCTCTTCC	1	0	-	>.99*
CCCCCCCC	11	9	1.23 (0.50-3.01)	.65
CTTTCCCC	3	5	0.60 (0.14-2.52)	.50*
CTTTCCCT	18	1	19.05 (2.53-143.59)	<.001*
CTTTCTCC	2	0	-	.50*
CTTTCTCT	62	96	0.56 (0.39-0.81)	.002
CTTTTTCT	1	6	0.16 (0.02-1.37)	.07*
CTTTTTTT	4	2	2.01 (0.37-11.07)	.69*
CTTCCCCC	7	0	-	.02*
CTTCCCCT	6	0	-	.03*
CTTCTCTCT	33	26	1.30 (0.76-2.23)	.34
CTTCTTCT	1	0	-	>.99*
CTTCTTTT	1	0	-	>.99*
CTCCCTCT	1	2	0.50 (0.05-5.53)	>.99*
TTTTCCCC	1	1	1.00 (0.06-16.06)	>.99*
TTTTCCCT	9	0	-	.002*
TTTTCTCT	8	0	-	.007*
TTTTCTTT	2	1	2.01 (0.18-22.24)	>.99*
TTTTTTCT	1	1	1.00 (0.06-16.06)	>.99*
TTTTTTTT	21	41	0.48 (0.28-0.83)	.007
TTTCCCCC	0	1	-	>.99*
TTTCTTTT	1	1	1.00 (0.06-16.06)	>.99*
TTCCCCCC	0	1	-	>.99*

Genotip kombinasyonları sırasıyla rs11136000, rs3087554, rs2279590 ve rs1532278 SNP genotipleri olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar bu genotip kombinasyonuna sahip olanlarla olmayanlar olmak üzere ayrılarak RRMS ve kontrol grupları arasında gerçekleştirilmiştir. Gruplar arası genotip frekansı karşılaştırmaları için Pearson χ^2 testi kullanılmıştır. *:Fisher's Exact Test kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmış olup anlamlılık sınırı $\alpha=.0125$ olarak belirlenmiştir.

3.3.3 *CLU* SNP'leri ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler

CLU SNP'leri ile hastalık riski arasındaki ilişkinin incelendiği Grup-1'de RRMS hastalarının klinik bilgileri ile *CLU* SNP genotipleri ve genotip modelleri arasındaki ilişkiler de ayrıca incelenmiştir.

3.3.3.1 *CLU* rs11136000 C/T ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler

CLU rs11136000 C/T SNP genotiplerine göre RRMS hastalarının klinik bilgilerinin dağılımları Çizelge 3.17'de özetlenmişlerdir. Bu analizlerde RRMS hastaları, kodominant modelde CC, CT ve TT genotiplerine göre gruplara ayrılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin RRMS hastalarındaki değerleri arasında karşılaştırmalar yapılırken Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde anlamlı çıkan sonuçların Mann-Whitney *U* testi ile post-hoc analizi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.17: P^1). Resesif modelde RRMS hastaları TT ve CT+CC genotipli olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin TT ve CT+CC genotipli olan RRMS hastalarındaki değerleri karşılaştırılırken Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır (Çizelge 3.17: P^2). Benzer şekilde, dominant modelde RRMS hastaları TT+CT genotipliler ile CC olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin bu gruplar arasındaki değerlerinin karşılaştırılmalarında Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır (Çizelge 3.17: P^3). Kategorik değişkenlerin analizi ise kodominant (Çizelge 3.17: P^1), resesif (Çizelge 3.17: P^2) ve dominant modelde (Çizelge 3.17: P^3) Pearson χ^2 testi ile gerçekleştirilmiştir.

310 RRMS hastasının hastalık ve tedavi süreleri rs11136000 C/T'nin farklı genotip modellerinde kıyaslanmışlardır. Hastalık sürelerinin kodominant, resesif ve dominant modele göre rs11136000 C/T SNP'sinin genotiplerindeki dağılımları karşılaştırıldığında genotipler arasında hastalık süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.12$; resesif model: $P=.10$; dominant model: $P=.09$). Benzer şekilde, tedavi süreleri de kodominant, resesif ve dominant modele göre rs11136000 C/T SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında tedavi süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.25$; resesif model: $P=.17$; dominant model: $P=.17$).

Çizelge 3.17: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs11136000 C/T SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.

	CC (n=128)	CT (n=139)	TT (n=43)	<i>P^a</i>	<i>P^b</i>	<i>P^c</i>
Hastalık Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	5.7 ± 5.1 4.0 (1.0-8.5)	5.1 ± 5.4 3.0 (1.0-6.0)	3.9 ± 3.7 2.0 (1.0-6.0)	.12	.10	.09
EDSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.6 ± 1.1 1.5 (1.0-2.0)	1.5 ± 1.1 1.0 (1.0-2.0)	1.2 ± 0.8 1.0 (1.0-2.0)	.18	.08	.23
EDSS ≤ 3.0, n (%)	115 (89.8)	129 (92.8)	42 (97.7)	.24	.15	.18
EDSS > 3.0, n (%)	13 (10.2)	10 (7.2)	1 (2.3)			
MSSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.71 ± 1.92 2.44 (1.28-3.98)	2.72 ± 1.88 2.44 (1.13-4.30)	2.34 ± 1.82 2.01 (0.94-2.65)	.42	.19	.77
MSSS ≤ 2.44, n (%)	62 (48.4)	63 (45.3)	25 (58.1)	.34	.17	.98
MSSS > 2.44, n (%)	66 (51.6)	76 (54.7)	18 (41.9)			
MSSS ≤ 5.00, n (%)	107 (83.6)	121 (87.1)	39 (90.7)	.46	.35	.28
MSSS > 5.00, n (%)	21 (16.4)	18 (12.9)	4 (9.3)			
Tedavi Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.3 ± 4.6 2.0 (1.0-6.0)	3.7 ± 4.3 2.0 (1.0-5.0)	2.8 ± 3.2 2.0 (0.0-4.0)	.25	.17	.17
25-(OH) D₃ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	27.81 ± 22.16 23.00 (15.00-31.00)	28.66 ± 21.80 21.00 (14.00-36.00)	25.15 ± 15.66 20.00 (15.00-30.00)	.92	.75	.91
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.48 ± 0.88 1.27 (0.94-1.66)	1.62 ± 1.06 1.30 (0.87-2.08)	1.20 ± 0.53 1.15 (0.84-1.48)	.15	.06	.82
Total Kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.65 ± 1.05 4.64 (3.96-5.26)	4.69 ± 1.07 4.56 (3.94-5.41)	4.59 ± 0.89 4.56 (4.01-5.10)	.95	.76	.93
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.75 ± 0.81 2.67 (2.18-3.16)	2.77 ± 0.97 2.54 (2.12-3.29)	2.80 ± 0.67 2.71 (2.38-3.06)	.68	.44	.89
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.29 ± 0.35 1.24 (1.06-1.45)	1.26 ± 0.37 1.17 (1.04-1.48)	1.28 ± 0.28 1.23 (1.09-1.53)	.41	.62	.32
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.67 ± 0.37 0.57 (0.44-0.75)	0.77 ± 0.48* 0.65 (0.44-0.98)	0.55 ± 0.24 0.61 (0.44-0.86)	.03	.62	.57
Sigara (Evet), n (%)	37 (28.9)	41 (29.5)	20 (46.5)	.08	.02	.39

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler kodominant model için Kruskal-Wallis ile; resesif ve dominant modeller için Mann-Whitney *U* ile analiz edilmiştir. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. *P^a*: Kodominant model, ^a: CC vs. CT vs. TT. *P^b*: Resesif model, ^b: CC+CT vs. TT. *P^c*: Dominant model, CC vs. CT+TT. ^c: CT vs. TT: *P*=.03., 25-(OH) D₃: 25-Hidroksivitamin D₃ HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein.

EDSS skorları *CLU* rs11136000 C/T SNP genotipleri arasında kıyaslandığında kodominant, resesif ve dominant modele göre genotiplerdeki dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (kodominant model: $P=.18$; resesif model: $P=.08$; dominant model: $P=.23$). EDSS skorlarına göre RRMS hastaları hafif düzey ($EDSS \leq 3$) ve orta ila yüksek düzey ($EDSS > 3$) olarak ikiye ayrıldığında kodominant modelde ($P=.24$), resesif modelde ($P=.15$) ve dominant modelde ($P=.18$) genotipler arasında orta ila yüksek düzey EDSS skoru görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. RRMS hastalarının progresyon hızları incelendiğinde ise MSSS değerleri kodominant ($P=.42$), resesif ($P=.19$) ve dominant modele göre ($P=.77$) genotipler arasında anlamlı bir fark göstermemektedir. MSSS değerleri yavaş progresyon ($MSSS \leq 5.00$) ve hızlı progresyon ($MSSS > 5.00$) olmak üzere ikiye ayrıldığında ise kodominant modelde ($P=.42$), resesif modelde ($P=.35$) ve dominant modelde ($P=.28$) genotipler arasında hızlı progresyon görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. MSSS değerleri, grubun medyan değeri olan 2.44'ten büyük olanlar ve 2.44'e eşit veya küçük olanlar olarak ikiye ayrıldıklarında da farklı modellere göre genotipleri arasında $MSSS > 2.44$ görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (kodominant model: $P=.34$; resesif model: $P=.17$; dominant model: $P=.98$).

RRMS hastalarının serum lipit ve 25-(OH) D₃ değerleri de farklı genotip modellerine göre karşılaştırılmıştır. Serum 25-(OH) D₃ seviyeleri kodominant ($P=.92$), resesif ($P=.75$) ve dominant modelde ($P=.91$) incelendiğinde genotipler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Serum lipit parametrelerinin kodominant, resesif ve dominant modellerine göre genotiplerdeki dağılımları kıyaslandığında ise trigliserit (kodominant model: $P=.15$; resesif model: $P=.06$; dominant model: $P=.82$), total kolesterol (kodominant model: $P=.95$; resesif model: $P=.76$; dominant model: $P=.93$), LDL-kolesterol (kodominant model: $P=.68$; resesif model: $P=.44$; dominant model: $P=.89$) ve HDL-kolesterol (kodominant model: $P=.41$; resesif model: $P=.62$; dominant model: $P=.32$) bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Serum VLDL-kolesterol seviyesinin resesif ($P=.62$) ve dominant modele göre ($P=.32$) genotipler arasındaki dağılımı anlamlı bir fark göstermese de kodominant modele göre genotipler arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür (CC vs. CT vs. TT; $P=.03$). Post-hoc analizi gerçekleştirildiğinde, TT

genotipli RRMS hastalarının VLDL-kolesterol seviyesinin CT genotipli RRMS hastalarından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha az olduğu görülmüştür ($P=.03$). Sigara içme durumu gruplar arasında karşılaştırıldığında ise kodominant ve dominant modelde genotipler arasında fark görülmezken resesif modelde TT genotiplilerde, CT+ CC genotiplilere göre daha yüksek oranda olduğu görülmüştür ($P=.02$)

3.3.3.2 *CLU* rs3087554 T/C ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler

CLU rs3087554 T/C SNP genotiplerine göre RRMS hastalarının klinik bilgilerinin dağılımları Çizelge 3.18'de özetlenmişlerdir. Bu analizlerde RRMS hastaları, kodominant modelde TT, TC ve CC genotiplerine göre gruplara ayrılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin RRMS hastalarındaki değerleri arasında karşılaştırmalar yapılırken Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde anlamlı çıkan sonuçların Mann-Whitney *U* testi ile post-hoc analizi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.18: P^1). Resesif modelde RRMS hastaları CC ve TC+TT genotipli olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin TT ve CT+CC genotipli olan RRMS hastalarındaki değerleri karşılaştırılırken Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır (Çizelge 3.18: P^2). Benzer şekilde, dominant modelde RRMS hastaları CC+TC genotipliler ve TT olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin bu gruplar arasındaki değerlerinin karşılaştırılmalarında Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır (Çizelge 3.18: P^3). Kategorik değişkenlerin analizi ise kodominant (Çizelge 3.18: P^1), resesif (Çizelge 3.18: P^2) ve dominant modelde (Çizelge 3.18: P^3) Pearson χ^2 testi ile gerçekleştirilmiştir.

310 RRMS hastasının hastalık ve tedavi süreleri rs3087554 T/C'nin farklı genotip modellerinde kıyaslanmışlardır. Hastalık süreleri kodominant, resesif ve dominant modele göre rs3087554 T/C SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında hastalık süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.37$; resesif model: $P=.88$; dominant model: $P=.19$). Benzer şekilde, tedavi süreleri de kodominant, resesif ve dominant modele göre rs3087554 T/C SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında tedavi süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.42$; resesif model: $P=.70$; dominant model: $P=.19$).

Çizelge 3.18: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs3087554 T/C SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.

	TT (n=197)	TC (n=100)	CC (n=13)	P ^a	P ^b	P ^c
Hastalık Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.9 ± 4.9 3.0 (1.0-7.0)	5.8 ± 5.6 4.0 (1.0-8.0)	4.7 ± 4.4 3.0 (1.0-7.0)	.37	.88	.19
EDSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.4 ± 1.1 1.0 (1.0-2.0)	1.5 ± 1.1 1.0 (1.0-2.0)	2.0 ± 1.0 2.0 (1.0-2.5)	.16	.07	.27
EDSS ≤ 3.0, n (%)	183 (92.9)	92 (92.0)	11 (84.6)	.55	.27*	.58
EDSS > 3.0, n (%)	14 (7.1)	8 (8.0)	2 (15.4)			
MSSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.59 ± 1.83 2.44 (1.14-3.34)	2.67 ± 1.99 2.38 (1.04-4.30)	3.72 ± 1.75 3.17 (2.44-5.75)	.07	.02	.56
MSSS ≤ 2.44, n (%)	97 (49.2)	50 (50.0)	3 (23.1)	.17	.09*	.72
MSSS > 2.44, n (%)	100 (50.8)	50 (50.0)	10 (76.9)			
MSSS ≤ 5.00, n (%)	172 (87.3)	86 (86.0)	9 (69.2)	.19	.09*	.43
MSSS > 5.00, n (%)	25 (12.7)	14 (14.0)	4 (30.8)			
Tedavi Süresi (yıl), Ortalama ± SS Medyan (Q1-Q3)	3.6 ± 4.2 2.0 (1.0-5.0)	4.1 ± 4.5 2.5 (1.0-6.0)	4.2 ± 4.7 3.0 (1.0-6.0)	.42	.70	.19
25-(OH) D ₃ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	28.41 ± 21.67 21.00 (14.00-36.00)	27.44 ± 21.14 21.50 (15.00-31.00)	22.46 ± 14.20 23.00 (12.00-31.00)	.75	.50	.60
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.49 ± 0.92 1.25 (0.87-1.86)	1.56 ± 1.01 1.24 (0.90-1.82)	1.27 ± 0.46 1.09 (0.99-1.54)	.88	.72	.80
Total Kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.69 ± 1.03 4.58 (3.96-5.18)	4.63 ± 1.04 4.61 (3.94-5.41)	4.52 ± 1.10 4.35 (4.07-5.13)	.91	.69	.79
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.76 ± 0.85 2.59 (2.18-3.19)	2.77 ± 0.93 2.75 (2.05-3.21)	2.82 ± 0.71 2.67 (2.56-3.11)	.86	.60	.80
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.27 ± 0.34 1.19 (1.04-1.50)	1.28 ± 0.37 1.22 (1.06-1.45)	1.29 ± 0.27 1.27 (1.09-1.37)	.88	.68	.70
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.69 ± 0.41 0.60 (0.39-0.86)	0.71 ± 0.44 0.60 (0.47-0.78)	0.64 ± 0.21 0.60 (0.47-0.86)	.88	.84	.62
Sigara (Evet), n (%)	62 (31.5)	31 (31.0)	5 (38.5)	.86	.56*	.94

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler kodominant model için Kruskal-Wallis ile; resesif ve dominant modeller için Mann-Whitney U ile analiz edilmiştir. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. *: Fisher’s exact test kullanılmıştır. P^a: Kodominant model, ^a: CC vs. CT vs. TT. P^b: Resesif model, ^b: CC+CT vs. TT. P^c: Dominant model, CC vs. CT+TT. 25-(OH) D₃: 25-Hidroksivitamin D₃. HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein.

EDSS skorları farklı genotip modellerine göre *CLU* rs3087554 T/C SNP genotipleri arasında kıyaslandığında kodominant modelde ($P=.16$), resesif modelde ($P=.07$) ve dominant modelde ($P=.27$) genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. EDSS skorlarına göre RRMS hastaları hafif düzey ($EDSS \leq 3$) ve orta ila yüksek düzey ($EDSS > 3$) olarak ikiye ayrıldığında ise kodominant modele ($P=.55$), resesif modele ($P=.27$) ve dominant modele göre ($P=.58$) genotipler arasında orta ila yüksek düzey EDSS skorları görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

RRMS hastalarının progresyon hızları incelendiğinde ise MSSS değerleri kodominant ($P=.07$) ve dominant modelde ($P=.56$) genotip modelleri arasında anlamlı bir fark göstermemekle birlikte resesif modelde C aleli taşıyan bireylerde (CC+TC), TT genotipli bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazladır ($P=.02$). MSSS değerleri yavaş progresyon ($MSSS \leq 5.00$) ve hızlı progresyon ($MSSS > 5$) olmak üzere ikiye ayrıldığında kodominant modelde ($P=.19$), resesif modelde ($P=.09$) ve dominant modelde ($P=.43$) genotipler arasında hızlı progresyon görülme frekansı bakımından anlamlı bir bulunmamıştır. Benzer şekilde, MSSS değerleri, grubun medyan değeri olan 2.44'ten büyük olanlar ve 2.44'e eşit veya küçük olanlar olarak ikiye ayrıldığında da kodominant modelde ($P=.17$), resesif modelde ($P=.09$) ve dominant modelde ($P=.72$) genotipler arasında $MSSS > 2.44$ görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyelerinin rs3087554 T/C SNP'sinin kodominant, resesif ve dominant modelde genotiplerdeki dağılımları karşılaştırıldığında genotipler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (kodominant model: $P=.75$; resesif model: $P=.50$; dominant model: $P=.60$). Serum lipit parametrelerinin kodominant, dominant ve resesif modellerde genotiplerdeki dağılımları kıyaslandığında ise trigliserit (kodominant model: $P=.88$; resesif model: $P=.72$; dominant model: $P=.80$), total kolesterol (kodominant model: $P=.91$; resesif model: $P=.69$; dominant model: $P=.79$), LDL-kolesterol (kodominant model: $P=.86$; resesif model: $P=.60$; dominant model: $P=.80$), HDL-kolesterol (kodominant model: $P=.88$; resesif model: $P=.68$; dominant model: $P=.70$) ve VLDL-kolesterol (kodominant model: $P=.88$; resesif model: $P=.84$; dominant model: $P=.62$) bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı

görülmüştür. Bununla birlikte, sigara içme durumları farklı genotip modellerine göre kıyaslandığında herhangi bir modelde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (kodominant model: $P=.86$; resesif model: $P=.56$; dominant model: $P=.94$).

3.3.3.3 CLU rs2279590 C/T ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler

CLU rs2279590 C/T SNP genotiplerine göre RRMS hastalarının klinik bilgilerinin dağılımları Çizelge 3.19'da özetlenmişlerdir. Bu analizlerde RRMS hastaları, kodominant modelde CC, CT ve TT genotiplerine göre gruplara ayrılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin RRMS hastalarındaki değerleri arasında karşılaştırmalar yapılırken Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde anlamlı çıkan sonuçların Mann-Whitney U testi ile post-hoc analizi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.19: P^1). Resesif modelde RRMS hastaları TT ve CT+CC genotipli olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin TT ve CT+CC genotipli olan RRMS hastalarındaki değerleri karşılaştırılırken Mann-Whitney U testi kullanılmıştır (Çizelge 3.19: P^2). Benzer şekilde, dominant modelde RRMS hastaları TT+CT genotipliler ile CC olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin bu gruplar arasındaki değerlerinin karşılaştırılmalarında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır (Çizelge 3.19: P^3). Kategorik değişkenlerin analizi ise kodominant (Çizelge 3.19: P^1), resesif (Çizelge 3.19: P^2) ve dominant modelde (Çizelge 3.19: P^3) Pearson χ^2 testi ile gerçekleştirilmiştir.

310 RRMS hastasının hastalık ve tedavi süreleri rs2279590 C/T SNP'sinin farklı genotip modellerinde kıyaslanmışlardır. Hastalık süreleri kodominant, resesif ve dominant modele göre rs2279590 C/T SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında hastalık süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.60$; resesif model: $P=.38$; dominant model: $P=.44$). Benzer şekilde, tedavi süreleri de kodominant, resesif ve dominant modele göre rs2279590 C/T SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında tedavi süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.78$; resesif model: $P=.53$; dominant model: $P=.60$).

Çizelge 3.19: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs2279590 C/T SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.

	CC (n=143)	CT (n=130)	TT (n=37)	<i>P^a</i>	<i>P^b</i>	<i>P^c</i>
Hastalık Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	5.6 ± 5.4 4.0 (1.0-8.0)	4.9 ± 5.0 3.0 (1.0-6.0)	4.5 ± 4.6 2.0 (1.0-6.0)	.60	.38	.44
EDSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.5 ± 1.2 1.0 (1.0-2.0)	1.5 ± 1.0 1.0 (1.0-2.0)	1.3 ± 0.8 1.0 (1.0-2.0)	.75	.47	.96
EDSS ≤ 3.0, n (%)	128 (89.5)	122 (93.8)	36 (97.3)	.19	.33*	.09
EDSS > 3.0, n (%)	15 (10.5)	8 (6.2)	1 (2.7)			
MSSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.63 ± 1.99 2.01 (1.13-3.55)	2.75 ± 1.85 2.44 (1.28-4.27)	2.51 ± 1.62 2.34 (1.28-3.34)	.56	.85	.35
MSSS ≤ 2.44, n (%)	74 (51.7)	57 (43.8)	19 (51.4)	.40	.70	.27
MSSS > 2.44, n (%)	69 (48.3)	73 (56.2)	18 (48.6)			
MSSS ≤ 5.00, n (%)	119 (83.2)	115 (88.5)	33 (89.2)	.39	.80*	.17
MSSS > 5.00, n (%)	24 (16.8)	15 (11.5)	4 (10.8)			
Tedavi Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.1 ± 4.6 2.0 (0.0-6.0)	3.6 ± 4.2 2.0 (1.0-5.0)	3.1 ± 3.4 2.0 (1.0-4.0)	.78	.53	.60
25-(OH) D ₃ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	28.00 ± 21.52 22.50 (14.00-33.50)	28.68 ± 22.69 21.00 (14.00-35.00)	24.30 ± 13.46 20.00 (16.00-30.00)	.98	.85	.96
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.58 ± 1.03 1.28 (0.89-1.84)	1.46 ± 0.88 1.19 (0.90-1.84)	1.34 ± 0.71 1.14 (0.87-1.65)	.53	.37	.35
Total Kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.72 ± 1.11 4.58 (3.99-5.36)	4.66 ± 1.02 4.64 (3.87-5.39)	4.43 ± 0.76 4.48 (3.89-4.84)	.50	.27	.44
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.79 ± 0.86 2.69 (2.18-3.21)	2.78 ± 0.94 2.59 (2.15-3.24)	2.61 ± 0.58 2.54 (2.25-2.90)	.64	.39	.52
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.27 ± 0.35 1.19 (1.06-1.45)	1.28 ± 0.36 1.22 (1.04-1.49)	1.25 ± 0.30 1.19 (1.01-1.48)	.94	.81	.75
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.72 ± 0.44 0.65 (0.44-0.86)	0.69 ± 0.41 0.60 (0.44-0.84)	0.61 ± 0.32 0.54 (0.39-0.75)	.38	.17	.46
Sigara (Evet), n (%)	47 (32.9)	35 (26.9)	16 (43.2)	.15	.11	.66

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler kodominant model için Kruskal-Wallis ile; resesif ve dominant modeller için Mann-Whitney *U* ile analiz edilmiştir. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. *P^a*: Kodominant model, ^a: CC vs. CT vs. TT. *P^b*: Resesif model, ^b: CC+CT vs. TT. *P^c*: Dominant model, CC vs. CT+TT. 25-(OH) D₃: 25-Hidroksivitamin D₃, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein.

EDSS skorları *CLU* rs2279590 C/T SNP genotipleri arasında kıyaslandığında kodominant modelde ($P=.75$), resesif modelde ($P=.47$) ve dominant modelde ($P=.96$) genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. EDSS skorlarına göre RRMS hastaları hafif düzey ($EDSS \leq 3$) ve orta ila yüksek düzey ($EDSS > 3$) olarak ikiye ayrıldığı durumda da kodominant modelde ($P=.19$), resesif modelde ($P=.33$) ve dominant modelde ($P=.09$) genotipler arasında orta ila yüksek düzey EDSS skoru görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

RRMS hastalarının progresyon hızları incelendiğinde ise MSSS değerlerinin kodominant ($P=.56$), resesif ($P=.85$) ve dominant modelde ($P=.35$) genotiplerdeki dağılımları arasında anlamlı bir fark görülmemektedir. MSSS değerleri yavaş progresyon ($MSSS \leq 5.00$) ve hızlı progresyon ($MSSS > 5$) olmak üzere ikiye ayrıldığında kodominant modelde ($P=.39$), resesif modelde ($P=.80$) ve dominant modelde ($P=.17$) genotipler arasında hızlı progresyon görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. MSSS değerleri, grubun medyan değeri olan 2.44'ten büyük olanlar ve 2.44'e eşit veya küçük olanlar olarak ikiye ayrıldığı durumda da kodominant modelde ($P=.40$), resesif modelde ($P=.70$) ve dominant modelde ($P=.09$) genotipler arasında $MSSS > 2.44$ görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyeleri rs2279590 C/T SNP'sinin genotipleri arasında kodominant ($P=.98$), resesif ($P=.85$) ve dominant modele ($P=.96$) göre kıyaslandığında genotiplerdeki dağılımları arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Serum lipit parametrelerinin kodominant, resesif ve dominant modele göre genotiplerdeki dağılımları kıyaslandığında ise trigliserit (kodominant model: $P=.53$; resesif model: $P=.37$; dominant model: $P=.55$), total kolesterol (kodominant model: $P=.50$; resesif model: $P=.27$; dominant model: $P=.44$), LDL-kolesterol (kodominant model: $P=.64$; resesif model: $P=.39$; dominant model: $P=.52$), HDL-kolesterol (kodominant model: $P=.94$ resesif model: $P=.81$; dominant model: $P=.75$) ve VLDL-kolesterol (kodominant model: $P=.38$; resesif model: $P=.17$; dominant model: $P=.46$) bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte, sigara içme durumları genotip modellerine göre kıyaslandığında herhangi bir modelde genotipler arasında sigara içme oranı

bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (kodominant model: $P=.15$; resesif model: $P=.11$; dominant model: $P=.66$).

3.3.3.4 CLU rs1532278 C/T ile RRMS hastalarının klinik bilgileri arasındaki ilişkiler

CLU rs1532278 C/T SNP genotiplerine göre RRMS hastalarının klinik bilgilerinin dağılımları Çizelge 3.20'de özetlenmişlerdir. Bu analizlerde RRMS hastaları, kodominant modelde CC, CT ve TT genotiplerine göre gruplara ayrılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin RRMS hastalarındaki değerleri arasında karşılaştırmalar yapılırken Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde anlamlı çıkan sonuçların Mann-Whitney U testi ile post-hoc analizi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.20: P^1). Resesif modelde RRMS hastaları TT ve CT+CC genotipli olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin TT ve CT+CC genotipli olan RRMS hastalarındaki değerleri karşılaştırılırken Mann-Whitney U testi kullanılmıştır (Çizelge 3.20: P^2). Benzer şekilde, dominant modelde RRMS hastaları TT+CT genotipliler ile CC olarak gruplandırılmış ve kategorik olmayan değişkenlerin bu gruplar arasındaki değerlerinin karşılaştırılmalarında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır (Çizelge 3.20: P^3). Kategorik değişkenlerin analizi ise kodominant (Çizelge 3.20: P^1), resesif (Çizelge 3.20: P^2) ve dominant modelde (Çizelge 3.20: P^3) Pearson χ^2 testi ile gerçekleştirilmiştir.

310 RRMS hastasının hastalık süreleri kodominant, resesif ve dominant modele göre rs1532278 C/T SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (kodominant model: $P=.08$; resesif model: $P=.06$; dominant model: $P=.08$). Tedavi süreleri de kodominant, resesif ve dominant modele göre rs1532278 C/T SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırıldığında genotipler arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (kodominant model: $P=.13$; resesif model: $P=.06$; dominant model: $P=.18$).

Çizelge 3.20: Grup-1’de bulunan RRMS hastalarının rs1532278 C/T SNP’sinin genotiplerine göre klinik bilgileri.

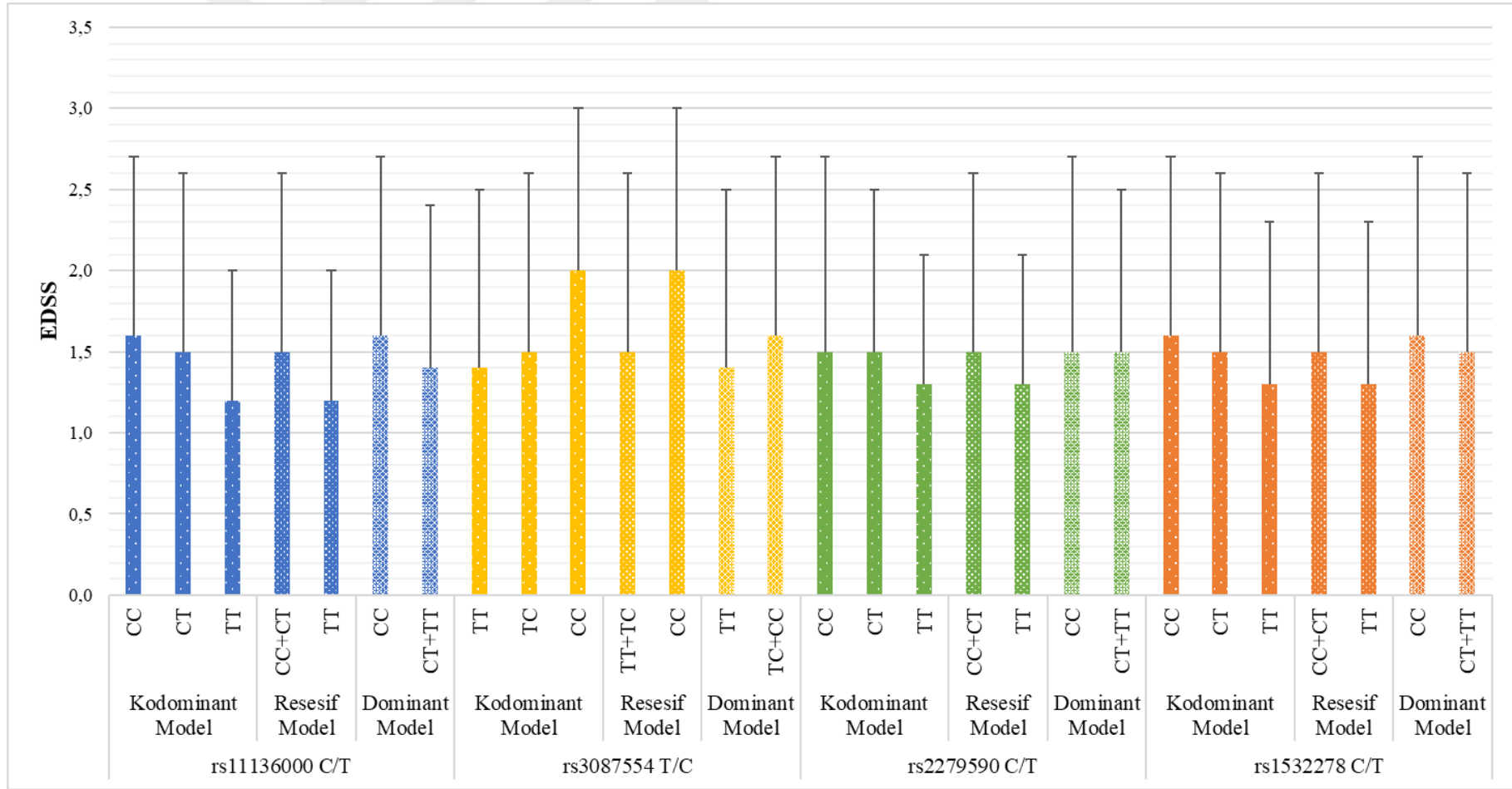
	CC (n=128)	CT (n=139)	TT (n=43)	<i>P</i> ^a	<i>P</i> ^b	<i>P</i> ^c
Hastalık Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	5.8 ± 5.2 4.0 (1.0-8.5)	5.0 ± 5.2 3.0 (1.0-6.0)	4.0 ± 4.4 2.0 (1.0-6.0)	.08	.06	.08
EDSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.6 ± 1.1 1.5 (1.0-2.0)	1.5 ± 1.1 1.0 (1.0-2.0)	1.3 ± 1.0 1.0 (1.0-1.0)	.54	.33	.41
EDSS ≤ 3.0, n (%)	116 (90.6)	129 (92.8)	41 (95.3)	.57	.55*	.37
EDSS > 3.0, n (%)	12 (9.4)	10 (7.2)	2 (4.7)			
MSSS, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.66 ± 1.89 2.44 (1.28-3.98)	2.70 ± 1.88 2.44 (1.13-4.27)	2.58 ± 1.94 2.01 (1.13-3.69)	.82	.59	.88
MSSS ≤ 2.44, n (%)	63 (49.2)	63 (45.3)	24 (55.8)	.47	.29	.81
MSSS > 2.44, n (%)	65 (50.8)	76 (50.7)	19 (44.2)			
MSSS ≤ 5.00, n (%)	110 (85.9)	120 (86.3)	37 (86.0)	>.99	>.99	.94
MSSS > 5.00, n (%)	18 (14.1)	19 (13.7)	6 (14.0)			
Tedavi Süresi (yıl), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.3 ± 4.6 2.0 (1.0-6.0)	3.7 ± 4.2 2.0 (1.0-5.0)	2.6 ± 3.3 2.0 (0.0-3.0)	.13	.06	.18
25-(OH) D ₃ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	27.82 ± 22.71 22.00 (13.00-31.00)	28.61 ± 21.50 21.00 (14.00-36.00)	25.25 ± 14.56 20.50 (17.00-29.50)	.84	.87	.56
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.53 ± 0.97 1.27 (0.98-1.71)	1.51 ± 0.97 1.24 (0.80-1.97)	1.38 ± 0.69 1.23 (0.87-1.74)	.75	.71	.45
Total Kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.68 ± 1.07 4.64 (2.96-5.28)	4.68 ± 1.05 4.56 (3.96-5.41)	4.55 ± 0.91 4.60 (2.81-5.08)	.80	.56	.63
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.76 ± 0.83 2.69 (2.15-3.21)	2.78 ± 0.95 2.59 (2.15-3.21)	2.72 ± 0.68 2.59 (2.33-2.98)	.88	.85	.62
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.28 ± 0.35 1.22 (1.06-1.42)	1.27 ± 0.37 1.19 (1.04-1.50)	1.24 ± 0.26 1.19 (1.06-1.48)	.82	.80	.53
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.70 ± 0.41 0.60 (0.47-0.78)	0.72 ± 0.44 0.60 (0.39-0.91)	0.63 ± 0.31 0.57 (0.39-0.78)	.71	.42	.67
Sigara (Evet), n (%)	37 (28.9)	41 (29.5)	20 (46.5)	.08	.03	.39

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler kodominant model için Kruskal-Wallis ile; resesif ve dominant modeller için Mann-Whitney *U* ile analiz edilmiştir. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. *P*^a: Kodominant model, ^a: CC vs. CT vs. TT. *P*^b: Resesif model, ^b: CC+CT vs. TT. *P*^c: Dominant model, CC vs. CT+TT. 25-(OH) D₃: 25-Hidroksivitamin D₃, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein.

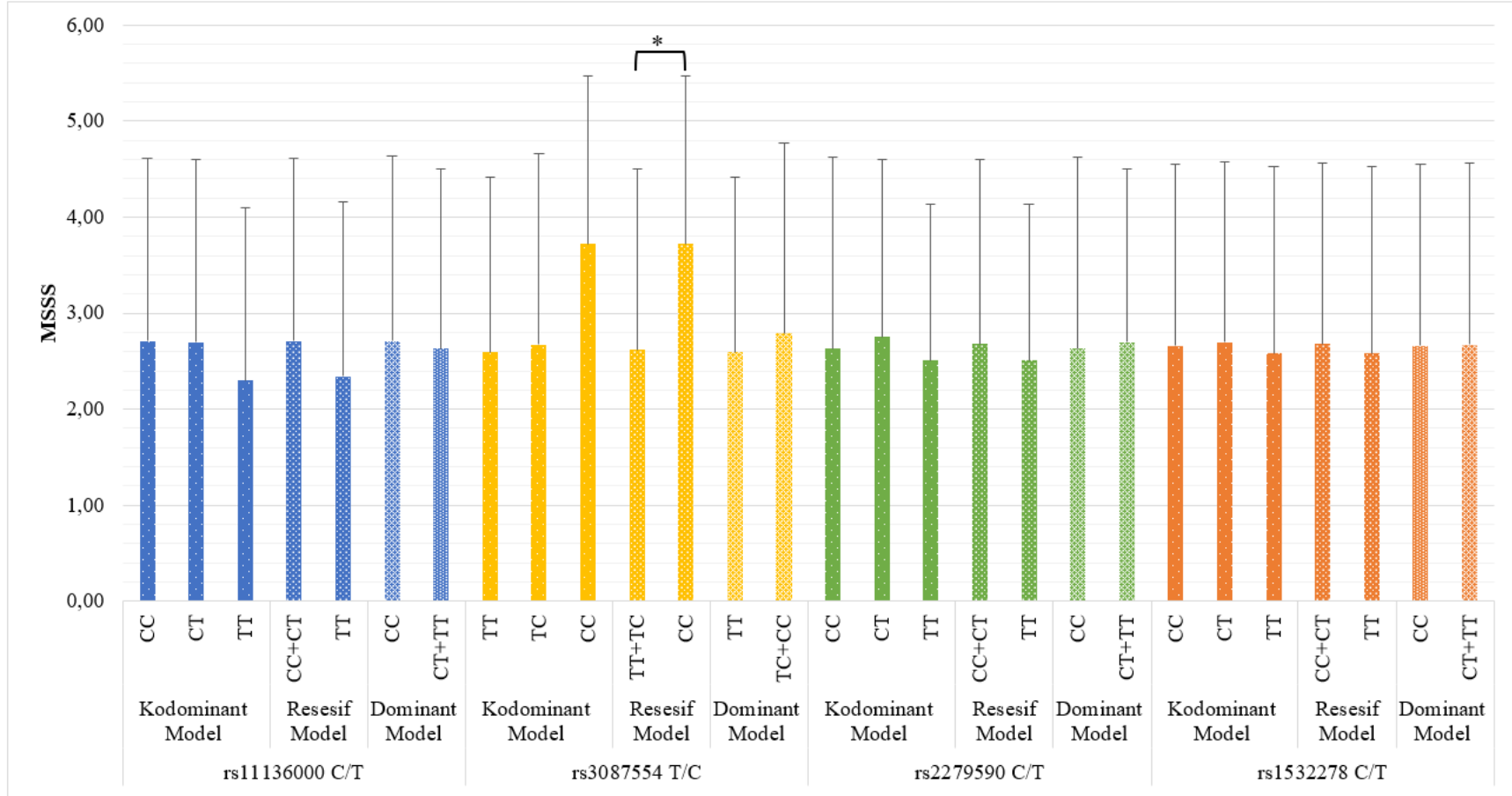
EDSS skorlarının *CLU* rs1532278 C/T SNP genotipleri arasındaki dağılımları farklı genotip modellerine göre kıyaslandığında kodominant modelde ($P=.54$), resesif modelde ($P=.33$) ve dominant modelde ($P=.41$) genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. RRMS hastalarının EDSS skorlarının *CLU* SNP genotipleri arasındaki dağılımları Şekil 3.6'da ayrıca sunulmuştur. EDSS skorlarına göre RRMS hastaları hafif düzey ($EDSS \leq 3$) ve orta ila yüksek düzey ($EDSS > 3$) olarak ikiye ayrıldığında kodominant modelde ($P=.57$), resesif modelde ($P=.55$) ve dominant modelde ($P=.37$) genotipler arasında orta ila yüksek düzey görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

RRMS hastalarının progresyon hızları incelendiğinde ise MSSS değerlerinin dağılımları kodominant ($P=.82$), resesif ($P=.59$) ve dominant modelde ($P=.88$) genotipler arasında anlamlı bir fark göstermemektedir. RRMS hastalarının MSSS değerlerinin *CLU* SNP genotipleri arasındaki dağılımları Şekil 3.7'de ayrıca sunulmuştur. MSSS değerleri yavaş progresyon ($MSSS \leq 5.00$) ve hızlı progresyon ($MSSS > 5$) olmak üzere ikiye ayrıldığında kodominant modelde ($P > .99$), resesif modelde ($P > .99$) ve dominant modelde ($P=.94$) genotipler arasında hızlı progresyon görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. MSSS değerleri, grubun medyan değeri olan 2.44'ten büyük olanlar ve 2.44'e eşit veya küçük olanlar olarak ikiye ayrıldığı durumda ise kodominant modelde ($P=.47$), resesif modelde ($P=.29$) ve dominant modelde genotipler arasında ($P=.81$) $MSSS > 2.44$ görülme frekansı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyelerinin kodominant ($P=.84$), resesif ($P=.87$) ve dominant modeldeki dağılımları ($P=.56$) incelendiğinde genotipler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir.

Serum lipit parametrelerinin kodominant, resesif ve dominant modele göre genotiplerdeki dağılımları kıyaslandığında ise trigliserit (kodominant model: $P=.75$; resesif model: $P=.71$; dominant model: $P=.45$), total kolesterol (kodominant model: $P=.80$; resesif model: $P=.56$; dominant model: $P=.63$), LDL-kolesterol (kodominant model: $P=.88$; resesif model: $P=.85$; dominant model: $P=.62$), HDL-kolesterol (kodominant model: $P=.82$; resesif model: $P=.50$; dominant model: $P=.83$) ve VLDL-kolesterol (kodominant model: $P=.71$; resesif model: $P=.42$; dominant model: $P=.67$) bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.



Şekil 3.6: Grup-1'deki RRMS hastalarının (n=310) *CLU* SNP'lerinin resesif ve dominant modellerine göre EDSS skorlarının dağılımı.



Şekil 3.7: Grup-1'deki RRMS hastalarının (n=310) *CLU* SNP'lerinin resesif ve dominant modellerine göre MSSS'lerinin dağılımı.
*: $P < .05$

Sigara içme durumu gruplar arasında karşılaştırıldığında ise kodominant ($P=.08$) ve dominant modelde ($P=.39$) genotipler arasında fark görülmezken resesif modelde TT genotiplilerde, CT ve CC genotiplilere ziyade daha yüksek oranda olduğu görülmüştür ($P=.03$).

3.3.4 Lojistik regresyon analizleri

Bu tez çalışması kapsamında bulunan Grup-1'de RRMS hastalarının mevcut klinik bilgilerinden faydalanarak 310 RRMS hastası için orta ila yüksek düzey EDSS riski ($EDSS>3$) ile hızlı MS progresyon riski ($MSSS>5$) olmak üzere iki farklı ikili lojistik regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Geriye doğru seçim metodunun (backward logistic regression) kullanıldığı bu analizlerde mevcut parametrelerin bir arada olması durumunda bağımlı değişken üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu analizler alt başlıklarda detaylarıyla aktarılmıştır.

Bu analizler haricinde, bu tez çalışması kapsamındaki *CLU* SNP'leri olan rs11136000, rs3087554, rs2279590, rs1532278 ve yaş, cinsiyet değişkenleri ile birlikte RRMS riski için de ikili lojistik regresyon analizi kullanılarak analizler gerçekleştirilmiş fakat anlamlı bir ilişki bulunmadığı için bu kısımda sonuçları sunulmamıştır.

3.3.4.1 Orta ila yüksek düzey EDSS riski için yapılan analizler

Bu analiz için öncelikle hastalar EDSS skoru üçten büyük olanlar ($EDSS>3$) ve olmayanlar ($EDSS\leq 3$) olarak ayrılmış olup EDSS skorunun üçten büyük olduğu durum riskli olarak kabul edilerek bağımlı değişken olarak atanmıştır. Analiz için anlamlı bir model oluşturabilmek adına bağımsız değişkenler için öncelikle eş lineerlik analizi gerçekleştirilmiş ve eş lineer olduğu tespit edilen bağımsız değişkenler bir arada olmayacak şekilde farklı alt model kombinasyonları oluşturulmuştur. Collinearity diagnostics analizine göre VIF skoru 3'ten büyük değişkenler eş lineer olarak belirlenmiştir.

Yapılan eş lineerlik analizinde, tez çalışması kapsamında bulunan rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin kodominant, resesif ve dominant modellerinin eş lineer olduğu görülmüştür. Ayrıca, kolesterol türleri (total, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) arasında da eş lineerlik bulunmaktadır. Bunlar haricinde trigliserit ve VLDL-kolesterol arasında da eş lineerlik bulunmaktadır. Bu yüzden analiz

modelleri oluşturulurken eş lineer olduğu bilinen değişkenlerden yalnızca birisi atanarak analiz modelleri oluşturulmuştur. Bu kapsamda oluşturulan analiz modelleri serisi Model A serisi olarak adlandırılmıştır (Çizelge 3.21). SNP'ler kodominant modelde kodlanırken yabancıl homozigot genotip risksiz, heterozigot genotip riskli ve polimorfik homozigot, heterozigot genotipten daha riskli olarak kabul edilmiştir. Resesif modelde yabancıl homozigot ve heterozigot genotip risksiz olarak kabul edilirken polimorfik homozigot genotip riskli olarak kabul edilmiştir. Dominant modelde yabancıl homozigot genotip risksiz olarak kabul edilirken heterozigot ve polimorfik homozigot genotipler riskli olarak kabul edilmiştir.

Model A.1 & Model A.2 serisi

Bu analiz modellerinde polimorfik alelin kodominant karakterde olduğu varsayılmıştır. Model A.1 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs2279590 C/T SNP'leri kodominant model olarak bulunurken Model A.2 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs1532278 C/T SNP'leri kodominant olarak bulunmaktadır. Cinsiyet, sigara içme durumu, 25-(OH) D₃ ve trigliserit seviyeleri Model A.1'in ve Model A.2'nin tüm alt modellerinde bulunmakta olup tüm kolesterol parametreleri (total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) alt modellerde ayrı ayrı bulunmaktadır. Trigliserit ise yalnızca VLDL-kolesterolün bulunduğu alt modelde bulunmamaktadır (Çizelge 3.21).

Model A.3 & Model A.4

Bu analizlerde polimorfik alelin resesif karakterde olduğu varsayılmıştır. Model A.3 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs2279590 C/T SNP'lerinin polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilirken Model A.4 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs1532278 C/T SNP'lerinin polimorfik alellerinin homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilmiştir. Cinsiyet, sigara içme durumu, 25-OH D₃ ve trigliserit seviyeleri Model A.3'ün ve Model A.4'ün tüm alt modellerinde bulunmakta olup tüm kolesterol parametreleri (total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) alt modellere sırayla eklenmişlerdir. Trigliserit ise yalnızca VLDL-kolesterolün bulunduğu alt modelde bulunmamaktadır (Çizelge 3.21).

Çizelge 3.21: Grup-1’de RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için yapılan LR analizleri modelleri.

<p>Model A.1 ve Model A.2: CLU SNP’leri kodominant olarak modelde eklenmişlerdir. Bağımlı Değişken: EDSS>3 riski</p> <p>Model A.1 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T bulunmaktadır.</p> <p>Model A.2 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs1532278 C/T bulunmaktadır.</p>	<p>Model A.1 Serisi rs11136000, rs2279590, rs3087554, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model A.1.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	Sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.23’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur
		Model A.1.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.	
		Model A.1.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.	
		Model A.1.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*	
<p>Model A.2 Serisi rs11136000, rs1532278, rs3087554, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model A.2.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	Sonuçları Model A.1.1, Model A.1.2, Model A.1.3 ile aynı gelmiş olup Çizelge 3.23’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur.	
	Model A.2.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
	Model A.2.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
	Model A.2.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		
<p>Model A.3 ve Model A.4: CLU SNP’leri resesif olarak modele eklenmişlerdir. Bağımlı Değişken: EDSS>3 riski</p> <p>Model A.3 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T bulunmaktadır.</p> <p>Model A.4 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs1532278 C/T bulunmaktadır.</p>	<p>Model A.3 Serisi rs11136000, rs2279590, rs3087554 SNP’lerinin resesif modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model A.3.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	Sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.23’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur
		Model A.3.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.	
		Model A.3.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.	
		Model A.3.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*	
<p>Model A.4 Serisi rs11136000, rs1532278, rs3087554 SNP’lerinin resesif modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model A.4.1: Total kolesterolün dahil edilmiştir.	Sonuçları Model A.3.1, Model A.3.2, Model A.3.3 ile aynı gelmiş olup Çizelge 3.23’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur.	
	Model A.4.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
	Model A.4.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
	Model A.4.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		
<p>Model A.5 ve Model A.6: CLU SNP’leri dominant olarak modele eklenmişlerdir. Bağımlı Değişken: EDSS>3 riski</p> <p>Model A.5 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T bulunmaktadır.</p> <p>Model A.6 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs1532278 C/T bulunmaktadır.</p>	<p>Model A.5 Serisi rs11136000, rs2279590, rs3087554 SNP’lerinin dominant modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model A.5.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	Sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.23’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur
		Model A.5.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.	
		Model A.5.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.	
		Model A.5.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*	
<p>Model A.6 Serisi rs11136000, rs1532278, rs3087554 SNP’lerinin dominant modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model A.6.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	Sonuçları Model A.5.1, Model A.5.2, Model A.5.3 ile aynı gelmiş olup Çizelge 3.23’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur.	
	Model A.6.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
	Model A.6.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
	Model A.6.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		
*:VLDL-kolesterolün dahil olduğu alt modelde eş linear olduğu için trigliserit bulunmamaktadır.			

Model A.5 & Model A.6

Bu analizlerde polimorfik alelin dominant karakterde olduğu varsayılmıştır. Model A.5 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs2279590 C/T SNP'lerinin heterozigot veya polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilirken Model A.6 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs1532278 C/T SNP'lerinin heterozigot veya polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilmiştir. Cinsiyet, sigara içme durumu, 25-(OH) D₃ ve trigliserit seviyeleri Model A.5'in ve Model A.6'nın tüm alt modellerinde bulunmakta olup tüm kolesterol parametreleri (total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) alt modellere sırayla eklenmişlerdir. Trigliserit ise yalnızca VLDL-kolesterolün bulunduğu alt modelde bulunmamaktadır (Çizelge 3.21).

Oluşturulan bu alt modellerle gerçekleştirilen analizler neticesinde orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ile ilişkili parametreleri bir arada bulunduran modellere ulaşılmış olup Çizelge 3.22'de özetlenmişlerdir. Model serisinde ilişkili çıkan parametreler için *P*, OR ve %95 CI değerleri tabloda verilmiş olup sonuçları aynı gelen modeller tabloda belirtilmiştir. Buna göre Model A.1 serisinin Model A.1.1, Model A.1.2, Model A.1.3; Model A.2 serisinin Model A.2.1, Model A.2.2, Model A.2.3 alt modellerinin sonuçları aynı gelmiş olup bu analizlerde erkek olmanın, EDSS>3 riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırmakta olduğu görülmüştür (OR=2.63, %95 CI= 1.05-6.60, *P*=.04). Ayrıca serum trigliserit seviyesinin artışıyla da EDSS>3 riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir (OR=1.63, %95 CI=1.14-2.35, *P*=.008). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde modellerin geçerli olduğu görülmüştür (*P*=.66). Model A.1 ve Model A.2 serilerinde VLDL-kolesterolü içeren alt modellerin (Model A.1.4 & Model A.2.4) sonuçları aynı gelmiş olup bu analizlerde serum VLDL-kolesterol seviyesinin artışıyla da EDSS>3 riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=4.33, %95 CI=1.86-10.09, *P*=.001). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür (*P*=.91).

Çizelge 3.22: Grup-1'deki RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için yapılan ikili lojistik regresyon analizinde anlamlı çıkan modeller ve EDSS>3 riski ile ilişkili bulunan parametreler.

MODEL	İlişkili Bulunanlar	OR	%95 CI	P	B	Hosmer & Lemeshow		
						χ^2	df	P
A.1.1, A.1.2, A.1.3, A.2.1, A.2.2, A.2.3	Cinsiyet (Erkek)	2.63	1.05-6.60	.04	0.97	5.91	8	.66
	Trigliserit (mmol/L)	1.63	1.14-2.35	.008	0.49			
A.1.4, A.2.4	VLDL-kolesterol (mmol/L)	4.33	1.86-10.09	.001	1.47	3.34	8	.91
A.3.1, A.3.2, A.3.3, A.4.1, A.4.2, A.4.3	Trigliserit (mmol/L)	1.58	1.10-2.26	.01	0.46	4.04	8	.85
A.3.4, A.4.4	VLDL-kolesterol (mmol/L)	4.61	2.09-10.17	<.001	1.53	7.45	8	.49
A.5.1, A.5.2, A.5.3, A.6.1, A.6.2, A.6.3	Cinsiyet (Erkek)	2.59	1.03-6.48	.04	0.95	6.51	8	.59
	Trigliserit (mmol/L)	1.73	1.21-2.48	.003	0.55			
A.5.4, A.6.4	rs11136000 Dominant Model (TT+TC vs. CC)	0.37	0.15-0.95	.04	-0.99	11.00	8	.20
	VLDL-kolesterol (mmol/L)	4.97	2.16-11.45	<.001	1.60			

Model A.3 serisinin Model A.3.1, Model A.3.2, Model A.3.3 alt modellerinde; Model A.4 serisinin Model A.4.1, Model A.4.2 ve Model A.4.3 alt modellerinde yapılan analizlerin sonuçları aynı gelmiş olup bu sonuçlara göre serum trigliserit seviyesinin artışıyla EDSS>3 riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=1.58, %95 CI=1.10-2.26, P=.01). Bu modellerin geçerliliği, Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür (P=.85). Model A.3 ve Model A.4 serilerinin VLDL-kolesterolü içeren alt modelleriyle (Model A.3.4 & Model A.4.4) yapılan analizlerin sonuçları aynı gelmiş olup bu sonuçlara göre erkek olma durumunun, EDSS>3 riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı görülmektedir (OR=4.61, %95 CI=2.09-10.17, P<.001). Bu modelin Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür (P=.49).

Model A.5 serisinin Model A.5.1, Model A.5.2, Model A.5.3; Model A.6 serisinin Model A.6.1, Model A.6.2, Model A.6.3 alt modelleriyle yapılan analizlerde erkek olmanın, EDSS>3 riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (OR=2.59, %95 CI= 1.03-6.48, P=.04). Ayrıca serum trigliserit seviyesinin artışıyla

da EDSS>3 riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir (OR=1.73, %95 CI=1.21-2.48, $P=0.003$). Bu modellerin geçerliliği, Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür ($P=0.59$). Model A.5 ve Model A.6 serilerinin VLDL-kolesterolü içeren alt modellerinin (Model A.5.4 & Model A.6.4) sonuçları aynı gelmiş olup bu analizlerde serum VLDL-kolesterol seviyesinin artışıyla EDSS>3 riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=4.97, %95 CI=2.16-11.45, $P<0.001$). Ayrıca, rs11136000 dominant modelde TT+CT genotipine sahip olanların CC genotipine sahip olanlara kıyasla EDSS>3 olma riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmüştür (OR=0.37, %95 CI=0.15-0.95, $P=0.04$). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür ($P=0.20$).

3.3.4.2 Hızlı MS progresyon riski için yapılan analizler

Bu analiz için öncelikle hastalar MSSS değeri beşten büyük olanlar ve olmayanlar olarak ayrılmış olup MSSS değerinin beşten büyük olduğu durum riskli olarak kabul edilerek bağımlı değişken olarak atanmıştır. Analiz için anlamlı bir model oluşturabilmek adına bağımsız değişkenler için öncelikle eş lineerlik analizi gerçekleştirilmiş ve eş lineer olduğu tespit edilen bağımsız değişkenler bir arada olmayacak şekilde farklı alt model kombinasyonları oluşturulmuştur. Collinearity diagnostics analizine göre VIF skoru 3'ten büyük değişkenler eş lineer olarak belirlenmiştir.

Yapılan eş lineerlik analizinde, tez çalışması kapsamında bulunan rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin kodominant, resesif ve dominant modellerinin eş lineer olduğu görülmüştür. Ayrıca, kolesterol türleri (total, HDL, LDL, VLDL) arasında da eş lineerlik bulunmaktadır. Bunlar haricinde trigliserit ve VLDL-kolesterol arasında da eş lineerlik bulunmaktadır. Bu yüzden analiz modelleri oluşturulurken eş lineer olduğu bilinen değişkenlerden yalnızca birisi atanarak analiz modelleri oluşturulmuştur. Bu kapsamda oluşturulan analiz modelleri serisi Model B olarak adlandırılmıştır. Bu analiz modellerinin oluşturulması Çizelge 3.23'te özet olarak verilmiştir.

SNP'ler kodominant modelde kodlanırken yabancı homozigot genotip risksiz, heterozigot genotip riskli ve polimorfik homozigot genotip heterozigot genotipten daha riskli olarak kabul edilmiştir. Resesif modelde yabancı homozigot ve heterozigot genotip risksiz olarak kabul edilirken polimorfik homozigot genotip riskli olarak kabul edilmiştir. Dominant modelde yabancı homozigot genotip risksiz olarak kabul edilirken heterozigot ve polimorfik homozigot genotipler riskli olarak kabul edilmiştir.

Model B.1 & Model B.2

Bu analizlerde polimorfik alelin kodominant karakterde olduğu varsayılmıştır. Model B.1, serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs2279590 C/T SNP'leri kodominant model olarak bulunurken Model B.2 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs1532278 C/T SNP'leri kodominant olarak bulunmaktadır. Cinsiyet, sigara içme durumu, serum 25-(OH) D₃ ve trigliserit seviyeleri Model B.1'in ve Model B.2'nin tüm alt modellerinde bulunmakta olup tüm kolesterol parametreleri (total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) alt modellere ayrı ayrı bulunmaktadır. Trigliserit ise yalnızca VLDL-kolesterolün bulunduğu alt modelde bulunmamaktadır (Çizelge 3.23).

Model B.3 & Model B.4

Bu analizlerde polimorfik alelin resesif karakterde olduğu varsayılmıştır. Model B.3 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs2279590 C/T SNP'lerinin polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilirken Model B.4 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs1532278 C/T SNP'lerinin polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilmiştir. Her iki modelde de heterozigot ve yabancı homozigot genotipler risksiz olarak kabul edilmiştir. Cinsiyet, sigara içme durumu, serum 25-OH D₃ ve trigliserit seviyeleri Model B.3'ün ve Model B.4'ün tüm alt modellerinde bulunmakta olup tüm kolesterol parametreleri (total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) alt modellere sırayla eklenmişlerdir. Trigliserit ise yalnızca VLDL-kolesterolün bulunduğu alt modelde bulunmamaktadır (Çizelge 3.23).

Çizelge 3.23: Grup-1’de RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için yapılan LR analizleri modelleri.

<p>Model B.1 ve Model B.2: CLU SNP’leri kodominant olarak modelde eklenmiştir. Bağımlı Değişken: MSSS>5 riski</p> <p>Model B.1 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T bulunmaktadır.</p> <p>Model B.2 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs1532278 C/T bulunmaktadır.</p>	<p>Model B.1 Serisi rs11136000, rs2279590, rs3087554, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model B.1.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	<p>Sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur</p> <p>Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler</p>	
	<p>Model B.2 Serisi rs11136000, rs1532278, rs3087554, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model B.1.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		<p>Sonuçları Model B.1.1, Model B.1.2, Model B.1.3 ile aynı gelmiş olup Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur.</p> <p>Sonuçları Model B.1.4’le aynı gelmiştir.</p>
		Model B.1.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
		Model B.1.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		
<p>Model B.3 ve Model B.4: CLU SNP’leri resesif olarak modele eklenmişlerdir. Bağımlı Değişken: MSSS>5 riski</p> <p>Model B.3 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T bulunmaktadır.</p> <p>Model B.4 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs1532278 C/T bulunmaktadır.</p>	<p>Model B.3 Serisi rs11136000, rs2279590, rs3087554 SNP’lerinin resesif modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model B.3.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	<p>Sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur</p> <p>Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler</p>	
	<p>Model B.4 Serisi rs11136000, rs1532278, rs3087554 SNP’lerinin resesif modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model B.3.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		<p>Sonuçları Model B.3.1, Model B.3.2, Model B.3.3 ile aynı gelmiştir</p> <p>Sonuçları Model B.3.4’le aynı gelmiştir.</p>
		Model B.3.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
		Model B.3.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		
<p>Model B.5 ve Model B.6: CLU SNP’leri dominant olarak modele eklenmişlerdir. Bağımlı Değişken: MSSS>5 riski</p> <p>Model B.5 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T bulunmaktadır.</p> <p>Model B.6 serisi: rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs1532278 C/T bulunmaktadır.</p>	<p>Model B.5 Serisi rs11136000, rs2279590, rs3087554 SNP’lerinin dominant modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model B.5.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.	<p>Sonuçları Model B.1.1, Model B.1.2, Model B.1.3 ile aynı gelmiş olup Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur.</p> <p>Sonuçları Model B.1.4’le aynı gelmiştir.</p>	
	<p>Model B.6 Serisi rs11136000, rs1532278, rs3087554 SNP’lerinin dominant modelleri, cinsiyet, sigara, 25-OH D₃, trigliserit tüm modellerde bulunmaktadır.</p>	Model B.5.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		<p>Sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.24’te ilişkili bulunan parametreler sunulmuştur</p> <p>Sonuçları Çizelge 3.24’te sunulmuştur.</p>
		Model B.5.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
		Model B.5.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		
		Model B.6.1: Total kolesterol dahil edilmiştir.		
		Model B.6.2: HDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
		Model B.6.3: LDL-kolesterol dahil edilmiştir.		
		Model B.6.4: VLDL-kolesterol dahil edilmiştir.*		

*:VLDL-kolesterolün dahil olduğu alt modelde eş linear olduğu için trigliserit bulunmamaktadır.

Model B.5 & Model B.6

Bu analizlerde polimorfik alelin dominant karakterde olduğu varsayılmıştır. Model B.5 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs2279590 C/T SNP'lerinin heterozigot veya polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilirken Model B.6 serisinde rs11136000 C/T, rs3087554 T/C ve rs1532278 C/T SNP'lerinin heterozigot veya polimorfik homozigot olma durumu riskli olarak kabul edilmiştir. Cinsiyet, sigara içme durumu, serum 25-(OH) D₃ ve trigliserit seviyeleri Model A.5'in ve Model A.6'nın tüm alt modellerinde bulunmakta olup tüm kolesterol parametreleri alt modellere sırayla eklenmişlerdir. Trigliserit ise yalnızca VLDL-kolesterolün bulunduğu alt modelde bulunmamaktadır (Çizelge 3.23).

Oluşturulan bu alt modellerle gerçekleştirilen analizler neticesinde hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile en ilişkili bağımsız değişkenleri bir arada bulduran modellere ulaşılmış olup Çizelge 3.24'te özetlenmişlerdir. Model serisinde ilişkili çıkan parametreler için *P*, OR ve %95 CI değerleri tabloda verilmiş olup sonuçları aynı gelen modeller belirtilmiştir. Buna göre Model B.1, Model B.2 ve Model B.3 serilerinde VLDL-kolesterolü içermeyen alt modellerin (Model B.1.1, Model B.1.2, Model B.1.3, Model B.2.1, Model B.2.2, Model B.2.3, Model B.5.1, Model B.5.2, Model B.5.3) sonuçları aynı gelmiş olup bu analizlerde serum trigliserit seviyesinin artışıyla hızlı progresyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=1.73, %95 CI=1.29-2.32, *P*<.001). Bu modellerin geçerliliği, Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür (*P*=.20). Model B.1, Model B.2 ve Model B.5 serilerinde VLDL-kolesterolü içeren alt modellerde (Model B.1.4, Model B.2.4, Model B.5.4) yapılan analizlerin sonuçları aynı gelmiş olup serum VLDL-kolesterol seviyesinin artışıyla hızlı MS progresyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=3.44, %95 CI=1.76-6.74, *P*<.001). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde ise geçerli bir model olduğu görülmüştür (*P*=.44).

Çizelge 3.24: Grup-1'deki RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için yapılan ikili lojistik regresyon analizinde anlamlı çıkan modeller ve MSSS>5 riski ile ilişkili bulunan parametreler.

MODEL	İlişkili Bulunanlar	OR	%95 CI	P	B	Hosmer & Lemeshow		
						χ^2	df	P
B.1.1, B.1.2, B.1.3, B.2.1, B.2.2, B.2.3, B.5.1, B.5.2, B.5.3	Trigliserit (mmol/L)	1.73	1.29-2.32	<.001	0.55	11.05	8	.20
B. 1.4, B.2.4, B.5.4	VLDL-kolesterol (mmol/L)	3.44	1.76-6.74	<.001	1.24	7.95	8	.44
B.3.1, B.3.2, B.3.3, B.4.1, B.4.2, B.4.3	rs3087554 Resesif Model (CC vs. TC+TT)	3.71	1.06-12.94	.04	1.31	7.09	8	.53
	Trigliserit (mmol/L)	1.79	1.33-2.41	<.001	0.58			
B.3.4, B.4.4	rs3087554 Resesif Model (CC vs. TC+TT)	3.58	1.03-12.52	.045	1.28	6.83	8	.55
	VLDL-kolesterol (mmol/L)	3.76	1.89-7.48	<.001	1.33			
B.6.1, B.6.2, B.6.3	rs11136000 Dominant Model (TT+CT vs. CC)	0.28	0.09-0.87	.03	-1.28	6.86	8	.55
	Trigliserit (mmol/L)	1.81	1.34-2.45	<.001	0.59			
B.6.4	rs11136000 Dominant Model (TT+CT vs. CC)	0.25	0.08-0.79	.02	-1.39	4.71	8	.79
	VLDL-kolesterol (mmol/L)	3.95	1.98-7.89	<.001	1.38			

Model B.3 ve Model B.4 serilerinde VLDL-kolesterolü içermeyen alt modellerde (Model B.3.1, Model B.3.2, Model B.3.3, Model B.4.1, Model B.4.2, Model B.4.3) yapılan analizlerin sonuçları aynı gelmiş olup serum trigliserit seviyesinin artışıyla hızlı MS progresyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=1.79, %95 CI=1.33-2.41, $P<.001$). Ayrıca rs3087554 T/C resesif modelde CC genotipine sahip olmanın TC+TT genotipine sahip olmaya göre hızlı MS progresyon riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (OR=3.71, %95 CI=1.06-12.94, $P=.04$). Bu modelin Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür ($P=.53$). Model B.3 ve Model B.4 serilerinde VLDL-kolesterolü içeren alt modellerde (Model B.3.4 & Model B.4.4) yapılan analizlerin sonuçları aynı gelmiş olup rs3087554 T/C resesif modele göre CC genotipine sahip olmanın TC+TT genotipine sahip olmaya kıyasla hızlı MS

progresyon riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (OR=3.58, %95 CI=1.03-12.52, $P=.045$). Ayrıca VLDL-kolesterol seviyesinin artışıyla da hızlı MS progresyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=3.76, %95 CI=1.89-7.48, $P<.001$). Bu modellerin geçerliliği, Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür ($P=.55$).

Model B.6 serisinde VLDL-kolesterolü içermeyen alt modellerin (Model B.6.1, B.6.2, B.6.3) sonuçları aynı gelmiş olup bu analizlerde rs11136000 dominant modele göre TT+CT genotipine sahip olmanın CC genotipine sahip olmaya kıyasla hızlı MS progresyon riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (OR=0.28, %95 CI=0.09-0.87, $P=.03$). Ayrıca serum trigliserit seviyesinin artışıyla da hızlı MS progresyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=1.81, %95 CI=1.34-2.45, $P<.001$). Bu modellerin geçerliliği, Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde geçerli olduğu görülmüştür ($P=.55$). Model B.6.4 ile yapılan analizde serum VLDL-kolesterol seviyesinin artışıyla hızlı MS progresyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür (OR=3.95, %95 CI=1.98-7.89, $P<.001$). Ayrıca, rs11136000 dominant modele göre TT+CT genotipine sahip olmanın CC genotipine sahip olmaya kıyasla hızlı MS progresyon riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür (OR=0.25, %95 CI=0.08-0.79, $P=.02$). Bu modelin Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde de geçerli bir model olduğu görülmüştür ($P=.79$).

3.4 Grup-2’de Yapılan Analizler

3.4.1 Grup-2’nin klinik bilgileri

Bilişsel test uygulanan ve plazma örnekleri alınan çalışma grubu olan Grup-2’nin klinik bilgileri Çizelge 3.25’te özetlenmiştir. Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grubundan oluşan Grup-2’de serum lipit parametrelerinin gruplar arasındaki dağılımları ve 25-(OH) D₃ seviyeleri karşılaştırılmıştır. Buna göre serum trigliserit seviyesi naif RRMS hastalarında 1.34 ± 0.79 mmol/L, tedavi alan RRMS hastalarında 1.21 ± 0.58 mmol/L ve kontrol grubunda 1.10 ± 0.50 mmol/L olarak tespit edilmiş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.72$).

Çizelge 3.25: Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerin klinik bilgileri.

	Naif RRMS (n=30)	Tedavi Alan RRMS (n=30)	Kontrol (n=30)	P
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS	1.34 ± 0.79	1.21 ± 0.58	1.10 ± 0.50	.72
Medyan (Q1-Q3)	1.03 (0.79-1.54)	1.03 (0.87-1.31)	0.95 (0.78-1.25)	
Total kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	4.64 ± 1.03	4.51 ± 0.72	4.43 ± 0.79	.95
medyan (Q1-Q3)	4.47 (3.78-5.07)	4.42 (3.93-5.07)	4.29 (3.90-5.25)	
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	1.41 ± 0.33	1.41 ± 0.37	1.31 ± 0.37	.50
medyan (Q1-Q3)	1.37 (1.19-1.55)	1.40 (1.16-1.47)	1.27 (1.09-1.47)	
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	2.56 ± 0.89	2.60 ± 0.55	2.59 ± 0.66	.42
medyan (Q1-Q3)	2.33 (1.91-2.87)	2.59 (2.12-3.03)	2.53 (2.33-3.08)	
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS	0.63 ± 0.35	0.55 ± 0.26	0.50 ± 0.23	.50
medyan (Q1-Q3)	0.52 (0.36-0.78)	0.47 (0.39-0.59)	0.44 (0.36-0.57)	
25-(OH) D₃ (nmol/L), ortalama ± SS	33.40 ± 15.22	32.76 ± 14.47	45.67 ± 32.99	.66
medyan (Q1-Q3)	30.00 (20.00-39.00)	28.00 (24.00-40.00)	34.50 (24.00-49.00)	
Hastalık Süresi (Yıl), ortalama ± SS	2.1 ± 3.5	5.3 ± 4.9	-	<.001
medyan (Q1-Q3)	1.0 (1.0-1.0)	3.5 (1.0-7.0)		
EDSS, ortalama ± SS	0.8 ± 0.7	1.2 ± 1.0	-	.09
medyan (Q1-Q3)	1.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.5-2.0)		
EDSS> 3, n (%)	0 (0.0)	2 (6.7)	-	.49*
EDSS≤ 3, n (%)	30 (100.0)	28 (93.3)	-	
MSSS, ortalama ± SS	2.12 ± 1.81	1.84 ± 1.72	-	.76
medyan (Q1-Q3)	1.12 (0.67-2.44)	1.53 (0.67-2.44)		
MSSS> 5, n (%)	3 (10.0)	2 (6.7)	-	>.99*
MSSS≤ 5, n (%)	27 (90.0)	28 (93.3)		
T1 Lezyon Sayısı, ortalama ± SS	14.6 ± 8.3	27.3 ± 19.9	-	.02
medyan (Q1-Q3)	12.0 (9.0-18.0)	26.0 (10.0-36.0)		
T2 Lezyon Sayısı, ortalama ± SS	13.2 ± 7.9	24.4 ± 16.7	-	.01
medyan (Q1-Q3)	11.5 (9.0-15.0)	22.0 (10.0-35.0)		
Kontrast Tutan Lezyon (Var), n (%)	21 (70.0)	6 (20.0)	-	<.001

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Kruskal-Wallis ile analiz edilmiştir. *: kontrolle kıyaslandığında P=.006. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. *:Fisher's exact test kullanılmıştır. HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein, EDSS: Expanded Disability Status Scale, MSSS: Multiple Sclerosis Severity Score, 25-(OH) D₃: 25-Hidroksivitamin D₃.

Gruplar arasında serum total kolesterol seviyesi naif RRMS hastalarında 4.64 ± 1.03 mmol/L, tedavi alan RRMS hastalarında 4.51 ± 0.72 mmol/L ve kontrol grubunda 4.43 ± 0.79 mmol/L olarak belirlenmiş olup gruplar arasında serum total kolesterol bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.95$). Kolesterol alt tipleri olan HDL-kolesterol (naif RRMS: 1.41 ± 0.33 mmol/L, tedavi alan RRMS: 1.41 ± 0.37 mmol/L, kontrol: 1.31 ± 0.37 mmol/L; $P=.50$), LDL-kolesterol (naif RRMS: 2.56 ± 0.89 mmol/L, tedavi alan RRMS: 2.60 ± 0.55 mmol/L, kontrol: 2.59 ± 0.66 mmol/L; $P=.42$), ve VLDL-kolesterol (naif RRMS: 0.63 ± 0.35 mmol/L, tedavi alan RRMS: 0.55 ± 0.26 mmol/L, kontrol: 0.50 ± 0.23 mmol/L; $P=.50$) seviyeleri naif, tedavi alan RRMS ve kontrol grupları aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Gruplar arasında serum 25-(OH) D₃ seviyesi karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (naif RRMS: 33.40 ± 15.20 nmol/L, tedavi alan RRMS: 32.76 ± 14.47 nmol/L, kontrol: 45.67 ± 32.99 nmol/L; $P=.50$). Yalnızca hasta gruplarında bilgisi mevcut olan serum B₁₂ vitamini seviyeleri naif ve tedavi alan RRMS gruplarında karşılaştırıldığında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (naif RRMS: 455.8 ± 535.3 nmol/L, tedavi alan RRMS: 309.0 ± 73.6 nmol/L; $P=.25$).

Naif ve tedavi alan RRMS hastalarının hastalık süreleri kıyaslandığında tedavi alan RRMS hastalarında hastalık süresinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür (naif RRMS: 2.1 ± 3.5 yıl, tedavi alan RRMS: 5.3 ± 4.9 yıl; $P<.001$). Naif ve tedavi alan RRMS hastalarının EDSS skorları (naif RRMS: 0.8 ± 0.7 , tedavi alan RRMS: 1.2 ± 1.0 ; $P=.09$) ve MSSS değerleri (naif RRMS: 2.12 ± 1.81 , tedavi alan RRMS: 1.84 ± 1.72 ; $P=.76$) karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fark olmadığı görülmüştür.

EDSS skorları hafif ($EDSS \leq 3$) ve orta ila yüksek düzey ($EDSS > 3$) olarak ikiye ayrıldığında tedavi alan RRMS hastalarında $EDSS > 3$ olan birey oranının (%6.7) naif RRMS hastalarındakinden (%0.0) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı olmadığı görülmüştür ($P=.49$). Benzer şekilde, MSSS değerlerine göre hızlı progresyon ($MSSS > 5$) ve yavaş progresyon olarak ikiye ayrıldıklarında naif (%10.0) ve tedavi alan RRMS hastalarında (%6.3) hızlı progresyon görülme oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P > .99$).

Hasta grupları arasında manyetik rezonans görüntüleme (MRG) parametreleri kıyaslandığında ise T1 lezyon sayılarının (naif RRMS: 14.6 ± 8.3 , tedavi alan RRMS: 27.3 ± 19.9 ; $P=.02$) ve T2 lezyon sayılarının (naif RRMS: 13.2 ± 7.9 , tedavi alan RRMS: 24.4 ± 16.7 $P=.01$) tedavi alan RRMS hastalarında anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür. Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında kontrast tutan lezyon varlığı frekansı karşılaştırıldığında da naif RRMS hastalarında kontrast tutan lezyon görülme oranının (%70.0) tedavi alan RRMS hastalarındakine nazaran (%20.0) anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür ($P<.001$). Sigara içme durumu ise kontrollerde (%60.0), tedavi alan (%23.7) ve naif RRMS hastalarına göre (%36.7) anlamlı derecede daha fazladır ($P=.047$).

3.4.2 Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerde plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri

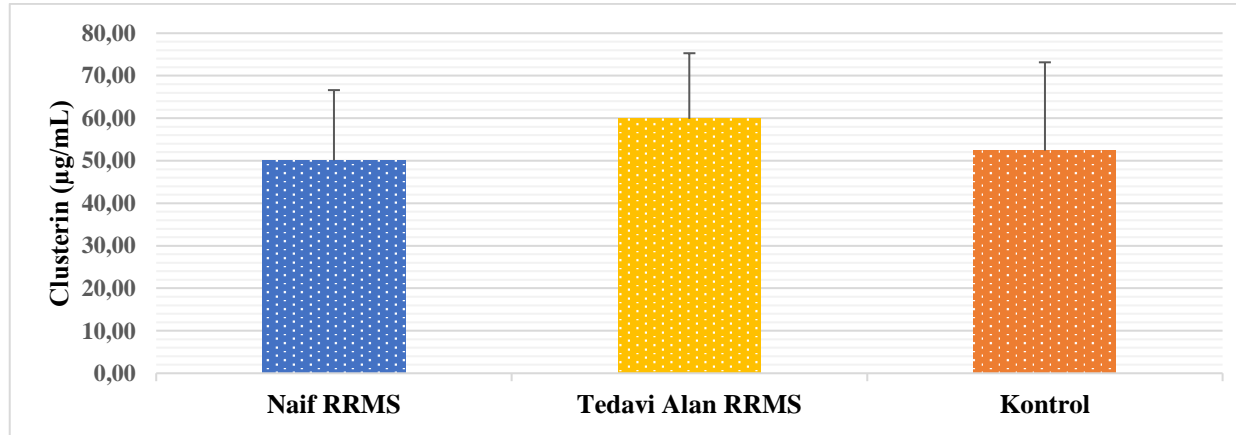
Gruplar arasında plazma clusterin ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri Kruskal-Wallis analizi ile karşılaştırılmış olup post-hoc analizleri Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.26) (Şekil 3.8, Şekil 3.9). Bu sonuçlara göre kontrollerde nominal olarak düşük olsa da plazma clusterin konsantrasyonu bakımından üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (naif RRMS: 59.09 ± 16.52 $\mu\text{g/mL}$, tedavi alan RRMS: 59.85 ± 15.44 $\mu\text{g/mL}$, kontrol: 52.38 ± 20.77 $\mu\text{g/mL}$; $P=.16$).

Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür (naif RRMS: 12.01 ± 18.10 , tedavi alan RRMS: 2.15 ± 2.49 , kontrol: 1.51 ± 1.13 ; $P<.001$). Yapılan post-hoc analizine göre naif RRMS hastalarının plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi hem tedavi alan RRMS hastalarına hem de kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır (naif vs. kontrol: $P<.001$; tedavi alan RRMS vs. naif: $P=.007$).

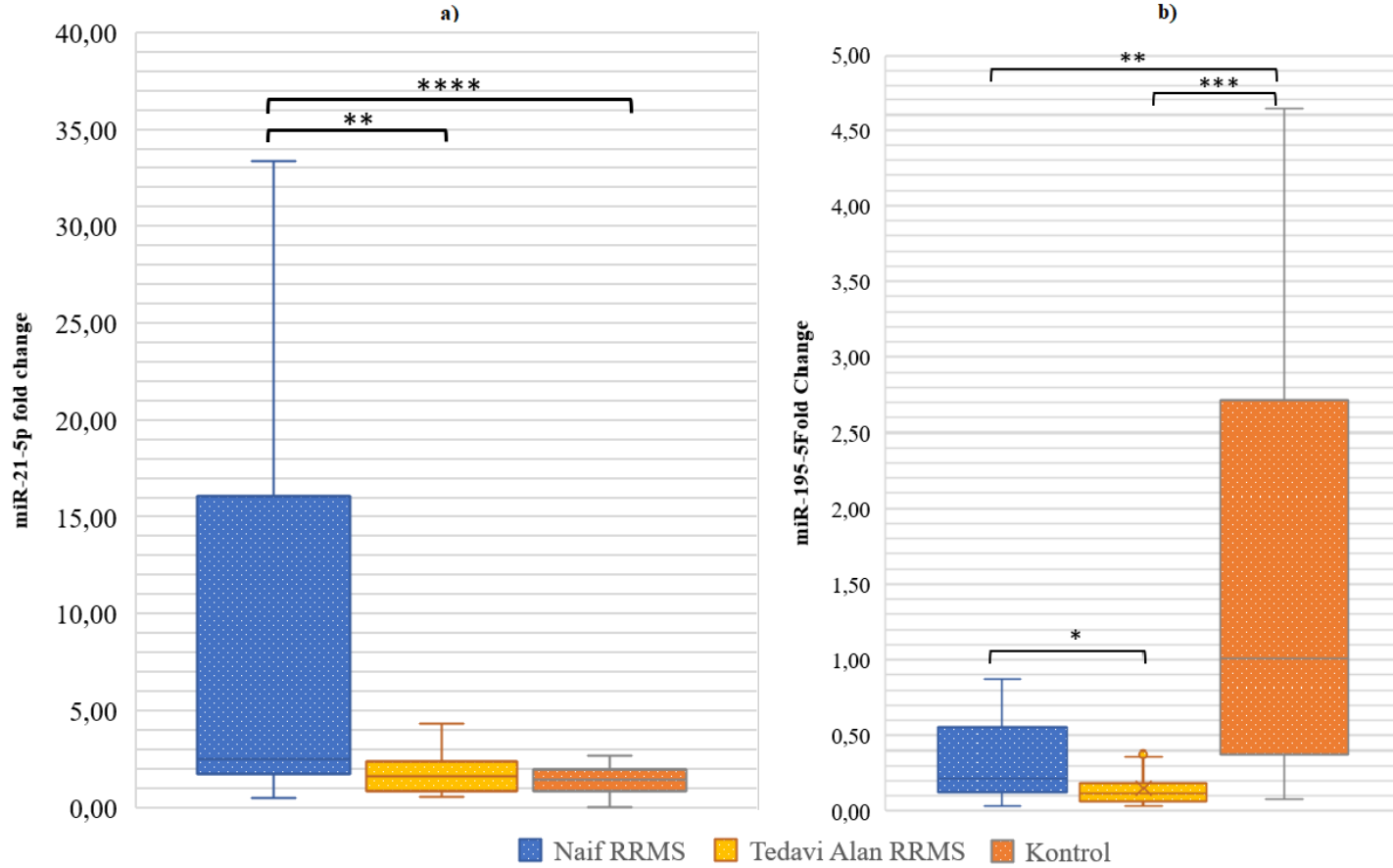
Çizelge 3.26: Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri.

Parametreler	Naif RRMS (n=30)	Tedavi Alan RRMS (n=30)	Kontrol (n=30)	P
Clusterin (µg/mL) , ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	59.09 ± 16.52 67.05 (41.62-72.35)	59.85 ± 15.44 66.75 (45.64-69.85)	52.38 ± 20.77 44.63 (38.29-65.30)	.16
miR-21-5p fold change, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	12.01 ± 18.10 ^a 2.51 (1.75-13.83)	2.15 ± 2.49 ^b 1.64 (0.88-2.37)	1.51 ± 1.13 1.47 (0.88-1.95)	<.001
miR-195-5p fold change, ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.78 ± 1.93 ^{c,d} 0.22 (0.13-0.52)	0.15 ± 0.11 ^a 0.12 (0.06-0.18)	1.94 ± 2.37 1.01 (0.39-2.57)	<.001

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Kruskal-Wallis ile analiz edilmiştir ve P değeri hesaplanmıştır. Post-hoc analizi Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. ^a: Kontrol grubuyla kıyaslandığında P<.001. ^b: Naif RRMS hastalarıyla kıyaslandığında P=.007. ^c: Kontrol grubuyla kıyaslandığında P=.001. ^d: Tedavi alan RRMS hastalarıyla kıyaslandığında P=.03. Post-hoc sonuçları için Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.



Şekil 3.8: Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) plazmalarındaki clusterin proteini seviyeleri



Şekil 3.9: Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazmalarındaki (a) miR-21-5p ve (b) mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri. *: $P < .05$, **: $P < .01$, ***: $P < .001$

Plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesi gruplar arasında karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu görülmüştür (naif RRMS: 0.78 ± 1.93 , tedavi alan RRMS: 0.15 ± 0.11 , kontrol: 1.94 ± 2.37 ; $P < .001$). Yapılan post-hoc analizinde plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastalarında naif RRMS hastalarına ve kontrollere nazaran istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür (tedavi alan RRMS vs. naif RRMS: $P = .03$; tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P < .001$). Ayrıca, kontrol grubunda plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin naif hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür ($P = .001$).

3.4.3 Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerde BICAMS test skorları

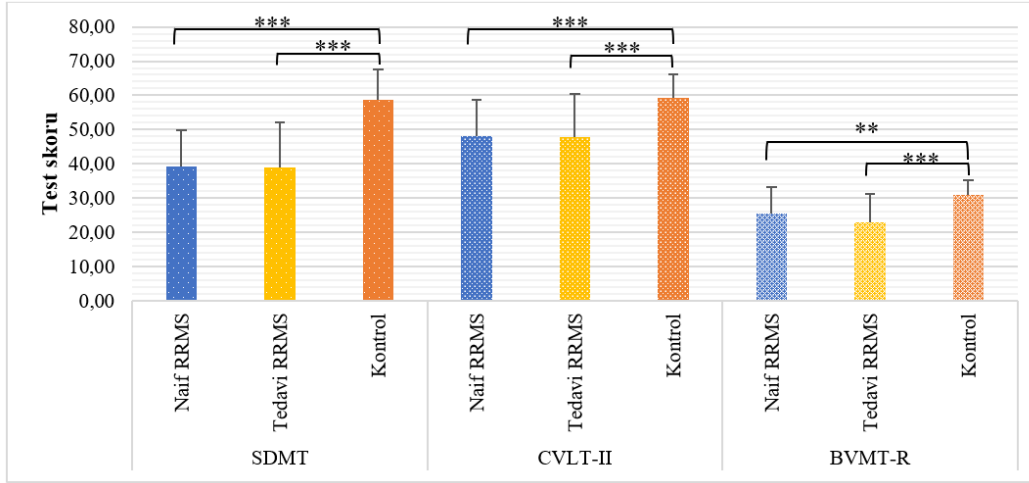
Grup-2 katılımcılarının bilişsel değerlendirilmeleri bölüm 2.2.4'te anlatılmıştır. SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorları tüm gruplarda ayrı ayrı belirlenmişlerdir (Çizelge 3.27)(Şekil 3.10). Gruplar arası eğitim yılı ve yaş farkının olması ve yaş ile eğitim yılının test skorlarıyla korelasyon göstermesi üzerine tüm grupta SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorları yaş ve eğitim yılına göre düzenlenmiştir (Çizelge 3.27) (Şekil 3.11).

Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk durumunun tespiti için ilk olarak normatif yöntem gereklilikleri değerlendirilmiştir. Bunun için tüm bilişsel test skorlarının üç grupta da normal dağılım göstermesi gerekmektedir. Test skorlarının tüm gruplarda normal dağılım göstermemesi üzerine Özakbaş ve arkadaşlarının bilişsel bozukluk teşhis metodu uygulanmıştır (Ozakbas vd., 2017). Buna göre kontrollerde düzenlenmiş SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının %5'lik dilimine denk gelen skorları, düzenlenmiş bilişsel bozukluk kesme değeri olarak belirlenmiştir. Bu kesme değerleri düzenlenmiş SDMT için 46.08, düzenlenmiş CVLT-II için 51.99 ve düzenlenmiş BVMT-R için 26.46 olarak belirlenmiş olup düzenlenmiş test skorlarının en az birinin kesme değerinden daha düşük olması durumunda hastalara bilişsel bozukluk teşhisi koyulmuştur. Aynı yöntem düzenlenmemiş test skorları için de uygulanmış olup düzenlenmemiş bilişsel bozukluk kesme değerleri belirlenmiştir. Bu kesme değerleri SDMT için 45.00, CVLT-II için 45.00 ve BVMT-R için 23.00'tür.

Çizelge 3.27: Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS ve kontrol bireylerin BICAMS test sonuçlarının yaş ve eğitim yılına göre düzenlenmiş ve düzenlenmemiş değerlerinin gruplar arasındaki dağılımı.

	Naif RRMS (n=30)	Tedavi Alan RRMS (n=30)	Kontrol (n=30)	P
SDMT, ortalama ± SS	39.30 ± 10.50 ^a	38.87 ± 13.10 ^a	58.80 ± 8.80	<.001
medyan (Q1-Q3)	40.00 (34.00-45.00)	41.00 (27.00-50.00)	57.00 (52.00-65.00)	
Düzenlenmiş SDMT, ortalama ± SS	43.80 ± 9.45 ^a	39.27 ± 11.57 ^a	53.87 ± 5.05	<.001
medyan (Q1-Q3)	46.86 (36.71-50.20)	42.77 (29.87-50.03)	53.27 (52.46-55.51)	
CVLT-II, ortalama ± SS	48.07 ± 10.58 ^a	47.93 ± 12.35 ^a	59.17 ± 6.89	<.001*
medyan (Q1-Q3)	49.50 (41.00-56.00)	45.00 (41.00-55.00)	60.00 (55.00-65.00)	
Düzenlenmiş CVLT-II, ortalama ± SS	50.67 ± 5.29 ^a	48.23 ± 6.22 ^a	56.29 ± 3.04	<.001
medyan (Q1-Q3)	52.12 (46.70-54.27)	50.01 (42.93-53.18)	55.97 (55.12-57.32)	
BVMT-R, ortalama ± SS	25.40 ± 7.86 ^b	22.83 ± 8.46 ^a	31.00 ± 4.14	<.001
medyan (Q1-Q3)	26.50 (22.00-32.00)	24.00 (16.00-30.00)	33.50 (28.00-34.00)	
Düzenlenmiş BVMT-R, ortalama ± SS	25.62 ± 3.93 ^a	23.76 ± 4.82 ^a	29.84 ± 2.21	<.001
medyan (Q1-Q3)	27.21 (22.61-28.70)	25.09 (20.68-27.62)	29.71 (29.18-30.46)	
Bilişsel Bozukluk (Var), n (%)	24 (80.0)	22 (73.3)	-	.54
Bilişsel Bozukluk-Düzenlenmiş (Var), n (%)	15 (50.0)	18 (60.0)	-	.44

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Kruskal-Wallis ile analiz edilmiştir ve P değeri hesaplanmıştır. Post-hoc analizi Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. ^a: Kontrol grubuyla kıyaslandığında P<.001. ^{*}:Normal dağılan verilerin karşılaştırılması One-way ANOVA kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve post-hoc analizi Games-Howell testiyle gerçekleştirilmiştir. ^b: Kontrol grubuyla kıyaslandığında P=.005 Post-hoc sonuçları için Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. BICAMS test skorlarında düzenlemeler yaş ve eğitim yılına göre yapılmıştır.

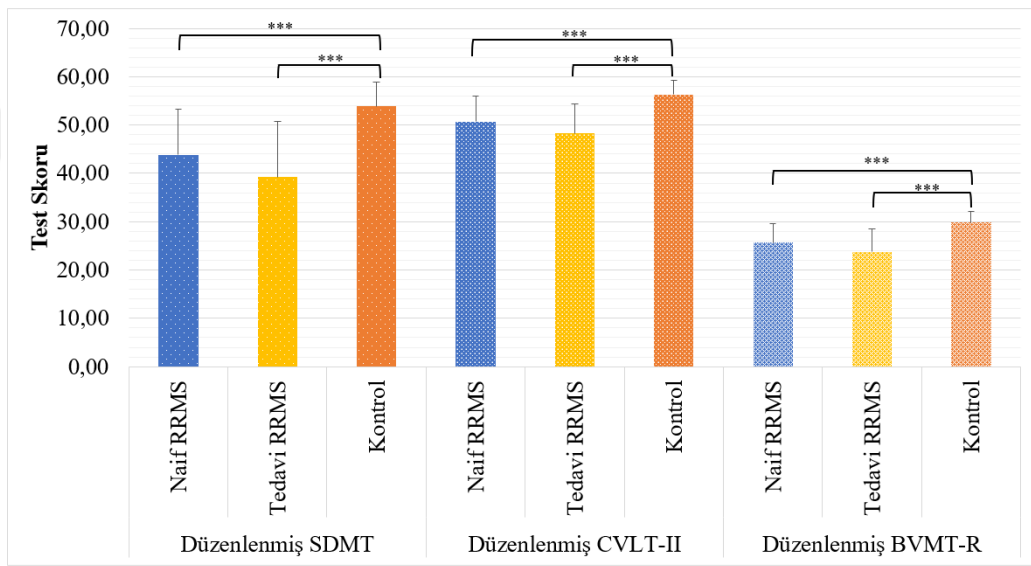


Şekil 3.10: SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS (n=30) ve kontrol grupları (n=30) arasında dağılımları. **: $P < .01$, ***: $P < .001$

Bu sonuçlara göre naif, tedavi alan RRMS hastalarının ve kontrol bireylerin düzenlenmemiş BICAMS test skorları karşılaştırıldığında SDMT (naif RRMS: 39.30 ± 10.50 , tedavi alan RRMS: 38.87 ± 13.10 , kontrol: 58.80 ± 8.80) CVLT-II (naif RRMS: 48.07 ± 10.58 , tedavi alan RRMS: 47.93 ± 12.35 , kontrol: 59.17 ± 6.89) ve BVMT-R (naif RRMS: 25.40 ± 7.86 ; tedavi alan RRMS: 22.83 ± 8.46 , kontrol: 31.00 ± 4.14) test skorlarının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu görülmektedir (SDMT: $P < .001$; CVLT-II: $P < .001$; BVMT-R: $P < .001$). Anlamlı çıkan bu sonuçlar için post-hoc analizleri gerçekleştirildiğinde SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının kontrol grubunda hem naif RRMS hastalarından hem de tedavi alan RRMS hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu görülmüştür (SDMT için naif RRMS vs. kontrol: $P < .001$, tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P < .001$; CVLT-II için naif RRMS vs. kontrol: $P < .001$, tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P < .001$; BVMT-R için naif RRMS vs. kontrol: $P < .001$, tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P < .001$).

Naif, tedavi alan RRMS hastalarının ve kontrol bireylerin düzenlenmiş BICAMS test skorları karşılaştırıldığında düzenlenmiş SDMT (naif RRMS: 43.80 ± 9.45 , tedavi alan RRMS: 39.27 ± 11.57 , kontrol: 53.87 ± 5.05), düzenlenmiş CVLT-II (naif RRMS: 50.67 ± 5.29 , tedavi alan RRMS: 48.23 ± 6.22 , kontrol: 56.29 ± 3.04) ve düzenlenmiş BVMT-R (naif RRMS: 25.62 ± 3.93 , tedavi alan RRMS: 23.76 ± 4.82 ; kontrol: 29.84 ± 2.21) test skorlarının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı

olduğu görülmektedir (Düzenlenmiş SDMT: $P<.001$; Düzenlenmiş CVLT-II: $P<.001$; Düzenlenmiş BVMT-R: $P<.001$). Anlamli çıkan bu sonuçlar için post-hoc analizleri gerçekleştirildiğinde düzenlenmiş SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının kontrol grubunda hem naif RRMS hastalarından hem de tedavi alan RRMS hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (Düzenlenmiş SDMT için naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$, tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P<.001$; Düzenlenmiş CVLT-II için naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$, tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P<.001$; Düzenlenmiş BVMT-R için naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$, tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P<.001$).



Şekil 3.11: SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorlarının yaşa ve eğitime göre düzenlenmiş değerlerinin Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS (n=30) ve kontrol gruplarındaki (n=30) dağılımları.

Belirlenen kesme değerleri ile Grup-2'deki katılımcıların bilişsel durumları değerlendirildiğinde ise düzenlenmemiş ham BICAMS test skorlarına göre naif RRMS hastalarında %80.0 oranında olan bilişsel bozukluk oranının tedavi alan RRMS hastalarında %73.3 seviyesinde olduğu görülmüş olup, bu hasta grupları arasında bilişsel bozukluk görülme oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P=.54$). Düzenlenmiş BICAMS test skorlarına göre yapılan bilişsel bozukluk teşhisinde ise naif RRMS hastalarında %50.0 olan bilişsel bozukluk oranının tedavi alan RRMS hastalarında %60.0 olduğu görülse de hasta grupları arasında bilişsel bozukluk görülme oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.44$).

3.4.4 Korelasyon Analizleri

Bilişsel testleri yapıp plazma örnekleri alınan bireylerden oluşan Grup-2’de naif hastalar, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler için ayrı ayrı korelasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde, plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin diğer deneysel parametrelerle olan ilişkileri, sonuçların özetlendikleri tablolarda, korelasyon katsayıları ve anlamlılık seviyesiyle birlikte verilmişlerdir. Bu diğer deneysel parametreler, üç grupta da ortak olarak bulunan serum lipit paneli parametrelerine ilave olarak naif RRMS hastalarında ve tedavi alan RRMS hastalarında bulunan EDSS skorları, MSSS değerleri, hastalık süresi, MRG parametreleri, serum 25-(OH) D₃ ve serum Vitamin B₁₂ seviyelerini kapsamaktadır. Bu analizlerde, normal dağılan iki parametre arasındaki korelasyon analizleri Pearson korelasyon analiziyle gerçekleştirilirken, parametrelerden en az birinin normal dağılım göstermemesi durumunda Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır.

3.4.4.1 Naif RRMS hastalarında yapılan korelasyon analizleri

Naif RRMS hastaları grubunda yapılan korelasyon analizlerinde, plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin düzenlenmiş BICAMS test skorları, EDSS ve MSSS skorları, MRG parametreleri, serum lipit paneli parametreleri, 25-(OH) D₃ ve Vitamin B₁₂ seviyeleri ile ilişkileri incelenmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.28’de özetlenmişlerdir. Bu sonuçlara göre, plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon görülmektedir ($\sigma=.436$, $P=.02$). Ayrıca plazma miR-21-5p ve plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri arasında da pozitif bir korelasyon bulunmaktadır ($\sigma=.362$, $P=.049$).

Düzenlenmiş BICAMS test skorları incelendiğinde düzenlenmiş BVMT-R test skorları ile plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi arasında negatif korelasyon olduğu görülmektedir ($\sigma=-.385$, $P=.04$). Bununla birlikte, MSSS değerleri ile plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi arasında ise pozitif korelasyon olduğu görülmektedir ($\sigma=.394$, $P=.04$). Lipit paneli incelendiğinde ise plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile serum VLDL-kolesterol seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir ($\sigma=.468$, $P=.01$). Bu sonuçlar haricinde, naif RRMS

hastalarında plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri ile ilişkili bir parametre bulunmamaktadır.

Çizelge 3.28: Grup-2'deki naif RRMS hastalarında düzenlenmiş BICAMS skorları ile deneysel parametrelerin aralarındaki korelasyonun incelenmesi.

Parametreler		Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)	miR-21-5p fold change	miR-195-5p fold change
Clusterin ($\mu\text{g/mL}$) (n=30)	Korelasyon Katsayısı	1.000(σ)	.436(σ)*	.158(σ)
	P	.	.02	.40
miR-21-5p fold change (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.436(σ)*	1.000(σ)	.362(σ)*
	P	.02	.	.049
miR-195-5p fold change (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.158(σ)	.362(σ)*	1.000(σ)
	P	.40	.049	.
Düzenlenmiş SDMT (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.053(σ)	-.264(σ)	-.358(σ)
	P	.78	.16	.05
Düzenlenmiş CVLT-II (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.030(σ)	-.255(σ)	-.354(σ)
	P	.88	.17	.06
Düzenlenmiş BVMT-R (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.016(σ)	-.223(σ)	-.385(σ)*
	P	.93	.24	.04
EDSS (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.303(σ)	.070(σ)	.057(σ)
	P	.10	.71	.76
MSSS (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.123(σ)	.152(σ)	.394(σ)*
	P	.53	.43	.04
Hastalık Süresi (yıl) (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.143(σ)	.116(σ)	-.115(σ)
	P	.45	.54	.54
T1 Lezyon Sayısı (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.126(σ)	.024(σ)	-.054(σ)
	P	.51	.90	.78
T2 Lezyon Sayısı (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.114(σ)	-.024(σ)	.067(σ)
	P	.55	.90	.72
Trigliserit (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.272(σ)	.352(σ)	-.045(σ)
	P	.15	.06	.82
Total Kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.102(σ)	.198(σ)	.325(σ)
	P	.60	.30	.09
LDL-kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.084(σ)	.080(σ)	.274(σ)
	P	.67	.68	.15
HDL-kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.142(σ)	-.149(σ)	-.014(σ)
	P	.46	.44	.94
VLDL-kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.254(σ)	.468(σ)*	.131(σ)
	P	.18	.01	.50
Vitamin B ₁₂ (nmol/L) (n=27)	Korelasyon Katsayısı	-.178(σ)	-.277(σ)	.050(σ)
	P	.37	.15	.80
25-(OH) D ₃ (nmol/L) (n=25)	Korelasyon Katsayısı	-.204(σ)	-.082(σ)	-.067(σ)
	P	.33	.70	.75

Korelasyonu analiz edilen parametrelerden ikisinin de normal dağılım gösterdiği durumda Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilirken, birinin normal dağılım göstermediği durumda Spearman korelasyonu ile analiz gerçekleştirilmiştir. BICAMS test skorları yaşa ve eğitim yılına göre düzenlenmişlerdir. Lipit parametreleri ve vitaminler serumda bakılmışlardır. r: Pearson korelasyon katsayısı, σ : Spearman korelasyon katsayısı, *: Korelasyon .05 seviyesinde anlamlıdır, **: Korelasyon .01 seviyesinde anlamlıdır.

3.4.4.2 Tedavi alan RRMS hastalarında yapılan korelasyon analizleri

Tedavi alan RRMS hastaları grubunda yapılan korelasyon analizlerinde, plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon

seviyelerinin düzenlenmiş BICAMS test skorları, EDSS ve MSSS skorları, MRG parametreleri, serum lipit paneli parametreleri, 25-(OH) D₃ ve Vitamin B₁₂ seviyeleri ile ilişkileri incelenmiştir. Sonuçlar, Çizelge 3.29’da sunulmuşlardır.

Çizelge 3.29: Tedavi alan RRMS hastalarında düzenlenmiş BICAMS skorları ile deneysel parametrelerin aralarındaki korelasyonun incelenmesi.

Parametreler		Clusterin (µg/mL)	miR-21-5p fold change	miR-195-5p fold change
Clusterin (µg/mL) (n=30)	Korelasyon Katsayısı	1.000(σ)	.160(σ)	.020(σ)
	P	.	.40	.92
miR-21-5p fold change (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.160(σ)	1.000(σ)	.745(σ)**
	P	.40	.	<.001
miR-195-5p fold change (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.020(σ)	.745(σ)**	1.000(σ)
	P	.92	<.001	.
Düzenlenmiş SDMT (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.061(σ)	.249(σ)	.160(r)
	P	.75	.18	.40
Düzenlenmiş CVLT-II (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.034(σ)	.216(σ)	.143(r)
	P	.86	.25	.45
Düzenlenmiş BVMT-R (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.022(σ)	.206(σ)	.140(r)
	P	.91	.28	.46
EDSS (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.269(σ)	-.337(σ)	-.291(σ)
	P	.16	.07	.13
MSSS (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.231(σ)	-.096(σ)	-.426(σ)*
	P	.23	.62	.02
Hastalık Süresi (yıl) (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.036(σ)	-.155(σ)	-.108(σ)
	P	.85	.41	.57
T1 Lezyon Sayısı (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.321(σ)	-.270(σ)	-.368(σ)
	P	.09	.16	.05
T2 Lezyon Sayısı (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.319(σ)	-.266(σ)	-.373(σ)*
	P	.092	.162	.046
Trigliserit (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.027(σ)	-.250(σ)	-.188(σ)
	P	.89	.19	.33
Total Kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.021(σ)	-.125(σ)	-.103(r)
	P	.91	.52	.60
LDL-kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.042(σ)	-.029(σ)	-.005(σ)
	P	.83	.88	.98
HDL-kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.123(σ)	-.046(σ)	-.229(r)
	P	.53	.81	.23
VLDL-kolesterol (mmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.025(σ)	-.245(σ)	-.196(σ)
	P	.90	.20	.31
Vitamin B ₁₂ (nmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	-.162(σ)	-.166(σ)	-.238(σ)
	P	.40	.39	.21
25-(OH) D ₃ (nmol/L) (n=29)	Korelasyon Katsayısı	.322(σ)	-.135(σ)	-.160(σ)
	P	.09	.49	.41

Korelasyonu analiz edilen parametrelerden ikisinin de normal dağılım gösterdiği durumda Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilirken, birinin normal dağılım göstermediği durumda Spearman korelasyonu ile analiz gerçekleştirilmiştir. BICAMS test skorları yaşa ve eğitim yılına göre düzenlenmişlerdir. Lipit parametreleri ve vitaminler serumda bakılmışlardır. r: Pearson korelasyon katsayısı, σ: Spearman korelasyon katsayısı, *: Korelasyon .05 seviyesinde anlamlıdır, **: Korelasyon .01 seviyesinde anlamlıdır.

3.4.4.3 Kontrol grubunda korelasyon analizleri

Kontrol grubunda yapılan korelasyon analizlerinde, plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin düzenlenmiş BICAMS test skorları ve lipit paneli parametreleri ile ilişkileri incelenmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.30’da özetlenmişlerdir. Bu sonuçlara göre plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon görülmektedir ($\sigma=.455$, $P=.01$). Ayrıca, düzenlenmiş CVLT-II skorları ile plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri arasında negatif bir korelasyon olduğu görülmüştür ($\sigma=-.385$, $P=.04$). Ayrıca, plazma clusterin ile serum HDL-kolesterol seviyeleri arasında da pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür ($\sigma=.496$, $P=.03$).

Çizelge 3.30: Grup-2’deki kontrol grubunda düzenlenmiş BICAMS skorları ile deneysel parametrelerin aralarındaki korelasyonun incelenmesi.

Parametreler		Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)	miR-21-5p fold change	miR-195-5p fold change
Clusterin ($\mu\text{g/mL}$) (n=30)	Korelasyon Katsayısı	1.000(σ)	-.069(σ)	.198(σ)
	P	.	.72	.29
miR-21-5p fold change (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.069(σ)	1.000(σ)	.455(σ)*
	P	.72	.	.01
miR-195-5p fold change (n=30)	Korelasyon Katsayısı	.198(σ)	.455(σ)*	1.000(σ)
	P	.29	.01	.
Düzenlenmiş SDMT (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.285(σ)	-.018(σ)	-.358(σ)
	P	.13	.92	.05
Düzenlenmiş CVLT-II (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.293(σ)	-.027(σ)	-.385(σ)*
	P	.12	.89	.04
Düzenlenmiş BVMT-R (n=30)	Korelasyon Katsayısı	-.283(σ)	-.009(σ)	-.346(σ)
	P	.13	.96	.06
Trigliserit (mmol/L) (n=19)	Korelasyon Katsayısı	-.194(σ)	.112(σ)	-.313(σ)
	P	.43	.65	.19
Total Kolesterol (mmol/L) (n=19)	Korelasyon Katsayısı	.152(σ)	.107(r)	.101(σ)
	P	.54	.66	.68
LDL-kolesterol (mmol/L) (n=19)	Korelasyon Katsayısı	-.058(σ)	-.050(r)	.056(σ)
	P	.81	.84	.82
HDL-kolesterol (mmol/L) (n=19)	Korelasyon Katsayısı	.496(σ)*	.162(r)	.258(σ)
	P	.03	.51	.29
VLDL-kolesterol (mmol/L) (n=19)	Korelasyon Katsayısı	-.196(σ)	.128(σ)	-.301(σ)
	P	.42	.60	.21

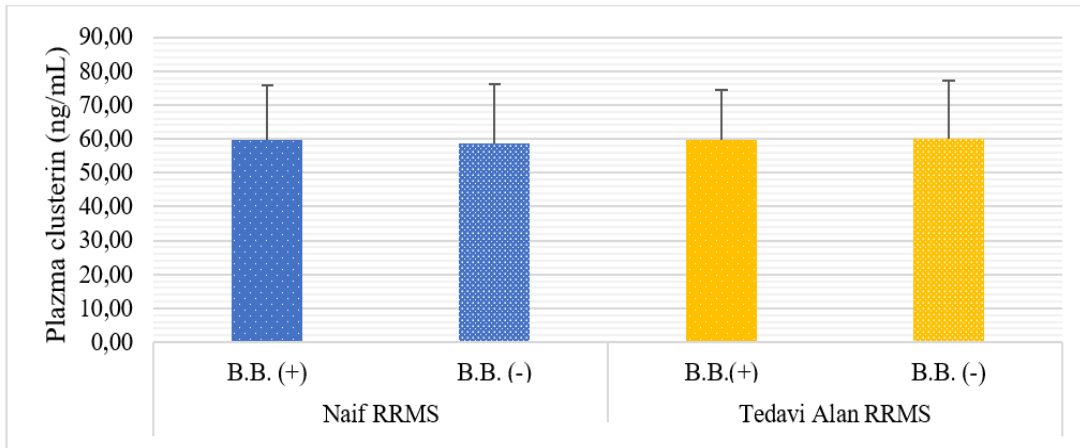
Korelasyonu analiz edilen parametrelerden ikisinin de normal dağılım gösterdiği durumda Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilirken, birinin normal dağılım göstermediği durumda Spearman korelasyonu ile analiz gerçekleştirilmiştir. BICAMS test skorları yaşa ve eğitim yılına göre düzenlenmişlerdir. Lipit parametreleri serumda bakılmışlardır. r: Pearson korelasyon katsayısı, σ : Spearman korelasyon katsayısı, *: Korelasyon .05 seviyesinde anlamlıdır, **: Korelasyon .01 seviyesinde anlamlıdır.

3.4.5 Bilişsel bozukluk ile ilişkili analizler

Bilişsel testleri yapıp plazma örnekleri alınan bireylerden oluşan Grup-2’de naif hastalara ve tedavi alan RRMS hastalarına önceki bölümlerde anlatıldığı üzere düzenlenmiş BICAMS test sonuçlarına göre bilişsel bozukluk teşhisi koyulmuştur. Bu bölümde, naif ve tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkili parametreleri tespit etmek için bilişsel bozukluğu olan ve olmayanlardaki deneysel parametrelerin dağılımları veya frekansları karşılaştırılmıştır.

3.4.5.1 Naif RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkili parametreler

Düzenlenmiş BICAMS test skorlarına göre naiflerin %50.0’inde bilişsel bozukluk görülmektedir. Naifler, bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılmış ve bu iki grup arasında plazma clusterin, mir-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri ile diğer deneysel verileri karşılaştırılmıştır (Şekil 3.12, Şekil 3.13). Kategorik olmayan değişkenlerin analizleri normal dağılım göstermediklerinde Mann-Whitney *U* testi ile gerçekleştirilirken normal dağılım göstermeleri durumunda bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerde gruptaki veri sayısının beşten fazla olduğu durumda Pearson χ^2 , olmadığı durumda ise Fisher’s exact test kullanılmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.31 ve Çizelge 3.32’de sunulmuştur.



Şekil 3.12: Grup-2’deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre plazma clusterin seviyelerinin dağılımı. B.B. (+): Bilişsel bozukluk var, B.B. (-): Bilişsel bozukluk yok

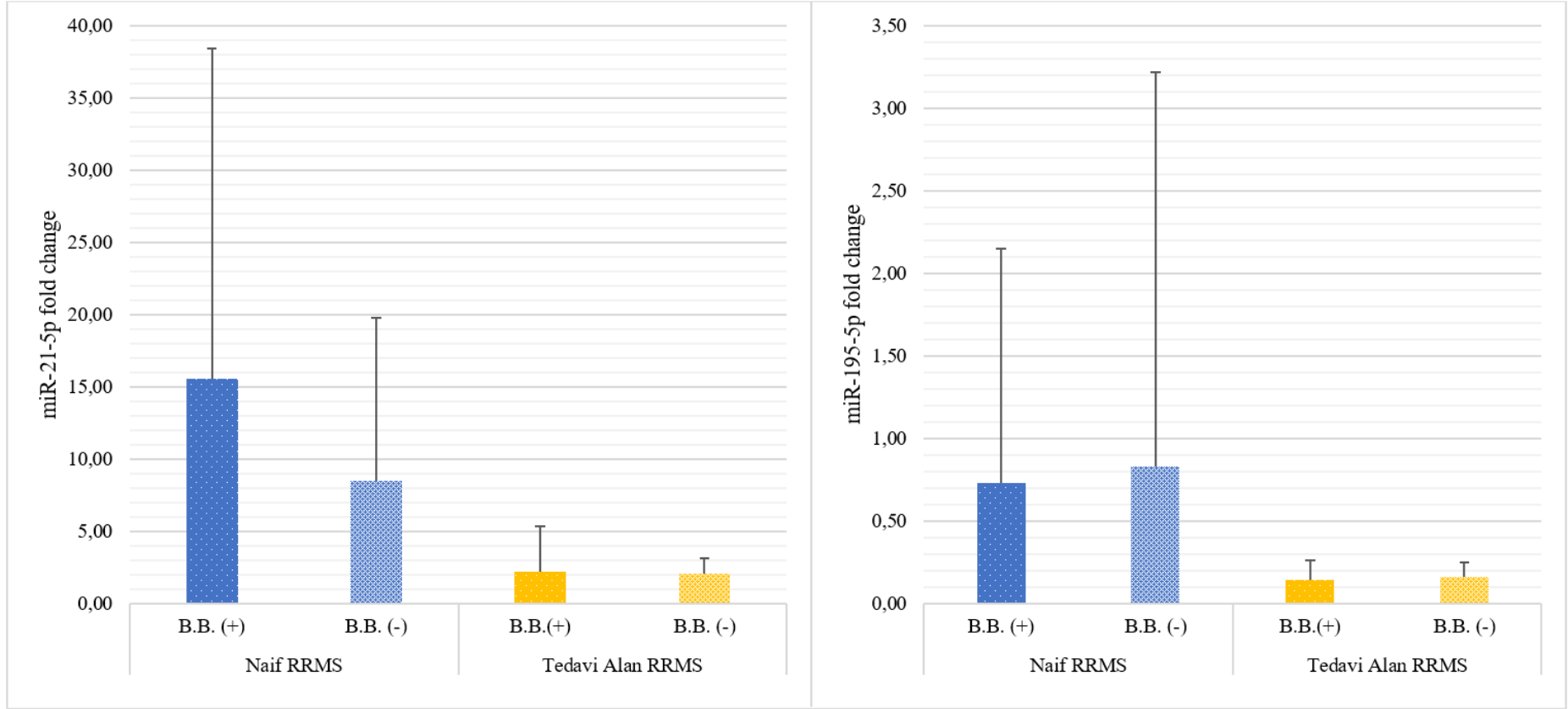
Plazma clusterin konsantrasyonu, bilişsel bozukluğu olanlar ($59.60 \pm 16.12 \mu\text{g/mL}$) ve olmayanlar ($58.59 \pm 17.47 \mu\text{g/mL}$) arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.94$) (Şekil 3.12). Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bilişsel bozukluğu olanlar (15.55 ± 22.89) ve olmayanlar (8.47 ± 11.30) arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.41$). Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi bilişsel bozukluğu olanlar (0.73 ± 1.42) ve olmayanlar (0.83 ± 2.39) arasında karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.06$).

Çizelge 3.31: Grup-2'deki naif RRMS hastalarının ($n=30$) plazma clusterin, miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleriyle klinik bilgilerinin bilişsel bozukluk durumuna göre kıyaslanması.

Parametreler	Bilişsel Bozukluk		P
	Evet (n=15)	Hayır (n=15)	
Clusterin ($\mu\text{g/mL}$), ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	59.60 ± 16.12 69.40 (41.62-72.10)	58.59 ± 17.47 66.80 (41.20-72.80)	.94
miR-21-5p fold change, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	15.55 ± 22.89 2.64 (1.75-25.81)	8.47 ± 11.30 2.32 (1.56-13.74)	.41
miR-195-5p fold change, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	0.73 ± 1.42 0.27 (0.21-0.67)	0.83 ± 2.39 0.15 (0.12-0.44)	.06
T1 Lezyon Sayısı, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	12.20 ± 4.71 12.00 (8.00-16.00)	17.00 ± 10.37 14.00 (10.00-22.00)	.22
T2 Lezyon Sayısı, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	11.13 ± 4.37 11.00 (8.00-14.00)	15.20 ± 10.03 14.00 (9.00-20.00)	.31
Kontrast Tutan Lezyon (Var), n (%)	10 (66.7)	11 (52.4)	.69
Sigara (Evet), n(%)	6 (40.0)	5 (33.3)	>.99*
EDSS, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	0.9 ± 0.8 1.0 (0.0-1.5)	0.6 ± 0.7 0.5 (0.0-1.0)	.39
MSSS, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	2.41 ± 1.89 2.44 (0.67-4.30)	1.84 ± 1.74 0.67 (0.67-2.44)	.35
Hastalık Süresi (Yıl), ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	3.1 ± 4.7 1.0 (1.0-5.0)	1.0 ± 0.7 1.0 (1.0-1.0)	.25

Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir ve P değeri hesaplanmıştır. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. *:Fisher's exact test kullanılmıştır

MRG parametreleri incelendiğinde hem T1 hem de T2 lezyon sayılarının bilişsel bozukluğu olmayanlardaki (T1 lezyon= 17.00 ± 10.37 , T2 lezyon= 15.20 ± 10.03) ve bilişsel bozukluğu olanlardaki (T1 lezyon= 12.20 ± 4.71 , T2 lezyon= 11.13 ± 4.37) sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (T1 lezyon: $P=.22$; T2 lezyon: $P=.31$). Kontrast tutan lezyon varlığı bakımından incelendiğinde ise bilişsel bozukluğu olanlar (%66.7) ve olmayanlar (%52.4) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.69$).



Şekil 3.13: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre plazma miR-21-5p (solda) ve miR-195-5p (sağda) rölatif ekspresyon seviyelerinin dağılımı. B.B. (+): Bilişsel bozukluk var, B.B. (-): Bilişsel bozukluk yok

Çizelge 3.32: Grup-2'deki naif RRMS hastalarının serum lipit paneli, 25-(OH) D₃ ve Vitamin B₁₂ seviyelerinin bilişsel bozukluk durumuna göre karşılaştırılması.

Parametreler	Bilişsel Bozukluk		P
	Evett (n=15)	Hayır (n=15)	
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.37 ± 0.78 1.31 (0.78-1.74)	1.30 ± 0.82 1.00 (0.80-1.36)	.81
Total kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.79 ± 1.14 4.50 (3.75-5.40)	4.47 ± 0.92 4.23 (3.78-4.84)	.51
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.41 ± 0.40 1.29 (1.19-1.55)	1.42 ± 0.26 1.50 (1.29-1.58)	.90*
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.75 ± 0.98 2.48 (1.91-3.21)	2.35 ± 0.75 2.13 (1.89-2.61)	.27
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.65 ± 0.34 0.59 (0.36-0.80)	0.61 ± 0.38 0.47 (0.36-0.78)	.56
25-(OH) D₃ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	35.87 ± 17.22 30.00 (23.00-56.00)	29.70 ± 11.45 29.50 (20.00-36.00)	.46
Vitamin B₁₂ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	533.86 ± 744.82 299.5 (272.0-352.0)	377.79 ± 165.11 323.0 (287.0-403.0)	.51

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir ve P değeri hesaplanmıştır. *: Normal dağılım gösteren verilerin analizinde bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır. HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein.

Naif RRMS hastalarının EDSS skorları ve MSSS değerlerinin dağılımları bilişsel bozukluğu olan (EDSS=0.9 ± 0.8, MSSS=2.41 ± 1.89) ve olmayanlar (EDSS=0.6 ± 0.7, MSSS=1.84 ± 1.74) arasında kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (EDSS: P=.39; MSSS: P=.35). Hastalık süresinin bilişsel bozukluk durumuna etkisi incelendiğinde ise bilişsel bozukluğu olan (3.1 ± 4.7) ve olmayan (1.0 ± 0.7) naif RRMS hastaları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (P=.25). Sigara içme oranı bilişsel bozukluğu olanlarda %40.0, olmayanlarda %33.3 olup iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (P>.99).

Naif RRMS hastalarında bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar arasında serum 25-(OH) D₃ ve Vitamin B₁₂ seviyeleriyle lipit paneli parametreleri de karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.32). Buna göre serum trigliserit seviyeleri bilişsel bozukluğu olanlar (1.37 ± 0.78 mmol/L) ve olmayanlar (1.30 ± 0.82 mmol/L) arasında karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (P=.81). Serum kolesterol parametreleri de bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar arasında karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Total kolesterol= 4.79 ± 1.14 mmol/L ve 4.47 ± 0.92 mmol/L; P=.51; HDL-kolesterol= 1.41 ± 0.40 mmol/L ve 1.42 ± 0.26 mmol/L, P=.90; LDL-kolesterol= 2.75 ± 0.98 mmol/L ve 2.35 ± 0.75 mmol/L, P=.27; VLDL-kolesterol= 0.65 ± 0.34 mmol/L

ve 0.61 ± 0.38 mmol/L, $P=.56$). Bilişsel bozukluğu olanlardaki serum 25-(OH) D₃ (35.87 ± 17.22 nmol/L) ve Vitamin B₁₂ seviyeleri (533.86 ± 744.82 nmol/L), bilişsel bozukluğu olmayanlar naif RRMS hastalarındaki seviyeleri karşılaştırıldığında (25-(OH) D₃= 29.70 ± 11.45 nmol/L; Vitamin B₁₂= 377.79 ± 165.11 nmol/L) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (25-(OH) D₃: $P=.46$; Vitamin B₁₂: $P=.51$).

3.4.5.2 Tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkili parametreler

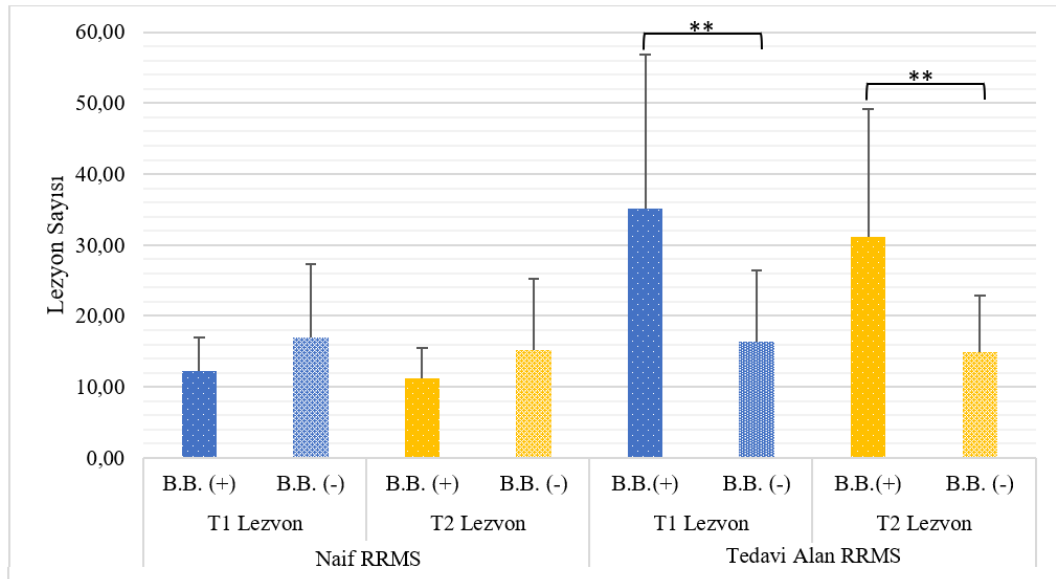
Düzenlenmiş BICAMS test skorlarına göre tedavi alan RRMS hastalarının %60.0'ında bilişsel bozukluk görülmektedir. Tedavi alan RRMS hastaları, bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılmış ve bu iki grup arasında plazma clusterin, plazma mir-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri ile klinik verileri karşılaştırılmıştır (Şekil 3.13). Kategorik olmayan değişkenlerin analizleri normal dağılım göstermediklerinde Mann-Whitney *U* testi ile gerçekleştirilirken normal dağılım göstermeleri durumunda bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerde her iki gruptaki veri sayısının beşten fazla olduğu durumda Pearson χ^2 , olmadığı durumda ise Fisher's exact test kullanılmıştır (Çizelge 3.33-Çizelge 3.34)

Çizelge 3.33: Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin, miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleriyle klinik bilgilerinin bilişsel bozukluk durumuna göre kıyaslanması.

Parametreler	Bilişsel Bozukluk		P
	Evet (n=18)	Hayır (n=12)	
Clusterin ($\mu\text{g/mL}$), ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	59.63 \pm 14.74 64.38 (45.64-69.60)	60.17 \pm 17.09 68.28 (51.18-70.30)	.57
miR-21-5p fold change, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	2.22 \pm 3.13 1.32 (0.74-2.17)	2.05 \pm 1.07 1.77 (1.20-2.68)	.22
miR-195-5p fold change, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	0.14 \pm 0.12 0.10 (0.05-0.18)	0.16 \pm 0.09 0.16 (0.09-0.19)	.33
T1 Lezyon Sayısı, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	35.06 \pm 21.76 33.00 (12.00-52.00)	16.42 \pm 9.97 13.50 (8.50-24.50)	.005*
T2 Lezyon Sayısı, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	31.12 \pm 18.03 33.00 (12.00-43.00)	14.83 \pm 8.09 12.00 (8.50-22.50)	.003*
Kontrast Tutan Lezyon (Var), n (%)	1 (5.6)	5 (41.7)	.03**
Sigara (Evet), n(%)	7 (38.9)	2 (16.7)	.25**
EDSS, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	1.3 \pm 0.9 1.0 (1.0-2.0)	1.1 \pm 1.2 1.0 (0.0-2.0)	.47
MSSS, ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	1.49 \pm 0.81 1.62 (0.67-2.34)	2.42 \pm 2.56 1.42 (0.67-2.44)	.67
Hastalık Süresi (Yıl), ortalama \pm SS medyan (Q1-Q3)	2.8 \pm 4.4 1.0 (1.0-2.5)	6.9 \pm 4.7 5.5 (3.0-10.0)	<.001

Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney *U* testi ile analiz edilmiştir ve *P* değeri hesaplanmıştır. *:Normal dağılım gösteren veriler bağımsız örneklem t-testi ile analiz edilmiştir ve *P* değeri hesaplanmıştır. Frekans ve yüzde olarak gösterilen veriler Pearson χ^2 ile analiz edilmiştir. **:Fisher's exact test kullanılmıştır.

Tedavi alan RRMS hastalarında plazma clusterin konsantrasyonu, bilişsel bozukluğu olanlar ($59.63 \pm 14.74 \mu\text{g/mL}$) ve olmayanlar ($60.17 \pm 17.09 \mu\text{g/mL}$) arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.57$) (Şekil 3.12). Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin bilişsel bozukluk olanlarda (2.22 ± 3.13) ve olmayanlardaki (2.05 ± 1.07) dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.22$). Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi bilişsel bozukluğu olanlar (0.14 ± 0.12) ve olmayanlar (0.16 ± 0.09) arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.33$) (Şekil 3.13). MRG parametreleri incelendiğinde T1 lezyon sayısı bilişsel bozukluk görülenlerde (35.06 ± 21.76) görülmeyenlere göre (16.42 ± 9.97) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur ($P=.005$) (Şekil 3.14). Benzer şekilde T2 lezyon sayıları bilişsel bozukluğu olanlarda (31.12 ± 18.03) bilişsel bozukluğu olmayanlara göre (14.83 ± 8.09) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazladır ($P=.003$). Kontrast tutan lezyon varlığı bakımından incelendiğinde ise bilişsel bozukluğu olanlar (%5.6) ve olmayanlar (%41.7) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.69$).



Şekil 3.14: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre T1 ve T2 lezyon sayılarının dağılımı. B.B. (+): Bilişsel bozukluk var, B.B. (-): Bilişsel bozukluk yok. **: $P<.01$.

Tedavi alan RRMS hastalarının EDSS skorları ve MSSS değerlerinin dağılımları bilişsel bozukluğu olan ($\text{EDSS}=1.3 \pm 0.9$, $\text{MSSS}=1.49 \pm 0.81$) ve olmayanlar

(EDSS=1.1 ± 1.2, MSSS=2.42 ± 2.56) arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir (EDSS: $P=.47$; MSSS: $P=.67$). Hastalık süresinin bilişsel bozukluk durumuna etkisi incelendiğinde ise bilişsel bozukluğu olanlarda hastalık süresinin (2.8 ± 4.4 yıl) ve olmayanlara göre (6.9 ± 4.7 yıl) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür ($P<.001$). Sigara içme oranı ise bilişsel bozukluğu olanlarda %38.9, olmayanlarda %16.7 olsa da iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P>.99$).

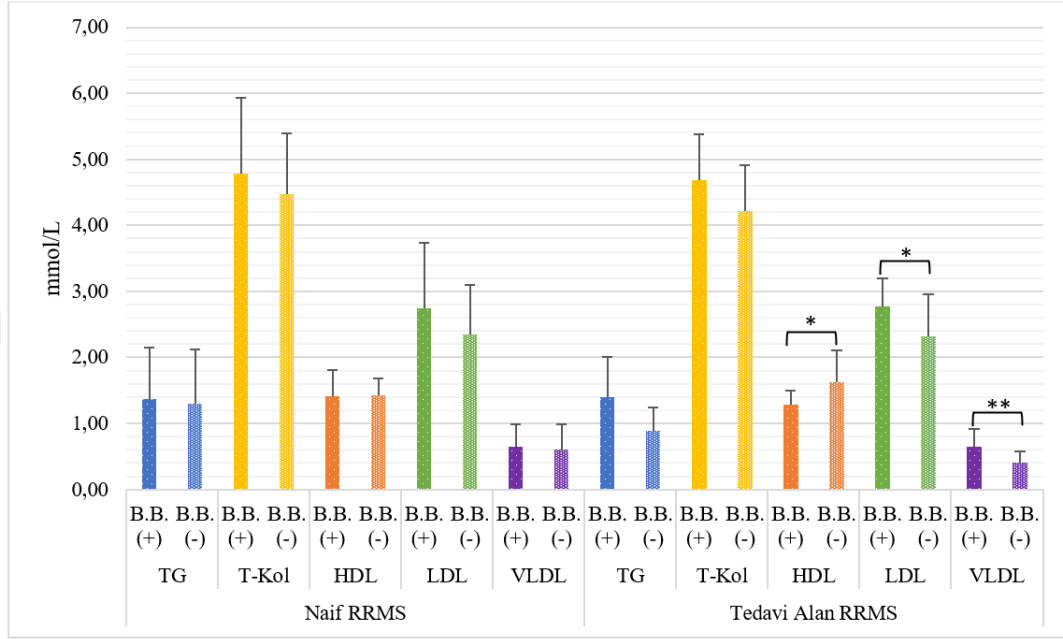
Çizelge 3.34: Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarının serum lipit paneli, 25-(OH) D₃ ve Vitamin B₁₂ seviyelerinin bilişsel bozukluk durumuna göre karşılaştırılması.

Parametreler	Bilişsel Bozukluk		P
	Evet (n=18)	Hayır (n=12)	
Trigliserit (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.40 ± 0.61 1.14 (0.98-1.63)	0.89 ± 0.35 0.84 (0.61-1.01)	.004
Total kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	4.69 ± 0.69 4.63 (4.16-5.30)	4.21 ± 0.70 3.96 (3.57-4.81)	.08*
HDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	1.28 ± 0.21 1.32 (1.16-1.42)	1.62 ± 0.48 1.60 (1.32-1.97)	.049
LDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	2.77 ± 0.43 2.77 (2.46-3.13)	2.32 ± 0.63 2.12 (1.97-3.00)	.03*
VLDL-kolesterol (mmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	0.64 ± 0.28 0.53 (0.44-0.75)	0.41 ± 0.16 0.39 (0.28-0.47)	.006
25-(OH) D ₃ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	31.50 ± 15.93 24.00 (23.00-42.00)	34.82 ± 12.16 30.00 (26.00-40.00)	.15
Vitamin B ₁₂ (nmol/L), ortalama ± SS medyan (Q1-Q3)	292.00 ± 74.92 279.00 (230.00-319.00)	336.91 ± 65.11 335.00 (294.00-362.00)	.07

Ortalama ± standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir ve P değeri hesaplanmıştır. *: Normal dağılım gösteren verilerin analizinde bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır. HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein, 25-(OH) D₃: 25-Hidroksivitamin D₃.

Tedavi alan RRMS hastaları bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrıldığında grupları arasında bazı serum parametreleri de karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.34) (Şekil 3.15). Buna göre serum trigliserit seviyelerinin bilişsel bozukluğu olanlarda (1.40 ± 0.61 mmol/L), olmayanlara nazaran (0.89 ± 0.35 mmol/L) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür ($P=.004$). Serum kolesterol parametrelerinden total kolesterol seviyesi bilişsel bozukluğu olanlar (4.69 ± 0.69 mmol/L) ve olmayanlar (4.21 ± 0.70 mmol/L) arasında karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.08$). Buna karşın, HDL-kolesterolün bilişsel bozukluğu olanlarda (1.28 ± 0.21 mmol/L), bilişsel bozukluğu olmayanlara göre (1.62 ± 0.48 mmol/L) daha düşük olduğu görülürken, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol seviyelerinin bilişsel bozukluğu olanlarda (LDL-

kolesterol=2.77 ± 0.43 mmol/L, VLDL-kolesterol=0.64 ± 0.28 mmol/L), bilişsel bozukluğu olmayanlara göre (LDL-kolesterol=2.32 ± 0.63 mmol/L, VLDL-kolesterol=0.41 ± 0.16 mmol/L) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmektedir (HDL-kolesterol: $P=.049$; LDL-kolesterol: $P=.03$; VLDL-kolesterol: $P=.006$) (Şekil 3.15).



Şekil 3.15: Grup-2'deki naif RRMS (n=30) ve tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk durumuna göre serum lipit seviyelerinin dağılımı. B.B. (+): Bilişsel bozukluk var, B.B. (-): Bilişsel bozukluk yok, TG: Trigliserit, T-Kol: Total kolesterol, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, VLDL: Very low density lipoprotein.

Serum 25-(OH) D₃ ve Vitamin B₁₂'nin bilişsel bozukluğu olanlarda (25-(OH) D₃=31.50 ± 15.93 nmol/L; Vitamin B₁₂=292.00 ± 74.92 nmol/L) ve bilişsel bozukluğu olmayanlardaki seviyeleri (25-(OH) D₃=34.82 ± 12.16 nmol/L; Vitamin B₁₂=336.91 ± 65.11 nmol/L) karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (25-(OH) D₃: $P=.15$; Vitamin B₁₂: $P=.07$).

3.4.6 Plazma clusterin konsantrasyonu ile CLU SNP genotipleri arasındaki ilişkiler

Bu analizlerde, tez çalışması kapsamında RRMS riski ile ilişkisi incelenen CLU rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T, rs1532278 C/T SNP'lerinin plazma clusterin seviyeleri ile arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Naif RRMS hastaları, tedavi

alan RRMS hastaları ve sağlıklı kontrol bireylerde gerçekleştirilen bu analizlerde *CLU* SNP genotip ve genotip modellerine göre hem grup içinde hem de gruplar arasında karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir. Üç grup veya üç genotip arasında gerçekleştirilen kategorik olmayan değişkenlerin karşılaştırmalarında normal dağılım parametrelerinin analizleri ANOVA ile gerçekleştirilirken normal dağılım göstermeyenlerin analizleri Kruskal-Wallis ile gerçekleştirilmiştir. İkili grup karşılaştırmaları normal dağılım göstermediklerinde Mann-Whitney *U* testi ile gerçekleştirilirken, normal dağılım göstermeleri durumunda bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerde her iki gruptaki veri sayısının beşten fazla olduğu durumda Pearson χ^2 , olmadığı durumda ise Fisher's exact test kullanılmıştır.

3.4.6.1 Plazma clusterin konsantrasyonunun rs11136000 C/T ile ilişkisi

Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs11136000 C/T SNP genotip modellerine göre dağılımları Çizelge 3.35'te özetlenmiştir. Plazma clusterin konsantrasyonu, hem grup içinde rs11136000 C/T SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırılırken aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında da karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar kodominant, resesif ve dominant modele göre oluşturulan gruplarla gerçekleştirilmiştir.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmalar incelendiğinde rs11136000 C/T kodominant model için oluşturulan gruplarda CC genotipli naif ($64.46 \pm 9.06 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($53.74 \pm 18.10 \mu\text{g/mL}$) ve kontrol grupları ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.22$). Benzer şekilde CT ve TT genotipli naif (CT: $56.39 \pm 16.45 \mu\text{g/mL}$, TT: $47.91 \pm 20.08 \mu\text{g/mL}$) tedavi alan RRMS hastaları (CT: $65.52 \pm 10.41 \mu\text{g/mL}$, TT: $68.20 \pm 2.17 \mu\text{g/mL}$) ve kontrol bireyler (CT: $52.75 \pm 21.02 \mu\text{g/mL}$, TT: $49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (CT için: $P=.23$; TT için $P=.21$). Resesif model için oluşturulan gruplarda C aleli taşıyan (CC+CT) naif ($60.42 \pm 13.57 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($58.86 \pm 16.08 \mu\text{g/mL}$) ve kontrollerin ($52.78 \pm 22.39 \mu\text{g/mL}$) plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.20$). Dominant model için oluşturulan gruplarda T aleli taşıyan (CT+TT) naif ($52.90 \pm 17.94 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan

RRMS hastaları ($66.53 \pm 8.27 \mu\text{g/mL}$) ve kontrol bireylerin ($52.28 \pm 19.52 \mu\text{g/mL}$) plazmalarındaki clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.05$).

Çizelge 3.35: Plazma clusterin konsantrasyonunun Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde *CLU* rs11136000 C/T genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.

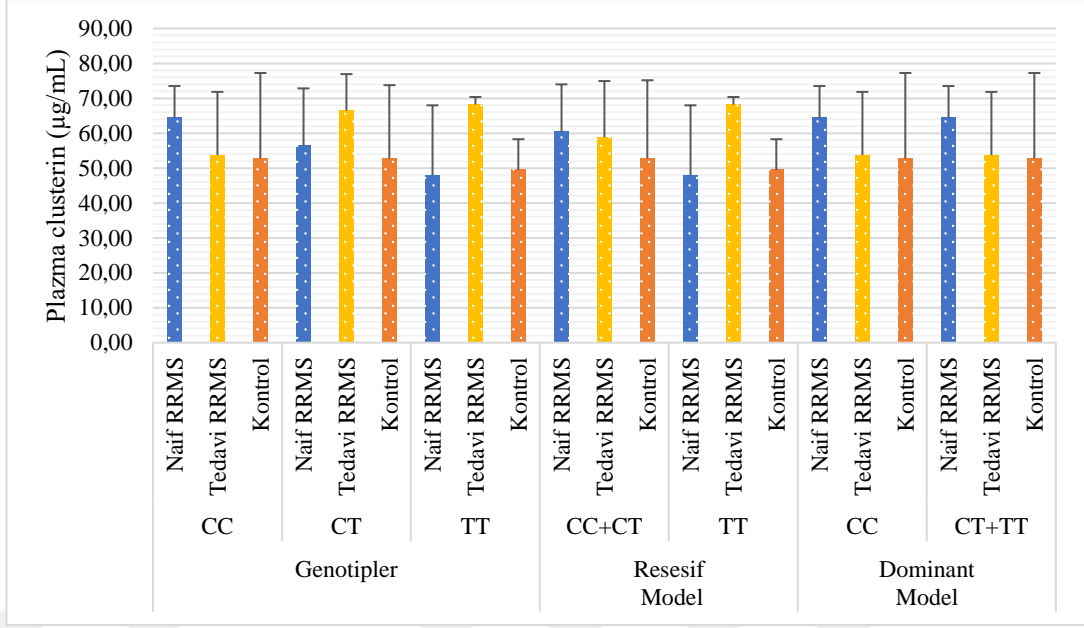
SNP	Genotip (N/T/K)	Naif RRMS (n=27)	Tedavi Alan RRMS (n=29)	Kontrol (n=27)	P^1
Kodominant Model	CC (10/13/13)	64.46 ± 9.06 68.38 (54.15-70.65)	53.74 ± 18.10 46.93 (37.86-69.70)	52.81 ± 24.44 42.21 (33.51-77.25)	.22
	CT (10/10/12)	56.39 ± 16.45 59.45 (41.20-72.60)	65.52 ± 10.41 66.75 (64.40-71.15)	52.75 ± 21.02 44.63 (40.23-63.65)	.23
	TT (7/6/2)	47.91 ± 20.08 39.75 (31.34-75.05)	68.20 ± 2.17 68.28 (67.85-69.85)	49.48 ± 8.80 49.48 (43.26-55.70)	.21
P^2		.33	.28	.90	
Resesif Model	CC+CT (20/23/25)	60.42 ± 13.57 67.05 (50.53-71.50)	58.86 ± 16.08 65.15 (39.21-70.00)	52.78 ± 22.39 44.48 (38.29)	.20
	TT (7/6/2)	47.91 ± 20.08 39.75 (31.34-75.05)	68.20 ± 2.17 68.28 (67.85-69.85)	49.48 ± 8.80 49.48 (43.26-55.70)	.21
P^3		.20	.36	.82	
Dominant Model	CC (10/13/13)	64.46 ± 9.06 68.38 (54.15-70.65)	53.74 ± 18.10 46.93 (37.86-69.70)	52.81 ± 24.44 42.21 (33.51-77.25)	.22
	CT+TT (17/16/14)	52.90 ± 17.94 47.54 (39.75-72.60)	66.53 ± 8.27 67.97 (64.78-70.22)	52.28 ± 19.52 44.63 (41.93-62.00)	.05
P^4		.24	.12	.69	
Veriler ilk satırda ortalama \pm standart sapma, ikinci satırda medyan (Q1-Q3) olarak verilmiştir. Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar aynı genotip ve genotip modelindeki bireyler için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş ve P değerleri P^1 olarak yazılmıştır. Grup içinde genotipler arasındaki karşılaştırmalar P^2 için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilirken P^3 ve P^4 için Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Kruskal-Wallis testine göre anlamlı çıkan sonuçların post-hoc analizleri Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. N: Naif RRMS hastaları, T: Tedavi alan RRMS hastaları, K: Kontrol bireyler.					

CLU rs11136000 C/T SNP'sinin genotiplerine göre plazma clusterin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Naif RRMS hastalarında kodominant modele göre CC ($64.46 \pm 9.06 \mu\text{g/mL}$), CT ($56.39 \pm 16.45 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($47.91 \pm 20.08 \mu\text{g/mL}$) genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.33$). Resesif modelde naif RRMS hastalarından CC+CT genotipli bireyler ($60.42 \pm 13.57 \mu\text{g/mL}$) ile TT (47.91 ± 20.08

$\mu\text{g/mL}$) genotipli bireyler karşılaştırıldıklarında da plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.20$). Benzer şekilde dominant modelde T aleli taşıyan CT+TT genotipli naif RRMS hastalarının ($52.90 \pm 17.94 \mu\text{g/mL}$) ve CC genotipli RRMS hastalarının ($64.46 \pm 9.06 \mu\text{g/mL}$) plazma clusterin seviyeleri kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.24$).

Tedavi alan RRMS hastalarında kodominant modele göre CC ($53.74 \pm 18.10 \mu\text{g/mL}$), CT ($65.52 \pm 10.41 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($68.20 \pm 2.17 \mu\text{g/mL}$) genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.28$). Resesif modelde tedavi alan RRMS hastalarından TT genotipli bireylerdeki ($68.20 \pm 2.17 \mu\text{g/mL}$) ve CC+CT genotipli bireylerdeki ($58.86 \pm 16.08 \mu\text{g/mL}$) plazma clusterin seviyeleri karşılaştırıldıklarında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.36$). Benzer şekilde dominant modelde T aleli taşıyan CT+TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleriyle ($66.53 \pm 8.27 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($64.46 \pm 9.06 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.12$).

Kontrol bireylerde kodominant modele göre CC ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$), CT ($52.75 \pm 21.02 \mu\text{g/mL}$) ve TT genotipli bireylerin ($49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.90$). Resesif modelde kontrol grubunda TT genotipli bireylerin ($49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) ve CC+CT genotipli bireylerin ($52.78 \pm 22.39 \mu\text{g/mL}$) plazma clusterin seviyeleri karşılaştırıldıklarında da genotiplerdeki clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.82$). Benzer şekilde dominant modelde T aleli taşıyan CT+TT genotipli kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu ($52.28 \pm 19.52 \mu\text{g/mL}$) ve CC genotipli kontrol bireylerin plazma clusterin seviyeleri ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.69$). Tüm sonuçlar Şekil 3.16'da görsel olarak özetlenmişlerdir.



Şekil 3.16: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı.

3.4.6.2 Plazma clusterin konsantrasyonunun rs3087554 T/C ile ilişkisi

Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs3087554 T/C SNP genotip ve genotip modellerine göre dağılımları Çizelge 3.36'da özetlenmiştir. Plazma clusterin konsantrasyonu, hem grup içinde rs3087554 T/C SNP'sinin genotipleri arasında karşılaştırılırken, hem de aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar kodominant, resesif ve dominant modele göre oluşturulan gruplarla gerçekleştirilmiştir. Tüm sonuçlar Şekil 3.17'de görsel olarak özetlenmişlerdir.

Aynı genotipte gruplar arası yapılan karşılaştırmalar incelendiğinde rs3087554 T/C kodominant model için oluşturulan grupta plazma clusterin seviyeleri, TT genotipli naif (58.93 ± 15.74 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (61.61 ± 14.65 µg/mL) ve kontrol grupları (55.77 ± 23.18 µg/mL) arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.57$). Benzer şekilde TC genotipli naif (52.41 ± 18.55 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (58.64 ± 15.97 µg/mL) ve kontrol bireylerdeki (46.08 ± 17.42 µg/mL) plazma clusterin seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.45$). CC genotipine sahip tedavi

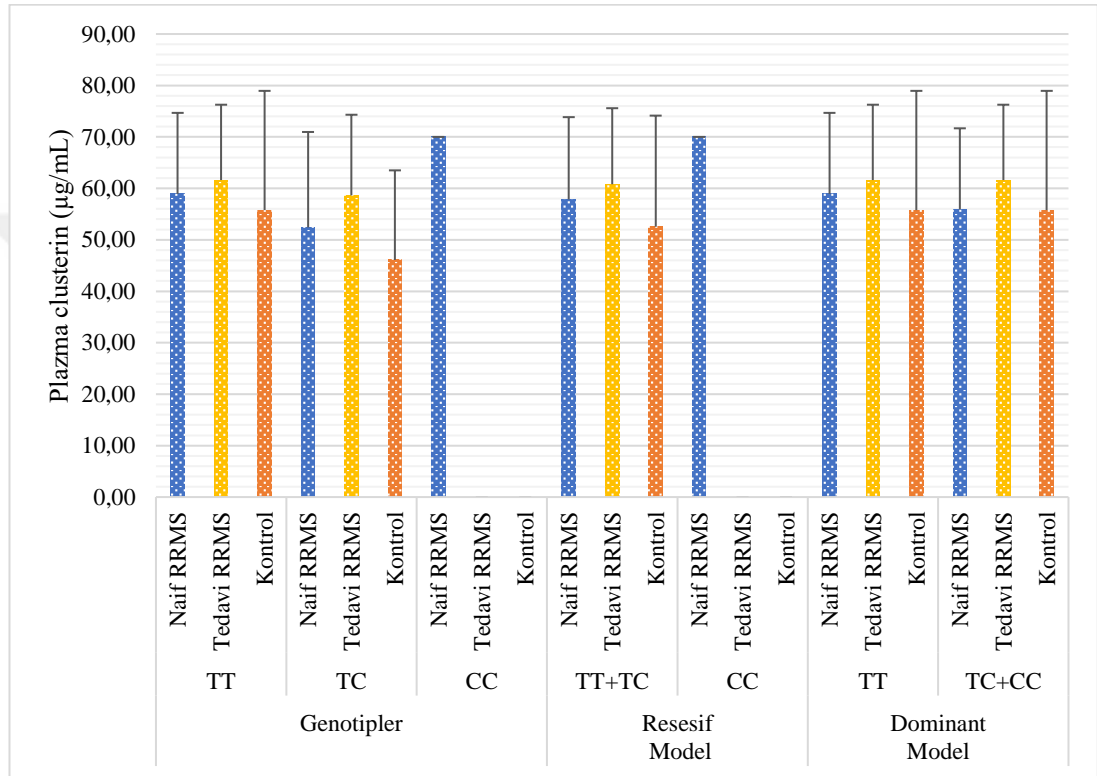
alan RRMS hastası veya kontrol birey olmadığı için gruplar arasında bu karşılaştırma gerçekleştirilememiştir. Resesif model için oluşturulan TT+TC genotipli naif ($57.85 \pm 15.99 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($60.79 \pm 14.79 \mu\text{g/mL}$) ve kontrollerin ($52.54 \pm 21.60 \mu\text{g/mL}$) plazma clusterin seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.20$). Dominant model için oluşturulan TC+CC genotipine sahip naif ($55.93 \pm 17.88 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($58.64 \pm 15.97 \mu\text{g/mL}$) ve kontrollerin ($46.08 \pm 17.42 \mu\text{g/mL}$) plazmalarındaki clusterin konsantrasyonları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.43$).

Çizelge 3.36: Plazma clusterin konsantrasyonlarının Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde *CLU* rs3087554 T/C genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.

SNP	Genotip (N/T/K)	Naif RRMS (n=25)	Tedavi Alan RRMS (n=29)	Kontrol (n=27)	P^1
Kodominant Model	TT (20/21/18)	58.93 ± 15.74 65.95 (44.58-72.70)	61.61 ± 14.65 67.85 (64.35-69.89)	55.77 ± 23.18 45.91 (35.24-77.25)	.57
	TC (4/8/9)	52.41 ± 18.55 54.00 (36.70-68.13)	58.64 ± 15.97 62.40 (42.41-72.00)	46.08 ± 17.42 42.21 (38.53-45.44)	.45
	CC (1/0/0)	70.00 ± 0.0 70.00 (70.00-70.00)	-	-	-
P^2		.45	-	.35	
Resesif Model	TT+TC (24/29/27)	57.85 ± 15.99 66.70 (41.41-72.47)	60.79 ± 14.79 68.85 (46.93-69.85)	52.54 ± 21.60 44.48 (38.29-65.30)	.20
	CC (1/0/0)	70.00 ± 0.0 70.00 (70.00-70.00)	-	-	-
P^3		.72	-	-	
Dominant Model	TT (20/21/18)	58.93 ± 15.74 65.95 (44.58-72.70)	61.61 ± 14.65 67.85 (64.35-69.89)	55.77 ± 23.18 45.91 (35.24-77.25)	.57
	TC+CC (5/8/9)	55.93 ± 17.88 68.80 (41.20-69.45)	58.64 ± 15.97 62.40 (42.41-72.00)	46.08 ± 17.42 42.21 (38.53-45.44)	.43
P^4		.45	.79	.35	
Veriler ilk satırda ortalama \pm standart sapma, ikinci satırda medyan (Q1-Q3) olarak verilmiştir. Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar aynı genotip ve genotip modelindeki bireyler için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş ve P değerleri P^1 olarak yazılmıştır. Grup içinde genotipler arasındaki karşılaştırmalar P^2 için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilirken P^3 ve P^4 için Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Kruskal-Wallis testine göre anlamlı çıkan sonuçların post-hoc analizleri Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. N: Naif RRMS hastaları, T: Tedavi alan RRMS hastaları, K: Kontrol bireyler.					

CLU rs3087554 T/C SNP'sinin genotiplerine göre plazma clusterin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar grup içinde naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Naif RRMS hastalarında kodominant modele göre TT ($58.93 \pm 15.74 \mu\text{g/mL}$), TC ($52.41 \pm 18.55 \mu\text{g/mL}$) ve CC ($70.00 \pm 0.0 \mu\text{g/mL}$) genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.45$). Resesif modelde naif

RRMS hastalarından CC genotipli bireylerdeki plazma clusterin konsantrasyonu ($70.00 \pm 0.0 \mu\text{g/mL}$) ile TT+TC genotipli bireylerdeki plazma clusterin konsantrasyonu ($57.85 \pm 15.99 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.72$). Dominant modelde TC+CC genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($55.93 \pm 17.88 \mu\text{g/mL}$) ve TT genotipli RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($58.93 \pm 15.74 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.45$).



Şekil 3.17: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs3087554 T/C SNP'sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı.

Tedavi alan RRMS hastalarında kodominant modele göre TT, TC ve CC genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar, CC genotipli en az bir tedavi alan RRMS hastası olmadığı için gerçekleştirilememiştir. Benzer durum, resesif model için de geçerli olup, CC genotipli en az bir tedavi alan RRMS hastası olmadığı için bu karşılaştırma gerçekleştirilememiştir. Dominant modelde TC+CC genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($58.64 \pm 15.97 \mu\text{g/mL}$) ve TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri

(61.61 ± 14.65 µg/mL) kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.79$).

Kontrol bireylerde kodominant modele göre TT, TC ve CC genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar, CC genotipli en az bir kontrol olmadığı için gerçekleştirilememiştir. Benzer durum, resesif model için de geçerli olup, CC genotipli en az bir kontrol olmadığı için bu karşılaştırma gerçekleştirilememiştir. Dominant modelde TC+CC genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri (46.08 ± 17.42 µg/mL) ve TT genotipli kontrollerin plazma clusterin seviyeleriyle (55.77 ± 23.18 µg/mL) kıyaslandığında genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.35$).

3.4.6.3 Plazma clusterin konsantrasyonunun rs2279590 C/T ile ilişkisi

Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs2279590 C/T SNP genotip ve genotip modellerine göre dağılımları Çizelge 3.37’de özetlenmiştir. Plazma clusterin konsantrasyonu, hem grup içinde rs2279590 C/T SNP’sinin genotipleri arasında karşılaştırılırken, hem de aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar kodominant, resesif ve dominant modele göre gerçekleştirilmiştir.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmalar incelendiğinde rs2279590 C/T SNP’sinin kodominant modeline göre plazma clusterin seviyeleri karşılaştırıldığında CC genotipli naif (53.98 ± 15.33 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (57.30 ± 18.72 µg/mL) ve kontrol grupları (52.81 ± 24.44 µg/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.83$). Yine bu gruplarda plazma clusterin seviyeleri CT genotipli naif (67.61 ± 12.04 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (61.96 ± 12.71 µg/mL) ve kontrol bireyler (52.75 ± 21.02 µg/mL) arasında da karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.06$). TT genotipli olan naif (31.34 ± 0.00 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (64.08 ± 12.91 µg/mL) ve kontrol bireylerin (49.48 ± 8.80 µg/mL) plazma clusterin seviyeleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.15$). Resesif model için oluşturulan CC+CT genotipine sahip naif (58.17 ± 15.54 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (59.94 ± 15.39 µg/mL) ve kontrol bireylerin (52.78 ± 22.39 µg/mL) plazma

clusterin seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.28$). Dominant model için oluşturulan CT+TT genotipine sahip naif ($63.58 \pm 16.52 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($62.63 \pm 12.45 \mu\text{g/mL}$) ve kontrol bireylerin ($52.28 \pm 19.52 \mu\text{g/mL}$) plazmalarındaki clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.83$).

Çizelge 3.37: Plazma clusterin konsantrasyonunun Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde *CLU* rs2279590 C/T genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.

SNP	Genotip (N/T/K)	Naif RRMS (n=27)	Tedavi Alan RRMS (n=29)	Kontrol (n=27)	P^1
Kodominant Model	CC (18/10/13)	53.98 ± 15.33 ^a 53.08 (41.20-70.00)	57.30 ± 18.72 64.35 (37.88-70.60)	52.81 ± 24.44 42.21 (33.51-77.25)	.83
	CT (8/13/12)	67.61 ± 12.04 71.72 (65.70-74.57)	61.96 ± 12.71 66.65 (61.25-69.40)	52.75 ± 21.02 44.63 (40.23-63.65)	.06
	TT (1/6/2)	31.34 ± 0.00 ^b 31.34 (31.34-31.34)	64.08 ± 12.91 68.90 (67.85-69.85)	49.48 ± 8.80 49.48 (43.26 - 55.70)	.15
P^2		.03	.72	.90	
Resesif Model	CC+CT (26/23/25)	58.17 ± 15.54 65.70 (41.62-72.35)	59.94 ± 15.39 65.15 (45.64-70.00)	52.78 ± 22.39 44.48 (38.29-65.30)	.28
	TT (1/6/2)	31.34 ± 0.00 31.34 (31.34-31.34)	64.08 ± 12.91 68.90 (67.85-69.85)	49.48 ± 8.80 49.48 (43.26 - 55.70)	.15
P^3		.07	.45	.82	
Dominant Model	CC (18/10/13)	53.98 ± 15.33 53.08 (41.20-70.00)	57.30 ± 18.72 64.35 (37.88-70.60)	52.81 ± 24.44 42.21 (33.51-77.25)	.83
	CT+TT (9/19/14)	63.58 ± 16.52 69.70 (64.60-74.10)	62.63 ± 12.45 67.85 (61.25-69.70)	52.28 ± 19.52 44.63 (41.93-62.00)	.07
P^4		.13	.90	.69	
Veriler ilk satırda ortalama ± standart sapma, ikinci satırda medyan (Q1-Q3) olarak verilmiştir. Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar aynı genotip ve genotip modelindeki bireyler için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş ve P değerleri P^1 olarak yazılmıştır. Grup içinde genotipler arasındaki karşılaştırmalar P^2 için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilirken P^3 ve P^4 için Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Kruskal-Wallis testine göre anlamlı çıkan sonuçların post-hoc analizleri Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Post-hoc sonuçları için Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. ^a : CC vs. CT, $P=.12$, ^b : TT vs. CT, $P=.11$. N: Naif RRMS hastaları, T: Tedavi alan RRMS hastaları, K: Kontrol bireyler.					

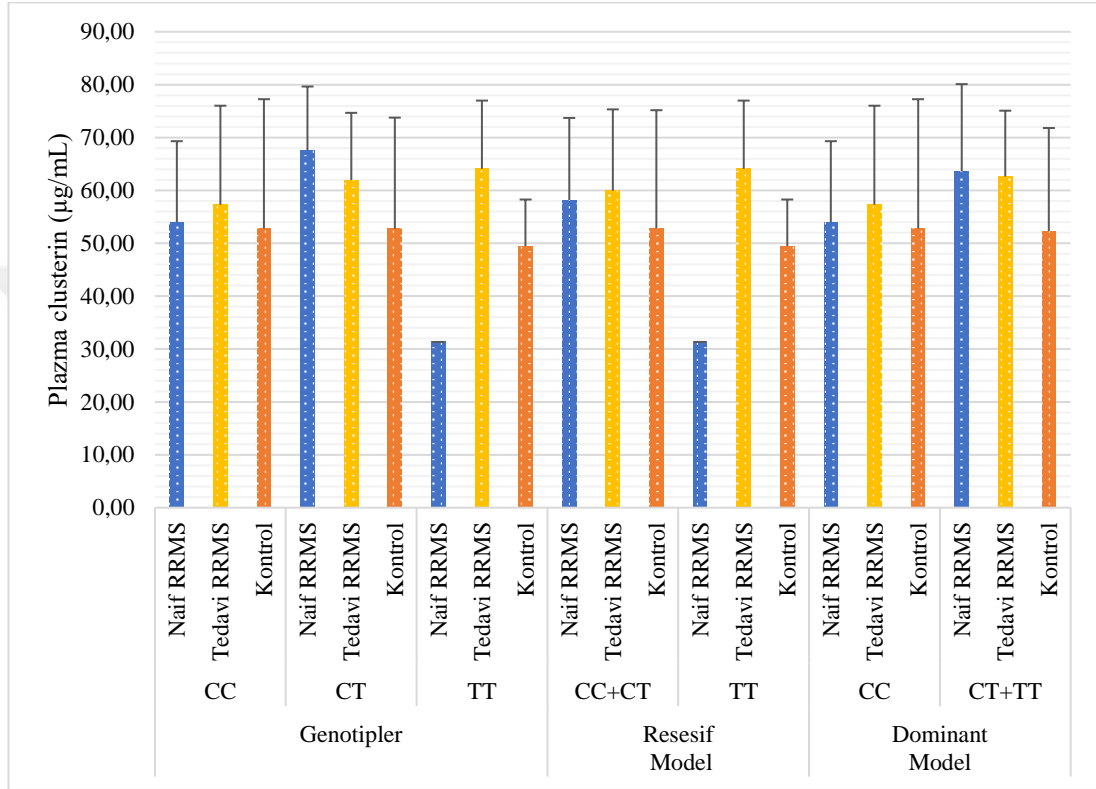
CLU rs2279590 C/T SNP'sinin genotiplerine göre plazma clusterin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Naif RRMS hastalarında kodominant modele göre plazma clusterin seviyeleri karşılaştırıldığında CC (53.98 ± 15.33

$\mu\text{g/mL}$), CT ($67.61 \pm 12.04 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($31.34 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) genotipli bireylerin plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı oldukları görülmüştür ($P=.03$). CT genotipli bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu hem CC hem de TT genotipli naif RRMS hastalarından yüksek olduğu görülse de yapılan post-hoc analizlerinde Bonferroni düzeltmesi yapıldıktan sonra bu anlamlılık kaybolmuştur (CC vs. CT: $P=.12$; TT vs. CT: $P=.11$) Resesif modelde TT genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($31.34 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) CC+CT genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($58.17 \pm 15.54 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.07$). Dominant modelde ise naif RRMS hastalarının CT+TT genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleriyle ($63.58 \pm 16.52 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($53.98 \pm 15.33 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.13$).

Kodominant modele göre plazma clusterin konsantrasyonu CC ($57.30 \pm 18.72 \mu\text{g/mL}$), CT ($61.96 \pm 12.71 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($64.08 \pm 12.91 \mu\text{g/mL}$) genotipli tedavi alan RRMS hastaları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P=.72$). Resesif modelde TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($59.94 \pm 15.39 \mu\text{g/mL}$) CC+CT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($64.08 \pm 12.91 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında da genotiplerdeki plazma clusterin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. ($P=.45$). Dominant modelde CT+TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleriyle ($62.63 \pm 12.45 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($57.30 \pm 18.72 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.90$).

Kodominant modele göre kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu CC ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$), CT ($52.75 \pm 21.02 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) genotipli olanlar arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.90$). Resesif modelde kontrol grubunda TT genotipli kontrollerdeki plazma clusterin seviyeleriyle ($49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) CC+CT genotipli kontrollerin plazma clusterin seviyeleri ($52.78 \pm 22.39 \mu\text{g/mL}$)

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.82$). Benzer şekilde dominant modelde CT+TT genotipli kontrollerdeki plazma clusterin seviyeleriyle ($52.28 \pm 19.52 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli kontrollerdeki plazma clusterin seviyeleri ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.69$). Tüm sonuçlar Şekil 3.18’de görsel olarak özetlenmişlerdir.



Şekil 3.18: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs2279590 C/T SNP’sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı

3.4.6.4 Plazma clusterin konsantrasyonunun rs1532278 C/T ile ilişkisi

Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs1532278 C/T SNP genotip ve genotip modellerine göre dağılımları Çizelge 3.38’de özetlenmiştir. Plazma clusterin konsantrasyonu, hem grup içinde rs1532278 C/T SNP’sinin genotipleri arasında karşılaştırılırken, hem de aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar kodominant, resesif ve dominant modele göre gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.38: Plazma clusterin konsantrasyonunun Grup-2'deki naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde *CLU* rs1532278 C/T genotiplerine göre dağılımları ve genotip modellerine göre kıyaslanması.

SNP	Genotip (N/T/K)	Naif RRMS (n=27)	Tedavi Alan RRMS (n=29)	Kontrol (n=27)	<i>P</i> ¹
Kodominant Model	CC (10/11/13)	64.46 ± 9.06 68.38 (54.15-70.65)	50.87 ± 18.27 45.64 (37.44-70.00)	52.81 ± 24.44 42.21 (33.51-77.25)	.16
	CT (12/13/12)	55.86 ± 17.60 59.45 (40.52-73.18)	65.95 ± 9.12 66.85 (64.40-69.60)	52.75 ± 21.02 44.63 (40.23-63.65)	.18
	TT (5/5/2)	45.79 ± 18.62 39.75 (33.23-47.54)	69.22 ± 1.19 69.70 (68.10-69.85)	49.48 ± 8.80 49.48 (43.26 -55.70)	.13
<i>P</i> ²		.26	.09	.90	
Resesif Model	CC+CT (22/24/25)	59.77 ± 14.72 67.05 (49.06-72.35)	59.04 ± 15.73 64.78 (42.43-69.80)	52.78 ± 22.39 44.48 (38.29-65.30)	.24
	TT (5/5/2)	45.79 ± 18.62 39.75 (33.23-47.54)	69.22 ± 1.19 69.70 (68.10-69.85)	49.48 ± 8.80 49.48 (43.26 -55.70)	.13
<i>P</i> ³		.52	.16	.82	
Dominant Model	CC (10/11/13)	64.46 ± 9.06 68.38 (54.15-70.65)	50.87 ± 18.27 45.64 (37.44-70.00)	52.81 ± 24.44 42.21 (33.51-77.25)	.16
	CT+TT (17/18/14)	52.90 ± 17.94 ^a 47.54 (39.75-72.60)	66.86 ± 7.83 68.28 (65.15-69.85)	52.28 ± 19.52 ^b 44.63 (41.93-62.00)	.04
<i>P</i> ⁴		.24	.04	.69	
Veriler ilk satırda ortalama ± standart sapma, ikinci satırda medyan (Q1-Q3) olarak verilmiştir. Naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar aynı genotip ve genotip modelindeki bireyler için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilmiş ve <i>P</i> değerleri <i>P</i> ¹ olarak yazılmıştır. ^a : Tedavi alan RRMS hastalarıyla karşılaştırıldığında <i>P</i> =.05, ^b : Tedavi alan RRMS hastalarıyla karşılaştırıldığında <i>P</i> =.14. Grup içinde genotipler arasındaki karşılaştırmalar <i>P</i> ² için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirilirken <i>P</i> ³ ve <i>P</i> ⁴ için Mann-Whitney <i>U</i> testi ile gerçekleştirilmiştir. Kruskal-Wallis testine göre anlamlı çıkan sonuçların post-hoc analizleri Mann-Whitney <i>U</i> testi ile gerçekleştirilmiştir. N: Naif RRMS hastaları, T: Tedavi alan RRMS hastaları, K: Kontrol bireyler.					

Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda, rs1532278 C/T SNP'sinin kodominant modeline göre plazma clusterin konsantrasyonu CC genotipli naif (64.46 ± 9.06 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (50.87 ± 18.27 µg/mL) ve kontrol (52.81 ± 24.44 µg/mL) grupları arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (*P*=.16). Benzer şekilde plazma clusterin konsantrasyonu CT genotipli naif (55.86 ± 17.60 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (65.95 ± 9.12 µg/mL) ve kontrol bireyler (52.75 ± 21.02 µg/mL) arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (*P*=.18). Plazma clusterin konsantrasyonu TT genotipli naif (45.79 ± 18.62 µg/mL), tedavi alan RRMS hastaları (69.22 ± 1.19 µg/mL) ve kontrol bireyler (49.48 ± 8.80 µg/mL) arasında

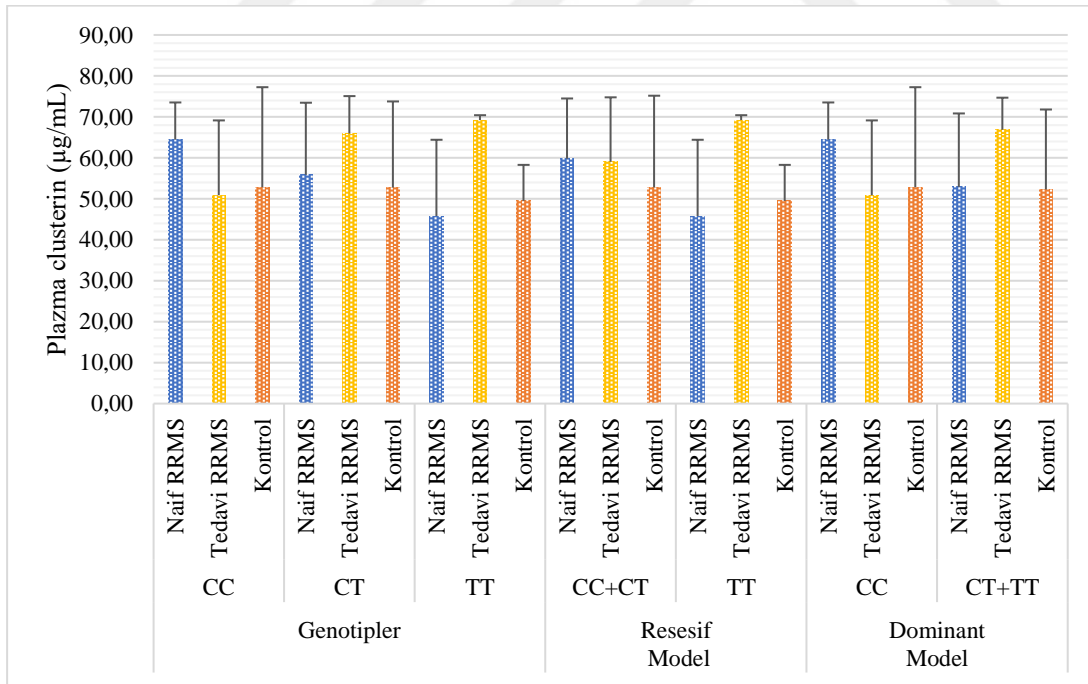
karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.13$). Resesif modelde plazma clusterin konsantrasyonu CC+CT genotipli naif ($59.77 \pm 14.72 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($59.04 \pm 15.73 \mu\text{g/mL}$) ve kontroller ($52.78 \pm 22.39 \mu\text{g/mL}$) arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.24$). Plazma clusterin seviyeleri dominant modelde CT+TT genotipli naif ($52.90 \pm 17.94 \mu\text{g/mL}$), tedavi alan RRMS hastaları ($66.86 \pm 7.83 \mu\text{g/mL}$) ve kontroller ($52.28 \pm 19.52 \mu\text{g/mL}$) arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($P=.04$). CT+TT genotipli Tedavi alan RRMS hastalarının, naif RRMS hastalarının ve kontrollerin plazma clusterin seviyelerinin farklı olduğu görülse de yapılan post-hoc analizleri için gerçekleştirilen Bonferroni düzeltmesi sonrasında bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (naif RRMS vs. tedavi alan RRMS: $P=.05$; kontrol vs. tedavi alan RRMS: $P=.14$).

CLU rs1532278 C/T SNP'sinin genotiplerine göre grup içindeki plazma clusterin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Naif RRMS hastalarında plazma clusterin seviyeleri kodominant modele göre CC ($64.46 \pm 9.06 \mu\text{g/mL}$), CT ($55.86 \pm 17.60 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($45.79 \pm 18.62 \mu\text{g/mL}$) genotipleri arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.26$). Resesif modelde TT genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($45.79 \pm 18.62 \mu\text{g/mL}$) ile CC+CT genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($59.77 \pm 14.72 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.52$). Benzer şekilde dominant modelde CT+TT genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleriyle ($52.90 \pm 17.94 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin seviyeleri ($64.46 \pm 9.06 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.24$).

Tedavi alan RRMS hastalarında plazma clusterin seviyeleri kodominant modele göre CC ($50.87 \pm 18.27 \mu\text{g/mL}$), CT ($65.95 \pm 9.12 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($69.22 \pm 1.19 \mu\text{g/mL}$) genotipleri arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.09$). Resesif modelde TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($69.22 \pm 1.19 \mu\text{g/mL}$) ile CC+CT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ($59.04 \pm 15.73 \mu\text{g/mL}$)

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.16$). Dominant modelde yapılan karşılaştırmada ise CT+TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyelerinin ($66.86 \pm 7.83 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli naif RRMS hastalarının plazma clusterin seviyelerinden (50.87 ± 18.27) istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğu görülmüştür ($P=.04$).

Kontrollerin plazma clusterin seviyeleri kodominant modele göre CC ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$), CT ($52.75 \pm 21.02 \mu\text{g/mL}$) ve TT ($49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) genotipleri arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.90$). Resesif modelde TT genotipli kontrollerin plazma clusterin konsantrasyonu ($49.48 \pm 8.80 \mu\text{g/mL}$) ile CC+CT genotipli kontrollerin plazma clusterin konsantrasyonu ($52.78 \pm 22.39 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=.82$). Benzer şekilde dominant modelde CT+TT genotipli kontrollerin plazma clusterin seviyeleriyle ($52.28 \pm 19.52 \mu\text{g/mL}$) CC genotipli kontrollerin plazma clusterin seviyeleri ($52.81 \pm 24.44 \mu\text{g/mL}$) kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.24$). Tüm sonuçlar Şekil 3.19’da görsel olarak özetlenmişlerdir.



Şekil 3.19: Plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde rs1532278 C/T SNP’sinin genotip ve genotip modellerine göre dağılımı.

3.4.7 Plazma clusterin konsantrasyonuna miRNA rölatif ekspresyon seviyeleri ve rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri

Bu tez çalışması kapsamında, miR-21-5p ve miR-195-5p miRNA'larının plazma rölatif ekspresyon seviyelerinin, plazma clusterin konsantrasyonuna olan etkileri de incelenmiştir. Ayrıca, gen ifade seviyesinin miRNA'lar aracılığı ile düzenlendiği bölge olan 3'UTR'de bulunan rs3087554 T/C SNP'sinin genotiplerinin de plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri düzeylerine göre plazma clusterin konsantrasyonu ile olan ilişkisi de incelenmiştir. Gruplar arasında normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırmaları bağımsız örneklem t-testi ile gerçekleştirilirken normal dağılım göstermeyen veriler Mann-Whitney *U* testi ile analiz edilmiştir.

Bu analizler için ilk olarak Grup-2'deki tüm katılımcılar tek bir grup olarak ele alınarak miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin normallik analizi gerçekleştirilmiştir. Her iki miRNA'nın da normal dağılım göstermemesi üzerine miRNA'ların fold change değerlerinin %50'lik dilimine denk gelen değer kesme değeri olarak belirlenmiş olup miR-21-5p için 1.79 olan bu değer miR-195-5p için 0.24 olarak belirlenmiştir. Bu kesme değerlerine eşit ve daha küçük fold change değerleri miR-21-5p ve miR-195-5p için ayrı ayrı olmak üzere düşük miRNA rölatif ekspresyon grubuna dahil edilirken kesme değerinden yüksek olan fold change değerleri yüksek miRNA rölatif ekspresyon grubuna dahil edilmiştir.

3.4.7.1 Plazma clusterin konsantrasyonuna miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ve rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri

Plazma miR-21-5p için belirlenmiş olan 1.79 kesme değerinden yüksek fold change değerleri yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubuna; eşit veya daha düşük fold change değerleri düşük miR-21-5p grubuna dahil edilmiştir. Daha sonra bu kişiler rs3087554 T/C SNP genotiplerine göre de gruplara ayrılmış olup bu gruplardaki plazma clusterin seviyeleri aynı genotipe sahip olan bireyler arasında karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.39). Ayrıca, genotiplerden bağımsız olarak, naif RRMS, tedavi alan RRMS, tüm RRMS ve kontrol gruplarında düşük ve yüksek plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyeleri gruplarındaki plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.40).

Çizelge 3.39: Grup-2'deki tüm katılımcıların rs3087554 T/C genotiplerindeki clusterin konsantrasyonlarının plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırılmaları.

Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)	rs3087554 T/C		
	TT (n=59)	TC (n=21)	CC (n=1)
Düşük miR-21-5p (n=40)	56.37 \pm 18.50 62.00 (39.21- 70.00)	46.80 \pm 17.63 42.21 (37.88- 46.93)	-
Yüksek miR-21-5p (n=41)	61.07 \pm 17.27 65.97 (47.29- 72.57)	60.64 \pm 13.29 65.18 (51.41- 70.30)	70.00 \pm 0.00 70.00 (70.00-70.00)
P	.30	.08	-
Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir ve P değeri hesaplanmıştır.			

Plazma clusterin seviyeleri rs3087554 T/C SNP'sinin genotiplerinde yüksek ve düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyeleri grupları arasında karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.39). Buna göre TT genotipli bireylerdeki plazma clusterin konsantrasyonu düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda $56.37 \pm 18.50 \mu\text{g/mL}$, yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda $46.80 \pm 17.63 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiş olup gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ($P=.30$). Aynı karşılaştırmanın TC genotipli bireyler arasında gerçekleştirildiği durumda da düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($46.80 \pm 17.63 \mu\text{g/mL}$) ve yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($60.64 \pm 13.29 \mu\text{g/mL}$) arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($P=.08$). CC genotipine sahip örnek sayısı 1 olduğundan dolayı bu genotip için karşılaştırma gerçekleştirilememiştir.

Plazma clusterin konsantrasyonu, rs3087554 T/C SNP'sinden bağımsız olarak da hasta ve kontrol gruplarında yüksek ile düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyeleri grupları arasında da ayrıca karşılaştırmıştır (Çizelge 3.40). Naif RRMS hastalarında yüksek ile düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyeleri grupları arasında karşılaştırıldığında plazma clusterin konsantrasyonu, yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda ($63.48 \pm 13.99 \mu\text{g/mL}$), düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubuna göre ($47.04 \pm 17.80 \mu\text{g/mL}$) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür ($P=.04$).

Tedavi alan RRMS hastalarında plazma clusterin seviyeleri düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($56.62 \pm 16.87 \mu\text{g/mL}$) ve yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($61.98 \pm 15.13 \mu\text{g/mL}$) arasında karşılaştırıldığında gruplar

arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.86$). Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin plazma clusterin konsantrasyonuna olan etkilerini genel olarak RRMS hastalarında incelemek için naif ve tedavi alan RRMS hastaları bir araya getirilmiş ve bu grup tüm RRMS olarak adlandırılmıştır.

Çizelge 3.40: Grup-2’de plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS, tedavi alan RRMS, tüm RRMS hastaları ve kontrol grubu içinde plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırmaları.

Gruplar		Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)
Naif RRMS (n=25)	Düşük miR-21-5p (n=6)	47.04 \pm 17.80 40.48 (31.77-63.38)
	Yüksek miR-21-5p (n=19)	63.48 \pm 13.99 69.43 (52.00-72.35)
	<i>P</i>	.04
Tedavi Alan RRMS (n=29)	Düşük miR-21-5p (n=17)	56.62 \pm 16.87 65.60 (37.88-69.70)
	Yüksek miR-21-5p (n=12)	64.68 \pm 12.07 68.03 (63.98-70.50)
	<i>P</i>	.35
Tüm RRMS (n=54)	Düşük miR-21-5p (n=23)	53.67 \pm 17.40 50.54 (37.86-69.70)
	Yüksek miR-21-5p (n=31)	63.90 \pm 13.17 69.40 (61.25-72.10)
	<i>P</i>	.03
Kontrol (n=27)	Düşük miR-21-5p (n=17)	50.93 \pm 19.48 44.78 (38.29-62.00)
	Yüksek miR-21-5p (n=10)	54.89 \pm 23.59 43.26 (37.94-77.25)
	<i>P</i>	.97
Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney <i>U</i> testi ile analiz edilmiştir ve <i>P</i> değeri hesaplanmıştır.		

Tüm RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonunun, yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda ($63.90 \pm 13.17 \mu\text{g/mL}$) düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubundan ($53.67 \pm 17.40 \mu\text{g/mL}$) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür ($P=.03$). Son olarak kontrol grubunda bu karşılaştırma gerçekleştirildiğinde düşük miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ($50.93 \pm 19.48 \mu\text{g/mL}$) ve yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ($54.89 \pm 23.59 \mu\text{g/mL}$) grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.97$)

3.4.7.2 Plazma clusterin konsantrasyonuna miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ve rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri

Plazma miR-195-5p için belirlenmiş olan 0.24 kesme değerinden yüksek fold change değerleri yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubuna; eşit veya daha düşük fold change değerleri düşük miR-195-5p grubuna dahil edilmiştir. Daha sonra bu kişiler rs3087554 T/C SNP genotiplerine göre de gruplara ayrılmış olup bu gruplardaki plazma clusterin seviyeleri aynı genotipe sahip olan bireyler arasında karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.41). Bununla birlikte, genotiplerden bağımsız olarak, naif RRMS, tedavi alan RRMS, tüm RRMS ve kontrol gruplarında düşük ve yüksek plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri gruplarındaki plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.42).

Çizelge 3.41: Grup-2'deki tüm katılımcıların rs3087554 T/C genotiplerindeki clusterin konsantrasyonlarının plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırılmaları.

Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)	rs3087554 T/C		
	TT (n=59)	TC (n=21)	CC (n=1)
Düşük miR-195-5p (n=42)	59.30 \pm 15.38 67.07 (46.34-69.93)	52.95 \pm 18.11 42.21 (37.88-71.15)	70.00 \pm 0.00 70.00 (70.00-70.00)
Yüksek miR-195-5p (n=39)	58.47 \pm 20.68 62.00 (41.62-73.95)	51.41 \pm 17.26 46.19 (40.05-64.03)	-
<i>P</i>	.86	.85*	-

Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney *U* testi ile analiz edilmiştir ve *P* değeri hesaplanmıştır. *: Bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır.

Plazma clusterin seviyeleri rs3087554 T/C SNP'sinin genotiplerinde yüksek ve düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri grupları arasında karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.41) Buna göre TT genotipli bireylerdeki plazma clusterin konsantrasyonu düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda 59.30 \pm 15.38 $\mu\text{g/mL}$, yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda 58.47 \pm 20.68 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiş olup gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (*P*=.86). TC genotipli bireyler arasında bu karşılaştırma gerçekleştirildiği durumda da düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu (52.95 \pm 18.11 $\mu\text{g/mL}$) ve yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu (51.41 \pm 17.26 $\mu\text{g/mL}$) arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (*P*=.85). CC genotipine sahip örnek sayısı 1 olduğundan dolayı bu genotip için karşılaştırma gerçekleştirilememiştir.

Plazma clusterin konsantrasyonu, rs3087554 T/C SNP'sinden bağımsız olarak da hasta ve kontrol gruplarında yüksek ile düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri grupları arasında karşılaştırmıştır (Çizelge 3.42). Naif RRMS hastalarında yapılan analizlerde plazma clusterin konsantrasyonu bakımından düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($56.30 \pm 19.55 \mu\text{g/mL}$), yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($62.29 \pm 12.14 \mu\text{g/mL}$) arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.61$).

Çizelge 3.42: Grup-2'de plazma clusterin konsantrasyonunun naif RRMS, tedavi alan RRMS, tüm RRMS hastaları ve kontrol grubu içinde plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesine göre karşılaştırmaları.

Gruplar		Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)
Naif RRMS (n=25)	Düşük miR-195-5p (n=14)	56.30 ± 19.55 59.65 (36.53-72.70)
	Yüksek miR-195-5p (n=11)	62.29 ± 12.14 68.10 (54.15-72.10)
<i>P</i>		.61
Tedavi RRMS (n=29)	Düşük miR-195-5p (n=24)	60.79 ± 15.14 67.85 (45.64-69.85)
	Yüksek miR-195-5p (n=5)	55.13 ± 17.86 61.25 (46.93-65.15)
<i>P</i>		.42
Tüm RRMS (n=54)	Düşük miR-195-5p (n=38)	59.04 ± 16.90 67.30 (39.83-70.60)
	Yüksek miR-195-5p (n=16)	60.41 ± 13.70 65.15 (49.06-72.10)
<i>P</i>		.87
Kontrol (n=27)	Düşük miR-195-5p (n=4)	43.76 ± 10.69 44.63 (36.15-51.37)
	Yüksek miR-195-5p (n=23)	53.71 ± 21.75 44.63 (38.29-65.30)
<i>P</i>		.66
Ortalama \pm standart sapma ve medyan (Q1-Q3) olarak gösterilen veriler Mann-Whitney <i>U</i> testi ile analiz edilmiştir ve <i>P</i> değeri hesaplanmıştır.		

Tedavi alan RRMS hastalarında plazma clusterin seviyeleri düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($60.79 \pm 15.14 \mu\text{g/mL}$) ve yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu ($55.13 \pm 17.86 \mu\text{g/mL}$) arasında karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($P=.42$). Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin plazma clusterin konsantrasyonuna olan etkilerini genel olarak RRMS hastalarında incelemek için naif ve tedavi alan RRMS hastaları bir araya getirilmiş ve bu grup tüm RRMS olarak adlandırılmıştır. Tüm RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu

(59.04 ± 16.90 µg/mL) ve yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubu (60.41 ± 13.70 µg/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=$.87). Kontrol grubunda düşük miR-195-5p (43.76 ± 10.69 µg/mL) ve yüksek miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi (53.71 ± 21.75 µg/mL) grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P=$.66).

3.4.8 Lojistik Regresyon Analizleri

Bilişsel test uygulanan ve plazma örnekleri alınan katılımcılardan oluşan Grup-2’de ikili lojistik regresyon analizi yöntemi kullanılarak birden fazla bağımsız değişkenin, risk durumu olarak belirlenen bağımlı değişken üzerindeki etkisi bir arada değerlendirilmiştir. Bu analizler, iki farklı başlık altında yapılmıştır:

1-Naif RRMS, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları ikili olarak (Naif RRMS-kontrol, tedavi alan RRMS-kontrol ve tedavi alan RRMS-naif RRMS) gruplandırıldığı durumda gerçekleştirilen analizler. Her bir ikili gruplandırma için ayrı ayrı gerçekleştirilen bu analizlerde, bağımsız değişkenlerin bir aradayken bu gruplarla istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olan deneysel parametreleri belirlenmiştir. Burada bağımlı değişken, Naif RRMS hastaları ve kontrol grupları ikili olarak seçildiğinde naif RRMS olma durumu; tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları ikili olarak seçildiğinde tedavi alan RRMS hastası olma durumu; tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastaları grupları ikili olarak seçildiğinde tedavi alan RRMS hastası olma durumu riskli olarak belirlenmiş ve bağımlı değişken olarak atanmıştır (izelge 3.43).

2- Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında, bilişsel bozukluk riski ile ilişkili parametreleri tespit etmek için gerçekleştirilen analizler. Bu analizlerde, Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında bağımsız değişkenlerin bir arada olduğu durumda, bilişsel bozuklukla istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili parametreler belirlenmiştir (izelge 3.46 & izelge 3.47).

3.4.8.1 Gruplar arasında gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri

Yukarıda anlatıldığı gibi grupların ikili olarak ayrı ayrı ele alındığı bu analiz modelleri, Model C serisi olarak adlandırılmıştır. Bu analizlerde sırasıyla önce naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler, sonra tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler,

daha sonra da tedavi alan ve naif RRMS hastaları ikili olarak gruplandırılmış ve bu ikililerle ilişkili parametreler tespit edilmeye çalışılmışlardır. Naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler ile yapılan lojistik regresyon analizinde bağımlı değişken olarak naif RRMS olma durumu atanmıştır. Tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler ile yapılan lojistik regresyon analizlerindeyse tedavi alan RRMS olma durumu bağımlı değişken olarak atanmıştır. Son olarak, tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastaları ile yapılan lojistik regresyon analizinde ise tedavi alan RRMS hastası olma durumu bağımlı değişken olarak atanmıştır.

Analizler gerçekleştirilirken üç grup için de ortak parametreler kullanılmıştır. Bu yüzden modellere bağımsız değişkenler dahil edilirken hastalara ait klinik parametreler dahil edilmeyip üç grup için de bulunan deneysel parametreler modellere dahil edilmiştir. Bağımsız değişken olarak plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri, cinsiyet, istihdam, sigara, rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T dahil edilmişlerdir. Yapılan eş lineerlik analizlerinde rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri eş lineer olarak buldukları için aynı analiz alt modeline dahil edilmemişlerdir. Bunun yanı sıra, SNP'ler farklı genotip modellerine göre alt modellere dahil edilmiş olup kodominant, resesif ve dominant modelleri için ayrı alt modeller oluşturulmuştur. Bu modeller Çizelge 3.43'te özetlenmişlerdir.

Naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler için yapılan lojistik regresyon analizleri

Bu analizler naif RRMS hastaları ile kontrol bireyler arasında gerçekleştirilmiştir. Yapılan eş lineerlik analizinde rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T'nin eş lineer bulunmasından dolayı iki SNP alt modellere aynı anda dahil edilmemiştir. Plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri, cinsiyet, istihdam, sigara, rs3087754 T/C ve rs2279590 C/T tüm modellerde bulunmaktadır. Bu alt modeller, SNP'lerin resesif ve dominant modelleri için de oluşturulmuş Model C.1 serisine dahildirler (Çizelge 3.43).

Çizelge 3.43: Grup-2’de bulunan naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS hastalarının (n=30) ve kontrollerin (n=30) ikili olarak karşılaştırıldıklarında gruplarla ilişkili parametreleri belirlemek için yapılan lojistik regresyon analizleri modelleri.

<p>Model C.1 Serisi</p> <p>Bağımlı Değişken: Naif RRMS vs. Kontrol</p> <p>Clusterin, miR-21-5p, miR-195-5p, cinsiyet, istihdam, sigara, rs3087554 ve rs2279590 tüm analiz modellerinde bulunmaktadır.</p>	<p><i>CLU</i> SNP’leri kodominant olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.1.1: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
		Model C.1.2: rs1532278 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
	<p><i>CLU</i> SNP’leri resesif olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.1.3: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
		Model C.1.4: rs1532278 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
	<p><i>CLU</i> SNP’leri dominant olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.1.5: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Sonaçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.44’te sunulmuştur.
		Model C.1.6: rs1532278 modele dahil edilmiştir	
<p>Model C.2 Serisi</p> <p>Bağımlı Değişken: Tedavi alan RRMS vs. Kontrol</p> <p>Clusterin, miR-21-5p, miR-195-5p, cinsiyet, istihdam, sigara, rs3087554 ve rs2279590 tüm analiz modellerinde bulunmaktadır.</p>	<p><i>CLU</i> SNP’leri kodominant olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.2.1: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
		Model C.2.2: rs1532278 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
	<p><i>CLU</i> SNP’leri resesif olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.2.3: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
		Model C.2.4: rs1532278 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
	<p><i>CLU</i> SNP’leri dominant olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.2.5: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
		Model C.2.6: rs1532278 modele dahil edilmiştir	Anlamli bir ilişki bulunmamıştır.
<p>Model C.3 Serisi</p> <p>Bağımlı Değişken: Tedavi alan RRMS vs. Naif RRMS</p> <p>Clusterin, miR-21-5p, miR-195-5p, cinsiyet, istihdam, sigara, rs3087554 ve rs2279590 tüm analiz modellerinde bulunmaktadır.</p>	<p><i>CLU</i> SNP’leri kodominant olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.3.1: rs11136000 modele dahil edilmiştir	İlişkili parametreler, Çizelge 3.44’te sunulmuştur.
		Model C.3.2: rs1532278 modele dahil edilmiştir	İlişkili parametreler, Çizelge 3.44’te sunulmuştur.
	<p><i>CLU</i> SNP’leri resesif olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.3.3: rs11136000 modele dahil edilmiştir	Sonaçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.44’te sunulmuştur.
		Model C.3.4: rs1532278 modele dahil edilmiştir	
	<p><i>CLU</i> SNP’leri dominant olarak modele eklenmiştir</p>	Model C.3.5: rs11136000 modele dahil edilmiştir	İlişkili parametreler, Çizelge 3.44’te sunulmuştur.
		Model C.3.6: rs1532278 modele dahil edilmiştir	İlişkili parametreler, Çizelge 3.44’te sunulmuştur.

Yapılan analiz sonucunda *CLU* SNP'lerinin dominant modelde eklendiği durumda (Model C.1.5 & Model C.1.6) plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin artmasıyla naif RRMS olma riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (OR=1.87, %95 CI= 1.14-3.09, *P*=.01). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde modellerin geçerli olduğu görülmüştür (*P*=.66). Diğer analiz modellerinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca rastlanmamıştır (Çizelge 3.44).

Çizelge 3.44: Grup-2'de bulunan naif RRMS hastaları (n=30) ve kontrol grubu (n=30) arasında yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde anlamlı çıkan modeller ve RRMS riski ile ilişkili bulunan parametreler.

MODEL	İlişkili Bulunanlar	OR	%95 CI	<i>P</i>	B	Hosmer & Lemeshow		
						χ^2	df	<i>P</i>
C.1.5, C.1.6	miR-21-5p fold change	1.87	1.14-3.09	.01	0.63	5.92	8	.66

Tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler için yapılan lojistik regresyon analizleri

Bu analizler tedavi alan RRMS hastaları ile kontrol bireyler arasında gerçekleştirilmiştir. Yapılan eş lineerlik analizinde rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T'nin eş lineer bulunmasından dolayı iki SNP alt modellere ayrı ayrı dahil edilmiştir. Plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri, cinsiyet, istihdam, sigara, rs3087754 T/C ve rs2279590 C/T tüm modellerde bulunmaktadır. Bu alt modeller, SNP'lerin resesif ve dominant modelleri için de oluşturulmuş olup özet tabloda Model C.2 serisine dahildirler (Çizelge 3.41). Yapılan analizler sonucunda herhangi bir alt modelde tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerle istatistiksel olarak anlamlı biçimde ilişkili bir parametre bulunamamıştır.

Naif ve tedavi alan RRMS hastaları için yapılan lojistik regresyon analizleri

Bu analizler naif ve tedavi alan RRMS hastaları arasında gerçekleştirilmiştir. Yapılan eş lineerlik analizinde rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T'nin eş lineer bulunmasından dolayı iki SNP farklı alt modellere dahil edilmiştir. Plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri, cinsiyet, istihdam, sigara, rs3087754 T/C ve rs2279590 C/T tüm modellerde bulunmaktadır. Bu alt modeller, SNP'lerin resesif ve dominant

modelleri için de oluşturulmuş olup özet tabloda Model C.3 serisine dahildirler (Çizelge 3.43). İstatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar Çizelge 3.45'te özetlenmişlerdir.

Çizelge 3.45: Grup-2'de bulunan tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve naif RRMS hastaları (n=30) arasında yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde anlamlı çıkan modeller ve tedavi alan RRMS olma durumu ile ilişkili bulunan parametreler.

MODEL	İlişkili Bulunanlar	OR	%95 CI	P	B	Hosmer & Lemeshow		
						χ^2	df	P
C.3.1	miR-21-5p fold change	0.77	0.63-0.94	.01	-.26	7.24	8	.51
	rs11136000 Kodominant Model (TT vs. CC)	0.07	0.01-0.96	.047	-2.65			
	rs2279590 Kodominant Model (CT vs. CC)	21.56	2.43-191.46	.006	3.07			
C.3.2	miR-21-5p fold change	0.75	0.61-0.94	.01	-0.28	8.23	8	.41
	rs2279590 Kodominant Model (CT vs. CC)	15.00	1.57-143.16	.02	2.71			
C.3.3, C.3.4	Clusterin ($\mu\text{g/mL}$)	1.06	1.01-1.12	.03	0.06	9.21	8	.33
	miR-21-5p fold change	0.78	0.58-0.94	.01	-0.31			
C.3.5	miR-21-5p fold change	0.76	0.62-0.92	.006	-0.28	8.17	8	.42
	rs2279590 Dominant Model (TT+CT vs. CC)	28.71	3.55-232.47	.002	3.36			
	rs11136000 Dominant Model (TT+CT vs. CC)	0.14	0.02-0.91	.04	-1.97			
C.3.6	miR-21-5p fold change	0.76	0.61-0.92	.006	-0.29	8.47	8	.39
	rs2279590 Dominant Model (TT+CT vs. CC)	30.87	3.75-254.16	.001	3.43			
	rs1532278 Dominant Model (TT+CT vs. CC)	0.14	0.02-0.95	.04	-1.95			

SNP'lerin kodominant modele göre kodlandıkları analiz modeli olan Model C.3.1'de plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin azalışıyla tedavi alan RRMS olma durumunun anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (OR=0.77, %95 CI=0.63-0.94, P=.01). Ayrıca, rs11136000 TT genotipinin CC genotipine kıyasla naif RRMS olma durumu ile anlamlı derecede ilişkili olduğu tespit edilmiştir (OR=0.07, %95 CI=0.01-0.96, P=.047). Bir diğer *CLU* SNP'si olan rs2279590'ın CT genotipinin ise tedavi alan RRMS hastalarıyla CC genotipine kıyasla tedavi alan RRMS olma durumuyla anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (OR=21.56, %95 CI=2.43-191.46, P=.006). Diğer kodominant analiz modeli olan Model C.3.2'de de plazma

miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin azalmasıyla tedavi alan RRMS olma durumunun anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (OR=0.75, %95 CI=0.61-0.94, $P=.01$). Benzer şekilde, rs2279590'ın CT genotipinin CC genotipine kıyasla, tedavi alan RRMS olma durumuyla anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (OR=15.00, %95 CI=1.57-143.16, $P=.02$) (Çizelge 3.45). *CLU* SNP'lerinin resesif oldukları alt analiz modellerinin her ikisinde de (Model C.3.3 & Model C.3.4) plazma clusterin konsantrasyonunun artışıyla tedavi alan RRMS olma durumunun anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür (OR=1.0, %95 CI=1.01-1.12, $P=.03$). Buna karşın, plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin ise azalmasıyla tedavi alan RRMS olma durumunun anlamlı ölçüde ilişkili olduğu bulunmuştur (OR=0.78, %95 CI=0.58-0.94, $P=.01$) (Çizelge 3.45). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde modellerin geçerli olduğu görülmüştür (Model C.3.1: $P=.51$, Model C.3.2: $P=.41$, Model C.3.3 ve Model C.3.4: $P=.33$).

SNP'lerin dominant modele göre kodlandıkları analiz modeli olan Model C.3.5'te plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin azalışıyla tedavi alan RRMS olma durumu arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür (OR=0.76, %95 CI=0.62-0.92, $P=.006$). Ayrıca, dominant modelde ele alınan rs11136000 CT+TT genotipinin CC genotipine kıyasla naif RRMS olma durumuyla anlamlı ölçüde ilişkili olduğu görülmüştür (OR=0.14, %95 CI=0.02-0.91, $P=.04$). Bir diğer *CLU* SNP'si olan rs2279590'ın CT+TT genotipinin ise CC genotipine kıyasla tedavi alan RRMS olma durumuyla anlamlı ölçüde ilişkili olduğu tespit edilmiştir (OR=28.71, %95 CI=3.55-232.47, $P=.002$). Diğer dominant analiz modeli olan Model C.3.6'da da plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin azalışının, tedavi alan RRMS olma durumuyla ilişkili olduğu görülmüştür (OR=0.76, %95 CI=0.61-0.92, $P=.006$). rs2279590'ın CT+TT genotipinin ise, CC genotipine kıyasla tedavi alan RRMS olma durumuyla anlamlı ölçüde ilişkide olduğu belirlenmiştir (OR=30.87, %95 CI=3.75-254.16, $P=.001$). Yine bu modelde rs1532278 CT+TT genotipi, TT genotipiyle kıyaslandığında naif RRMS olma durumuyla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha ilişkili olduğu bulunmuştur (OR=0.14, %95 CI=0.02-0.95, $P=.04$) (Çizelge 3.45). Bu modellerin geçerliliği Hosmer & Lemeshow testi ile değerlendirildiğinde modellerin geçerli olduğu görülmüştür (Model C.3.5: $P=.42$, Model C.3.6: $P=.39$).

3.4.8.2 Bilişsel bozukluk riski için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri

Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk riski ile ilişkili parametreleri belirlemek için ikili lojistik regresyon analizi kullanılmış, bağımsız değişkenlerin bir aradayken bilişsel bozukluk riski ile ilişkileri incelenmiştir. Tüm analizlerde, geriye doğru seçim yöntemi kullanılmıştır. Analizler, naif ve tedavi alan RRMS hastalarında ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Bilişsel bozukluk için gerçekleştirilen analiz modelleri “Model D” serisi olarak adlandırılmıştır.

Naif RRMS hastaları için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri

Bu analiz için bölüm 3.4.3’te anlatıldığı şekilde bilişsel bozukluk teşhisi koyulan naif RRMS hastalarının durumu riskli olarak kabul edilerek bağımlı değişken olarak atanmıştır. Bu analizlerde bağımsız değişken olarak plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p, miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, cinsiyet, T1 lezyon sayısı, T2 lezyon sayısı, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara, serum 25-(OH) D₃ seviyesi, serum Vitamin B₁₂ seviyesi ve serum lipit parametreleri (trigliserit, total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) bağımsız değişken olarak atanmışlardır. Anlamlı bir analiz modeli oluşturabilmek adına bağımsız değişkenler için öncelikle eş lineerlik analizi gerçekleştirilmiş ve eş lineer olduğu tespit edilen bağımsız değişkenler bir arada olmayacak şekilde farklı alt model kombinasyonları oluşturulmuştur. Collinearity diagnostics analizine göre VIF skoru 3’ten büyük değişkenler eş lineer olarak belirlenmiştir. Bu analizler neticesinde aşağıdaki parametrelerin eş lineer oldukları tespit edilmiştir:

- T1 ve T2 lezyon sayısı
- Total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, Vitamin B₁₂
- Trigliserit ve VLDL-kolesterol

Eş lineer çıkan bağımsız değişkenlerden her seferinde birisi seçilerek oluşturulan alt modellerin sayısı 16 olup bu alt modeller Model D.1 serisi olarak adlandırılmıştır. Analiz modellerinin tamamında plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p, miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, cinsiyet, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara, serum 25-(OH) D₃ seviyesi ortak olarak bulunmaktadır (Çizelge 3.46).

Çizelge 3.46: Grup-2’de bulunan naif RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk riski ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri modellerinin oluşturulması.

<p>Model D.1 Serisi:</p> <p>Naif RRMS hastalarında bilişsel bozukluk riski için yapılan analiz modelleridir.</p> <p>Bağımlı Değişken:</p> <p>Bilişsel bozukluk riski</p> <p>Bağımsız Değişkenler:</p> <p>Clusterin, miR-21-5p, miR-195-5p, cinsiyet, Kontrast Tutan Lezyon, Sigara, 25-(OH) D₃ bütün modellerde bulunmaktadır.</p>	<p>Bağımsız değişkenlere T1 Lezyon dahildir</p> <p>Model D.1.1-D.1.8 aralığındaki modeller</p>	Model D.1.1 & Model D.1.2: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.1.1: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
		Model D.1.3 & Model D.1.4: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.1.2: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.3: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
		Model D.1.5 & Model D.1.6: HDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.1.4: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.5: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
		Model D.1.7 & Model D.1.8: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir	Model D.1.6: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
	Model D.1.7: Trigliserit eklenmiştir		Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
	<p>Bağımsız değişkenlere T2 Lezyon dahildir</p> <p>Model D.1.9-D.1.16 aralığındaki modeller</p>	Model D.1.9 & Model D.1.10: Total kolesterol eklenmiştir	Model D.1.8: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.9: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
		Model D.1.11 & Model D.1.12: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.1.10: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.11: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
		Model D.1.13 & Model D.1.14: HDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.1.12: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.13: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
		Model D.1.15 & Model D.1.16: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir	Model D.1.14: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.15: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.1.16: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.

Model D.1.1-D.1.8 aralığındaki analiz modellerinde T1 lezyon sayısı bağımsız değişken olarak bulunmaktadır. Bu analiz modellerinden Model D.1.1 ve Model D.1.2 total kolesterolün bulunduğu; Model D.1.3 ve Model D.1.4 LDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.1.5 ve Model D.1.6 HDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.1.7 ve Model D.1.8 ise Vitamin B₁₂'nin bulunduğu analiz modelleridir. Trigliserit ve VLDL-kolesterol ise bu analiz modelleri çiftlerine sırayla eklenmiştir.

Model D.1.9-D.1.16 analiz modelleri ise T2 lezyon sayısını bağımsız değişken olarak içermektedir. Bu analiz modellerinden Model D.1.9 ve Model D.1.10 total kolesterolün bulunduğu; Model D.1.11 ve Model D.1.12 LDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.1.13 ve Model D.1.14 HDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.1.15 ve Model D.1.16 ise Vitamin B₁₂'nin bulunduğu analiz modelleridir. Trigliserit ve VLDL-kolesterol ise bu analiz modelleri çiftlerine sırasıyla eklenmiştir. Yapılan analizler neticesinde naif RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkili herhangi bir parametre bulunmamıştır.

Tedavi alan RRMS hastaları için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri

Bu analiz için bölüm 3.4.3'te anlatıldığı şekilde bilişsel bozukluk teşhisi koyulan tedavi alan RRMS hastalarının durumu riskli olarak kabul edilerek bağımlı değişken olarak atanmıştır. Bu analizlerde bağımsız değişken olarak plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, cinsiyet, T1 lezyon sayısı, T2 lezyon sayısı, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara, serum 25-(OH) D₃ seviyesi, serum Vitamin B₁₂ seviyesi ve serum lipit parametreleri (trigliserit, total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) bağımsız değişken olarak atanmışlardır. Anlamlı bir analiz modeli oluşturabilmek adına bağımsız değişkenler için öncelikle eş lineerlik analizi gerçekleştirilmiş ve eş lineer olduğu tespit edilen bağımsız değişkenler bir arada olmayacak şekilde farklı alt model kombinasyonları oluşturulmuştur. Collinearity diagnostics analizine göre VIF skoru 3'ten büyük değişkenler eş lineer olarak belirlenmiştir. Bu analizler neticesinde aşağıdaki parametrelerin eş lineer oldukları tespit edilmiştir:

- Plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi
- T1 ve T2 lezyon sayısı
- Total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, Vitamin B₁₂

- Trigliserit ve VLDL-kolesterol

Bu eş lineer bağımsız değişkenlerden her seferinde birisi seçilerek oluşturulan alt modellerin sayısı 32 olup, analiz modelleri Model D.2 serisi olarak adlandırılmıştır. Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesini içeren alt model serisi Model D.2.1 serisi olarak adlandırılırken plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesini içeren model serisi ise Model D.2.2 serisi olarak adlandırılmıştır. Analiz modellerinin tamamında plazma clusterin konsantrasyonu, cinsiyet, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara, serum 25-(OH) D₃ seviyesi ortak olarak bulunmaktadır (Çizelge 3.47)

Model D.2.1 serisi

Model D.2.1 serisinde tüm modellerde bulunan bağımsız değişkenlere ilave olarak plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bulunmakta olup miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi bulunmamaktadır.

Model D.2.1 serisinde Model D.2.1.1-D.2.1.8 aralığındaki analiz modellerinde T1 lezyon sayısı bağımsız değişken olarak bulunmaktadır. Bu analiz modellerinden Model D.2.1.1 ve Model D.2.1.2 total kolesterolün bulunduğu; Model D.2.1.3 ve Model D.2.1.4 LDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.1.5 ve Model D.2.1.6 HDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.1.7 ve Model D.2.1.8 ise Vitamin B₁₂'nin bulunduğu analiz modelleridir. Trigliserit ve VLDL-kolesterol ise bu analiz modelleri çiftlerine sırasıyla eklenmişlerdir. Yapılan analizler neticesinde Model D.2.1.1, Model D.2.1.2 modellerinin sonuçları aynı gelmiş olup tedavi gören RRMS hastalarında T1 lezyon sayısındaki artış ile bilişsel bozukluk istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur (OR=1.10, %95 CI=1.01-1.20, P=.03) (Çizelge 3.48).

Model D.2.1.9-D.2.1.16 analiz modelleri ise T2 lezyon sayısını bağımsız değişken olarak içermektedir. Bu analiz modellerinden Model D.2.1.9 ve Model D.2.1.10 total kolesterolün bulunduğu; Model D.2.1.11 ve Model D.2.1.12 LDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.1.13 ve Model D.2.1.14 HDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.1.15 ve Model D.2.1.16 ise Vitamin B₁₂'nin bulunduğu analiz modelleridir. Trigliserit ve VLDL-kolesterol ise bu analiz modelleri çiftlerine sırasıyla eklenmiş olup tek sayıyla biten analiz modellerinde trigliserit, çift sayıyla biten analiz modellerinde VLDL-kolesterol bulunmaktadır.

Çizelge 3.47: Grup-2’de bulunan tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk riski ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analizleri modellerinin oluşturulması.

<p>Model D.2.1 Serisi:</p> <p>Bu analiz serisinde miR-21-5p vardır, miR-195-5p yoktur.</p> <p>Bağımlı Değişken: Bilişsel bozukluk riski</p>	<p>Bağımsız değişkenlere T1 Lezyon dahildir</p> <p>Model D.2.1.1-D.2.1.8 aralığındaki modeller</p>	Model D.2.1.1 & D.2.1.2: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.1: Trigliserit eklenmiştir	Sonuçları aynı olup Çizelge 3.48’de sunulmuştur.	
		Model D.2.1.3 & D.2.1.4: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.2: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.1.5 & D.2.1.6: HDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.3: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.1.7 & D.2.1.8: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir	Model D.2.1.4: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.1.9 & D.2.1.10: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.5: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.1.11 & D.2.1.12: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.6: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.1.13 & D.2.1.14: HDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.7: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.1.15 & D.2.1.16: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir	Model D.2.1.8: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
	<p>Bağımsız Değişkenler: Clusterin, miR-21-5p, Sigara, Cinsiyet, Kontrast Tutan Lezyon, 25-(OH) D₃</p>	<p>Bağımsız değişkenlere T2 Lezyon dahildir</p> <p>Model D.2.1.9-D.2.1.16 aralığındaki modeller</p>	Model D.2.1.9 & D.2.1.10: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.9: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.2.1.11 & D.2.1.12: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.1.10: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
Model D.2.1.13 & D.2.1.14: HDL-kolesterol eklenmiştir			Model D.2.1.11: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.1.15 & D.2.1.16: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.1.12: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.1 & D.2.2.2: Total Kolesterol eklenmiştir			Model D.2.1.13: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.3 & D.2.2.4: LDL-kolesterol eklenmiştir			Model D.2.1.14: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.5 & D.2.2.6: HDL-kolesterol eklenmiştir			Model D.2.1.15: Trigliserit eklenmiştir	İlişkili parametreler Çizelge 3.48’de sunulmuştur	
Model D.2.2.7 & D.2.2.8: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.1.16: VLDL-kolesterol eklenmiştir	İlişkili parametreler Çizelge 3.48’de sunulmuştur	
<p>Model D.2.2 Serisi:</p> <p>Bu analiz serisinde miR-195-5p vardır, miR-21-5p yoktur.</p> <p>Bağımlı Değişken: Bilişsel bozukluk riski</p>	<p>Bağımsız değişkenlere T1 Lezyon dahildir</p> <p>Model D.2.2.1-D.2.2.8 aralığındaki modeller</p>	Model D.2.2.1 & D.2.2.2: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.1: Trigliserit eklenmiştir	Sonuçları Model D.2.1.1 & Model D.2.1.2 ile aynıdır.	
		Model D.2.2.3 & D.2.2.4: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.2: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.2.5 & D.2.2.6: HDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.3: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.2.7 & D.2.2.8: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir	Model D.2.2.4: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.2.9 & D.2.2.10: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.5: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.2.11 & D.2.2.12: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.6: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.2.13 & D.2.2.14: HDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.7: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
		Model D.2.2.15 & D.2.2.16: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir	Model D.2.2.8: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
	<p>Bağımsız Değişkenler: Clusterin, miR-195-5p, Sigara, Cinsiyet, Kontrast Tutan Lezyon, 25-(OH) D₃</p>	<p>Bağımsız değişkenlere T2 Lezyon dahildir</p> <p>Model D.2.2.9-D.2.2.16 aralığındaki modeller</p>	Model D.2.2.9 & D.2.2.10: Total Kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.9: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
			Model D.2.2.11 & D.2.2.12: LDL-kolesterol eklenmiştir	Model D.2.2.10: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.
Model D.2.2.13 & D.2.2.14: HDL-kolesterol eklenmiştir			Model D.2.2.11: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.15 & D.2.2.16: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.2.12: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.17 & D.2.2.18: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.2.13: Trigliserit eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.19 & D.2.2.20: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.2.14: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Anlamli bir sonuç bulunmamıştır.	
Model D.2.2.21 & D.2.2.22: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.2.15: Trigliserit eklenmiştir	Sonuçlar Model D.2.1.15 ile aynıdır	
Model D.2.2.23 & D.2.2.24: Vitamin B ₁₂ eklenmiştir			Model D.2.2.16: VLDL-kolesterol eklenmiştir	Sonuçlar Model D.2.1.16 ile aynıdır	

Yapılan analizler neticesinde Model D.2.1.15 modelinde anlamlı gelen sonuçlar Çizelge 3.48’de sunulmuştur. Buna göre tedavi gören RRMS hastalarında T2 lezyon sayısındaki artış ile bilişsel bozukluk istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkilidir (OR=1.09, %95 CI=1.00-1.19, P=.04). Model D.2.1.16 modelinde de yine T2 lezyon sayısındaki artış ile bilişsel bozukluk istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur (OR=1.09, %95 CI= 1.00-1.18, P=.046) (Çizelge 3.48).

Çizelge 3.48: Grup-2’de bulunan tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk riski için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizinde anlamlı çıkan modeller ve bilişsel bozukluk riski ile ilişkili bulunan parametreler.

MODEL	İlişkili Bulunanlar	OR	%95 CI	P	B	Hosmer & Lemeshow		
						χ^2	df	P
D.2.1.1, D.2.1.2, D.2.2.1, D.2.2.2	T1 Lezyon Sayısı	1.10	1.01-1.20	.03	0.10	8.30	7	.31
D.2.1.15, D.2.2.15	T2 Lezyon Sayısı	1.09	1.00-1.19	.04	0.09	5.11	7	.65
D.2.1.16, D.2.2.16	T2 Lezyon Sayısı	1.09	1.00-1.18	.046	0.09	5.16	7	.64

Model D.2.2 serisi

Model D.2.2 serisinde tüm modellerde bulunan bağımsız değişkenlere ilave olarak plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi bulunmakta olup miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bulunmamaktadır. Model D.2.2 serisinde Model D.2.2.1-D.2.2.8 aralığındaki analiz modellerinde T1 lezyon sayısı bağımsız değişken olarak bulunmaktadır. Bu analiz modellerinden Model D.2.2.1 ve Model D.2.2.2 total kolesterolün bulunduğu; Model D.2.2.3 ve Model D.2.2.4 LDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.2.5 ve Model D.2.2.6 HDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.2.7 ve Model D.2.2.8 ise Vitamin B₁₂’nin bulunduğu analiz modelleridir. Trigliserit ve VLDL-kolesterol ise bu analiz modelleri çiftlerine sırasıyla eklenmiş olup tek sayıyla biten analiz modellerinde trigliserit, çift sayıyla biten analiz modellerinde VLDL-kolesterol bulunmaktadır. Yapılan analizler neticesinde Model D.2.2.1, Model D.2.2.2 modellerinin sonuçları Model D.2.1.1 ve Model D.2.1.2 ile aynı gelmiş olup Çizelge 3.48’de sunulmuştur.

Model D.2.2.9-D.2.2.16 analiz modelleri ise T2 lezyon sayısını bağımsız değişken olarak içermektedir. Bu analiz modellerinden Model D.2.2.9 ve Model D.2.2.10 total kolesterolün bulunduğu; Model D.2.2.11 ve Model D.2.2.12 LDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.2.13 ve Model D.2.2.14 HDL-kolesterolün bulunduğu; Model D.2.2.15 ve Model D.2.2.16 ise Vitamin B₁₂'nin bulunduğu analiz modelleridir. Trigliserit ve VLDL-kolesterol ise bu analiz modelleri çiftlerine sırasıyla eklenmiştir. Yapılan analizler neticesinde Model D.2.2.15 ve Model D.2.1.15 sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.48'de sunulmuştur. Benzer şekilde Model D.2.2.16 ile Model D.2.1.16'nın sonuçları aynı gelmiş olup Çizelge 3.48'de sunulmuşlardır.

3.4.9 Receiver operating characteristics (ROC) analizleri

Bu tez çalışması kapsamında, istatistiksel olarak anlamlı sonuç verdiği belirlenen parametrelerin bir tanı belirteci olarak kullanıma uygunluğunu değerlendirmek adına ROC analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler, tıpkı ikili lojistik regresyon analizlerinde olduğu gibi iki farklı başlık altında yapılmıştır. Bu başlıklardan ilki, naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol gruplarında gerçekleştirilen ROC analizleridir. Bu analizler, grupların ikili olarak seçilip ilişkili parametrelerin iki grubun sınıflandırılması becerisini ROC ile tayin etmek için gerçekleştirilmiştir. Analizler sırasıyla naif RRMS hastaları ve kontrol gruplarının sınıflandırılması; tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol gruplarının sınıflandırılması; tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastalarının sınıflandırılması için gerçekleştirilmiştir (Bölüm 3.4.9.1). Diğer başlık ise, bilişsel bozukluk ile ilişkili bulunan parametreler için gerçekleştirilmiş olan ROC analizleridir. Bilişsel bozukluk için gerçekleştirilen analizlerde, naif ve tedavi alan RRMS hastalarında ayrı ayrı olmak üzere ROC analizleri gerçekleştirilmiştir (Bölüm 3.4.9.2). Bu analizlerden elde edilen anlamlı sonuçlar Çizelge 3.49 ve Çizelge 3.50'de sunulmuşlardır.

3.4.9.1 Gruplar arası gerçekleştirilen ROC analizleri

Bu başlık altındaki ROC analizleri, daha önceki bölümlerde gerçekleştirilen analizlerde naif RRMS, tedavi alan RRMS ve kontrol gruplarıyla ilişkili bulunan parametrelerle gerçekleştirilmiştir. Bu parametreler ise, tez çalışması kapsamında çalışılan ve özgün değeri olan plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri ile sınırlandırılmıştır. Bu parametrelerden

lojistik regresyon analizlerinde gruplardan biriyle anlamlı derecede ilişkili bulunanlar (Bölüm 3.4.8.1: Çizelge 3.44 & Çizelge 3.45) ve bunlara ilave olarak karşılaştırma analizlerinde (Bölüm 3.4.2: Çizelge 3.26) gruplar arasında anlamlı derecede farklı olanlar için ROC analizleri gerçekleştirilmiştir. Karşılaştırma analizlerinde anlamlı çıkan sonuçlar için de ROC analizlerinin yapılmasının nedeni, ikili lojistik regresyon analizlerinde üç grubun aynı anda karşılaştırılmamasıdır. Plazma clusterin konsantrasyonu için ROC analizi, herhangi bir analizde gruplardan biri ile ilişkili olmadığı veya gruplar arasında anlamlı derecede farklı olmadığından dolayı gerçekleştirilememiştir. Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi de tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler ile yapılan analizlerde anlamlı sonuç vermediği için tedavi alan RRMS vs. kontrol karşılaştırması için ROC analizi gerçekleştirilememiştir. Aşağıdaki başlıklar altında gerçekleştirilen ROC analizlerinin sonuçları sunulmuştur.

miR-21-5p'nin naif RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki ROC analizi

Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu (Çizelge 3.26) ve naif RRMS ile anlamlı derecede ilişkili olduğu (Çizelge 3.44) önceki bölümlerde belirlenmiştir. Bu sonuçlar üzerine, yapılan ROC analizi neticesinde miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif ve kontrol gruplarının sınıflandırılması için orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür (AUC=0.789, $P<.001$, %95 CI= 0.68-0.89). Youden's index kullanılarak birden fazla kesme değeri bulunması üzerine karekök yöntemi kullanılarak kesme değeri 1.95 olarak belirlenmiş olup 1.95'e eşit veya 1.95'ten büyük fold change değerine sahip olanlar naif RRMS hastası olarak sınıflandırılmıştır. Bu analizin hassasiyeti (sensitivity) %66.7, özgüllüğü (specificity) %76.7 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.49) (Şekil 3.20).

Çizelge 3.49: Grup-2'deki naif RRMS (n=30), tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol gruplarının (n=30) ikili olarak karşılaştırıldıklarında grupların sınıflandırılmaları ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için yapılan ROC analizlerinden istatistiksel olarak anlamlı bulunanlar.

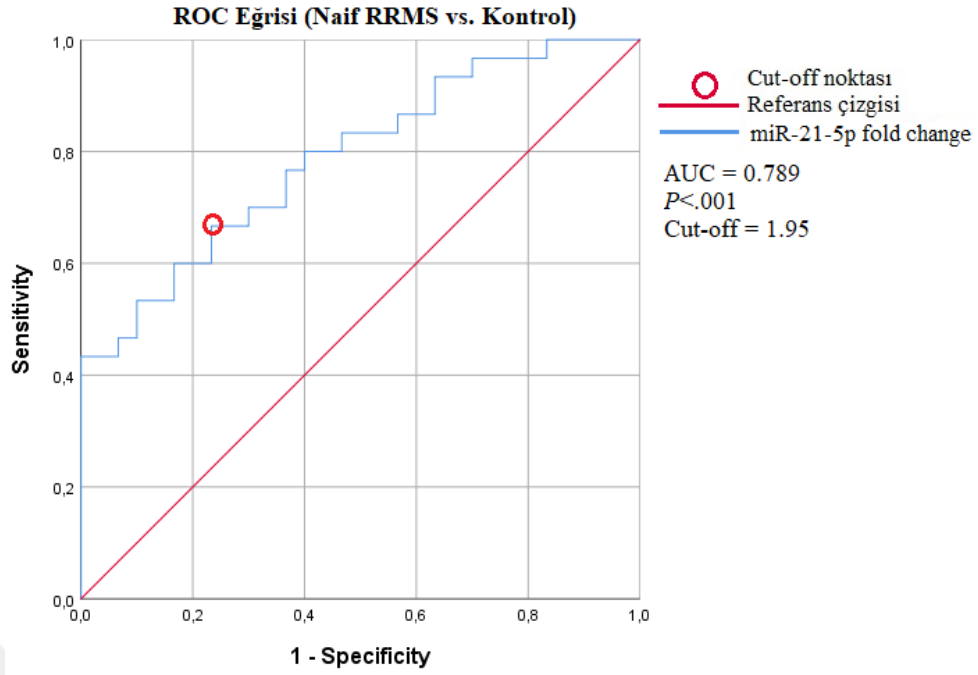
Parametreler	ROC analizi sonucu				Duyarlılık (Sensitivity)		Özgüllük (Specificity)		Doğruluk (Accuracy)
	AUC	%95 CI	P	Kesme değeri	ROC	Hata matrisi	ROC	Hata matrisi	Hata matrisi
miR-21-5p fold change (Naif RRMS vs. Kontrol)	0.789 (Orta)	0.68-0.90	<.001	1.95	%66.7	%66.7	%76.7	%76.7	%71.7
miR-21-5p fold change (Tedavi Alan RRMS vs. Naif RRMS)	0.734 (Orta)	0.61-0.86	.002	5.59	%96.7	%96.7	%43.3	%43.3	%70
miR-195-5p fold change (Naif RRMS vs. Kontrol)	0.791 (Orta)	0.67-0.91	<.001	0.75	%90.0	%90.0	%60.0	%60.0	%75.0
miR-195-5p fold change (Tedavi Alan RRMS vs. Kontrol)	0.943 (Çok İyi)	0.88-1.00	<.001	0.19	%80.0	%80.0	%96.7	%96.7	%88.3
miR-195-5p fold change (Tedavi Alan RRMS vs. Naif RRMS)	0.708 (Orta)	0.58-0.84	.006	0.20	%80.0	%80.0	%53.3	%53.3	%66.7

ROC: Receiver Operation Characteristics. AUC: Area Under the Curve

Çizelge 3.50: Tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar arasında yapılan ROC analizlerinden istatistiksel olarak anlamlı bulunanların sonuçları.

Parametreler	ROC analizi sonucu				Duyarlılık (Sensitivity)		Özgüllük (Specificity)		Doğruluk (Accuracy)
	AUC	%95CI	P	Kesme değeri	ROC	Hata matrisi	ROC	Hata matrisi	Hata matrisi
T1 Lezyon Sayısı (Bilişsel Bozukluk Var vs. Yok)	0.770 (Orta)	0.60-0.94	.02	27.0	%70.6	%70.6	%83.3	%83.3	%75.9
T2 Lezyon Sayısı (Bilişsel Bozukluk Var vs. Yok)	0.775 (Orta)	0.61-0.94	.01	26.5	%58.8	%58.8	%91.7	%91.7	%72.4

ROC: Receiver Operating Characteristic. AUC: Area Under the Curve



Şekil 3.20: Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan naif RRMS hastları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi

Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bu kesme değerine göre gerçekte ve bu teste göre naif RRMS olan 20 (DP), gerçekte ve bu teste göre de kontrol olan 23 (DN), gerçekte naif RRMS olup bu teste göre kontrol olan 10 (YN), gerçekte kontrol olup bu teste göre naif RRMS olan 7 (YP) birey olduğu görülmüştür (Çizelge 3.51). Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için hassasiyet, hassasiyet %66.7, özgüllük %76.7 ve doğruluk %71.7 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.51: Plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin		Gerçek Durum		Toplam
		Naif RRMS	Kontrol	
miR-21-5p fold change \geq 1.95 olduğunda kişi naif RRMS’tir (Naif RRMS vs. Kontrol)	Naif-Tahmin	20 (DP) (a)	7 (YP) (b)	27
	Kontrol-Tahmin	10 (YN) (c)	23 (DN) (d)	33
	Toplam	30	30	60

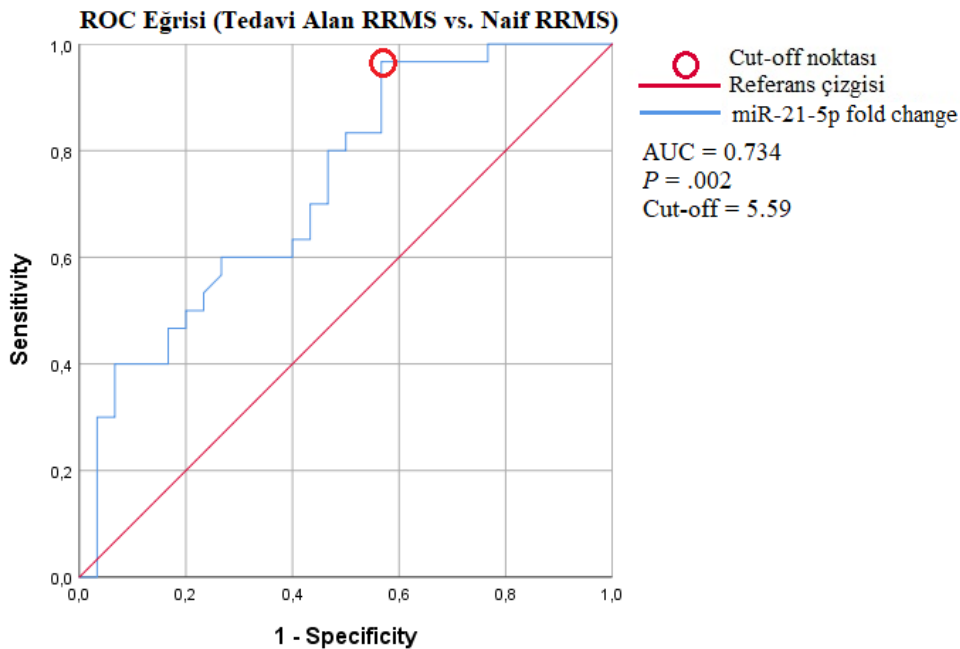
$$\text{Hassasiyet} = [\text{DP}/(\text{DP}+\text{YN})]*100 = [20/(20+10)]*100 = \%66.7$$

$$\text{Özgüllük} = [\text{DN}/(\text{DN}+\text{YP})]*100 = [23/(23+7)]*100 = \%76.7$$

$$\text{Doğruluk} = [(\text{DP}+\text{DN})/(\text{DP}+\text{DN}+\text{YP}+\text{YN})]*100 = [(20+23)/(20+23+7+10)]*100 = \%71.7$$

miR-21-5p'nin tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastaları arasındaki ROC analizi

Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastalarında, tedavi alan RRMS hastalarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu (Çizelge 3.26) ve yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS olma durumuyla ilişkili olduğu (Çizelge 3.47) önceki analizlerde tespit edilmiştir. Bu sonuçlar üzerine, yapılan ROC analizi neticesinde miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastaları gruplarının sınıflandırılması için orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür (AUC=0.734, $P=.002$, %95 CI= 0.61-0.86). Bu analizde Youden's index kullanılarak kesme değeri 5.59 olarak belirlenmiş olup 5.59'a eşit veya daha küçük fold change değerine sahip olanlar tedavi alan RRMS hastası olarak sınıflandırılmıştır. Bu analiz için hassasiyet %96.7, özgüllük %43.3 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.49) (Şekil 3.21).



Şekil 3.21: Plazma mir-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2'de bulunan tedavi alan (n=30) ve naif RRMS hastalarının (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.

Plazma miR-21-5p rölafif ekspresyon seviyesinin ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir. Belirlenmiş olan kesme değerine göre gerçekte tedavi alan RRMS olup bu teste göre de tedavi alan RRMS olan 29 (DP), gerçekte ve bu teste göre de naif RRMS olan 13 (DN), gerçekte naif RRMS olup bu teste göre tedavi alan RRMS olan 17 (YP), gerçekte tedavi alan RRMS olup bu teste göre naif RRMS olan 1 (YN) birey olduğu görülmüştür (Çizelge 3.52). Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için hassasiyet, özgüllük ve doğruluk değerleri hesaplanmıştır. Bu analize göre hassasiyet %96.7, özgüllük %43.3 ve doğruluk %70.0 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.52: Plazma mir-21-5p rölafif ekspresyon seviyesinin naif ve tedavi alan RRMS hastaları arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin	Gerçek Durum			Toplam
	Tedavi Alan RRMS	Naif RRMS		
miR-21-5p fold change \leq 5.59 olduğunda kişi tedavi alan RRMS'tir (Tedavi Alan RRMS vs. Naif RRMS)	Tedavi-Tahmin	29 (DP) (a)	17 (YP) (b)	46
	Naif-Tahmin	1 (YN) (c)	13 (DN) (d)	14
	Toplam	30	30	60

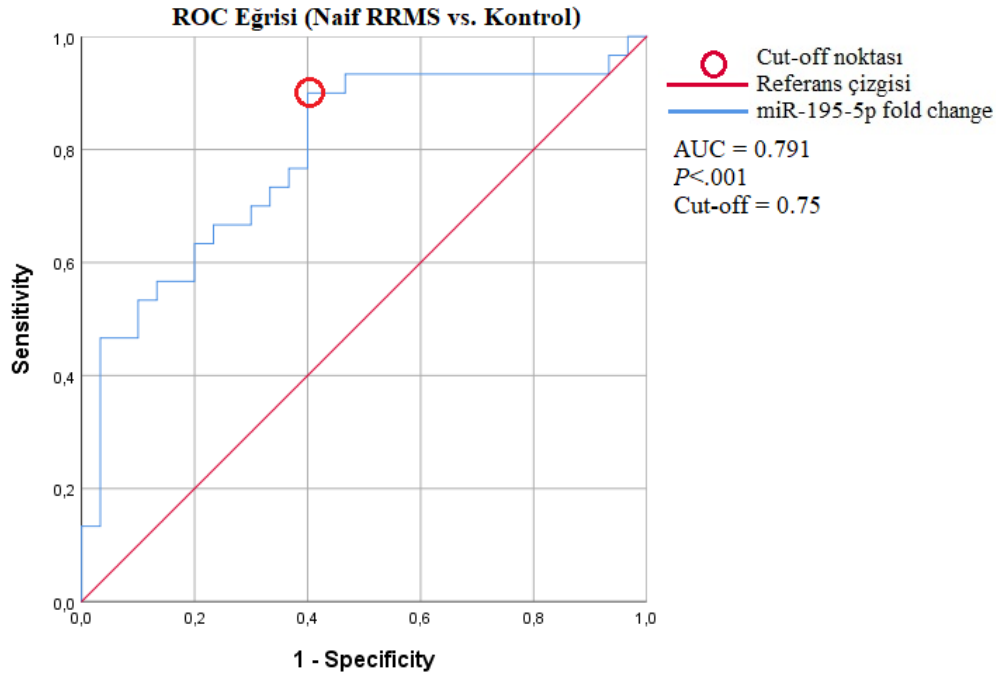
$$\text{Hassasiyet} = [DP/(DP+YN)] * 100 = [29/(29+1)] * 100 = \%96.7$$

$$\text{Özgüllük} = [DN/(DN+YP)] * 100 = [13/(13+17)] * 100 = \%43.3$$

$$\text{Doğruluk} = [(DP+DN)/(DP+DN+YP+YN)] = [(29+13)/(29+13+17+1)] = \%70.0$$

miR-195-5p'nin naif RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki ROC analizi

Plazma miR-195-5p rölafif ekspresyon seviyesinin kontrollerde anlamlı derecede daha yüksek olduğu önceki bölümlerde gerçekleştirilen analizlerde tespit edilmiştir (Çizelge 3.26). Bunun üzerine yapılan ROC analizi neticesinde miR-195-5p rölafif ekspresyon seviyesinin naif ve kontrol gruplarının sınıflandırması için orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür (AUC=0.791, $P<.001$, %95 CI= 0.67-0.91). Bu analizde Youden's index kullanılarak kesme değeri 0.75 olarak belirlenmiş olup 0.75'e eşit veya 0.75'ten küçük fold change değerine sahip olanlar naif RRMS hastası olarak sınıflandırılmıştır. Bu analiz için hassasiyet %90.0, özgüllük %60.0 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.49) (Şekil 3.22).



Şekil 3.22: Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan naif RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.

Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bu kesme değerine göre gerçekte naif RRMS olup bu teste göre de naif RRMS olan 27 (DP), gerçekte ve bu teste göre de kontrol olan 18 (DN), gerçekte naif RRMS olup bu teste göre naif olan 12 (YP), gerçekte kontrol olup bu teste göre naif RRMS olan 3 (YN) birey olduğu görülmüştür (Çizelge 3.53).

Çizelge 3.53: Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin	Gerçek Durum			Toplam
	Naif RRMS	Kontrol		
miR-195-5p fold change \leq 0.75 olduğunda kişi naif RRMS’tir (Naif RRMS vs. Kontrol)	Naif-Tahmin	27 (DP) (a)	12 (YP) (b)	39
	Kontrol-Tahmin	3 (YN) (c)	18 (DN) (d)	21
	Toplam	30	30	60

Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için hassasiyet, özgüllük ve doğruluk değerleri hesaplanmıştır. Bu analize göre hassasiyet %90.0, özgüllük %60.0 ve doğruluk %75.0 olarak belirlenmiştir.

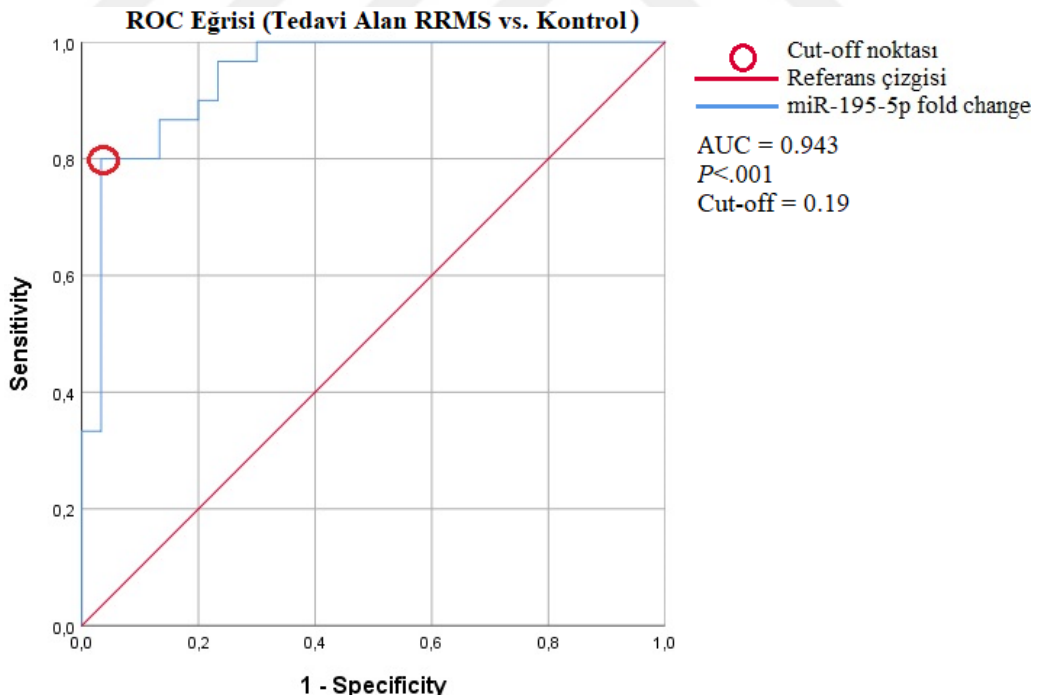
$$\text{Hassasiyet} = [\text{DP}/(\text{DP} + \text{YN})] * 100 = [27/(27+3)] * 100 = \%90.0$$

$$\text{Özgüllük} = [\text{DN}/(\text{DN} + \text{YP})] * 100 = [18/(18+12)] * 100 = \%60.0$$

$$\text{Doğruluk} = [(\text{DP} + \text{DN})/(\text{DP} + \text{DN} + \text{YP} + \text{YN})] = [(27+18)/(27+18+12+3)] * 100 = \%75.0$$

miR-195-5p'nin tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki ROC analizi

Önceki bölümlerde gerçekleştirilen analizlerde, plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin kontrollerde tedavi alan RRMS hastalarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.26). Bu sonuç üzerine yapılan ROC analizi neticesinde miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS ve kontrol gruplarını ayırımı için çok iyi düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür (AUC=0.943, $P < .001$, %95 CI= 0.88-1.00). Bu analizde Youden's index kullanılarak kesme değeri 0.19 olarak belirlenmiş olup 0.19'a eşit veya 0.19'dan daha küçük fold change değerine sahip olanlar tedavi alan RRMS hastası olarak sınıflandırılmıştır. Bu analiz için hassasiyet %80.0, özgüllük %96.7 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.49) (Şekil 3.23).



Şekil 3.23: Plazma mir-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireylerin (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.

Plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bu kesme değerine göre gerçekte tedavi alan RRMS olup bu teste göre de tedavi alan RRMS olan 24 (DP), gerçekte ve bu teste göre de kontrol olan 29 (DN), gerçekte tedavi alan RRMS olup bu teste göre kontrol olan 6 (YP), gerçekte kontrol olup bu teste göre tedavi alan RRMS olan 1 birey olduğu görülmüştür. Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için hassasiyet, özgüllük ve doğruluk değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.54). Bu analize göre hassasiyet %80.0, özgüllük %96.7 ve doğruluk %88.3 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.54: Plazma mir-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol grupları arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin	Gerçek Durum			TOTAL
	Tedavi RRMS	Kontrol		
miR-195-5p fold change ≤ 0.19 olduğunda kişi tedavi alan RRMS'tir (Tedavi Alan RRMS vs. Kontrol)	Tedavi-Tahmin	24 (DP) (a)	1 (YP) (b)	25
	Kontrol-Tahmin	6 (YN) (c)	29 (DN) (d)	35
	TOTAL	30	30	60

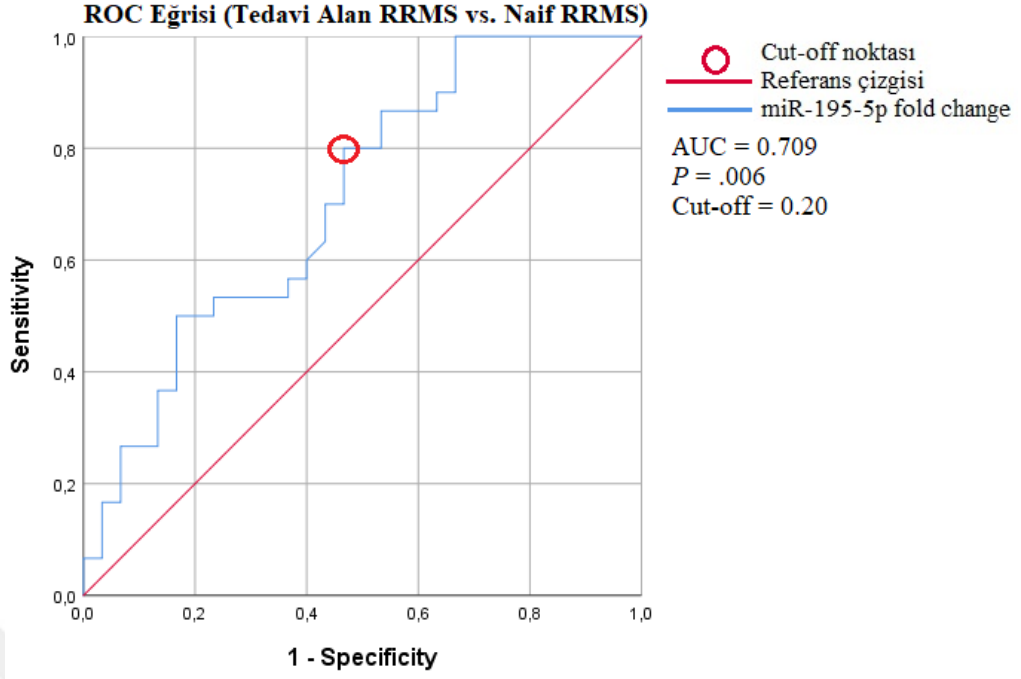
$$\text{Hassasiyet} = [DP / (DP + YN)] * 100 = [24 / (24 + 6)] * 100 = \%80.0$$

$$\text{Özgüllük} = [DN / (DN + YP)] * 100 = [29 / (29 + 1)] * 100 = \%96.7$$

$$\text{Doğruluk} = [(DP + DN) / (DP + DN + YP + YN)] = [(24 + 29) / (24 + 29 + 1 + 6)] * 100 = \%88.3$$

miR-195-5p'nin naif RRMS ve tedavi alan RRMS hastaları arasındaki ROC analizi

Önceki bölümlerde gerçekleştirilen analizlerde, plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastalarında tedavi alan RRMS hastalarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.26). Bu sonuç üzerine, gerçekleştirilen ROC analizi neticesinde miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin naif ve tedavi alan RRMS hastaları gruplarının sınıflandırılması için orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür (AUC=0.708, P=.006, %95 CI= 0.61-0.86). Bu analizde Youden's index kullanılarak kesme değeri 0.20 olarak belirlenmiş olup 0.20'ye eşit veya 0.20'den küçük fold change değerine sahip olanlar tedavi alan RRMS hastası olarak sınıflandırılmıştır. Bu analiz için hassasiyet %80.0, özgüllük %53.3 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.49) (Şekil 3.24).



Şekil 3.24: Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi kullanılarak Grup-2’de bulunan tedavi alan (n=30) ve naif RRMS hastalarının (n=30) sınıflandırılması için yapılan ROC analizinin eğrisi.

Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.55).

Çizelge 3.55: Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif ve tedavi alan RRMS hastaları arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin:		Gerçek Durum		
		Tedavi RRMS	Naif	TOTAL
miR-195-5p fold change değeri 0.20’ye eşit veya küçük olduğunda kişi tedavi alan RRMS’tir (Tedavi Alan RRMS vs. Naif RRMS)	Tedavi-Tahmin	24 (DP) (a)	14 (YP) (b)	38
	Naif-Tahmin	6 (YN) (c)	16 (DN) (d)	22
	TOTAL	30	30	60

Belirlenmiş olan kesme değerine göre gerçekte tedavi alan RRMS olup bu teste göre de tedavi alan RRMS olan 24 (DP), gerçekte ve bu teste göre de naif RRMS olan 16 (DN), gerçekte naif RRMS olup bu teste göre tedavi alan RRMS olan 14 (YP), gerçekte tedavi alan RRMS olup bu teste göre naif RRMS olan 6 (YN) birey olduğu görülmüştür. Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için

hassasiyet, özgüllük ve doğruluk değerleri hesaplanmıştır. Bu analize göre hassasiyet %80.0, özgüllük %53.3 ve doğruluk %66.7 olarak belirlenmiştir.

$$\text{Hassasiyet} = [\text{DP}/(\text{DP} + \text{YN})] * 100 = [24/(24+6)] * 100 = \% 80.0$$

$$\text{Özgüllük} = [\text{DN}/(\text{DN} + \text{YP})] * 100 = [16/(16+14)] * 100 = \% 53.3$$

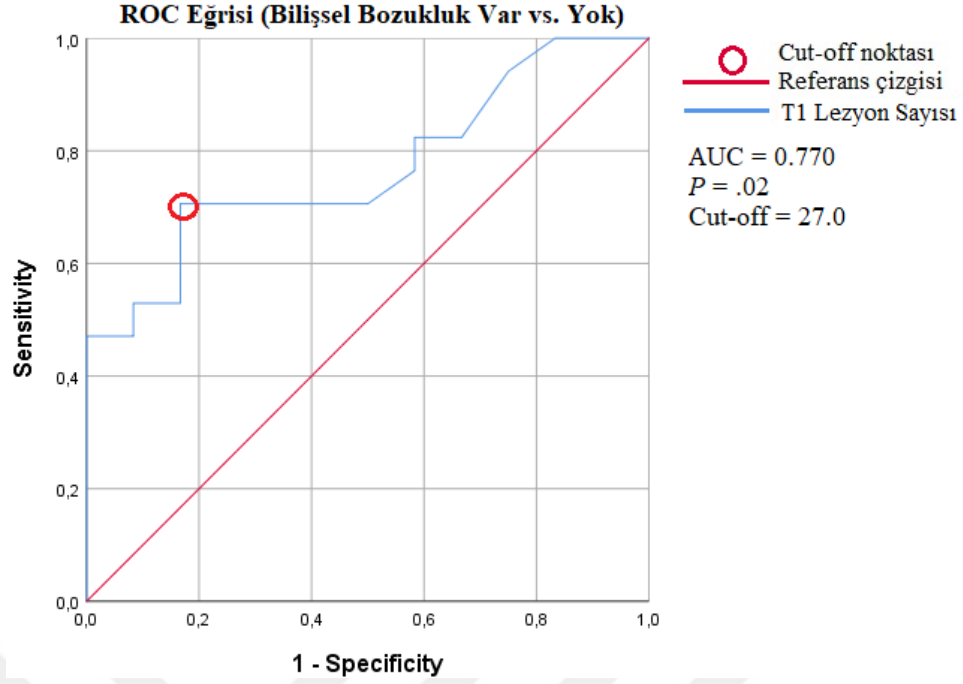
$$\text{Doğruluk} = [(\text{DP} + \text{DN})/(\text{DP} + \text{DN} + \text{YP} + \text{YN})] = (24+16)/ (24+16+14+6) = \% 66.7$$

3.4.9.2 Bilişsel bozukluk için gerçekleştirilen ROC analizleri

Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında gerçekleştirilen lojistik regresyon analizlerinde bilişsel bozuklukla istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunan parametreler için ROC analizleri gerçekleştirilmiş olup anlamlı çıkan sonuçlar aşağıda anlatılmış ve Çizelge 3.50'de özetlenmiştir. Bu tez kapsamında çalışılan ve özgün değeri bulunan plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermediği için ROC analizleri gerçekleştirilememiştir. Naif RRMS hastalarında gerçekleştirilen lojistik regresyon analizlerinde bilişsel bozuklukla ilişkili anlamlı bir parametre bulunamadığı için bu grupta herhangi bir parametre için ROC analizi gerçekleştirilememiştir. Tedavi alan RRMS hastalarında gerçekleştirilen lojistik regresyon analizlerinde bilişsel bozukluk ile ilişkili olduğu bulunan T1 ve T2 lezyon sayıları için yapılmış olan ROC analizlerinin sonuçları ise Çizelge 3.50'de sunulmuştur.

Tedavi alan RRMS hastalarında T1 lezyon sayısı için gerçekleştirilen ROC analizleri

Tedavi alan RRMS hastalarında yapılan ikili lojistik regresyon analizleri neticesinde bilişsel bozukluk ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunması sebebiyle T1 lezyon sayısı için ROC analizi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.46). Yapılan ROC analizine göre T1 lezyon sayısının bilişsel bozukluk için orta düzeyde bir prediktör olduğu tespit edilmiştir (AUC=0.770, $P=.02$; %95 CI=0.60-0.94). Youden's index hesabına göre kesme değeri 27.0 olarak bulunmuş olup 27'ye eşit veya 27'den fazla olan değerler için bilişsel bozukluk teşhisi konulmuştur. Bu kesme değerine göre hassasiyet %70.6, özgüllük %83.3 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.50) (Şekil 3.25).



Şekil 3.25: Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) T1 lezyon sayısı kullanılarak bilişsel bozukluk durumunu sınıflandırmak için yapılan ROC analizinin eğrisi.

T1 lezyon sayısının ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.56).

Çizelge 3.56: T1 lezyon sayısının tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk olan ve olmayanlar arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin	Gerçek Durum			Toplam
	Bilişsel Bozukluk Var	Bilişsel Bozukluk Yok		
T1 lezyon sayısı ≥ 27 olduğunda tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk görülür.	Bilişsel Bozukluk Var-Tahmin	12 (DP) (a)	2 (YP) (b)	14
	Bilişsel Bozukluk Yok-Tahmin	5 (YN) (c)	10 (DN) (d)	15
	Toplam	17	12	29

Belirlenmiş olan kesme değerine göre gerçekte ve bu teste göre bilişsel bozukluğu olan 12 (DP), gerçekte ve bu teste göre de bilişsel bozukluğu olmayan 10 (DN), gerçekte bilişsel bozukluğu olmayıp bu teste göre bilişsel bozukluğu olan 2 (YP), gerçekte bilişsel bozukluğu olup bu teste göre bilişsel bozukluğu olmayan 5 (YN) birey olduğu

görülmüştür. Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için hassasiyet, özgüllük ve doğruluk değerleri hesaplanmıştır. Bu analize göre hassasiyet %70.6, özgüllük %83.3 ve doğruluk %75.9 olarak belirlenmiştir.

$$\text{Hassasiyet} = [\text{DP}/(\text{DP} + \text{YN})] * 100 = [12/(12+5)] * 100 = \%70.6$$

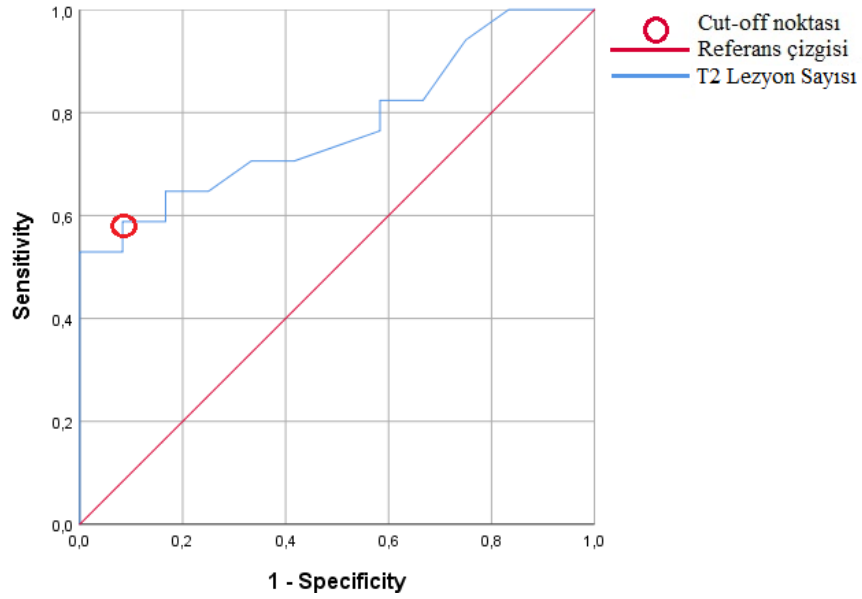
$$\text{Özgüllük} = [\text{DN}/(\text{DN} + \text{YP})] * 100 = [10/(10+2)] * 100 = \%83.3$$

$$\text{Doğruluk} = [(\text{DP} + \text{DN})/(\text{DP} + \text{DN} + \text{YP} + \text{YN})] = [(12+10)/(12+10+2+5)] = \%75.9$$

Tedavi alan RRMS hastalarında T2 lezyon sayısı için gerçekleştirilen ROC analizleri

Tedavi alan RRMS hastalarında yapılan ikili lojistik regresyon analizleri neticesinde bilişsel bozukluk ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunması sebebiyle T2 lezyon sayısı için ROC analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan ROC analizi sonucunda T2 lezyon sayısının, bilişsel bozukluk için orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür (AUC=0.775, $P=.01$; %95 CI=0.61-0.94). Youden's index hesabına göre kesme değeri 26.5 olarak belirlenmiş olup 26.5'e eşit veya 26.5'ten fazla olan değerler için bilişsel bozukluk teşhisi konulmuştur. Bu kesme değerine göre hassasiyet %58.8, özgüllük %91.7 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.50) (Şekil 3.26).

T2 lezyon sayısının ROC analizinin istatistiksel olarak anlamlı olması üzerine hata matrisi analizleri de gerçekleştirilmiştir. Belirlenmiş olan kesme değerine göre gerçekte ve bu teste göre bilişsel bozukluğu olan 10 (DP), gerçekte ve bu teste göre de bilişsel bozukluğu olmayan 11 (DN), gerçekte bilişsel bozukluğu olmayıp bu teste göre bilişsel bozukluğu olan 1 (YP), gerçekte bilişsel bozukluğu olup bu teste göre bilişsel bozukluğu olmayan 7 (YN) birey olduğu görülmüştür (Çizelge 3.57). Bu sınıflandırma değerlerine göre oluşturulan hata matrisi için hassasiyet, özgüllük ve doğruluk değerleri hesaplanmıştır. Bu analize göre hassasiyet %58.8, özgüllük %91.7 ve doğruluk %72.4 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.26: Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) T2 lezyon sayısı kullanılarak bilişsel bozukluk durumunu sınıflandırmak için yapılan ROC analizinin eğrisi.

Çizelge 3.57: T2 lezyon sayısının tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk olan ve olmayanlar arasındaki hata matrisi analizi.

Tahmin	Gerçek Durum			Toplam
		Bilişsel Bozukluk Var	Bilişsel Bozukluk Yok	
T2 lezyon sayısı ≥ 26.5 olduğunda tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk görülür.	Bilişsel Bozukluk Var-Tahmin	10 (DP) (a)	1 (YP) (b)	11
	Bilişsel Bozukluk Yok-Tahmin	7 (YN) (c)	11 (DN) (d)	18
	Toplam	17	12	29

$$\text{Hassasiyet} = [DP/(DP + YN)] * 100 = [10/(10+7)] * 100 = \%58.8$$

$$\text{Özgüllük} = [DN/(DN + YP)] * 100 = [11/(11+1)] * 100 = \%91.7$$

$$\text{Doğruluk} = [(DP + DN)/(DP + DN + YP + YN)] = [(10+11)/(10+11+1+7)] = \%72.4$$



4. TARTIŞMA

MS, genç yetişkinlerde travma harici engelliliğin en yaygın sebebi olan otoimmün, nöroenflamatuvar ve nörodejeneratif bir MSS hastalığıdır (Filippi vd., 2018). Hastanın yaşam süresini ve kalitesini olumsuz olarak etkileyen MS'in ortaya çıkmasına genetik ve çevresel birçok faktör neden olmaktadır. İkiz kardeşlerde ve ailelerde yapılan çalışmalarla genetik faktörlerin de önemli seviyede etkili olduğu belirlenen MS'in risk faktörlerinin keşfine olan ihtiyaç günümüzde de devam etmektedir (Dobson & Giovannoni, 2019). Fiziksel engelliliğin yanı sıra bilişsel olarak da kişileri etkilemekte ve bu bilişsel bozukluklar hastalığın ilerlemesiyle veya tedavinin yanıtınlığıyla da ilişkili olabilmektedir (Benedict vd., 2017; Comabella & Khoury, 2012; Reich vd., 2018). Erken tanı, düzenli takip ve semptomların yönetilmesi ile hastaların yaşam kalitesi arttırılmaya çalışılsa da bu ancak teşhis ve hastalığın seyri için uygun biyobelirteçlerle mümkün görünmektedir (Zailaie vd., 2022).

Hücrel yaşam ve ölüm yollarında rol oynayan clusterin, başta beyin olmak üzere tüm dokularda ifade edilen multifonksiyonel bir glikoproteindir (Charnay vd., 2012; Jones & Jomary, 2002). Oksidatif stres, ısı şoku gibi hücrel stres durumlarında ifade seviyesi artan *CLU* geninde birçok SNP mevcuttur (Jones & Jomary, 2002; Woody & Zhao, 2016). Bu SNP'ler başta Alzheimer olmak üzere T2D, HBB, XFS ve XFG hastalıklarıyla ilişkili bulunmuşlardır (Bettens vd., 2012; Daimon vd., 2011; Lambert vd., 2009; Tan vd., 2016). Tüm dokularda olduğu gibi dolaşımında da bulunan clusterinin plazma ve serumdaki seviyeleri, Alzheimer, T2D ve HBB ile ilişkilendirilmiştir (Aghajanpour-Mir vd., 2019; Daimon vd., 2011; Shi vd., 2019). Buna ilave olarak, plazma clusterin seviyesinin, Alzheimer ve KOAH hastalarının bilişsel performansları ile ilişkili olduğuna dair bulgular da literatürde mevcuttur (Li vd., 2013; Thambisetty vd., 2010, 2012).

Gen ifadesinin düzenlenmesinde rol alan yaklaşık 22-24 nükleotit uzunluğundaki kodlama yapmayan RNA'lar olan miRNA'lar, hedef mRNA'da bulunan spesifik tamamlayıcı diziyi (çekirdek dizi) tanıyıp bağlanmak suretiyle gen ekspresyonunu

post-transkripsiyonel olarak etkilemektedir. Bu etkileme mekanizması, hedef mRNA'nın yıkımı, translasyon başlangıcının veya translasyonun uzama aşamasının baskılanması gibi çeşitli mekanizmalarla meydana gelmektedir (Lee vd. 2016; Undi vd., 2013). Bu yüzden, miRNA'lar birçok hastalığın teşhisi ve seyri ile ilişkilendirilmiş olup biyobelirteç keşif çalışmalarında gözde bir konumda bulunmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında MS hastalığı riski ile *CLU* SNP'lerinin ilişkileri incelenmiş ve plazma clusterin konsantrasyonu ile plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin hem hastalık riski hem de bilişsel bozukluk ile ilişkileri belirlenmiştir. Yetişkin RRMS hastalarında ilk defa belirlenmiş olan plazma clusterin konsantrasyonu *CLU* SNP genotiplerine göre de analiz edilmiş olup, ayrıca enjektabl tedavi alan ve naif RRMS hastalarındaki seviyeleri de karşılaştırılmıştır. Plazma clusterin konsantrasyonunun kapsamlı bir şekilde MS hastalığıyla ilişkisini inceleyen bu çalışmada ayrıca *CLU* ekspresyon seviyesine etki ettiği bilinen hsa-miR-21-5p ve hsa-miR-195-5p miRNA'larının dolaşımdaki seviyesi ile clusterinin plazmadaki seviyesi arasındaki ilişki de belirlenmiştir. Ayrıca, bu miRNA'ların MS riski, tedavi durumu ve bilişsel performansla ilişkisi de ortaya konularak clusterinin, *CLU* genetik polimorfizmlerinin ve *CLU* ifade seviyesine etki eden miRNA'ların MS için bir biyobelirteç adayları olarak faydası değerlendirilmiştir.

4.1 Çalışma Gruplarının Demografik ve Klinik Profili

Bu tez çalışması kapsamında, önceki bölümlerde de bahsedildiği üzere Grup-1 ve Grup-2 olmak üzere iki farklı çalışma grubu bulunmaktadır (Şekil 3.1). Bu yüzden, çalışma gruplarının demografik bilgileri ayrı ayrı ele alınacaktır.

4.1.1 Grup-1'in demografik ve klinik profili

4.1.1.1 Grup-1'in demografik profili

Grup-1, 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyden oluşmaktadır ve bu katılımcıların tam kanlarından izole edilen DNA'ları ile *CLU* genetik polimorfizm çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bunun yanı sıra, 310 RRMS hastasının klinik bilgileri ile bu tez kapsamında çalışılan *CLU* SNP'leri arasındaki ilişkiler de ayrıca incelenmiştir.

Hastalığın en yaygın alt klinik tipi olan RRMS, genç yaşlarda (20-40) ortaya çıkmakta olup, hastaların çoğunda ilerleyen dönemlerde hastalığın progresif bir formu olan SPMS'e evrilmektedir. Ataklarla seyreden ve tam veya tama yakın düzelmelerin görüldüğü bu süreç SPMS'e evrilmeden önce ortalama 20 yıllık bir süre boyunca devam etmektedir (Vukusic, 2017). Grup-1'deki RRMS hastaları incelendiğinde ortalama yaşlarının 34.9 ± 9.6 olduğu görülmekte olup kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu sayede, yaşa bağlı olarak gruplar arasında oluşacak karıştırıcı diğer etmenlerin etkileri azaltılmıştır.

MS hastalığı, kadınlarda erkeklere nazaran daha sık görülmektedir. Farklı toplumlarda veya çalışmalarda değişiklik gösteren bu oran MS'in klinik tipleri arasında da değişiklik gösterebilmektedir. Progresif formlarda kadın/erkek oranının yaklaşık 1 olduğu görülse de RRMS formunda bu oran değişiklik göstermekte olup kadın hastaların oranları erkeklere nazaran yüksektir (Voskuhl vd., 2020). Son yayımlanan MS atlasında tüm dünyada kadın/erkek oranının 2.23 olduğu görülürken bu oran ülkemizde 2.03 olarak tespit edilmiştir (MSIF, 2020). Ülkemizde farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda MS hastalarının kadın/erkek oranları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1: Ülkemizde farklı bölgelerdeki ve ülke çapındaki MS hastalarının kadın/erkek oranları.

Kadın/Erkek Oranı	Bölge	Referans
1.30	Gazipaşa (Antalya)	Türk-Börü vd., 2018
1.66	Ordu	
2.33	Maltepe (İstanbul)	Türk-Börü vd., 2006
2.55	Edirne	Çelik vd., 2011
2.50	Sakarya-Kocaeli	Bölük vd., 2021
2.03	Ülke çapında	MSIF, 2020

Bu çalışmalarda kadın/erkek oranı en düşük Antalya yöresinde gözlenmiş olup en yüksek oran Sakarya-Kocaeli yöresinde gözlenmiştir. Bu çalışmada Grup-1'de RRMS hastalarının kadın/erkek oranı 1.72 olup kontrol grubu ile cinsiyet dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu sayede, cinsiyete bağlı olarak gruplar arasında oluşacak karıştırıcı diğer etmenlerin etkileri azaltılmıştır. Ayrıca, çalışma grubumuzdaki RRMS hastalarının kadın/erkek oranının Ordu ilindeki MS hastalarının kadın/erkek oranına görece yakın olduğu dikkat çekmektedir.

4.1.1.2 Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik profili

Grup-1'deki RRMS hastalarının klinik bilgileri Çizelge 3.3'te sunulmuş olup erkek ve kadın RRMS hastalarının klinik bilgileri *CLU SNP*'lerinin genotiplerine göre de ayrıca karşılaştırılmıştır.

Grup-1'deki RRMS hastalarının EDSS skorları ele alındığında kadınlarda, erkeklere nazaran istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük EDSS skorları olduğu görülmüştür. Erkeklerde, kadınlara göre daha ağır geçen RRMS fazında cinsiyetler arasındaki bu farklılığa diğer çalışmalarda da rastlanmaktadır (Magyari & Koch, 2022; Ribbons vd., 2015).

EDSS skorları, engelliliğin ciddiyetine göre derecelendirilmektedir. EDSS skorlarının üç veya üçten küçük olması durumunda engellilik hafif düzeyde kalırken 3-5 arasındaki EDSS skorları orta düzey engellilik sınıfına girmektedir. Beş ve beşten büyük EDSS skorları ise ağır düzey EDSS olarak sınıflandırılmaktadır (Piri-Çınar & Güven-Yorgun, 2018). Bu sınıflandırmalar da göz önünde bulundurulduğunda erkeklerde, kadınlara göre orta ila yüksek düzey EDSS ($EDSS > 3$) görülme sıklığının daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, erkek RRMS hastalarının EDSS skorlarının daha yüksek olması sonucu ile de tutarlılık göstermektedir (Çizelge 3.3).

MS hastalarında hastalık süresi ve yaşları ile EDSS skoru arasında doğal bir pozitif korelasyon bulunmaktadır. Hastalığın ilerlemesi ile kaçınılmaz olarak artan EDSS skorları, farklı çalışmalarda çalışma grubunun yaş ortalamasına göre farklılık gösterebilmektedir (Grigороva vd., 2021; Morsaljahan vd., 2017). Bulgar popülasyonunda yapılan bir çalışmada ortalama yaşı 40.5 ± 9.0 olan RRMS hastalarının EDSS skorları 2.03 ± 0.90 'ken İran popülasyonunda ortalama yaşı 32.3 ± 7.6 olan RRMS hastalarının 1.49 ± 0.90 ortalama EDSS skoruna sahip olduğu görülmektedir (Grigороva vd., 2021; Morsaljahan vd., 2017). Mevcut çalışma grubumuzun yaş ortalaması göz önünde bulundurulduğunda (34.9 ± 9.6) 1.5 ± 1.1 olan EDSS skor ortalamasının literatürle uyum gösterdiği görülmektedir (Çizelge 3.3).

RRMS hastalarında hastalığın progresyon hızını belirlemek için global MSSS değerleri, hastalık süresi ve EDSS skorları kullanılarak hesaplanmıştır (Roxburgh vd., 2013). Cinsiyet faktörü göz önünde bulundurulduğunda erkek MS hastalarında kadınlara göre hastalığın seyrinin daha ağır olduğu bilinmektedir (Ribbons vd., 2015).

Yapılan çalışmalarda EDSS skorunun yıllık artış hızının, engelliliğin kümülatif olarak birikiminin ve SPMS fazına geçiş hızının erkeklerde kadınlara göre daha fazla olduğu görülmüş olup bu durum hastalığın progresyon hızının erkeklerde daha yüksek olmasına yol açmaktadır (Coyle, 2021; Ribbons vd., 2015). Mevcut çalışma grubunda ise RRMS hastalarında erkeklerde ve kadınlarda MSSS bakımından farklılık izlenmemiştir. Benzer şekilde, RRMS hastaları yüksek ($MSSS > 5$) ve düşük ($MSSS \leq 5$) progresyon hızına sahip olanlar olarak sınıflandırıldıklarında da erkek ve kadın RRMS hastaları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Grup-1'deki RRMS hastalarının tamamının MSSS değerleri değerlendirildiğinde ise ağırlıklı olarak düşük progresyon hızına sahip hastaların çalışma grubunda olduğu görülmektedir (Çizelge 3.3). EDSS skoru ve hastalık süresiyle belirlenen MSSS değerinin, demografik ve klinik özellikleri benzer olan çalışma gruplarında birbirlerine yakın değerlerde olması beklenmektedir. Markianos ve arkadaşlarının çalışmasında hastalık süresinin 6.0 ± 5.7 yıl, EDSS skorunun 1.5 ± 1.2 olduğu çalışma grubunun MSSS değeri 2.30 ± 2.02 olarak belirlenmiş olup Grup-1'deki RRMS hastalarının (hastalık süresi 5.2 ± 5.1 yıl, EDSS skoru 1.5 ± 1.1) MSSS değerleri (2.66 ± 1.89) ile benzerlik göstermektedir (Çizelge 3.3) (Markianos vd., 2009). Bununla birlikte, İtalyan (hastalık süresi: 11.6 ± 9.8 yıl, EDSS: 3.0 ± 2.2 , MSSS: 3.8 ± 2.7), Slovak (hastalık süresi: 11.5 ± 5.8 yıl, EDSS: 3.49 ± 1.52 , MSSS: 4.31 ± 2.09), İran (hastalık süresi: 6.7 ± 5.37 yıl, EDSS: 2.8 ± 2.09 , MSSS: 4.8 ± 2.90) popülasyonlarında yapılan çalışmalarda MS hastalarının hastalık süresi veya EDSS skorlarının daha yüksek olması nedeniyle MS hastalarının daha yüksek MSSS değerlerine sahip olduğu görülmüştür (Javor vd., 2018; Scazzone vd., 2014.; Torbati vd., 2015).

MS, KBB'nin enflamatuvar sitokin ve kemokinler aracılığı ile yapısının bozulmasıyla karakterizedir (Lorincz vd., 2022). KBB'nin yapısının bozulmasıyla normal şartlar altında MSS'ye giriş yapmayan LDL-kolesterol KBB'yi aşır okside olarak proenflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırmakta ve bu durum nöroenflamatuvar hasarı arttırmaktadır. Bu yüzden, LDL-kolesterol, yüksek hastalık aktivitesi ve yüksek EDSS skorları ile ilişkilendirilmektedir (Boshra vd., 2022; Lorincz vd., 2022). Grup-1'deki RRMS hastaları cinsiyetlerine göre gruplandırıldıklarında, görece daha yüksek EDSS skorları bulunan erkek hastalardaki yüksek serum LDL-kolesterol seviyesi bu durumu açıklar niteliktedir. Benzer şekilde, EDSS skoru ve MSSS ile pozitif korele

olduğu ortaya konan VLDL-kolesterolün erkeklerde daha yüksek bulunması da bu sonuçlarla uyum göstermektedir (Boshra vd., 2022; Lorincz vd., 2022). Antioksidan enzimlerin periferik dolaşıma salınmasını arttıran ve adezyon moleküllerinin salınımını azaltarak antienflamatuvar etki gösteren HDL-kolesterolün yüksekliği ise daha düşük EDSS skorları ve hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir (Lorincz vd., 2022; Weinstock-Guttman vd., 2011). Bu çalışmada Grup-1'deki kadın RRMS hastalarında HDL-kolesterol seviyesi bu durumu destekler nitelikte olup istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha düşüktür. EDSS skorları ve MSSS değerleri ile pozitif korele olduğu gösterilen trigliseritin, Grup-1'de erkeklerde daha yüksek çıkması da bu çalışmada elde ettiğimiz sonucu destekler niteliktedir (Weinstock-Guttman vd., 2011) (Çizelge 3.3).

MS'in en bilinen çevresel risk faktörlerinden olan D vitamini, MS hastalarında genellikle kontrollere göre daha düşük bulunup hastalık riskiyle ilişkilendirilirken hastalık seyrine de etki etmektedir (Dobson & Giovannoni, 2019; Filippi vd., 2018). D vitamini regülatör T hücreleri olan T_{reg} 'lerin IL-10 sitokin seviyelerini arttırırken, proenflamatuvar Th17 lenfositlerinin ve IL-17'nin seviyelerini azaltarak immün sistem üzerinde düzenleyici bir rol almaktadır. Grup-1'deki RRMS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyeleri genel olarak ele alındığında ise kadın ve erkek RRMS hastaları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 3.3). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği'ne göre 20 ng/mL'den (49.9 nmol/L) düşük 25-(OH) D₃ seviyesi D vitamini yetersizliği olarak tanımlanmaktadır (URL-12). Grup-1'deki RRMS hastalarının ortalama serum 25-(OH) D₃ seviyeleri yeterlilik düzeylerine göre değerlendirildiğinde ise D vitamininin bu grupta yetersiz seviyede olduğu gözlemlenmektedir (kadın RRMS: 26.6 ± 20.6 nmol/L; erkek RRMS: 30.0 ± 22.1 nmol/L; Grup-1 RRMS: 27.8 ± 21.2 nmol/L) (Çizelge 3.3). Kadın (21.4 ± 13.7 nmol/L) ve erkek (24.6 ± 10.9 nmol/L) MS hastalarında serum 25-(OH) D₃ seviyelerinin ayrı ayrı belirlendiği bir çalışmada cinsiyetler arasında serum 25-(OH) D₃ seviyesi bakımından bir fark olmasa da MS hastalarının serum 25-(OH) D₃ seviyelerinin kontrol bireylerin serum 25-(OH) D₃ seviyelerinden daha düşük olduğu görülmüştür (Akbat-Delikanlı vd., 2022).

MS için başta gelen çevresel risk faktörlerinden bir diğeri olan sigara ise hastalığın ortaya çıkma riskiyle ilişkilendirilmekle birlikte progresyonunu da kötü yönde

etkilemektedir. Sigara içenlerde, içmeyenlere nazaran daha yüksek seviyede proenflamatuvar sitokinlerin bulunması, içeriğinde bulunan nitrik oksit nedeniyle KBB'nin yapısının bozulmasını kolaylaştırması ve içilmesi sırasında ortaya çıkan karbon monoksitin doku oksijen yoğunluğunu düşürerek demiyelinizasyonu artırması gibi birçok farklı yol ile hastalığın seyrini kötüleştirmektedir (Nishanth vd., 2020). İngiltere'de yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada sigara içen MS hastalarının, daha önce hiç sigara içmeyenlere nazaran daha yüksek EDSS skorları ve MSSS değerlerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Manouchehrinia vd., 2013). Grup-1'deki RRMS hastalarında sigara içme oranı %31.6 olarak görülürken erkek RRMS hastalarında bu oran %57.4 olup kadın RRMS hastalarındaki sigara içme oranına (%16.4) göre anlamlı derecede yüksektir (Çizelge 3.3). Bu bilgiler göz önüne alındığında Grup-1'de erkek RRMS hastalarının daha yüksek EDSS skorlarına sahip olmaları bu risk faktörü ile de açıklanabilir.

4.1.2 Grup-2'nin demografik ve klinik profili

4.1.2.1 Grup-2'nin demografik profili

30 naif RRMS hastası, 30 tedavi alan RRMS hastası ve 30 kontrol bireyden oluşan Grup-2'nin katılımcılarına bilişsel test uygulanmış ve tam kanlarından elde edilen plazmalarındaki clusterin proteini konsantrasyonu ve miRNA rölatif ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, elde edilen bu veriler ile diğer klinik parametreler arasındaki ilişkiler de incelenmiştir.

Henüz tedavi almamış kesin RRMS tanılı hastalardan oluşan naif RRMS hastaları grubunun yaş ortalamaları doğal olarak tedavi alan RRMS hastalarından daha küçük olmakla birlikte kontrol grubuyla aralarında yaş bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 3.3). Naif RRMS hastalarının yaş ortalaması 29.9 ± 8.9 olup MS Atlası'nın güncel versiyonunda ülkemizdeki MS başlangıç yaşı ortalaması (29 yaş) ile benzer olduğu görülmektedir (MSIF, 2020). Tedavi alan RRMS hastalarının yaş ortalamasının ise (34.6 ± 10.1) Grup-1'deki RRMS hastalarının yaş ortalaması ile benzer olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1 & Çizelge 3.2).

Naif RRMS ve kontrol gruplarındaki cinsiyet dağılımları incelendiğinde kadın/erkek oranının 1.73 olduğu görülmektedir. Bu oran, Grup-1'deki RRMS hastalarının kadın/erkek oranı (1.72) ile oldukça benzerlik göstermektedir (Çizelge 3.1 & Çizelge 3.2). Buna karşın, enjektabl immünomodülatör tedavi alan RRMS hastalarından oluşan grupta bu oranın 4.00 olduğu görülmektedir. Bu durumun, enjektabl tedavilerden GA'nın kadınlarda kullanımının daha yaygın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte bu üç grup arasında da cinsiyet dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 3.2).

Grup-2'de bulunan naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında eğitim süresi bakımından anlamlı bir farklılık bulunmakta olup en az eğitim süresinin tedavi alan RRMS hastalarında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.2). Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde RRMS hastalarının eğitim süresi Yiğit'in çalışmasında 12.0 ± 12.5 yıl, Kasımay'ın çalışmasında ise 10.7 ± 4.4 yıl olarak belirlenmiş ve bu çalışmadaki tedavi alan ve naif RRMS hastaların eğitim süreleri ile benzer olduğu görülmüştür (Kasımay, 2017; Yiğit, 2018). Bununla birlikte, bu tez çalışmasında Grup-2'deki kontrol grubunun eğitim süresi bahsi geçen diğer çalışmalara nazaran yüksektir. Üniversite mezunlarının oranının genç nüfusta daha yüksek seviyede olmasının ve kontrol grubuna gönüllülerin dahil edilirken kısıtlı bir çevreden katılım sağlanmasının bu durumun oluşmasında etkili olduğu düşünülmektedir (URL-13). Gruplar arasında istihdam oranı bakımından ise anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.2).

4.1.2.2 Grup-2'nin klinik profili

Grup-2'de bulunan naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerin serum lipit parametreleri, serum 25-(OH) D₃ seviyeleri; naif ve tedavi alan RRMS hastalarının ise vitamin B₁₂ seviyeleri, hastalık süreleri, EDSS skorları, MSSS değerleri ve MRG parametreleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. 30 naif, 30 tedavi alan RRMS hastası ve 30 kontrol birey arasında serum lipit paneli ve 25-(OH) D₃ parametreleri yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır. Her ne kadar boylamsal çalışmalarda serum lipit profilindeki değişimlerin MS hastalığının progresyonuyla ilişkili olduğu görülse de kolesterol ve trigliserit seviyeleri MS için doğrudan risk faktörü olmadıkları için kontrol grubu ve MS grubu arasında serum lipit profili

bakımından herhangi bir fark görülmeyebilir (Akabay-Delikanlı vd., 2019; Ğurfinová vd., 2015; Jakimovski vd., 2020; Sezer vd., 2022; Tettey vd., 2014; Uher vd., 2017). Sözelimi, Uher ve ekibinin çalışmasında HDL-kolesterol seviyesi daha çok azalan MS hastalarının 4 yıl sonunda daha fazla gri ve beyaz madde atrofisi sorunu yaşadığı tespit edilirken, Tettey ve ekibinin çalışmasında HDL-kolesterol dışındaki kolesterollerin artmasının hastalığın seyrini olumsuz yönde etkilediğı belirlenmiştir (Tettey vd., 2014; Uher vd., 2017). Bununla birlikte, lkemizde MS hastalarının lipit profilinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığı çalışmalar incelendiğinde ise bu çalışmalarda da MS ve kontrol grubunun trigliserit, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol seviyeleri arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Akabay-Delikanlı vd., 2019; Sezer vd., 2022).

Yetersizliğinin MS için bir risk faktörü olduğu bilinen serum D vitamini seviyesinin bu çalışmadaki naif RRMS hastaları (33.40 ± 15.22 nmol/L), tedavi alan RRMS hastaları (32.76 ± 14.47 nmol/L) ve kontroller (45.67 ± 32.99 nmol/L) arasında farklı olmadığı görülmektedir. Buna rağmen, 25-OH D₃ için önerilen referans aralık değerleri göz önünde bulundurulduğunda her üç grupta da serum D vitamini konsantrasyonunun ortalamasının yetersiz seviyede olduğu görülmektedir (izelge 3.25). lke çapında serum 25-(OH) D₃ seviyesinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada serum 25-(OH) D₃ seviyesinin 41.5 ± 31.9 nmol/L ile düşük seviyelerde olduğu gözlemlenirken katılımcıların yalnızca %8.7'sinin yeterli düzeyde (>75.0 nmol/L) serum 25-(OH) D₃ seviyesine sahip olduğu görülmüştür (şenyiğit vd., 2018). Öğüş ve arkadaşlarının çalışmasında ise katılımcıların yalnızca %25'inin yeterli düzeyde serum 25-(OH) D₃ seviyelerine sahip olduğu görülmüştür (Öğüş vd., 2015). Bu açıdan değerlendirildiğinde ülkemizde birçok kişinin MS dahil olmak üzere 25-(OH) D₃ yetersizliğine bağlı hastalıkların riski altında olduğu söylenebilir. Genel olarak çalışma grubunun serum 25-(OH) D₃ seviyeleri diğer çalışmalarla karşılaştırıldıığında ise Sezer ve arkadaşlarının çalışmasındaki MS (53.72 ± 37.72 nmol/L) ve kontrol (63.64 ± 29.89 nmol/L) bireylerin serum 25-(OH) D₃ seviyelerine göre daha düşük olduğu görülmüştür (Sezer vd., 2022). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise MS hastalarında 22.2 ± 10.1 nmol/L, kontrol bireylerde 47.2 ± 27.6 nmol/L olarak belirlenmiş olan serum 25-(OH) D₃ seviyeleri bu tez çalışmasındaki MS ve kontrol gruplarında ulaşılan sonuçlara benzerlik göstermektedir (naif RRMS: 33.40

± 15.22 nmol/L; tedavi alan RRMS: 32.76 ± 14.47 nmol/L; kontrol: 45.67 ± 32.99 nmol/L) (Akbay-Delikanlı vd., 2020). Buna karşın, bahsi geçen iki çalışmada MS hastalarında serum 25-(OH) D₃ seviyelerinin kontrollerden anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edilirken bu tez çalışmasında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Akbay-Delikanlı vd., 2020; Sezer vd., 2022).

MS için bir risk faktörü oluşturduğu bilinen (Michel, 2018) sigara kullanımının kontrol bireylerde daha yaygın olduğu görülmektedir. Yalnızca hasta gruplarındaki parametreler karşılaştırıldığında da naif ve tedavi alan RRMS hastalarının EDSS skorları ve MSSS değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.25). Gruplar arasında MRG parametreleri karşılaştırıldığında ise hem T1 hem de T2 lezyon sayılarının tedavi alan RRMS hastalarında daha fazla olduğu görülmektedir. Tedavi alan RRMS hastalarında, tedaviye başladıktan sonraki iki yıl içinde T2 lezyon yükünde azalmalar olsa da hastalığın ilerleyen dönemlerinde T1 ve T2 lezyon yükünde artış görülebilmektedir (Paolillo vd., 2002). Boylamsal olarak yapılan farklı çalışmalarda görülen bu durum tedavi etkinliğinden bağımsız olup doğası gereği ilerleyici bir hastalık olan MS'te karşılaşılan bir durumdur (Coles vd., 2006; Fiorini vd., 2013; Giorgio vd., 2014; Mostert vd., 2010). Bu durumun hızını belirlemek için yapılan boylamsal bir çalışmada 10 yıl sonunda T1 lezyon sayısının yıllık artışının ortalama 0.9 ± 0.7 , T2 lezyon sayısınıninkinin ise ortalama 1.5 ± 1.0 olduğu tespit edilmiştir (Giorgio vd., 2014). Kontrast tutan lezyonlar, MSS'de aktif enflamatuvar demiyelinizasyonun göstergesi oldukları için RRMS hastalarında yaygın olarak görülmektedir (Tim vd., 2019). Bu tez çalışmasında Grup-2'deki RRMS hastalarında kontrast tutan lezyon varlığının naif RRMS hastalarında (%70.0) tedavi alan RRMS hastalarından (%23.7) daha fazla olduğu görülmüştür ($P < .001$). Bu durumun henüz tedavi almamış olan naif RRMS hastalarında, hastalığın daha aktif olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yeni teşhis alan RRMS hastalarıyla yapılan bir çalışmada naif RRMS hastalarının %50'sinde kontrast tutan lezyon bulunduğu belirtilirken bir başka çalışmada ise tedavi alan RRMS hastalarının %31.8'inde kontrast tutan lezyon varlığı tespit edilmiştir (Ashida vd., 2020; Graziano vd., 2015). Bu sonuçlar, naif RRMS hastalarında tedavi alan RRMS hastalarına göre daha fazla kontrast tutan lezyon varlığı olabileceğine örnek teşkil etmektedir.

4.2 CLU SNP Genotipleri ile RRMS Arasındaki İlişkiler

MS, genetik ve çevresel birçok faktörün etkisiyle ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır (Filippi vd., 2018). Bu yüzden, MS'in etiyolojisini ve prognozunu daha iyi anlamak için genetik risk faktörlerin belirlenmesi ve çevresel faktörlerin genetik risk faktörleriyle etkileşimlerinin incelenmesi gerekmektedir. MS ile genetik olarak en çok ilişkilendirilen bölge olan HLA lokusu 6. kromozomda bulunmakta olup HLA sınıf I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) ve HLA sınıf II (HLA-DR, HLA-DQ, DLA-DP) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. HLA sınıf I varyantlarının genellikle koruyucu olduğu gösterilirken HLA sınıf II varyantları MS riski ile ilişkilendirilmiştir (Hollenbach & Oksenberg, 2015). Bu varyantlardan OR değeri en yüksek olan (≈ 3.1) *HLA-DRB1*15:01* bakımından homozigot olan MS hastalarında hastalığın başlangıç yaşının yaklaşık 3 yıl azalmasının yanı sıra hastalığın ilerleyen döneminde lezyon yükünün daha fazla ve SPMS fazına geçişin daha erken olduğu görülmüştür (Nischwitz vd., 2011). Bu varyantla bağlantı dengesizliğinde olan (linkage disequilibrium, LD) *HLA-DQA1*01:02* ve *HLA-DQB1*06:02* varyantları da MS riski ile ilişkilendirilen diğer varyantlardandır (Jokubaitis & Butzkueven, 2016). Bununla birlikte, MS ile tek ilişkili bulunan genetik varyantlar HLA bölgesindekilerle sınırlı olmayıp hastalığın patogeneziyle ilişkili diğer faktörlerdeki genetik varyantlar da MS riskiyle ilişkilendirilmiştir (Nischwitz vd., 2011). T hücrelerinin düzenlenmesinde görevli *IL7RA* geninin 6. ekzonundaki rs6897932 ve *IL2RA* genindeki rs12722489 ve rs2104286 SNP'lerinin MS riskini arttırdığı görülmüştür (Hoe vd., 2011; IMSGC, 2008). MS patogeneziinde aktif rol oynayan Th17 hücrelerinin yüzeyinde ifade edilen CD6 proteinini kodlayan *CD6* genindeki rs17824933 de MS riskiyle ilişkili SNP'lerdendir. MS lezyonlarında ifade seviyesi artan TNF- α reseptörünü kodlayan *TNFRSF1A* genindeki rs1800693 SNP'si de MS riskiyle ilişkilendirilmiştir (Jager vd., 2009). Bunlara ilave olarak, MS'in genetik atlasının çıkarılması için IMSGC tarafından yapılan, genom çapında ilişkilendirme çalışmasında 233 SNP MS ile ilişkilendirilmiştir. Bu SNP'lerden 32 tanesi HLA lokusunda bulunurken bir tanesi X kromozomunda bulunmaktadır. Bunlar haricindeki 200 SNP'nin otozomal kromozomlarda bulunması, HLA lokusu dışındaki bölgelerde bulunan SNP'lerin de göz ardı edilmemesi gerektiğini göstermektedir (MSGC, 2019).

4.2.1 *CLU* rs1113600 C/T

CLU geninin 3. intronunda 8:27607002 pozisyonunda bulunan bu SNP'nin T minör alelinin gMAF'ı 0.392 olmakla birlikte dünya çapında bölgelere göre farklılıklar gözlemlenmektedir (URL-5). Avrupalı popülasyonlardaki MAF 0.395 ile global ölçüğe en yakın olarak görünmekteyken Afroamerikalılarda (0.555) ve Afrikalılarda (0.556) daha yüksek değerlere rastlamak mümkündür. Latin Amerikalılarda minör alelin görülme sıklığının Avrupa-Yerli Amerika kökenlilerde (0.338) Afrokarayip kökenlilere (0.399) göre daha düşük olması da yine bu doğrultuda bir sonuçtur. Yakın ve uzak doğuda ise minör alelin görülme sıklığı diğer bölgelere göre düşüş göstermektedir. Güney Asya'da 0.312 olan MAF, Uzak Doğu'da 0.214'e kadar düşmektedir (URL-5). Bu SNP için farklı hastalık ve popülasyonlardan elde edilen MAF değerleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Clusterin birçok patolojik ekstraselüler birikintide olduğu gibi amiloid plaklarda da çokça ifade edilmektedir. MSS'nin nörodejeneratif bir hastalığı olan Alzheimer için en önemli genetik risk faktörlerinden olan ApoE ile aynı aileden olan clusterinin (ApoJ) hem dolaşımdaki seviyesi hem de SNP'leri Alzheimer hastalığıyla ilişkilidir (Woody & Zhao, 2016). Yapılan meta-analiz çalışmalarında rs1113600 SNP'sinin hem beyaz ırkta hem de Asya popülasyonlarında minör alel olan T alelinin Alzheimer için koruyucu faktör olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2014). Asya popülasyonunda ve beyaz ırkta rs11136000 SNP'sinin Alzheimer ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada resesif modelde T alelinin her iki popülasyonda da Alzheimer hastalığı için koruyucu faktör olduğu bulunmuştur (Zhu vd., 2018).

MSS'nin bir diğer nörodejeneratif hastalığı olan Parkinson hastalığı üzerine yapılan bir çalışmada, Sampadero ve arkadaşlarının rs1113600 CC genotipli yeni teşhis almış naif Parkinson hastalarının daha düşük bilişsel skorlar aldığı, kortikal kalınlıklarının daha az olduğu ve 5 yıl sonundaki kortikal incelmesinin daha hızlı olduğu görülmüştür (Sampedro vd., 2020). Etiyolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı eksofoliyatif glokom (XFG) hastaları ile Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise gözyaşı total protein konsantrasyonu, gözyaşı clusterin konsantrasyonu, gözyaşı clusterin konsantrasyonunun gözyaşı total protein konsantrasyonuna oranı, cinsiyet, diğer hastalıkların varlığı (hipertansiyon, inme, diyabet, kalp hastalığı) ve sigara kullanma durumu ile birlikte ikili lojistik regresyon analizi gerçekleştirildiğinde rs11136000 C/T

için resesif modelde TT genotipinin CT ve CC genotipine kıyasla yaklaşık 3 kat koruyucu olduğu görülmüştür (Demirkaya-Budak, 2018). Patofizyolojisi bakımından MS ile benzerlik gösteren bu hastalıklarda alınan sonuçlar, daha önce MS ile ilişkisi çalışılmamış olan rs11136000 C/T SNP'sinin MS'te de rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Çizelge 4.2: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs11136000 C/T SNP'sinin T alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

Hastalık	Popülasyon	T Alel Frekansı		P	Referans
		Hasta	Kontrol		
RRMS	Türk	0.353	0.377	.60	Bu Çalışma
KAH	Türk	0.369	0.344	.44	Ozyunuk vd., 2022
LOAD	Türk	0.347	0.367	.59	Alaylıoğlu vd., 2016
Alzheimer	Türk	0.346	0.334	.66	Guven vd., 2020
Alzheimer	Türk	0.326	0.330	.35	Sen vd., 2015
PEG	Türk	0.325	0.405	.09	Kiliçarslan vd., 2017
XFS	Türk	0.387	0.416	.39	Demirkaya-Budak, 2018
XFG	Türk	0.409	0.416	.83	
XFS	Alman	0.398	0.340	.10	Krumbiegel vd., 2009
Alzheimer	Belçikalı	0.350	0.370	.02	Lambert vd., 2009
Alzheimer	Finlandiyalı	0.380	0.410	.30	
Alzheimer	İtalyan	0.350	0.380	.02	
Alzheimer	İspanyol	0.350	0.370	.24	
LOAD	Amerikan	0.371	0.463	.01	Ferrari vd., 2012
Alzheimer	Kuzey İrlanda	0.451	0.412	.93	Mullan vd., 2013
HBB	Kuzey İrlanda	0.414	0.412	.96	
Alzheimer	Tayvan	0.228	-	-	Chang vd., 2021
Alzheimer	Brezilya	0.429	0.414	.76	Ramos vd., 2020
Alzheimer	Hong-Kong	0.211	0.235	.04	Hua vd., 2020
Alzheimer	Japon	0.252	0.280	.54	Ohara vd., 2012
Alzheimer	İran	0.307	0.341	.10	Aghajanpour-Mir vd., 2019
Alzheimer	Hint	0.251	0.290	.25	Mallapura & Narayanan, 2017
XFS	Amerikan	0.370	0.360	.71	Fan vd., 2015
	İsrail	0.370	0.380		
Alzheimer	Çin-Han	0.187	0.186	.94	Lu vd., 2014
HBB	Çin-Han	0.167	0.219	.15	Cai vd., 2016
LOAD	Çin-Han	0.167	0.193	.19	Yu vd., 2010
Epilepsi	Çin-Han	0.208	0.183	.33	Xian vd., 2017
Alzheimer	Güney Çin	0.213	0.240	.04	Chen vd., 2012

LOAD: Late Onset Alzheimer Disease. HBB: Hafif bilişsel bozukluk. KAH: Koroner arter hastalıkları. XFS: Eksfoliyasyon sendromu. XFG: Eksfoliyatif glokom

Bu çalışmada, rs11136000 C/T SNP'si için minör alel olan T alel frekansı RRMS grubunda 0.353, kontrol grubunda 0.377 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.5 ve Çizelge 4.2). Farklı popülasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar incelendiğinde

Alzheimer, XFG ve XFS için koruyucu olduğu belirlenen T alel frekansının bu tez çalışmasında RRMS ve kontrol grupları arasında farklı olmadığı görülmüştür (Chen vd., 2020; Demirkaya-Budak, 2018; Ferrari vd., 2012; Lambert vd., 2009) (Çizelge 3.5). Yaş ve cinsiyete göre *P* ve OR değerlerinde düzenleme yapılan analizlerde de benzer şekilde gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Ayrıca, farklı genotip modellerine göre yapılan analizlerde de rs11136000 C/T SNP'si ile RRMS arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu karşılaştırmalarda çalışmada çoklu test uygulanmasından dolayı *P* anlamlılık düzeyi $\alpha < 0.0125$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.6).

Türk popülasyonunda farklı hastalıklarda yapılan çalışmalar incelendiğinde koroner arter hastalıkları bulunan ve sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmada hasta grubunun T alel frekansının 0.369, kontrol grubunun 0.344 olduğu belirlenmiştir (Ozyunuk vd., 2022). LOAD hastaları ile yapılan bir çalışmada ise LOAD grubunda T alel frekansı 0.347, kontrol grubunda 0.367 olarak belirlenmiştir (Alaylıoğlu vd., 2016). Türk popülasyonunda rs11136000 C/T ile Alzheimer arasındaki ilişkiyi inceleyen iki çalışmada ise T alel frekansının Alzheimer hastalarında 0.326 ve 0.346; kontrol grubunda ise 0.334 ve 0.330 olduğu belirlenmiştir (Güven vd., 2020; Sen vd., 2015). Türk popülasyonunda XFS ve XFG ile rs11136000 C/T arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada ise T alel frekansının XFS grubunda 0.387, XFG grubunda 0.409 ve kontrol grubunda 0.416 olduğu belirlenmiştir (Demirkaya-Budak, 2018). Bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda Türk popülasyonunda T alel frekansının 0.325-0.416 arasında değiştiği görülmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde NCBI veri tabanında Avrupa popülasyonlarındaki rs11136000 C/T için verilen MAF değerinin (0.395) bu aralıkta olduğu görülmüş olup bu tez çalışmasında rs11136000 C/T için belirlenen T alel frekansının (RRMS=0.353, Kontrol=0.377) bu sonuçlarla benzer olduğu görülmektedir (URL-5). Yakın ve uzak doğu popülasyonları olan Çin, Hong-Kong, Japon, İran ve Hint popülasyonlarında bu frekansın daha da azaldığı görülmektedir (Aghajpour-Mir vd., 2019; Cai vd., 2016; Chen vd., 2012; Fan vd., 2015; Hua vd., 2020; Lu vd., 2014; Mallapura & Narayanan, 2017; Xian vd., 2017; Yu vd., 2010). Bu durum, popülasyon genetiği çalışmalarından elde edilen MAF sonuçlarıyla uyum göstermektedir (URL-5).

4.2.2 *CLU* rs3087554 T/C

CLU rs3087554 SNP'si 8. kromozomda bulunan *CLU* geninin 3' UTR'sinde 8:27597925 konumundadır. Bu SNP için MAF değeri popülasyonlara göre incelendiğinde global seviyede 0.184 olan gMAF değerinin, Avrupa (0.178) ve Afrokarayip asıllı Latin Amerikalılarda (0.170) daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Afrikalılarda (0.218-0.250) ve Afroamerikalılarda (0.217) nispeten yüksek olan MAF değerlerinin Asya popülasyonlarında daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir (0.277-0.352) (URL-7). *CLU* rs3087554 T/C SNP'si için farklı hastalık ve popülasyonlarda elde edilen MAF değerleri Çizelge 4.3'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.3: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs3087554 T/C SNP'sinin C alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

Hastalık	Popülasyon	C Alel Frekansı		P	Referans
		Hasta	Kontrol		
RRMS	Türk	0.203	0.145	.007	Bu Çalışma
XFS	Türk	0.164	0.135	.24	Demirkaya-Budak, 2018
XFG	Türk	0.178	0.135	.08	
Alzheimer	Beyaz Irk	0.160	-	.71	Jun vd., 2010
LOAD	Çin-Han	0.242	0.237	.74	Yu vd., 2013
Alzheimer	Portekiz-İngiliz	0.143	0.130	.56	Guerreiro vd., 2010
XFS	Polonyalı	0.284	0.280	.94	Lesiewska vd., 2019
XFS	Alman	0.147	0.204	.02	Krumbiegel vd., 2009
XFS	İtalyan	0.140	0.168	.42	
XFG	Alman	0.183	0.204	.30	
XFG	İtalyan	0.169	0.168	.98	
XFS	Avustralyalı	0.160	0.180	.51	Burdon vd., 2008
XFS	Amerikan	0.180	0.180	.63	Fan vd., 2015
XFS	İsrailli	0.160	0.150		
XFS	Güney Hindistanlı	0.357	0.340	.64	Dubey vd., 2015
XFG	Güney Hindistanlı	0.322	0.340	.61	
FED	Avustralyalı	0.150	0.170	.50	Kuot vd., 2012

FED: Fuch's endotelial distrofi. XFS: Eksfoliyasyon sendromu. XFG: Eksfoliyatif glokom

CLU rs3087554 T/C polimorfizmi ilk defa XFS kapsamında çalışılmıştır. 2008 yılında Burdon ve arkadaşlarının Avustralya'da yaptığı çalışmada hastalıkla nominal olarak ilişkili bulunsa da bu ilişki istatistiksel düzeyde anlamlı değildir (Burdon vd., 2008). Yapılan meta analiz çalışmasında Japonlarda rs3087554 SNP'si XFS ile nominal düzeyde ilişkili bulunsa da çoklu karşılaştırmalardan dolayı anlamlılık derecesinde düzelenme yapıldığında genel olarak Asya popülasyonlarında XFS ile ilişkili

bulunmamıştır. Aynı çalışmada, Alman, İtalyan, Amerikan gibi beyaz ırkta yapılan analizlerde bu SNP'nin XFS ile ilişkili olmadığı görülmektedir (Fan vd., 2015). Etiyolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı XFG hastaları ile Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise gözyaşı total protein konsantrasyonu, gözyaşı clusterin konsantrasyonu, gözyaşı clusterin konsantrasyonunun gözyaşı total protein konsantrasyonuna oranı, cinsiyet, diğer hastalıkların varlığı (hipertansiyon, inme, diyabet, kalp hastalığı) ve sigara kullanma durumu ile birlikte ikili lojistik regresyon analizi gerçekleştirildiğinde rs3087554 T/C için dominant modelde TT genotipinin CC ve CT genotipine kıyasla yaklaşık 2.4 kat koruyucu olduğu görülmüştür (Demirkaya-Budak, 2018). Polonyalılarda yapılan bir çalışmada ise XFS ile rs3087554 arasında ilişki bulunmazken rs3087554 ve rs2279590 SNP'leri ile yapılan haplotip analizinde CT haplotipinin XFS riski için koruyucu bir rolde olduğu (OR≈0.6) görülmüştür (Lesiewska vd., 2019). Bu sonuçlar, rs3087554 T/C SNP'sinin MS ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada, rs3087554 T/C SNP'si için minör alel olan C alel frekansı RRMS grubunda 0.203, kontrol grubunda 0.145 olarak belirlenmiş olup C alelinin RRMS ile 1.5 kat ilişkili olduğu görülmüştür ($P=.007$). Ayrıca, dominant modele göre CC+TC genotipinin, TT genotipine kıyasla RRMS ile 1.7 kat ilişkili olduğu belirlenmiştir ($P=.002$). Yaş ve cinsiyete göre P ve OR değerleri düzenlendiğinde de C alelinin dominant modele göre 1.73 ($P=.002$), overdominant modele göre 1.80 ($P=.001$) ve log-additive modele göre 1.48 kat RRMS ile ilişkili olduğu görülmektedir ($P=.008$). Bu sonuçlara göre rs3087554 T/C SNP'sinin C aleli RRMS riskiyle istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur. Bu karşılaştırmalarda çalışmada çoklu test uygulanmasından dolayı P anlamlılık düzeyi $\alpha<0.0125$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.8).

Bu tez çalışması kapsamında rs3087554 T/C için minör alel olan C alelinin RRMS hastalarında daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3). RRMS riskiyle ilişkili bulunan C alelinin aynı zamanda Alzheimer hastalarında clusterin proteininin salgılanan formu olan sCLU ifade seviyesini de arttırdığı fakat apoptotik yollarda görev alan nCLU formunun ifade seviyesine etki etmediği gösterilmiştir (Szymanski vd., 2011). Clusterinin sCLU formu yaşamsal yolları destekliyor olsa da sCLU seviyesindeki artışın boylamsal çalışmalarda otoimmün bir hastalık olan RA geliştirme

riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Hughes-Austin vd., 2017; Tedeschi vd., 2017). Bununla birlikte sCLU'nun, NMO hastalarında Sjögren sendromu riskiyle ilişkili olduğu görülmüş olup terapötik hedef olarak alınması önerilmiştir (Qiao vd., 2019). Bu sonuçlar sCLU ifade seviyesini arttıran C alelinin otoimmün bir hastalık olan MS riskiyle de ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Ayrıca, aşağı akış yönünde bulunan *EPHX2* geni üzerinde düzenleyici etkisi olan bu SNP'nin T aleli *EPHX2* geninin ifade seviyesini azaltmaktadır (Lin vd., 2021). EAE modelinde yapılan bir çalışmada *EPHX2* geninin ifade ettiği çözünür epoksit hidrolazın baskılanmasının hastalığın seyrini hafiflettiği gösterilmiştir (Biliktü vd., 2020). Çözünür epoksit hidrolaz seviyesindeki düşüşün epoksi yağ asitlerinin seviyesindeki artışa neden olmasından dolayı böyle bir etki görüldüğü düşünülmektedir. Epoksi yağ asitlerindeki artışla birlikte MSS'de BDNF/TrkB sinyal aracılı nörotrofik yolların aktive olarak nörodejenerasyonun azalması ve NF- κ B yolağının baskılanarak nöroenflamatuvar süreçlerin inhibe edilmesi, *EPHX2* ifade seviyesinde azalışın dolaylı olarak MS hastalık riski ve progresyonunu azalttığını göstermektedir (Biliktü vd., 2020; Kodani & Morisseau, 2019). Bu sonuçlar rs3087554 T/C SNP'sinin sCLU formunun ve *EPHX2* geninin ifade seviyelerine etki ederek MS hastalık riskiyle ilişkili olduğu görüşünü desteklemektedir.

Bu tez çalışması kapsamında *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin kontrollerdeki MAF değeri (0.145), Türk popülasyonunda yapılan bir diğer çalışma ile benzerlik göstermektedir (0.135) (Demirkaya-Budak, 2018). Her iki çalışmada da kontrol grubunda MAF değerinin gMAF değerinden (0.184) daha düşük olması Türk popülasyonuna has bir özellik olabileceğine de işaret etmektedir. Avrupa kökenli popülasyonlarda yapılan çalışmalarda MAF değerinin 0.130-0.204 aralığında değiştiği görülmekte olup popülasyon genetiği çalışmalarından elde edilen MAF değerinin (0.178) bu aralıkta olduğu görülmüştür (Burdon vd., 2008; Guerreiro vd., 2020; Krumbiegel vd., 2009; Kuot vd., 2012) (URL-7). Bununla birlikte popülasyon genetiği çalışmalarında 0.277-0.352 arasında değiştiği gözlemlenen MAF değeriyle Asya kökenli popülasyonlarda yapılan çalışmalarda elde edilen MAF değerlerinin (0.237-0.357) benzer olduğu görülmüştür (Dubey vd., 2015, Yu vd., 2013) (URL-7).

4.2.3 *CLU* rs2279590 C/T

CLU rs2279590 C/T SNP'si, 7. intronda ve 8:27598736 lokasyonunda bulunmaktadır. Farklı popülasyonlara göre T aleli için MAF değeri değişiklik gösteren bu SNP'nin gMAF'ı 0.386'dır. Avrupa kökenlilerde diğer bölgelere göre daha yüksek MAF gözlemlenirken (0.409) Latin Amerikalılarda MAF 0.324-0.353 aralığındadır. Güney Asya popülasyonunda 0.295 olarak tespit edilen MAF Güney Asya haricindeki tüm Asya popülasyonu birlikte değerlendirildiğinde 0.202 seviyesine düşmektedir. Afroamerikanlarda MAF 0.108 ile daha düşükken, Afrika popülasyonunda ise 0.105 olarak tespit edilmiştir (URL-8). *CLU* rs2279590 C/T SNP'sinin MSS'nin nörodejeneratif bir hastalığı olan Alzheimer ve benzer patofizyolojik özellikleri taşıyan diğer hastalıklarla ilişkisini inceleyen çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te özetlenmiştir.

Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada Alzheimer hastaları ve sağlıklı kontroller arasında rs11136000 ve rs2279590 SNP'leri için alel frekansları ve genotipler yönünden anlamlı bir fark bulunmazken rs2279590, rs11136000 ve rs9331888 SNP'leri birlikte değerlendirildiğinde CCG haplotipinin hastalık riskiyle (OR=1.6) ilişkili olduğu, CCC haplotipinin ise Alzheimer için koruyucu rolde olduğu (OR=0.7) bulunmuştur (Yu vd., 2010). Güney Çin popülasyonunda LOAD hastaları ve sağlıklı kontrollerle yapılan bir çalışmada resesif modelde T minör alelinin koruyucu bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Chen vd., 2012). Belçikalı, Finlandiyalı, İtalyan ve İspanyol popülasyonlarından oluşan geniş çaplı bir Avrupa popülasyonu çalışmasında T alelinin Alzheimer için koruyucu bir etkisinin olduğu görülmüştür. Bu popülasyonlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde de Belçikalı ve İtalyan popülasyonlarında T alelinin Alzheimer için koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür (Lambert vd., 2009). Buna karşın, Zhang ve arkadaşlarının hem beyaz ırktan olanlar hem de Asyalılarla yapılan bir meta-analiz çalışmasında her iki popülasyon bir arada değerlendirildiğinde de rs2279590 SNP'sinin C alelinin resesif ve dominant modelde Alzheimer'a yatkınlığı arttırdığı görülmüştür (Zhang vd., 2015). Hong-Kong popülasyonunda yapılan bir çalışmada da diğer sonuçlarla tutarlı bir şekilde T alelinin koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür (Chen vd., 2020). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise rs2279590 SNP'si ile LOAD arasında bir ilişki bulunmamıştır (Alaylıoğlu vd., 2016).

Çizelge 4.4: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs2279550 C/T SNP'sinin T alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

Hastalık	Popülasyon	T Alel Frekansı		P	Referans
		Hasta	Kontrol		
RRMS	Türk	0.329	0.389	.03	Bu Çalışma
LOAD	Türk	0.341	0.367	.49	Alaylioğlu vd., 2016
XFS	Türk	0.421	0.416	>.99	Demirkaya-Budak, 2018
XFG	Türk	0.394	0.416	.51	
Alzheimer	Belçika	0.380	0.410	.03	Lambert vd., 2009
Alzheimer	Finlandiyalı	0.400	0.420	.35	
Alzheimer	İtalyan	0.380	0.410	.01	
Alzheimer	İspanyol	0.380	0.400	.24	
Alzheimer	Amerikan	0.365	0.380	.26	Kamboh vd., 2012
Alzheimer	Hong-Kong	0.206	0.227	.03	Chen vd., 2020
LOAD	Güney Çin-Han	0.211	0.234	.04	Chen vd., 2012
LOAD	Çin-Han	0.193	0.202	.53	Yu vd., 2010
LOAD	Çin-Han	0.154	0.183	.16	Naj vd., 2014
Alzheimer	Güney Çin-Han	0.173	0.174	.98	Lu vd., 2014
T2D	Japon	0.270	0.248	.15	Daimon vd., 2011
XFS	Alman	0.435	0.347	.005	Krumbiegel vd., 2009
XFS	İtalyan	0.421	0.429	.87	
XFG	Alman	0.402	0.347	.03	
XFG	İtalyan	0.413	0.429	.69	
XFS/XFG	Uygur	0.301	0.302	.96	
XFS	Amerikan	0.350	0.320	.56	Fan vd., 2015
XFS	İsraili	0.360	0.350		
XFS	Güney Hindistanlı	0.230	0.263	.30	Dubey vd., 2015
XFG	Güney Hindistanlı	0.255	0.263	.80	
FED	Avustralyalı	0.150	0.170	.50	Kuot vd., 2012

FED: Fuch's endotelial distrofisi. XFS: Eksfoliyatif sendrom. XFG: Eksfoliyatif glokom

Bu SNP ile farklı hastalıklarda yapılan çalışmalardan elde edilen MAF değerleri Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Alman popülasyonunda XFG riski için yapılan bir çalışmada rs2279590 SNP'sinin T alelinin hastalık riskiyle anlamlı ölçüde ilişkili olduğu görülmüştür (Krumbiegel vd., 2009). Benzer bir sonuç, Hint popülasyonu ile yapılan bir başka çalışmada da görülmüş olup C alelinin XFS hastalarında anlamlı derecede daha fazla olduğu görülmüştür. Amerikan ve İsraili bireylerden oluşan popülasyonların da dahil edildiği bir meta-analizde rs2779590 SNP'sinin XFG ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Fan vd., 2015). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise gözyaşı total protein konsantrasyonu, gözyaşı clusterin konsantrasyonu, gözyaşı clusterin konsantrasyonun gözyaşı total protein konsantrasyonuna oranı, cinsiyet, diğer hastalıkların varlığı (hipertansiyon, inme, diyabet, kalp hastalığı) ve sigara kullanma durumu ile birlikte ikili lojistik regresyon analizi gerçekleştirildiğinde

rs2279590 C/T için TT genotipinin yaklaşık 3 kat koruyucu olduğu görülmüştür (Demirkaya-Budak, 2018). Bu sonuçlar, daha önce MS ile ilişkisi çalışılmamış olan bu SNP'nin MS hastalık riski ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.

CLU rs2279590 C/T SNP'si ile Alzheimer, XFS, XFG arasındaki çalışmalar incelendiğinde, Alman popülasyonu hariç istatistiksel olarak anlamlı bulunan tüm sonuçlarda T alelinin hastalık için koruyucu etkiye sahip olduğu görülmektedir (Chen vd., 2012; Krumbiegel vd., 2009; Lambert vd., 2009). Bu tez çalışmasında ise T alel frekansı RRMS hastalarında 0.329, kontrollerde 0.389 olarak bulunmuş olup gruplar arasında nominal düzeyde anlamlı derecede fark olsa da ($P=0.03$) bu karşılaştırmalarda çoklu test uygulanmasından dolayı P anlamlılık düzeyi $\alpha < 0.0125$ olarak belirlendiği için bu sonuç anlamlılığını yitirmiştir (Çizelge 3.11). Farklı genotip modellerinde yaşa ve cinsiyete göre düzenlenmiş P değerlerine bakıldığında yalnızca log-additive modelde nominal düzeyde TT genotipi koruyucu olarak görülse de anlamlılık düzeyinin düzenlenmesi sonrası bu anlamlılık kaybolmaktadır (Çizelge 3.12). Nominal düzeyde elde edilen bu farklılık rs2279590 C/T'nin *CLU* ve komşuluğundaki genlerin düzenleyicisi rolünde olmasıyla açıklanabilir. Padhy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada rs2279590 C/T SNP'sinin T aleli olması durumunda transkripsiyon faktörü olan HSF1 için bağlanma bölgesi oluşturduğu gösterilmiştir (Padhy vd., 2017). T aleli olma durumunda HSF1 için bağlanma bölgesi oluşturduğu göz önünde bulundurulduğunda T aleli taşıyanlarda *CLU* ifade seviyesinin artmasıyla birlikte hücresel yaşam yollarının aktive olacağı ve dolayısıyla bu alelin MS riski bakımından koruyucu bir rolde olacağı öngörülmektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda rs2279590 C/T için elde edilen MAF değerleri incelendiğinde Alaylıoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında LOAD grubunda 0.341, kontrol grubunda 0.367 olarak bulunan MAF, Demirkaya-Budak'ın çalışmasında XFG grubunda 0.394, XFS grubunda 0.421, kontrol grubunda 0.416 olarak belirlenmiştir (Alaylıoğlu vd., 2016; Demirkaya-Budak, 2018). Bu tez çalışmasında rs2279590 C/T SNP'si için elde edilen MAF değerinin (RRMS=0.329, Kontrol=0.389) ülkemizde bu SNP ile yapılan diğer çalışmalardan elde edilen MAF değerleriyle karşılaştırıldığında kontrol grubunun MAF değerinin diğer çalışmalarda elde edilen değerlerle benzer olduğu görülmüştür. Popülasyon genetiği çalışmalarından elde edilen veriler incelendiğinde bu tez çalışmasındaki kontrol grubu MAF değerinin Avrupa

popülasyonlarındaki MAF değerine daha benzer olduğu (0.409) görülmektedir (URL-8).

4.2.4 *CLU* rs1532278 C/T

CLU rs1532278, genin 3. intronunda lokalize bir SNP'dir. Minör alel olan T alelinin frekansı toplumlar arası farklılık göstermekle birlikte global ölçekte bakıldığında Avrupa popülasyonunda 0.390 olan MAF değeri gMAF değerinden görece yüksektir (0.374). Benzer bir şekilde, Avrupa-Amerika kökenli Latin Amerikalılarda (0.325), Afrokarayip kökenli Latin Amerikalılardan daha yüksek MAF değeri gözlenmektedir (0.310). Asya popülasyonlarında bu frekans 0.217-0.281 arasında değişirken Afrikalılarda 0.159-0.189 arasında değişmektedir (URL-9).

CLU rs1532278 C/T SNP'sinin bu çalışma ve diğer çalışmalarda elde edilen MAF değerleri Çizelge 4.5'te sunulmuştur. *CLU* rs1532278 SNP'si, MSS'nin nörodejeneratif bir hastalığı olan Alzheimer ile ilişkili SNP'lerden biridir. Bettens ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği Belçika, Fransa ve Kanada popülasyonlarının bulunduğu meta-analizde aralarında rs1532278 SNP'sinin de olduğu SNP'ler arasında Alzheimer ile en güçlü ilişkiye sahip SNP olduğu görülmüştür (Bettens vd., 2012). Ayrıca, LOAD hastaları ile yapılan çok merkezli bir çalışmada rs1532278 ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Naj vd., 2014). Buna karşın, Çin popülasyonunda yapılan bir başka çalışmada ise hastalık ile herhangi bir ilişkisi görülmemiştir (Lu vd., 2014).

rs15332278 C/T SNP'sinin fenotipe olan etkilerini incelemek için Tan ve arkadaşlarının Alzheimer hastalarında yaptıkları çalışmada rs11136000 ve rs2279590 ile birlikte hastalığın başlangıç aşamasında singulat ve frontal korteksteki amiloid beta birikimleri ile ilişkili olduğu görülen SNP'lerden olan rs1532278, Serebral Amiloid Anjiyopati (SAA) hastalarında ağır beyaz madde hiperintensiteleri ile ilişkili görülmüştür (Montañola vd., 2016; Tan vd., 2016). Ayrıca, SAA'lı hastalardaki lobar mikro kanamalar görülen bireylerde rs1532278 SNP'sinin C alel frekansının anlamlı düzeyde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Patofizyolojisi MS ile benzerlik gösteren hastalıklardaki bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar bu SNP'nin MS ile de ilişkisi olabileceğini düşündürmüştür.

Çizelge 4.5: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda rs1532278 C/T SNP'sinin T alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

Hastalık	Popülasyon	T Alel Frekansı		P	Referans
		Hasta	Kontrol		
RRMS	Türk	0.353	0.377	.60	Bu Çalışma
XFS	Türk	0.404	0.414	.77	Demirkaya-Budak, 2018
XFG	Türk	0.387	0.414	.43	
Alzheimer	Belçika-Flanderler	0.371	0.395	.001	Bettens vd., 2012
Alzheimer	Fransız	0.325	0.372	.004	
Alzheimer	Kanada	0.378	0.378	>.99	
FED	Avustralya	0.410	0.400	.74	Kuot vd., 2012
Alzheimer	Güney Çin-Han	0.190	0.190	.98	Lu vd., 2014
Alzheimer	İspanyol	0.297	0.433	<.05	Montañola vd., 2016
SAA	İspanyol	0.383	0.433	<.05	
Alzheimer	Amerikan	0.344	0.384	>.05	Tan vd., 2016
HBB	Amerikan	0.373	0.384	>.05	

FED: Fuch's endotelial distrofi. XFS: Eksfoliyasyon sendromu. XFG: Eksfoliyatif glokom. SAA: Serebral Amiloid Anjiyopati.

Bu çalışmada minör alel olan T aleli için MAF değeri RRMS hastalarında 0.353, kontrollerde 0.377 olarak belirlenmiş olup gruplar arasında alel frekansı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Farklı genotip modellerinde yapılan analizlerde yaş ve cinsiyete göre *P* ve OR değerlerinde düzenleme yapıldığı ve yapılmadığı durumlarda da RRMS ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.13 ve Çizelge 3.14). Bu karşılaştırmalarda, çalışmada çoklu test yapılmasından dolayı *P* anlamlılık değeri $\alpha < 0.0125$ olarak belirlenmiştir. Türk popülasyonunda yapılan diğer çalışmada MAF değeri XFS grubunda 0.404, XFG grubunda 0.387, kontrol grubunda 0.414 olarak belirlenmiştir (Demirkaya-Budak, 2018). Avrupa kökenli popülasyonlarda yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde 0.297-0.433 arasında değişen MAF değeri popülasyon genetiği çalışmalarında Avrupa popülasyonunda 0.390 olarak belirlenmiş olup bu tez çalışmasında elde edilen MAF değerleri ile benzerlik göstermektedir (Bettens vd., 2012; Demirkaya-Budak, 2018; Montañola vd., 2016) (URL-9).

4.2.5 CLU SNP'lerinin Kombinasyonları

Bu tez çalışması kapsamında çalışılan dört SNP olan rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin dörtlü kombinasyonları ile yapılan analizlerde CCTCCTCC, CTTTCCCT, TTTTCCTT, TTTTCTCT genotiplerinin RRMS hastalarında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülürken

CTTTCTCT ve TTTTTTTT genotip kombinasyonlarının kontrollerde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür (Çizelge 3.16). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda tek başına anlamlı sonuç vermeyen *CLU* SNP genotiplerinin bir aradaki farklı kombinasyonlarının hastalık riskiyle veya koruyucu bir rol ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

4.3 *CLU* SNP'lerinin RRMS Hastalarının Klinik Bulgularına Etkileri

Grup-1'de RRMS hastalarının hastalık ve tedavi süreleri, engellilik durumları, progresyonları, serum lipit paneli ve 25-(OH) D₃ seviyeleri ile sigara içme durumları ile *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri arasındaki ilişkiler analiz edilmiştir. Bu analizlerde, SNP'lerin kodominant, resesif ve dominant modellerine göre bu klinik parametrelerin dağılımları karşılaştırılmıştır.

4.3.1 *CLU* rs11136000 C/T SNP'sinin etkileri

MS'te ilk defa çalışılan bu SNP'nin genotiplerine göre oluşturulan gruplardaki klinik bulguların dağılımları karşılaştırıldığında EDSS skorları, MSSS değerleri, tedavi ve hastalık süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Serum lipit parametreleri karşılaştırıldığında ise TT genotipli RRMS hastalarının VLDL-kolesterol seviyesinin CT genotipli RRMS hastalarından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha az olduğu görülmüştür. MSSS ve EDSS ile arasında pozitif korelasyon ilişkisi olduğu tespit edilen VLDL-kolesterolün kodominant modelde CT genotipli RRMS hastalarında TT genotiplilere göre daha fazla bulunması T alelinin koruyucu yönüyle açıklanabilmektedir (Boshra vd., 2022). Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HBB ve Alzheimer görülen Çinli bireylerde T alelinin düşük serum trigliserit seviyesi ile ve yüksek HDL-kolesterol seviyesi ile ilişkili olduğu bulunsa da, bu çalışmada rs11136000 C/T SNP genotipleri ile diğer lipit parametreleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (Chen vd., 2020). Bu tez çalışmasında resesif modelde TT genotiplilerin CT+CC genotiplilere göre daha düşük sigara içme oranlarına sahip olması da dikkat çekici bir başka sonuçtur.

4.3.2 *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin etkileri

Tez çalışması kapsamındaki diğer SNP'ler gibi MS'te ilk defa çalışılan bu SNP'nin klinik bulgularını kıyaslayacak örnek bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte,

bu tez çalışması kapsamında Bonferroni düzeltmesi sonrasında hastalık riski ile ilişkisi bulunan tek SNP de rs3087554 T/C olmuştur. Yapılan analizlerde, hastalık ve tedavi süresi, EDSS skorları ile rs3087554 T/C SNP'si arasında anlamlı bir ilişki bulunmasa da resesif modelde CC genotipli RRMS hastalarının CT+TT genotiplilerine göre daha yüksek MSSS değerlerine sahip olduğu görülmektedir ($P=.02$). Elde edilen bu sonuç, rs3087554 T/C SNP'sinin T alelinin, *EPHX2* geninin ifade seviyesini azaltarak epoksi yağ asitlerinin seviyesinde artışa neden olması ve epoksi yağ asitleri aracılığıyla nörodejenerasyonu ve nöroenflamasyonu azaltarak bu RRMS hastalarının hastalık seyri daha hafif geçirmesiyle açıklanabilmektedir (Kodani & Morisseau, 2019). Bu durum, rs3087554 T/C SNP'sinin hem hastalık riskiyle hem de hastalığın seyriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Serum lipit paneli ve 25-(OH) D₃ seviyeleri ile yapılan analizlerde ise bu grupta anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Çizelge 3.18).

4.3.3 *CLU* rs2279590 SNP'sinin etkileri

MS'te ilk defa çalışılan bu SNP'nin genotiplerine göre oluşturulan gruplardaki klinik bulguların dağılımları karşılaştırıldığında EDSS skorları, MSSS değerleri, tedavi ve hastalık süresi bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rs2279590 C/T için HBB görülen Alzheimer hastalarında T alelinin düşük serum trigliserit seviyesi ve yüksek HDL-kolesterol seviyesi ile ilişkili olduğu bulunsa da bu çalışmada rs2279590 C/T SNP genotipleri ile lipit parametreleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (Chen vd., 2020). Bu tez çalışmasında bu SNP ile MS için çevresel risk faktörlerinden olan sigara ve 25-(OH) D₃ seviyesi arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Çizelge 3.19).

4.3.4 *CLU* rs1532278 C/T SNP'sinin etkileri

Bu tez çalışması kapsamında ilk defa çalışılan bu SNP'nin klinik bulgularını kıyaslayacak örnek bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. EDSS skorları, MSSS değerleri, tedavi ve hastalık süresi bakımından rs1532278 C/T genotipleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Serum lipit parametreleri ve 25-(OH) D₃ seviyeleri ile arasında anlamlı bir ilişki bulunmamış olsa da rs1532278 C/T ile bu serum parametreleri arasındaki ilişkinin incelenmesi bu bakımdan ilk olma özelliğine sahiptir. Sigara içme durumu ise resesif modelde CC+CT genotiplilerde TT genotiplilere göre anlamlı derecede daha yüksektir (Çizelge 3.20).

4.4 RRMS Hastalarının Engellilik Durumları ve Progresyon Hızları ile İlişkili Parametreler

Bu tez kapsamında çalışılan *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T, rs1532278 C/T ve diğer deneysel parametreler bir aradayken orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ve hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkileri ikili lojistik regresyon analiziyle incelenmiştir.

Orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ile ilişkili parametrelerin analizinde SNP'ler kodominant, resesif ve dominant model olarak ayrı ayrı incelenmiştir. Bu ikili lojistik regresyon analizlerinde rs11136000 C/T SNP'sinin dominant modelde TT+TC genotipinin CC genotipine kıyasla orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için ≈ 2.7 kat koruyucu olduğu görülmüştür ($P=.04$) (Çizelge 3.23). Ayrıca, yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde dominant modelde rs11136000 TT+TC genotipinin CC genotipine kıyasla hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için 4 kat koruyucu olduğu görülmüştür ($P=.02$). Bu sonuçlar göz önüne alındığında, rs11136000 C/T SNP'si diğer klinik parametrelerle bir arada analiz edildiğinde T alelinin dominant modelde orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ve hızlı MS progresyon riskine (MSSS>5) karşı koruyucu olduğu görülmüştür. Literatürdeki diğer çalışmalarda da Alzheimer hastalığında koruyucu faktör olduğu görülen T alelinin MS için doğrudan bir koruyucu faktör olmasa da hastalığın seyrine etki ettiği görülmektedir. Clusterinin nCLU ifade seviyesini arttıran rs11136000 T alelinin atak tedavisinde reaktif T hücrelerinde apoptotik yolları aktive ederek atak tedavisinin daha etkin ve hızlı bir şekilde sağlanması vasıtasıyla kümülatif engelliliği ve progresyon hızını azaltıyor olabileceği düşünülmektedir (Bier vd., 2021; Szymanski vd., 2011). Yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde rs3087554 T/C SNP'sinin CC genotipinin, TC+TT genotipine kıyasla MS progresyonu ile 3.7 ($P=.04$) (trigliserit ile aynı modelde olduğunda) ve 3.6 ($P=.046$) kat (VLDL-kolesterol ile aynı modelde olduğunda) ilişkili olduğu görülmüştür (Çizelge 3.24). Bu sonuç, rs3087554 T/C'nin C alelinin yalnızca hastalık riski değil hastalığın progresyonu ile de ilişkili olduğunu ve T alelinin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu da göstermektedir (Çizelge 3.24). Bu durum, rs3087554 SNP'sinin T alelinin çözünür epoksit hidrolaz seviyesini azaltmasıyla epoksi yağ asitlerinin seviyesinde artışa neden olması ve epoksi yağ asitlerinin BDNF/TrkB sinyal aracılı nörotrofik yolların aktivasyonu ile nörodejenerasyonu azaltırken NF- κ B

yolağını baskılayarak nöroenflamatuvar süreçleri azaltmasıyla mümkün görünmektedir (Kodani & Morisseau, 2019).

Grup-1’de yapılan analizlerde erkek olmanın kadın olmaya kıyasla kodominant ve dominant modelde orta ila yüksek düzey EDSS riskiyle (EDSS>3) yaklaşık 2.6 kat ilişkili olduğu görülmektedir ($P=.04$). Bu sonuç, erkek RRMS hastalarında EDSS skorlarının kadınlara nazaran daha yüksek olduğu sonucuyla tutarlılık göstermektedir. Daha önce MS’te cinsiyetin rolünü inceleyen çalışmalarda da erkeklerde daha yüksek MS progresyonu ve SPMS fazına daha kısa sürede geçiş olduğu sonuçları da göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmamızda elde edilen sonucun literatür bulgularıyla uyumlu olduğu görülmektedir (Magyari & Koch, 2022; Ribbons vd., 2015). Daha önceki çalışmalarda EDSS skorları ve MSSS değerleri ile arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilen trigliseritin de kodominant ($P=.008$), resesif ($P=.01$) ve dominant modelde ($P=.003$), orta ila yüksek düzey EDSS riskiyle (EDSS>3) ilişkili olduğu görülmektedir (OR \approx 1.6) (Çizelge 3.23). Bu durum, artan trigliserit seviyelerinin metabolik rahatsızlıklara ve lenfoid dokulardaki yağ depoları aracılığıyla immün reaktivasyona sebep olmasından kaynaklanabileceği gibi trigliseritin lökosit aktivasyonuna neden olarak enflamatuvar süreçleri tetiklemesinden de kaynaklanabilir. MS hastalığı ile çok benzer patofizyolojik süreçleri paylaşan NMO hastalarında yapılan çalışmalarda serum trigliserit seviyeleri yüksek olan NMO hastalarının iyileşme süreçlerinin daha kötü geçtiği görülmektedir (Wu vd., 2019). RRMS hastalarının remisyon döneminin kötü geçmesi durumunda EDSS skorlarının artacağı göz önünde bulundurulduğunda artan trigliserit seviyelerinin orta ila yüksek düzey EDSS riskiyle (EDSS>3) ilişkili olmasının literatür bilgileriyle uyumlu olduğu düşünülmektedir (Çizelge 3.23).

Orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ile ilişkili bir diğer parametre de VLDL-kolesterol olarak belirlenmiştir (OR \approx 4.5). Kodominant ($P=.001$), resesif ($P<.001$) ve dominant modelde ($P<.001$) orta ila yüksek düzey EDSS riskiyle (EDSS>3) ilişkili olduğu bulunan VLDL-kolesterol seviyesinin MS hastalarında artan EDSS skorları ile pozitif korele olduğu bilinmektedir (Boshra vd., 2022; Lorincz vd., 2022)(Çizelge 3.23). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, daha yüksek EDSS skorları ile pozitif korelasyon gösteren VLDL-kolesterol seviyesinin yüksek EDSS riski ile ilişkili bulunması tutarlılık göstermektedir.

Hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkili parametrelerin analizinde SNP'ler kodominant, resesif ve dominant model olarak ayrı ayrı incelenmiştir. Daha önceki çalışmalarda MSSS skorları ile arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilen trigliseritin kodominant, resesif ve dominant modelde ($P<.001$) hızlı MS progresyon riskiyle (MSSS>5) ilişkili olduğu görülmüştür (Boshra vd., 2022; Lorincz vd., 2022) ($OR\approx 1.7$). Bu durum, artan trigliserit seviyelerinin lökosit aktivasyonuna neden olarak enflamatuvar süreçleri tetiklemesi nedeniyle bu RRMS hastalarının progresyon hızlarının artmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, NMO hastalarında yapılan çalışmalarda serum trigliserit seviyeleri yüksek olan NMO hastalarının daha kötü bir iyileşme dönemi geçirmeleri gibi RRMS hastalarında da kötü geçen remisyon dönemleri dolayısıyla daha kısa hastalık süresinde daha yüksek engellilik skorlarına ulaşmaya ve daha hızlı bir progresyona neden olabilir (Wu vd., 2019). Bu sonuç, trigliserit ile hızlı progresyon riski arasındaki ilişkiyi de açıklamaktadır (Çizelge 3.24). Hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkili bir diğer parametre de VLDL-kolesterol olarak belirlenmiştir ($OR\approx 3.77$). *CLU* SNP'lerinin kodominant, dominant ve resesif oldukları tüm modellerde hızlı MS progresyon riskiyle (MSSS>5) ilişkili bulunan VLDL-kolesterol seviyesinin MS hastalarında artan MSSS skorları ile pozitif korele olduğu bilinmektedir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, daha yüksek MSSS skorları ile pozitif korelasyon gösteren VLDL-kolesterol seviyesinin hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkili bulunması tutarlılık göstermektedir (Çizelge 3.24).

4.5 Plazma Clusterin Konsantrasyonu ve miRNA Seviyelerinin RRMS ile İlişkileri

4.5.1 Plazma clusterin konsantrasyonunun RRMS ile ilişkileri

Başta beyin olmak üzere neredeyse tüm memeli dokularında bulunan clusterin, plazmada da mevcut olup başta Alzheimer olmak üzere farklı hastalıklarda biyobelirteç adayı olarak çalışılmıştır (Thambisetty vd., 2013; Vranová vd., 2010; Woody & Zhao, 2016; Xing vd., 2012). Yetişkin MS hastalarında daha önce çalışılmamış olan plazma clusterin konsantrasyonunun, MS ile benzer patofizyolojiye

sahip nörodejeneratif veya otoimmün hastalıklarda plazma ve serumdaki seviyelerinin sonuçları Çizelge 4.6’da özetlenmiştir.

Çizelge 4.6: Farklı hastalıklarda yapılan çalışmalarda plazma clusterin konsantrasyonlarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

Hastalık	Plazma Clusterin Konsantrasyonu				P	Referans
	Hasta (µg/mL)	N	Kontrol (µg/mL)	N		
RRMS	Naif: 59.09 ± 16.52	30	52.38 ± 20.77	30	.16	Bu çalışma
	Tedavi: 59.85 ± 15.44	30				
MS*	58.0 ± 7.0	9	45.4 ± 6.1	9	<.05	Rithidech vd., 2009
Parkinson	0.11 ± 0.39	104	0.10 ± 0.03	69	.01	Lin vd., 2020
Alzheimer	193.6 ± 58.2	154	178.6 ± 52.3	142	<.05	Gemma vd., 2013
Alzheimer	33.3 ± 3.9	127	33.3 ± 4.8	171	>.05	Silajdzic vd., 2012
Alzheimer	42.2 ± 15.0	70	40.5 ± 12.8	50	.18	Dukic vd., 2016
Alzheimer	248.6 ± 37.9	322	243.8 ± 35.9	88	.29	Hsu vd., 2017
Alzheimer	65.4 ± 28.3	34	130.2 ± 108.7	19	.002	Vishnu vd., 2016
Alzheimer	162.7 ± 10.0	104	167.0 ± 13.4	104	.01	Xing vd., 2012
Alzheimer	158.5 ± 45.3	67	161.5 ± 47.6	191	.07	Schürmann vd., 2011
SLE	99.5 ± 15.3	21	85.6 ± 28.3	20	.30	Pinna vd., 2017
RA	70.9 ± 32.8	20	85.6 ± 28.3		.40	

*: Çalışmada pediyatrik MS hastaları bulunmaktadır. SLE: Sistemik Lupus Eritematozus. RA: Romatoid Artrit

Bu çalışmalarda gruplar arasında anlamlı farklılığın izlendiği durumlarda bir çalışma hariç (Vishnu vd., 2016) plazma clusterin konsantrasyonunun Alzheimer hastalarında kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Gemma vd., 2013; Xing vd., 2012). Parkinson ve pediyatrik MS’te yapılan çalışmalarda da plazma clusterin konsantrasyonunun hasta gruplarında daha yüksek olduğu görülmektedir (Lin vd., 2020; Rithidech vd., 2009). Bununla birlikte, Alzheimer, sistemik lupus eritematozus (SLE) ve romatoid artrit (RA) yapılan çalışmalarda hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını gösteren bulgular da literatürde mevcuttur (Dukic vd., 2016; Hsu vd., 2017; Pinna vd., 2017; Schürmann vd., 2011; Silajdzic vd., 2012).

Bu tez kapsamında plazma clusterin konsantrasyonu ilk defa yetişkin RRMS hastalarında çalışılmış olup naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde plazma clusterin konsantrasyonları belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Daha önce yalnızca pediyatrik MS hastalarında yapılan bir çalışmada belirlenmiş olan plazma clusterin konsantrasyonunun, pediyatrik MS hastalarında kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Rithidech vd., 2009). Bunu haricinde, MS ile clusterin arasındaki ilişkinin incelendiği ilk çalışmada MS hastalarının BOS’unda clusterin konsantrasyonu ölçülmüş olup MS hastalarının BOS’unda clusterin seviyesinin

kontrollere göre daha fazla olduğu görülmüştür (Polihronis vd., 1993). Bu tez çalışmasında ise naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında plazma clusterin konsantrasyonları bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Buna karşın, lojistik regresyon analizlerinde plazma clusterin konsantrasyonunun, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri, cinsiyet, istihdam, sigara ve *CLU* SNP'leri ile bir arada olduğunda tedavi alan RRMS olma durumuyla ilişkili olduğu görülmüştür (OR=1.06, P=.03).

4.5.2 Plazma miRNA rölatif ekspresyon seviyeleriyle RRMS arasındaki ilişkiler

Kan, BOS, göz yaşı, idrar gibi pek çok vücut sıvısında da bulunabilen ve kan dolaşımında stabil kalabilen miRNA'lar daha önce de belirtildiği üzere pek çok hastalıkta tanısallık, terapötik ve prognostik biyobelirteç adayı olarak çalışılmışlardır (Kacperska vd., 2016). Tanı ve takibinde güvenilir biyobelirteçlere ihtiyaç duyulan MS'te odak konusu olan miRNA'ların MS ile ilişkilerini araştıran çalışmalar literatürde mevcuttur (Kacperska vd., 2015; Søndergaard vd., 2013; Zailaie vd., 2022). Serum ve plazma örnekleriyle yapılan çalışmalarda RRMS ile ilişkili bulunmuş olan miRNA'lar Çizelge 4.7'de sunulmuştur.

Çizelge 4.7: Literatürde serum veya plazmada RRMS ile ilişkili bulunan miRNA'lar.

Gruplar	Numune	miRNA	Sonuç	Referans
RRMS vs. Kontrol	Plazma	miR-22-5p, miR-30e-5p, miR-140-3p, miR-210-5p, miR-500-5p miR-574-3p	↑	Gandhi vd., 2013
SPMS vs. RRMS	Plazma	miR-92a-1, miR-135a-5p, miR-454-5p	↑	
RRMS* vs. Kontrol	Serum	miR-122-5p, miR-196b-5p	↓	Selmaj vd., 2017
RRMS** vs. Kontrol	Serum	miR-122-3p	↓	
RRMS vs. Kontrol	Serum	miR-15b-5p, miR-30b-5p, miR-451a-5p, miR-342-3p	↑	Ebrahimkhani vd., 2017
RRMS vs. Kontrol	Serum	miR-155-5p, miR-301a-5p	↑	Niwald vd., 2017
	Serum	miR-326-5p	↓	
RRMS vs. Kontrol	Serum	miR-572-5p	↓	Mancuso vd., 2015
RRMS vs. Kontrol	Serum	miR-223-5p, miR-23a-5p, miR-15b-5p	↓	Ridolfi vd., 2013
RRMS vs. Kontrol	Plazma	miR-145-5p	↑	Søndergaard vd., 2013
RRMS vs. Kontrol	Serum	miR-191-5p, miR-24-3p	↑	Vistbakka vd., 2018
RRMS vs. Kontrol	Plazma	miR-20-5p	↑	Balkan & Bilge, 2021
		miR-26-5p, miR-155-5p	↓	

↑: miRNA rölatif ekspresyon seviyesi artmıştır. ↓: miRNA rölatif ekspresyon seviyesi azalmıştır. *: Atak fazındaki hastalarla çalışılmıştır. **: Remisyon fazındaki hastalarla çalışılmıştır.

Çizelge 4.7'deki miRNA'ların her biri, birçok gen ve/veya moleküler yolağı düzenlemektedir. Literatürden elde edilen bu bulguları değerlendirmek için bahsi geçen miRNA'ların hedef genleri veya etkiledikleri yolaklar Çizelge 4.8'de özet olarak sunulmuştur. Bununla birlikte, bu miRNA'ların etkiledikleri diğer genler veya moleküler yolaklar bu kapsamın dışında tutulmuş olup yalnızca yayınlardan elde edilen sonuçlara açıklık getirilmeye çalışılmıştır.

MS'te hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmiş önemli bir T hücre alt grubu olan Th17 hücreleri, miyelin proteinlerine yanıt vererek enflamasyonu ve nöronal hasarı arttırmaktadır (Mirshafiey & Jadidi-Niaragh, 2011). Çizelge 4.7'de bulunan miR-574-3p, miR-326-5p, miR-223-5p, miR-15b-5p, miR-145-5p ve miR-26-5p Th17 farklılaşmasında rol almaktadırlar (Ehtesham vd., 2017; Niwald vd., 2017; Ridolfi vd., 2013; Sharaf-Eldin vd., 2017; Søndergaard vd., 2013; Xu vd., 2016; Zanoni vd., 2020). Plazmadaki rölatif ekspresyonu RRMS hastalarında, kontrollerden daha yüksek olduğu belirlenen miR-574-3p, *SMAD4* ifade seviyesini düzenleyerek TGF- β sinyalizasyonu aksayan naif T hücrelerinin, Th17 hücrelerine dönüşümünü indüklemektedir (Gandhi vd., 2013; Xu vd., 2016). *SMAD4* ile aynı aileden olan *SMAD3*'ün ifade seviyesini düzenleyen miR-326-5p ve miR-145-5p de Th17 hücre farklılaşmasını arttırmakta olup dolaşımdaki ifade seviyelerinin RRMS hastalarında arttığı görülmüştür (Ehtesham vd., 2017; Niwald vd., 2017; Sharaf-Eldin vd., 2017; Søndergaard vd., 2013). *RORC* geninin ifade seviyesini düşürerek Th17 hücre farklılaşmasını azaltan miR-15b-5p ise daha koruyucu bir rolde olup, serumdaki ifade seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha düşük olduğu görülmüştür (Ridolfi vd., 2013; Zanoni vd., 2020). Th17 farklılaşmasını, *IL17* ifade seviyesini düzenleyerek azaltan miR-26-5p'nin de plazmadaki ifade seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha düşük olduğu görülmektedir (Balkan & Bilge, 2021). *STAT1* geninin ifade seviyesini düzenleyerek Th17 hücrelerinin oluşumunu destekleyen miR-223-5p'nin serumdaki rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha düşük olduğu görülse de PKMH'lerde rölatif ekspresyon seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (Ridolfi vd., 2013; Zanoni vd., 2020).

Çizelge 4.8: Literatürde serum veya plazmada RRMS ile ilişkili bulunan miRNA'ların hedefleri ve MS ile ilişkileri.

miRNA	Hedefleri (Gen-Yolak)	Etkisi	Referanslar
miR-22-5p	<i>BTG1</i>	B hücrelerinin çoğalmasını engelleyip mikroglia hücrelerinin nitrik oksit hasarına olan dirençlerini azaltmaktadır.	Zanoni vd., 2020
miR-30e-5p	<i>MAPK8, PIK3R2</i>	PI3K/Akt/MTOR yolağını düzenleyerek T hücreleri ile dendritik hücreler arasındaki ilişkiye etkiler. Bu yolağı bastırarak otoimmün süreçleri arttırır.	Erkal & Korkut, 2022; Luo vd., 2020
miR-140-3p	<i>SIRT1, SF</i>	Enflamatuvar sitokinlerin salınımını baskılayan bu genlerin ifade seviyesini azaltarak enflamasyonu tetikler.	Luo vd., 2020
miR-210-5p	<i>STAT5A</i>	<i>STAT5A</i> 'yı baskılayarak TGF- β kaynaklı STAT3 sinyal yolağını indükler ve MSS'ye immün hücrelerinin infiltrasyonun artmasını destekler.	Gandhi vd., 2013
miR-500-5p	<i>ESR</i>	Er α /Er β 'yi baskılayarak Th1/Th2 dengesinin bozulmasına ve T hücrelerinde IFN- γ gibi enflamatuvar sitokinlerin salınmasına yol açar.	Maddalon vd., 2022
miR-122-5p	<i>SOCS1</i>	SOCS1/STAT3 sinyal yolağı üzerinden MSS'deki mikroglia, makrofaj ve astrositlerin aktive edilmesiyle ilişkilidir.	Liu vd., 2021
miR-196b-5p	<i>PTPRC</i>	B ve T hücre sinyalizasyonlarını yönetir, bu hücrelerin gelişim dönemlerinde rol alır.	Selmaj vd., 2017; Takuma vd., 2017
miR-122-3p	MAPK yolağı	T hücrelerinin aktivasyonlarında etkili olan genlerin ifade seviyesini azaltır.	Chen vd., 2020
miR-30b-5p	<i>SEMA3A</i>	<i>SEMA3A</i> ifadesini düzenleyerek Nörotrofin/Trk yolağı üzerinden nöronal rejenerasyonu destekler.	Chen vd., 2017
miR-451a-5p	<i>TBL1XR1</i>	MAPK sinyal yolağını düzenleyen <i>TBL1XR1</i> gen ifadesine etki ederek T hücrelerinin aktivasyonunu etkiler.	Mastrototaro vd., 2021; Nuzziello vd., 2020
miR-342-3p	<i>RICTOR</i>	<i>RICTOR</i> geninin ifadesini düzenleyerek T _{reg} hücrelerinin metabolik programlamasını ve glukokortikoidlere yanıtını düzenler.	Kim vd., 2020
miR-92a-1	CD40 yolağı	Naif CD4 ⁺ T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalmasıyla ilişkilidir.	Zanoni vd., 2020
miR-135a-5p	JAK2/STAT3	JAK2/STAT3 yolağı üzerinden Th17 hücreleri aracılığı ile proenflamatuvar sitokinlerin salınımını indükler. Th1/Th2 dengesini bozmaktadır.	Conti vd., 2012
miR-454-5p	<i>PDK1</i>	T _{reg} hücrelerinin hücrel stresinin artmasına neden olup otoimmün süreçlerin başlamasını destekler.	Fang vd., 2015; Feng vd., 2021
RRMS hastalarında serum veya plazmada ifade seviyesi değişen miRNA'ların MS'te muhtemel biyolojik işlevleri. Er: Östrojen reseptörü.			

Çizelge 4.8 (Devamı). Literatürde serum veya plazmada RRMS ile ilişkili bulunan miRNA'ların hedefleri ve MS ile ilişkileri.

miRNA	Hedefleri (Gen-Yolak)	Etkisi	Referanslar
miR-574-3p	<i>SMAD4</i>	<i>SMAD4</i> ifade seviyesini düzenleyerek, TGF- β sinyalizasyonunun düzgün çalışmadığı durumda naif T hücrelerinin Th17 hücrelerine dönüşümünü indükler.	Xu vd., 2016
miR-155-5p	<i>SOCS1, SHIP1, TAB2</i>	<i>SOCS1, SHIP1</i> gibi sitokin sinyalizasyonunun negatif regülatörlerinin ifade seviyesini azaltarak enflamatuvar süreçleri artırır, <i>TAB2</i> aracılığı ile NF- κ B sinyalizasyonunu düzenler.	Tili vd., 2009
miR-301a-5p	<i>CXCL12, STAT3</i>	MSS'ye immün hücrelerin girmesini engelleyen <i>CXCL12</i> 'nin ifade seviyesini azaltır, ayrıca <i>STAT3</i> ifadesini düzenleyerek enflamatuvar süreçlerin artmasına neden olur.	Petkovic vd., 2013; Shen vd., 2020
miR-326-5p	<i>ETS-1, SMAD3</i>	Th17 hücre farklılaşmasını destekler ve <i>CD47</i> ifadesini baskılayarak makrofajların miyelin hasarını arttırmasına neden olur.	Sharaf-Eldin vd., 2017
miR-572-5p	<i>NCAM</i>	Nöronal hasarın iyileşmesinde görev alır remiyelinizasyon süreçlerini destekler.	Mancuso vd., 2015
miR-223-5p	<i>STAT1, NLRP3,</i>	<i>STAT1</i> aracılığı ile Th17 hücrelerini artırıp T_{reg} hücrelerini azaltırken <i>NLRP3</i> 'ün ifade seviyesini azaltarak enflamatuvar mekanizmaları önler.	Zanoni vd., 2020
miR-23a-5p	<i>FGF2</i>	Kronik ve aktif MS lezyonlarında ifade edilmektedir. Ayrıca nöron ve oligodentrositlerin farklılaşmasında rol alır.	Zanoni vd., 2020
miR-15b-5p	<i>RORC</i>	NF- κ B ifadesinin azalmasına neden olur, <i>RORC</i> genini baskılayarak Th17 farklılaşmasını azaltır.	Zanoni vd., 2020
miR-145-5p	<i>SMAD3, SPI</i>	TGF- β sinyalizasyonuna etki ederek Th17 hücre farklılaşmasına neden olur.	Ehtesham vd., 2017; Sharaf-Eldin vd., 2017
miR-191-5p	<i>IRS1, BDNF</i>	<i>IRS1</i> aracılığıyla sitokin bağımlı naif, hafıza ve T_{reg} hücrelerinin metabolizmasını düzenler, <i>BDNF</i> 'i baskılayarak nöroenflamasyonu artırırken nöroprotektif süreçlere engel olur.	Vistbakka vd., 2018
miR-24-3p	<i>IFN-γ, IL17RA</i>	<i>IFNG</i> ifade seviyesini düzenleyerek Th1 hücreleri üzerinde düzenleyici role sahiptir,	Vistbakka vd., 2018
miR-20a-5p	<i>TIMP2</i>	MMP-2'nin negatif regülatörü olan <i>TIMP2</i> 'nin ifade seviyesini azaltmaktadır. MMP-2 inhibisyonundan kurtulur ve KBB bütünlüğü sağlanır.	Ehtesham vd., 2017; Zanoni vd., 2020
miR-26-5p	<i>IL23/IL17</i>	Naif T hücrelerinin dönüşümünde rol oynayan sitokinleri hedefleyen miRNA'nın ifade seviyesinin azalmasıyla Th17 farklılaşması artmaktadır	Balkan & Bilge, 2021
RRMS hastalarında serum veya plazmada ifade seviyesi değişen miRNA'ların MS'te muhtemel biyolojik işlevleri.			

Yardımcı T hücre alt popülasyonlarından Th1 hücreleri proenflamatuvar sitokinlerin salınımını desteklerken Th2 hücreleri ise antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını desteklemektedir. Bu yüzden, Th1/Th2 dengesinin bozulması MS'te önemli bir rol oynamaktadır (Oreja-Guevara vd., 2012). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde miR-500-5p, miR-135a-5p ve miR-24-3p'nin Th1/Th2 dengesini Th1 yönüne doğru bozduğu görülmektedir (Conti vd., 2012; Maddalon vd., 2015; Vistbakka vd., 2018). Plazmada rölatif ekspresyon seviyesinin kontrollere göre daha yüksek olduğu gözlemlenen miRNA'lardan miR-135a-5p, Janus Kinaz 2/Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3 (JAK2/STAT3) yolağı üzerinden Th1 hücre popülasyonunu arttırmaktadır (Conti vd., 2012). Plazmada rölatif ekspresyon seviyesinin kontrollere göre daha yüksek olduğu gözlemlenen miR-500-5p ise *ESR* geninin ifadesini düşürerek Th2 hücre popülasyonu azaltıp Th1/Th2 dengesinin bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (Maddalon vd., 2022). *IFNG* ifade seviyesini düzenleyen miR-24-3p ise Th1 hücre popülasyonunu etkilemekte olup RRMS hastalarının serumlarındaki rölatif ekspresyon seviyesinin kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Vistbakka vd., 2018).

T_{reg} hücreleri, immün sistemin düzenleyici unsurları olup enflamasyonu baskılayarak otoimmünitinin artmasını engellemektedirler (Kimura, 2020). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde RRMS hastalarının serumlarında kontrollere nazaran daha yüksek seviyede ifade edilen miR-342-3p'nin *RICTOR* geninin ifade seviyesini azaltarak T_{reg} hücrelerinin metabolik programlamasını negatif yönde düzenlenmesine ve bu hücrelerin popülasyonunun azalmasına yol açtığı görülmüştür (Ebrahimkhani vd., 2017; Kim vd., 2020). Benzer bir rolde olan ve RRMS hastalarının serumlarında kontrollere göre daha yüksek seviyede ifade edilen miR-454-5p ise *PDK1* genini hedef alarak T_{reg} hücrelerinin hücrel stres seviyesinin artmasına ve T_{reg} popülasyonunun azalmasına neden olmaktadır (Ebrahimkhani vd., 2017; Fang vd., 2015; Feng vd., 2021).

Periferde enflamatuvar süreçleri aktive eden mekanizmalar otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Barkhane vd., 2022). MS ile ilişkilendirilmiş miRNA'lardan olan miR-155-5p, *SOCS1* ve *SHIP1* gibi sitokin sinyalizasyonunun negatif regülatörlerini baskılayarak enflamatuvar süreçleri arttırmaktadır. Benzer bir rolde olan miR-140-3p de enflamatuvar sitokinlerin salınımını baskılayan *SIRT1* ve

SF-1 genlerinin ifade seviyesini azaltarak enflamasyonu arttırmaktadır (Tili vd., 2009). Birden çok T hücre popülasyonu üzerinde etkili olan miR-191-5p ise *IRSI* geni aracılığı ile naif ve regülatör T hücrelerinin metabolizmasını düzenlemektedir (Vistbakka vd., 2018). Periferde enflamatuvar süreçleri aktive ederek hastalık aktivitesini arttıran bu miRNA'lara ilave olarak miR-122-5p de *SOCS1* geninin ifade seviyesini azaltmaktadır. Normal koşullarda *STAT3*'ün negatif bir regülatörü olarak görev alan *SOCS1* geninin ifade seviyesinin azalması ile *STAT3* ifade seviyesi artmakta ve bu durum nöroenflamasyonu arttırarak MSS'deki mikroglia, makrofaj ve astrositlerin aşırı aktive olmasına neden olmaktadır. Bu miRNA'lardan miR-155-5p ve miR-191-5p'nin serumda, miR-140-3p'nin ise plazmadaki rölatif ekspresyon seviyesinin kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Gandhi vd., 2013; Niwald vd., 2017; Vistbakka vd., 2018). Buna karşın, serum miR-122-5p seviyesinin atak ve remisyon fazındaki RRMS hastalarında kontrollere göre daha düşük olduğu görülmüştür (Selmaj vd., 2017).

MS'in patogenezinde önemli bir rol oynayan B hücrelerinin kontrolsüz gelişimi ve çoğalmalarını baskılamakta görevli bir gen olan *BTG1*, miR-22-5p'nin hedeflerinden biridir (Zanoni vd., 2020). Gandhi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, miR-22-5p'nin RRMS hastalarının plazmalarında kontrollere göre daha yüksek rölatif ekspresyon seviyesine sahip olduğu görülmüştür (Gandhi vd., 2013).

MS'in patogenezinde immün sistem hücreleri arası etkileşimler de rol oynamaktadır. Plazmadaki rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS hastalarında, kontrollere göre daha yüksek olduğu tespit edilen miR-30e-5p, *MAPK8* ve *PIK3R2* genlerinin ifade seviyesini azaltarak T hücreleri ve dendritik hücreler arası iletişimi bozmakta ve otoimmün süreçleri arttırmaktadır (Erkal & Korkut, 2022; Gandhi vd., 2013; Luo vd., 2020). RRMS hastalarının serumlarındaki rölatif ekspresyon seviyesi kontrollere göre daha düşük olan miR-196b-5p ise *PTPRC* geninin ifade seviyesini düzenleyerek T ve B hücreleri arası sinyalizasyonlara etki etmektedir (Selmaj vd., 2017; Takuma vd., 2017).

MS patogenezinde ve progresyonunda, periferde başlayan süreçler KBB'nin yıkımı ile MSS'de devam etmektedir (Greiner & Kipp, 2021). Bu yüzden, KBB'nin yıkımı ve immün hücrelerin MSS'ye geçişi ile ilişkili süreçler de hastalığın ortaya çıkmasıyla ve hastalık aktivitesiyle ilişkilidir. Normal koşullarda KBB'nin bütünlüğünü sağlayan

faktörlerden olan *CXCL12*, miR-301a-5p'nin hedeflerinden olup bu miRNA aracılığı ile ifade seviyesi azalmakta ve bu durum KBB'ye immün hücrelerin girişini kolaylaşmaktadır (Petkovic vd., 2013; Shen vd., 2020). Niwald ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miR-301a-5p'nin serum rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Niwald vd., 2017). Benzer bir role sahip olan miR-20-5p ise *MMP2*'nin negatif regülatörü olan *TIMP2*'yi hedef alarak ifade seviyesini azaltır ve KBB'nin bütünlüğünü sağlayan *MMP2*'nin ifade seviyesinin artmasını sağlar (Balkan & Bilge, 2021; Huang vd., 2016). Balkan ve Bilge'nin çalışmasında plazma rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüş olsa da bu durumun, çalışmadaki RRMS hastalarının tedavi almalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Balkan & Bilge, 2021). Gandhi ve arkadaşlarının çalışmasında plazmadaki rölatif ekspresyon seviyesinin arttığı belirlenen miR-210-5p ise *STAT5A* ifade seviyesini azaltıp TGF- β kaynaklı *STAT3* yolağını aktive ederek MSS'ye infiltrasyonu arttırmaktadır (Gandhi vd., 2013).

RRMS hastalarında atak sonrası remisyon dönemlerinde tam veya tama yakın iyileşmeler görülebilmektedir. Bu süreçte alınan tedavilerle birlikte remiyelinizasyon ve nöral rejenerasyon süreçleri başlamaktadır (Berkovich, 2013; Sevim, 2016). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde serumdaki seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha yüksek olduğu görülen miR-30b-5p'nin *SEMA3A* ifade seviyesini baskılayarak nöral rejenerasyonu dolaylı olarak desteklediği düşünülmektedir (Chen vd. 2017; Ebrahimkhani vd., 2017). Serumdaki ifade seviyesinin kontrollere göre daha düşük olduğu tespit edilen miR-572-5p'nin atak döneminde serumdaki ifade seviyesinin arttığı görülmüş olup bu miRNA'nın hedeflerinden birisi remiyelinizasyonda görevli *NCAM* genidir. miR-572-5p'nin *NCAM* seviyesini RRMS hastalığının farklı dönemlerinde düzenleyerek nöral rejenerasyonu dolaylı olarak etkilediği düşünülmektedir (Mancuso vd., 2015). Nöral rejenerasyonla ilişkili olduğu düşünülen bir diğer miRNA da miR-23a-5p olup serumdaki rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS hastalarında kontrollere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Ridolfi vd., 2013). miR-23a-5p'nin hedeflerinden olan *FGF*, makrofaj/mikroglia aktivasyonunu artırırken remiyelinizasyonu negatif yönde etkilemektedir. Ridolfi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada serumda rölatif

ekspresyon seviyesinin azalmış olduğu tespit edilen miR-23a-5p'nin seviyesindeki düşüş nedeniyle *FGF*'nin inhibisyonundan kurtulduğu ve hastalık aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir (Ridolfi vd., 2013; Zanoni vd., 2020).

Bu anlamlı sonuçların özetlendiği araştırmalar haricinde RRMS ile ilişkisi çalışılan fakat anlamlı bir sonuç elde edilmeyen miRNA'ların da olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Literatürden elde edilen bu sonuçlar, miRNA'ların hastalığın ortaya çıkmasında farklı mekanizmalar ve yolaklar üzerinden farklı şekillerde etki ettiği görülmektedir.

4.5.2.1 Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS ile ilişkisinin incelenmesi

Bu tez çalışmasında, naif RRMS hastalarının plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin (12.01 ± 18.10) hem kontrollerden (1.51 ± 1.13) hem de tedavi alan RRMS hastalarından (2.15 ± 2.49) daha yüksek olduğu görülmüştür (tedavi alan RRMS vs. naif RRMS: $P=.007$; naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$). Tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında ise plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bakımından anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 3.26). MS'te miR-21-5p'nin rolünü aydınlatmak amacıyla EAE modelinde yapılan çalışmalarda *MIR21*^{-/-} farelerde hastalığa direncin arttığı ve nöronal hasarın azaldığı görülmektedir (Al-Ghezi vd., 2019). Bu durum, miR-21-5p'nin hedeflerinden biri olan PPAR α 'nın miR-21-5p seviyesinin azalması sayesinde post transkripsiyonel baskılanmadan kurtulmasıyla açıklanmaktadır. Baskılanmadan kurtulan PPAR α , nörotrofik faktörlerden olan BDNF ve gliyal hücre türevli nörotrofik faktörün (glial cell line derived neurotrophic factor; GDNF) ifadesini arttırıp NF- κ B gibi diğer nöroinflamatuvar faktörleri baskılayarak nöroprotektif görevini yerine getirebilmektedir (Juźwik vd., 2019). Daha önce MS hastalarında yapılan bir çalışmada hastalar kontrast tutan lezyon bulunduran ve bulundurmayan olarak ikiye ayrıldığında, plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bakımından gruplar arasında bir fark bulunmasa da kontrast tutan lezyon bulunduran hastaların BOS'unda miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin arttığı görülmüştür (Munõz-San Martín vd., 2019). Ayrıca, RRMS hastalarının atak ve remisyon dönemlerinde PKMH'deki seviyeleri incelendiğinde miR-21-5p'nin atak döneminde, remisyona göre daha yüksek seviyede olduğu görülmüş olup miR-21-

5p'nin hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Baulina vd., 2018). Yine PKMH ile yapılan bir çalışmada RRMS hastalarında, kontrollere göre miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin daha yüksek olduğunun görülmesi, miR-21-5p'nin hastalık riskiyle de ilişkili olduğunu göstermektedir (Fenoglio vd., 2011). RRMS hastalarının plazma örnekleriyle yapılan bir çalışmada ise miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS ve kontrol grubu arasında farklı olmadığı görülmüştür. Patofizyolojisi MS ile benzerlik gösteren Alzheimer, sedef hastalığı, SLE ve tip-1 diyabet (T1D) hastalıklarıyla ilişkisinin incelendiği çalışmalarda plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin hastalarda kontrollere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Allawe vd., 2022; Chen vd., 2021; Giuliani vd., 2021; Su vd., 2018). MS hastalarında miR-21-5p ifade seviyesinde görülen artışın, hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynayan oksidatif stres ve Th17 hücre farklılaşmasında görev alan TGF- β ile ilişkili olduğuna dair bulgular literatürde mevcuttur (Cheng vd., 2009; Li vd., 2021). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, kardiyak miyosit hücrelerinde oksidatif hasar oluşturulduğunda miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Cheng vd., 2009). Li ve arkadaşlarının çalışmasında ise karaciğer fibröz dokularında TGF- β 'nin indüklendiği durumda bu dokulardaki miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Li vd., 2021). Bu bulgular, MS hastalarında miR-21-5p'nin ifade seviyesinin artmasına açıklık getirmektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre naif RRMS hastalarının plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylere göre anlamlı ölçüde arttığı görülmektedir. Patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı MS'te oksidatif hasar özellikle kontrast tutan lezyon alanlarındaki aktif demiyelinizasyon ve aksonal hasarın görüldüğü bölgelerdir (Ohl vd., 2020). Ayrıca, Cheng ve arkadaşlarının çalışmasında oksidatif stres ile miR-21-5p ifade seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Cheng vd., 2009). Dolayısıyla, bu tez çalışmasındaki naif RRMS hastalarının %70'inde kontrast tutan lezyon bulunmasının da bu hastalardaki yüksek miR-21-5p ifade seviyesine neden olması muhtemeldir. Her ne kadar tedavi yanıtı ile ilişkilendirilecek bir deney dizaynına sahip olunmasa da tedavi alan RRMS hastalarının plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin naif RRMS hastalarından anlamlı derecede daha düşük olduğunun tespit edilmesi, diğer çalışmalarda hastalık aktivitesinin azalmasıyla düşen miR-21-5p seviyelerinin bizim çalışmamızda da tespit edildiğini göstermektedir (Baulina vd., 2018). Tedavi alan RRMS hastaları ile kontrol grubu arasında miR-21-

5p rölatif ekspresyon seviyesi bakımından fark bulunmaması da bu durumun bir göstergesidir (Çizelge 3.26).

Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin diğer parametrelerle birlikte naif RRMS veya tedavi alan RRMS olma durumu ile olan ilişkileri de bu tez kapsamında çalışılmıştır (Çizelge 3.44, Çizelge 3.45). Yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde miR-195-5p, cinsiyet, istihdam, sigara ve *CLU* SNP'leri ile bir arada olduğu durumda miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesindeki yükselmenin naif RRMS olma durumuyla ilişkili olduğu görülmüştür (OR=1.87, $P=.01$). Benzer şekilde, tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastalarında kıyaslandığında ise miR-195-5p, cinsiyet, istihdam, sigara ve *CLU* SNP'leri ile bir arada olduğu durumda miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin artışının naif RRMS olma durumuyla ilişkili olduğu görülmüştür (OR \approx 1.3) (Çizelge 3.49). Bu durum, yukarıda elde edilen sonuçlarla da uyum göstermektedir. Gerçekleştirilen ROC analizleri neticesinde plazma miR-21-5p'nin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyleri sınıflandırmada orta düzeyde bir prediktör olabileceği tespit edilmiştir (AUC=0.789, $P<.001$, %95 CI= 0.68-0.89) (Çizelge 3.49). Ayrıca, miR-21-5p'nin tedavi alan ve naif RRMS hastalarının sınıflandırılmasında da orta düzeyde bir prediktör olabileceği görülmüştür (AUC=0.734, $P=.002$, %95 CI= 0.61-0.86) (Çizelge 3.49).

Bu tez çalışması kapsamında incelenen miR-21-5p'nin deneysel olarak kanıtlanmış hedeflerinden birisi de clusterin mRNA'sıdır (Mydlarz vd., 2014). Daha önce hamile kadınlarda yapılan bir çalışmada miR-21-5p'nin plazmadaki ekspresyon seviyesi arttığında plazma clusterin konsantrasyonunun anlamlı ölçüde azaldığı görülmüştür (Timofeeva vd., 2021). Buna karşın, bu tez çalışmasında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ve plazma clusterin konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür ($\sigma=.436$, $P=.02$) (Çizelge 3.28). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, Reale ve arkadaşlarının çalışmasında IL-1 β 'nin RRMS hastalarının serum ve BOS'larında kontrollere göre daha yüksek seviyede ifade edildiği görülmüştür (Reale vd., 2012). EAE modellerinde yapılan çalışmalarda da IL-1 β sentezleyemeyen farelerin daha az atak geçirdiği ve ataklarının daha hafif geçtiği görülmüştür (Lin & Edelson, 2018). Proenflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β 'nin aynı zamanda oksidatif stresi ve reaktif oksijen türlerinin salınımını arttırdığı bilinmektedir (Liu vd., 2021). Ayrıca, hücrel stres ve hasar durumlarında clusterinin salgılanan

formu olan sCLU'nun ifade seviyesini IL-1 β 'nin arttırdığı görülmüştür (Matta vd., 2020). Oksidatif stres gibi hücrel stres durumunda *CLU* geninin de ifade seviyesi artış göstermektedir (Jones & Jomary, 2002). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, MS hastalarında salınımı artan IL-1 β 'nin clusterin proteinin seviyesini de oksidatif stres aracılığı ile indüklediği düşünülmektedir. Bunlara ilave olarak, RRMS hastalarında hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu belirlenen miR-21-5p'nin EAE modelinde yapılan çalışmalarda Th17 hücre popülasyonunu arttırdığı görülmüştür (Baulina vd., 2018; Murugaiyan vd., 2015). Li ve arkadaşlarının çalışmasında, karaciğer fibröz dokularında TGF- β 'nin indüklendiği durumda bu dokulardaki miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Li vd., 2021). Th17 hücre dönüşümünde de aktif rol oynayan TGF- β 'nin naif RRMS hastalarında görülen yüksek miR-21-5p seviyesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Ehtesham vd., 2017; Sharaf-Eldin vd., 2017). Ayrıca, kardiyak miyosit hücrelerinde oksidatif hasar oluşturulduğunda da miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Cheng vd., 2009). MS hastalarında demiyelinizasyonun ve aksonal hasarın göstergesi olan kontrast tutan lezyonlarda, başta aktive olan mikroglialar ve makrofajlar tarafından olmak üzere reaktif oksijen türlerinin salınımının arttığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında da naif RRMS hastalarının %70'inde kontrast tutan lezyon bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.25). Bu durumun da naif RRMS hastalarında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin daha yüksek olmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Bu bulgular, MS'in patofizyolojisinde önemli bir rol oynayan oksidatif stresin hem clusterin proteininin hem de miR-21-5p'nin ifade seviyesinin artmasında etmen olduğunu göstermektedir. Bu yüzden, plazma clusterin konsantrasyonunun ve miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin, aralarındaki ilişkiden bağımsız olarak, enflamatuvar süreçlerin ve hastalık aktivitesinin görece daha yüksek olduğu naif RRMS hastalarında yükselmiş oldukları ve bundan dolayı aralarında pozitif korelasyon ilişkisi tespit edildiği düşünülmektedir.

Bunların yanı sıra dikkat çekici bir diğer sonuç da naif RRMS hastalarında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ve VLDL-kolesterol arasında pozitif bir korelasyon görülmesidir ($\sigma=.468$, $P=.01$) (Çizelge 3.28). Daha önce RA hastalarıyla yapılan bir çalışmada da VLDL-kolesterol ve plazma miR-21-5p seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür (Andonian vd., 2019). Bu durumun, miR-

21-5p'nin hedeflerinden 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktaz (HMG-KoA Redüktaz) sentezleyen *HMGCR* genini baskılayarak kolesterol seviyelerini düzenlemesinden kaynaklanmış olabileceği öngörülmektedir (Sun vd., 2015). Ayrıca, bu tez kapsamında çalışılan bir diğer miRNA olan miR-195-5p ile miR-21-5p arasında tüm gruplarda pozitif korelasyon görülmesi bu miRNA'ların hem hastalıkta hem de normal fizyolojik koşullarda birbirleriyle ilişkili olabileceğine işaret etmektedir (naif RRMS: $\sigma=.362$, $P=.049$; tedavi alan RRMS: $\sigma=.745$; $P<.001$; kontrol: $\sigma=.455$; $P=.01$) (Çizelge 3.28, Çizelge 3.29 & Çizelge 3.30). Bununla birlikte, literatürde bu iki miRNA'nın bir arada incelendiği başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4.5.2.2 Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS ile ilişkilerinin incelenmesi

Bu tez çalışması kapsamındaki miRNA'lardan olan miR-195-5p'nin tedavi alan RRMS hastalarında (0.15 ± 0.11) ve naif RRMS hastalarında (0.78 ± 1.93) plazma rölatif ekspresyon seviyesinin kontrol bireylerden (1.94 ± 2.37) daha düşük olduğu görülmüştür (tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P<.001$; naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$). Ayrıca, tedavi alan RRMS hastalarının plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin, naif RRMS hastalarına kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir ($P=.03$) (Çizelge 3.26). ROC analizi ile değerlendirildiğinde ise miR-195-5p'nin naif RRMS hastalarıyla kontrolleri ($AUC=0.791$, $P<.001$, %95 CI= 0.67-0.91) ve tedavi alan RRMS hastalarıyla naif RRMS hastalarını ($AUC=0.708$, $P=.006$, %95 CI= 0.61-0.86) sınıflandırmada orta düzeyde bir prediktör olabileceği tespit edilmiştir (Çizelge 3.49). Tedavi alan RRMS hastaları ve kontrollerin sınıflandırılmasında ise “çok iyi” düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür ($AUC=0.943$, $P<.001$, %95 CI= 0.88-1.00) (Çizelge 3.49). Daha önce MS ile ilişkisi çalışılmamış olan miR-195-5p'nin farklı kanser türleri ile ilişkili olduğuna dair bulgular mevcuttur (He vd., 2011; Yu vd., 2018). Meme kanseri ve osteosarkoma hastalarında yapılan çalışmalarda hastaların serumunda ifade seviyesinin arttığı gözlemlenen miR-195-5p'nin yumurtalık kanseri ve gastrik kanser hastalarının plazmalarında ise ifade seviyesinin azaldığı gözlenmiştir (Gorur vd., 2013; Lian vd., 2015; Nogueira vd., 2019). Ayrıca, akciğer kanseri, metastatik kolorektal kanseri, yumurtalık kanseri, hepatoselüler karsinom ve mesane kanseri hücrelerinde yapılan çalışmalarda miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin düşüğüne dair bulgular literatürde mevcuttur (Arndt vd., 2009; Crawford vd., 2009;

Dahiya vd., 2008; Ichimi vd., 2009; Xu vd., 2009). Diyabet hastalarıyla yapılan çalışmalarda ise hem gestasyonel diyabet hastalarının serumunda hem de T2D hastalarında plazmasında miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin arttığı görülmüştür (Tagoma vd., 2018; Wang vd., 2020). Bununla birlikte, primer hipertansiyonu olan T2D hastalarında ise serum miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin azaldığı görülmüştür (Hu vd., 2021). Otizm hastalarında ve hiperaktivite görülen çocuklarda yapılan çalışmalarda da serum miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir (Vasu vd., 2014; Zadehbagheri vd., 2019). MS'le benzer patofizyolojiye sahip Alzheimer ve Parkinson hastalarında yapılan çalışmalarda ise serum miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin hasta gruplarında arttığı gözlemlenmiştir (Ardashirova vd., 2020; Cao vd., 2021). Bu sonuçlar, dolaşımdaki ve dokudaki miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin artış ve azalışının tek başına açıklayıcı olmadığını göstermektedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde miR-195-5p'nin KOAH hastalık modelinde PMKH'de ifade seviyesinin azaldığı ve miR-195-5p mimikleri kullanılarak ifade seviyesi arttırıldığında proenflamatuvar sitokinlerin ifadesini azalttığı görülmüştür (Li vd., 2020). Serebral hasar modeli olan farelerde yapılan bir çalışmada ise miR-195-5p'nin ifadesinin artmasıyla serebral hasarın iyileştiği görülmektedir (Ren vd., 2021). Alkol kaynaklı olmayan karaciğer yağlanması geliştirilmiş olan farelerde yapılan çalışmalarda, miR-195-5p'nin CD40⁺ B hücrelerini inhibe ettiği ve Th17 hücrelerinin oranını azaltmak suretiyle Th1/Th17 dengesini sağladığı görülmüştür (Li vd., 2020). Ancak, omurilik hasarı modeli oluşturulan farelerle yapılan bir çalışmada miR-195-5p'nin antagomiR'lerle baskılanmasıyla apoptozu düzenleyen Bcl-2'yi kodlayan *BCL2* ve nörotrofik bir faktör olan vasküler endotelial büyüme faktörü A'yı (Vascular Endothelial Growth Factor-A; VEGF-A) kodlayan *VEGFA* ifade seviyesinin arttığı tespit edilmiş ve miR-195-5p'nin baskılandığı grupta omurilik hasarının daha fazla iyileştiği görülmüştür (Tao & Shi, 2016). Buna karşın, akut böbrek hasarı modelinde yapılan bir çalışmada ise miR-195-5p'nin hedef genlerinden olan *VEGFA*'nın baskılanmasıyla enflamasyonu ve oksidatif stresi azalttığı görülmüştür (Xu vd., 2020). Buna ilave olarak iki çalışmada nörotrofik faktörlerden olan *BDNF*'yi hedef alarak ifade seviyesini azalttığı da görülmüştür (He vd., 2011; Pan vd., 2021). Bu sonuçlar farklı kanser türleri ve enflamatuvar hastalıklarda apoptozu indükleyip enflamasyon

ve oksidatif hasarı azaltarak koruyucu bir rolde olan miR-195-5p'nin nöronal hasar durumlarında ise nörodejenerasyonu arttırdığına işaret etmektedir. Bu tez çalışmasında da naif RRMS hastalarında düşük miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin görülmesi, bu kişilerde hastalığın başında enflamatuvar süreçlerin baskılanmaması nedeniyle MS'in gelişimine neden olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Bu tez çalışmasındaki bulgulara göre tedavi alan RRMS hastalarının kontrol ve naif RRMS hastalarından daha düşük plazma rölatif ekspresyon seviyelerine sahip olmaları, miR-195-5p'nin nörodejenerasyon ve nöral rejenerasyon süreçleriyle olan ilişkileriyle açıklanabilir. Periferde enflamasyonu ve oksidatif hasarı azaltan miR-195-5p'nin MSS'de nöral hasarı arttırması ve *BDNF* ve *VEGFA*'yı baskılayarak nöral rejenerasyona engel olması, hastalığın ilerleyişine etki edebileceği görüşünü desteklemektedir. Boylamsal bir çalışma olmaması nedeniyle enjektabl immünomodülatör tedavilerin bu durum üzerindeki rolü üzerine net bir yorum yapılması mümkün olmamakla birlikte, IFN- β ve GA'nın nörotrofik faktörler olan *BDNF* ve *VEGFA* ifade seviyelerini arttırdığı görülmüştür (Azoulay vd., 2005, 2009; Du vd., 2020; Makar vd., 2008). IFN- β 'nın hangi mekanizmalarla *BDNF* veya *VEGFA* seviyelerini arttırdığı kesin olarak bilinmese de yapılan çalışmalarda IFN- β tedavisi alan bireylerde IL-10 ve IL-4 seviyelerinin tedavi ile birlikte arttığı görülmektedir. Daha önce EAE modelinde yapılan çalışmalarda IL-4 ve IL-10 salınımının artmasıyla birlikte Th1 ve Th17 hücre popülasyonunun azaldığı ve *BDNF*, *VEGFA* gibi nörotrofik faktörlerin ifade seviyesinin arttığı görülmüştür (Freitas vd., 2022). Benzer şekilde, GA tedavisi alan RRMS hastalarında da GA-spesifik T hücrelerinde *BDNF* ve diğer nörotrofik faktörlerin ifadesinin arttığı görülmüştür (Azoulay vd., 2005). Ayrıca, GA-spesifik T hücrelerinin MSS'de IL-10 salınımlarının da arttığı gözlemlenmiştir (Aharoni vd., 2003). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, hem IFN- β hem de GA tedavilerinin IL-10 ve BDNF salınımını arttırdığı görülmektedir. Literatürde miR-195-5p ve IL-10 arasındaki ilişkileri inceleyen bir çalışmada karaciğer yağlanması modelinde miR-195-5p seviyesinin arttığında IL-10 salınımının azaldığı, miR-195-5p seviyesinin azaldığı durumda ise IL-10 salınımının arttığı görülmüştür (Li vd., 2020). Bir başka çalışmada ise miR-195-5p'nin PD-L1 seviyesini düşürerek IL-10 salınımını azalttığı görülmüştür. Bu bilgiler ışığında, IFN- β ve GA tedavisiyle IL-10 ve nörotrofik faktörlerin salınımında görülen artışın, tedavi yoluyla miR-195-5p'nin

baskılanması sonucu olabileceği düşünülmektedir. Tedavi alan RRMS hastalarında miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif ve kontrol bireylerden daha düşük olması da bu görüşü desteklemektedir. Buna ilave olarak, plazma miR-195-5p ifade seviyesi naiflerde MSSS ile pozitif korelasyon gösterirken ($\sigma=.394$, $P=.04$) tedavi alan RRMS hastalarında MSSS ile miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğu görülmektedir ($\sigma=-.426$; $P=.02$) (Çizelge 3.28 & Çizelge 3.29). Bu durum, miR-195-5p ekspresyonunun veya işlevinin tedavi alan RRMS hastalarında baskılanması nedeniyle periferde enflamatuvar süreçlerin daha sık tetiklenmesi ve Th1/Th17 dengesinin bozulması nedeniyle bu hastalarda engelliliğin ataklara bağlı olarak artmasıyla mümkün görünmektedir (Li vd., 2020; Xu vd., 2020). Tedavi alan RRMS hastalarının T2 lezyon sayıları ile miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi arasında negatif korelasyon görülmesi de bu sonucu desteklemektedir (Çizelge 3.29). Buna karşın, naif RRMS hastalarında miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesiyle MSSS değerleri arasında pozitif korelasyon görülmesinin nedeninin ise miR-195-5p'nin ifadesinin arttığı durumlarda nörotrofik faktörlerin baskılanması nedeniyle henüz tedavi almamış naif RRMS hastalarında nöral rejenerasyonun azalmasının daha yüksek engellilik skorlarının görülmesine neden olduğu düşünülmektedir (Pan vd., 2021; Xu vd., 2020).

4.6 Bilişsel Durum ile İlişkili Analizler

4.6.1 Grup-2'nin bilişsel profili

Grup-2'deki naif RRMS hastalarına, tedavi alan RRMS hastalarına ve sağlıklı kontrol bireylere BICAMS bataryası uygulanmış olup grupların SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorları Çizelge 3.27'de sunulmuştur. Gruplar arasında eğitim yılı ve yaş bakımından anlamlı fark olması, test skorlarının da eğitim yılı ve yaş ile korelasyon göstermesi nedeniyle test skorları bu parametrelere göre düzenlenmiş ve Çizelge 3.27'de ham skorlarla birlikte sunulmuştur. RRMS hastalarına bilişsel bozukluk teşhisi, bölüm 3.4.3'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler neticesinde, ham ve düzenlenmiş skora göre kontrol grubunun SDMT, CVLT-II ve BVMT-R test skorları naif ve tedavi alan RRMS hastalarından anlamlı derecede fazla olmakla birlikte ($P<.001$) naif ve tedavi alan RRMS hastaları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 3.27).

BICAMS bataryasında uygulanan testlerin skorları çalışma gruplarının yaş, eğitim yılı ve klinik tiplerinden etkilenmekte olup bu parametrelerden bağımsız düşünülmemelidir. Bu yüzden, bu çalışma kapsamında ham BICAMS test skorlarının sunulmasının yanı sıra gruplar arasındaki eğitim yılı ve yaş farkını kaldırmak amacıyla bu skorlar yaş ve cinsiyete göre lineer regresyon yöntemi ile düzenlenmiştir. Elde edilen test skorları, ülkemizdeki diğer çalışmalardaki bulgularla karşılaştırılmak istenildiğinde diğer çalışmalardaki hasta gruplarının heterojenliği, demografik bilgilerin tam olarak verilmemiş olması veya hastalıktan kaynaklanan diğer etmenlerden dolayı bilişsel performanslarının azalmasına bağlı olarak test skorları farklılık gösterebilmektedir. Dolayısıyla, bu bölümde test skorlarını ayrı ayrı ele almaktan ziyade onların ifade ettiği bilişsel bozukluk durumu ön planda tutulmuştur.

Ülkemizde BICAMS bataryasının validasyonu için yapılan çalışmada RRMS hastalarında bilişsel bozukluk oranı %42.4 olarak belirlenmiş olup bu oran bu tez çalışması kapsamındaki naif (%50.0) ve tedavi alan RRMS hastalarındaki (%60.0) bilişsel bozukluk görülme oranından düşüktür. Bilişsel bozukluk teşhisi için aynı metodun kullanıldığı Özakbaş ve arkadaşlarının çalışmasında, referans olarak alınan kontrol grubunun test skorları SDMT için 53.5 ± 9.5 ; CVLT-II için 53.9 ± 7.7 ; BVMT-R için ise 22.5 ± 9.2 olarak belirlenirken bu tez çalışmasında düzenlenmiş test skorlarının SDMT için 58.80 ± 8.80 , CVLT-II için 56.29 ± 3.04 ve BVMT-R için 29.84 ± 2.21 olduğu görülmektedir (Özakbaş vd., 2017). Bu sonuçlara göre, bu tez çalışmasındaki kontrol grubunun BICAMS bataryasının her üç testinde de daha yüksek skorlar aldığı görülmektedir. Bu durumun, bu tez çalışmasında daha yüksek bilişsel bozukluk oranının görülmesinin nedeni olabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde gerçekleştirilen ve bilişsel bozukluk teşhisi kesme değeri skorlarını belirlemek için ortalama 1.5 standart sapma uzaklığın esas alındığı iki çalışma incelendiğinde ise MS hastalarında bilişsel bozukluk görülme oranının %33.3 ve %31.7 olarak rapor edildiği görülmüştür (Çınar vd., 2017; Yiğit, 2018). Bu bahsi geçen çalışmalardan Çınar ve arkadaşlarının çalışmasında MS grubunun hastalık süresi 2.02 ± 2.6 yıldır ve bu tez çalışmasındaki naif RRMS hastalarının hastalık süresiyle benzer olduğu görülmüştür (2.1 ± 3.5 yıl). Buna karşın, Çınar ve arkadaşlarının çalışmasında RRMS hastalarının eğitim süresinin (13.4 ± 2.4 yıl) ve SDMT (40.3 ± 15.1) ve CVLT-II (51.5 ± 13.7) testlerinin skorlarının bu tez çalışmasındaki naif (13.0 ± 3.8) ve tedavi

alan RRMS hasta gruplarının (11.9 ± 4.4) eğitim süresi ve ham test skorlarından daha yüksek olduğu görülmüştür (naif RRMS: $SDMT=39.30 \pm 10.50$, $CVLT-II=48.07 \pm 10.58$; tedavi alan RRMS: $SDMT=38.87 \pm 13.10$; $CVLT-II=47.93 \pm 12.35$) (Çınar vd., 2017). Benzer şekilde, bilişsel bozukluğun görülme oranının %33.3 olduğu Yiğit'in çalışmasında da MS hastalarının hastalık süresinin (6.17 ± 4.85 yıl) bu tez çalışmasındaki tedavi alan RRMS hastalarının hastalık süresiyle (5.3 ± 4.9 yıl) benzer olduğu görülmüştür. Yiğit'in çalışmasındaki MS hastalarının ortalama eğitim süresi (12.0 ± 12.5 yıl) bu tez çalışmasındaki naif (13.0 ± 3.8 yıl) ve tedavi alan RRMS hastalarının (11.9 ± 4 yıl) ortalama eğitim süresiyle benzerlik gösterse de, $SDMT$ (47.99 ± 12.15) ve $CVLT-II$ (52.87 ± 11.13) test skorlarının bu tez çalışması kapsamındaki RRMS hastalarının ham test skorlarından daha yüksek olduğu görülmektedir (Yiğit, 2018). Bu durum, bahsi geçen çalışmalarda daha düşük bilişsel bozukluk görülme oranına açıklık getirmekle birlikte kullanılan bilişsel bozukluk teşhis yönteminin farklı olmasının da bu duruma neden olabileceği düşünülmektedir. Global ölçekte ise MS hastalarında bilişsel bozukluk görülme oranı değişiklik gösterebilmektedir (De Caneda & De Vecino, 2016; Dusankova vd., 2012; Polychroniadou vd., 2016; Sandi vd., 2017). Çek popülasyonunda yapılan bir çalışmada MS hastalarında bilişsel bozukluk görülme oranı %55 olarak bulunmuştur (Dusankova vd., 2012). Bu oran, Macar popülasyonunda %57.1, Brezilya popülasyonunda ise %70'tir (De Caneda & De Vecino, 2016; Sandi vd., 2017). Yunanistan'da yapılan BICAMS validasyon çalışmasında ise MS hastalarında bilişsel bozukluğun görülme oranı %47 olarak belirlenmiştir (Polychroniadou vd., 2016).

Çalışma grubunun BICAMS test skorlarının yaşa ve eğitim yılına göre düzenlenmiş hallerine göre bilişsel bozukluk teşhisi koyulduğunda tedavi alan RRMS hastalarında (%60.0) ve naif RRMS hastalarında (%50.0) bilişsel bozukluk görülme oranı bakımından bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 3.27). Bu çalışma kapsamında, tedavi alan RRMS hastalarında tedaviler enjektabl immünomodülatör ajanlarla sınırlandırılmış olup IFN- β ve GA tedavisi alan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Tedavilerin MS hastalarında bilişsel performansa olan etkileri incelendiğinde IFN- β tedavisi almaya başlayan hastalarla yapılan bir çalışmada 2 yıl sonunda PASAT skorlarının anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür (Mori vd., 2012). Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis (COGIMUS) çalışmasında 5 yıl boyunca

IFN- β tedavisi alan hastaların bilişsel performansları değerlendirildiğinde ise tedavi alanların bilişsel performanslarının arttığı gözlemlenmiştir (Patti vd., 2013). Naif RRMS hastalarıyla yapılan bir çalışmada ise 5 yıl sonunda, yüksek doz IFN- β tedavisi alan hastaların düşük doz alanlara nazaran daha iyi bilişsel performansları olduğu görülmüştür (Patti vd., 2009). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise IFN- β tedavisine başlayan RRMS hastalarının bir yıllık tedavi sonunda tüm BICAMS test skorlarının, tedavi başlangıcına göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Çınar vd., 2017). Bu durumun, IFN- β tedavisinin antienflamatuvar etkileri sayesinde yeni lezyon oluşumunu yavaşlatmasının yanı sıra nörotrofik faktörlerin salınımını indüklemesi ve lipid peroksidasyonunu, reaktif oksijen türlerinin azaltmasıyla mümkün olduğu görülmektedir (Mudò vd., 2019; Patti vd., 2009). Tedavi grubunun kullandığı bir diğer immünomodülatör ajan olan GA'nın uzun süreli kullanımının takip edildiği bir çalışmada, MS hastalarının açık ve semantik bellek fonksiyonlarının korunduğu gözlenirken dikkat, konsantrasyon gibi birçok bilişsel işlevlerinde bozulmalar olduğu görülmüştür (Schwid vd., 2007). BRB-N bataryası ile GA kullanan 247 RRMS hastasının bilişsel fonksiyonları incelendiğinde ise plasebo grubuyla GA grubunun bilişsel performansları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Amato vd., 2019). EAE modelinde yapılan bir çalışmada ise GA tedavisi alan modellerin kontrol farelerle benzer bilişsel profilde olduğu görülmüştür (Aharoni vd., 2019). Buna karşın, ülkemizde yapılan bir çalışmada ise GA tedavisine başlayan hastaların bilişsel performansları tedavi başında ve 1 yıllık tedavi sonunda değerlendirildiğinde tüm BICAMS test skorlarının tedavi sonunda daha yüksek olduğu görülmüştür (Çınar vd., 2017). Bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, GA tedavisinin bilişsel fonksiyonların tümünde aynı etkiyi göstermediği için farklı sonuçlara varılmasının mümkün olduğu görülmektedir (Amato vd., 2019). Ayrıca, GA tedavisinin Th1/Th2 hücre dengesini düzenleyerek antienflamatuvar süreçleri başlattığı ve GA-spesifik Th2 hücrelerinin KBB'yi geçerek nörotrofik faktörlerin salınımını da indüklediği bilinmektedir. Buna ilave olarak, naif RRMS hastalarıyla yapılan boylamsal bir çalışmada GA tedavisi alan hastalarda, hiç tedavi almayan naif RRMS hastalara nazaran daha düşük oranda bilişsel bozukluk görülmesi GA tedavisinin hastalığın diğer semptomlarıyla birlikte bilişsel semptomlarını da azalttığının bir göstergesidir (Kasindi vd., 2022).

Tedavi ajanları göz önünde bulundurulduğunda, genel olarak immünomodülatör tedavilerin bilişsel performans üzerinde ayırt edici bir etkisinin olmamasının yanı sıra ülkemizde yapılan bir çalışmada GA veya IFN- β tedavileri alan RRMS hastalarının BICAMS test skorları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (Çınar vd., 2017). Bu tez çalışması kapsamında da tedavi alan RRMS hastaları GA (n=20) ve IFN- β (n=10) tedavisi almakta olup analizler gerçekleştirilirken bu tedaviler arasında bir fark olup olmadığına dair analizler gerçekleştirilmemiştir. Bu kişiler, tedavi alan RRMS hastaları adıyla tek bir grup olacak şekilde bir arada değerlendirilmiştir.

4.6.2 Plazma clusterin konsantrasyonu ve miRNA rölatif ekspresyon seviyelerinin bilişsel parametrelerle ilişkileri

4.6.2.1 BICAMS test skorları ile ilişkileri

Bu tez çalışması kapsamında, düzenlenmiş BICAMS test skorları ile diğer deneysel parametrelerin ilişkileri naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde ayrı ayrı incelenmiştir (Bölüm 3.4.4.1). Bu sonuçlara göre naif RRMS hastalarında plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile BVMT-R skorları arasında negatif korelasyon ($\sigma=-.385$, $P=.04$) görülürken kontrol bireylerde ise düzenlenmiş CVLT-II test skorları ve plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi arasında negatif bir korelasyon olduğu görülmüştür ($\sigma=-.385$, $P=.04$) (Çizelge 3.28 & Çizelge 3.30). Daha önce MS'te bilişsel performansla ilişkisi çalışılmamış olan miR-195-5p'nin şizofreni tanısı almış bireylerin PKMH ve serumlarındaki rölatif ekspresyon seviyesinin arttıkça bilişsel performanslarının azaldığı gösterilmiştir (He vd., 2011; Huang vd., 2020). Benzer şekilde, inme hastaları ve Amerikan futbolu oyuncularıyla yapılan çalışmalarda da serum miR-195-5p ekspresyon seviyesi ve bilişsel performans arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir (Papa vd., 2018; Zhai vd., 2020). Daha önceki çalışmalarda Sema3A/Cdc42/JNK yolağıyla hasar almış sinir hücrelerinin apoptozunu azalttığı gösterilen miR-195-5p seviyesinin hücrel hasar durumlarında arttığı görülürken aynı zamanda nörotrofik bir faktör olan *BDNF*'nin ve *VEGFA*'nın da ifade seviyesini azaltması nedeniyle bu test skorları arasında negatif bir korelasyon olması tutarlılık göstermektedir (Pan vd., 2021; Xu vd., 2020; Zhai vd., 2020). Bu kişilerde azalan miR-195-5p seviyesi sayesinde, nörotrofik faktörlerin ifade

seviyesindeki artışın nöral rejenerasyonu desteklenmesi yoluyla bilişsel performansın daha az etkilenmiş olduğu düşünülmektedir.

4.6.2.2 Bilişsel bozuklukla ilişkileri

Naif ve tedavi alan RRMS hastaları kendi içlerinde bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılmış ve deneysel verilerin bilişsel bozuklukla ilişkileri incelenmiştir (Bölüm 3.4.5). Bu tez çalışması kapsamında plazma clusterin konsantrasyonunun naif veya tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla veya düzenlenmiş test skorlarıyla ilişkisi bulunmamıştır. Daha önceki çalışmalarda Alzheimer hastalarında plazma clusterin konsantrasyonunun artmasıyla birlikte bilişsel performansın düştüğü ve entorhinal korteksteki atrofının arttığı belirlenmiştir (Thambisetty vd., 2010, 2012). Ayrıca T2D hastalarında da plazma clusterin konsantrasyonunun HBB görülen bireylerde daha yüksek olması ve KOAH hastalarının serum clusterin konsantrasyonunun artmasıyla bilişsel performansın düşmesi dolaşımdaki clusterin seviyesi ile bilişsel performans arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Cai vd., 2016; Li vd., 2013). Bu tez çalışmasında ise bu yönde bir bulguya rastlanmamış olup RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonu ile bilişsel bozukluk arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Daha önce MS'te bilişsel bozuklukla miR-21-5p arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Benzer patofizyolojiye sahip Alzheimer hastalığında yapılan bir çalışmada plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin ağır bilişsel bozukluk teşhisi alan hastalarda, almayanlara nazaran daha yüksek olduğu görülmüştür (Giuliani vd., 2021). Plazmadaki rölatif ekspresyon seviyesi ile bilişsel bozukluk arasındaki ilişkinin incelendiği bir başka çalışmada ise by-pass ameliyatı sonrası bilişsel bozukluk görülen hastalarda, görülmeyenlere nazaran daha yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi olduğu tespit edilmiştir (Sessa vd., 2019). MS'te bilişsel bozuklukla ilişkisinin ilk defa çalışıldığı bu tez çalışmasında ise plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile bilişsel bozukluk arasında bir ilişki bulunmamıştır. Bu durum, bilişsel bozukluktan bağımsız olarak naif ve tedavi alan RRMS hastalarında miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Daha önce MS'te bilişsel bozuklukla ilişkisi çalışılmamış bir diğer miRNA olan miR-195-5p'nin bilişsel bozuklukla ilişkisi incelendiğinde inme hastalarının, Amerikan futbolu oyuncularının ve naif kadın şizofreni hastalarının serumlarındaki miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin artmasıyla bilişsel performansın azaldığı görülmüştür (Pan vd., 2021; Papa vd., 2018; Zhai vd., 2020). Alzheimer hastalarının BOS'larında ise miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi yüksek olan hastaların bilişsel performansın daha iyi olduğu gözlenmiştir (Cao vd., 2021). RRMS hastalarında plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile bilişsel bozukluk arasındaki ilişkinin ilk defa incelendiği bu tez çalışmasında ise miR-195-5p ile bilişsel bozukluk arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür. Naif ve tedavi alan RRMS hastalarında, kontrollere göre anlamlı seviyede düşük olduğu görülen miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin, bilişsel bozukluktan bağımsız olarak MS'in patofizyolojisi ve tedavi ajanlarıyla ilişkili olduğu görülmektedir. Bu durumun, miR-195-5p'nin bilişsel bozukluk ile ilişkisinin tespit edilememesi üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.

4.6.2.3 Bilişsel bozuklukla ilişkili diğer parametreler

Naif ve tedavi alan RRMS hastaları kendi içlerinde bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılarak bilişsel bozuklukla ilişkili parametreler ayrı ayrı incelenmiştir (Bölüm 3.4.5). Buna göre naif RRMS hastaları bilişsel bozukluğu olanlar ve olmayanlar olarak ayrıldığında iki grup arasında herhangi bir deneysel parametrenin dağılımı veya frekansı bakımından fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.31 & Çizelge 3.32). Tedavi alan RRMS hastaları bilişsel bozukluğu olan ve olmayanlar olarak ayrıldığında ise MRG parametreleri olan T1 lezyon sayısının ($P=.005$), T2 lezyon sayısının ($P=.003$) bilişsel bozukluğu olanlarda daha fazlayken ve kontrast tutan lezyon varlığının bilişsel bozukluğu olmayanlarda daha yüksek olduğu görülmüştür ($P=.03$) (Çizelge 3.33). Kontrast tutan lezyonlar, MSS'de aktif enflamatuvar demiyelinizasyon göstergesi oldukları için RRMS hastalarında yaygın olarak görülmektedir (Tim vd., 2019). İmmünomodülatör tedaviler ile birlikte bu lezyonların sayısı ve atakların sıklığının azaltılması hedeflenmektedir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde, MSS'ye infiltrasyon hastalığın başına göre azalırken nörodejeneratif süreçler ise baskın hale gelmektedir (Filippi vd., 2018). Bu tez çalışmasında, tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk görülme sıklığının

daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.33). Bu durumun, kontrast tutan lezyonları bulunan tedavi alan RRMS hastalarının henüz hastalığın daha aktif dönemlerinde oldukları için nörodejenerasyonun baskın olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

T1 lezyonlar beyinde T1 ağırlıklı MRG ile saptanan, çevresine göre koyu renkli (hipointens) olarak gözlemlenen lezyonlardır. Bu lezyonlar MS'in karakteristik bir özelliği olup, miyelin yıkımına bağlı olarak beyindeki demir düzeylerinin artmasından ve aksonal kayıptan kaynaklanır (Walderveen vd., 1999). T1 lezyon hacimleri engellilik ile ilişkili olup hastalığın başından itibaren zamanla artış göstermektedirler (Giorgio vd., 2014). Ayrıca, T1 ağırlıklı görüntüleme gri ve beyaz maddeyi ayırmada da kolaylık sağlamaktadır (Parry vd., 2002). T2 lezyonlar ise enflamasyon, miyelin kaybı ve akson hasarın göstergeleri olup çevrelerine göre daha parlak (hiperintens) bir görünüme sahiptirler. T2 ağırlıklı görüntülemelerde yumuşak dokular ve kortikal alanlar hassas bir şekilde görüntülenmekte ve bu yüzden T2 lezyonlar hastalık aktivitesini daha iyi göstermektedir (Mostert vd., 2010). Bu bilgiler ışığında, bilişsel bozukluğu olan tedavi alan RRMS hastalarında T1 ve T2 lezyon sayılarının yüksek olmasının, MSS'deki hasarın ve hastalığın progresyonunun bu kişilerde daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Çizelge 3.33).

T1 ve T2 lezyon sayılarının, diğer deneysel parametrelerle (cinsiyet, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara içme durumu, miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, serum 25-(OH) D₃ ve B₁₂ vitamin seviyeleri, serum lipit parametreleri) birlikte bilişsel bozuklukla olan ilişkileri ikili lojistik regresyon analiziyle incelenmiştir. Bu analizler, T1 ve T2 lezyon için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre tedavi alan RRMS hastalarında T1 lezyon sayısındaki artışla bilişsel bozukluğun 1.10 kat ($P=.03$); T2 lezyon sayısındaki artışla ise bilişsel bozukluğun 1.09 kat ($P=.04$) ilişkili olduğu görülmüştür.

Bu tez çalışmasında, T1 (AUC=0.770, $P=.02$; %95 CI=0.60-0.94) ve T2 lezyon sayılarının (AUC=0.775, $P=.01$; %95 CI=0.61-0.94) tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluğu sınıflandırma becerisi değerlendirildiğinde ise her ikisinin de orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür. Yapılan hata matrisi analizinde de T1 lezyon sayısının bilişsel bozuklukla ilişkisi analiz edildiğinde de hassasiyet %58.8, özgüllük %91.7 ve doğruluk %72.4 olarak belirlenmiştir. T2 lezyon sayısı için yapılan

hata matrisi analizinde ise hassasiyet %70.6, özgüllük %83.3 ve doğruluk %75.9 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.50). Bununla birlikte naif RRMS hastalarında bu şekilde bir ilişkinin bulunmaması, MRG parametrelerinin tüm RRMS hastalarında bilişsel bozukluk teşhisi için tek başına yeterli olamayacağını da göstermektedir.

Serum lipit parametrelerinin bilişsel bozukluk ile ilişkileri incelendiğinde ise serum trigliserit ($P=.004$) ve LDL-kolesterol ($P=.03$) seviyelerinin tedavi alan RRMS hastalarından bilişsel bozukluğu olanlarda daha yüksek, HDL-kolesterol seviyesinin ($P=.049$) ise daha düşük olduğu görülmüştür. Önceki bölümlerde de bahsedildiği üzere serum trigliserit seviyesinin MS hastalarında engellilik ve progresyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Weinstock-Guttman vd., 2011). MS hastalarının bilişsel performanslarının MoCA ile değerlendirildiği bir çalışmada serum trigliserit seviyesinin yükselmesiyle dikkatin azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Aynı çalışmada total MoCA skorunun LDL-kolesterol ile arasında negatif korelasyon olduğu belirlenmiş olup LDL-kolesterolün düşük görsel-mekânsal bellek kapasitesi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Laura vd., 2020). MS hastalarıyla yapılan ve bilişsel durumlarının BRB-N bataryasıyla değerlendirildiği bir çalışmada serum trigliserit seviyesinin çalışan bellek performansı ile arasında negatif korelasyon ilişkisi olduğu görülmüştür (Andaloro vd., 2022). D-KEFS ile bilişsel performansları değerlendirilen MS hastalarıyla yapılan bir çalışmada ise LDL-kolesterol seviyeleriyle D-KEFS skorları arasında negatif korelasyon olduğu görülmüş ancak serum trigliserit seviyesi ile D-KEFS skorları arasında bir ilişki bulunmamıştır (Noori vd., 2019). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda artan serum trigliserit ve LDL-kolesterol seviyelerinin hem hastalığın ilerlemesi hem de bilişsel bozuklukla ilişkili olduğu görülmüş olup bu tez çalışmasında da bilişsel bozukluğu olan tedavi alan RRMS hastalarında daha yüksek serum trigliserit ve LDL-kolesterol seviyelerinin görülmesinin literatürdeki sonuçlarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.34). MS'te antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını indüklemesi vesilesiyle koruyucu rolü olduğu bilinen HDL-kolesterolün ise bilişsel bozukluğu olmayan tedavi alan RRMS hastalarında, bilişsel bozukluğu olanlara nazaran daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür (Weinstock-Guttman vd., 2011). Trigliserit ve LDL-kolesterolün MS hastalarının bilişsel performansı ile ilişkilerinin incelendiği yukarıda bahsi geçen çalışmalarda HDL-kolesterol ile MS hastalarının bilişsel performansları arasında herhangi bir ilişki

olmadığı görülmüştür (Andaloro vd., 2022; Laura vd., 2020; Noori vd., 2019). Buna karşın sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda yüksek serum HDL-kolesterol seviyesine sahip olan bireylerin daha yüksek çalışan bellek kapasiteleri olduğu ve daha yüksek MMSE skorları aldıkları görülmüştür (Crichton vd., 2014). Orta yaşlı bireylerde yapılan kapsamlı bir çalışmada ise düşük HDL-kolesterol seviyesine sahip bireylerde 5 yıl içinde bilişsel performanslarının, yüksek HDL-kolesterol seviyesine sahip olanlara nazaran daha fazla düştüğü görülmüştür. Ayrıca, Alzheimer hastalarında daha iyi bilişsel performansla ilişkili olduğu bilinen HDL-kolesterolün bilişsel bozukluktan korunulması amacıyla terapötik olarak kullanımı da önerilmektedir (Chernick vd., 2020). Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, serum lipit paneli parametrelerinin MS hastalarının bilişsel performansları üzerindeki koruyucu ve bozucu etkileri üzerinde durularak potansiyel bilişsel bozukluk risklerinin önlenmesinin mümkün olabileceği görülmektedir.

4.7 Plazma Clusterin Konsantrasyonuna Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi

4.7.1 *CLU* SNP'lerinin plazma clusterin konsantrasyonuna etkileri

4.7.1.1 *CLU* rs11136000 C/T ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki

Bu tez çalışması kapsamında RRMS ile ilişkisi incelenen SNP'lerden olan rs11136000 C/T SNP'sinin plazma clusterin konsantrasyonu ile olan ilişkisi kodominant, resesif ve dominant modelde incelenmiştir (Çizelge 3.35). Bu analizlerde, aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırıldığında kodominant modelde, resesif modelde ve dominant modelde herhangi bir anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Her bir grup kendi içinde olmak üzere, rs11136000 C/T genotiplerindeki plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise naif RRMS hastalarında, tedavi alan RRMS hastalarında ve sağlıklı kontrollerde genotipler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. MS hastalarında ilk defa rs11136000 C/T SNP'sinin genotipleri ile plazma clusterin konsantrasyonunun incelendiği bu tez çalışmasında anlamlı bir sonuç bulunmamış olsa da Schürmann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kontrol bireylerde plazma clusterin konsantrasyonunun CC genotiplilerde, TT genotiplilere nazaran daha

düşük olduğu görülmüştür. Buna karşın, aynı çalışmada Alzheimer hastalarında rs11136000 C/T SNP genotiplerindeki plazma clusterin konsantrasyonu bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Schürman vd., 2011). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Alzheimer hastalarının ve kontrollerin serum clusterin seviyesinin CC genotiplilerde, CT+TT genotiplilere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Güven vd., 2020). T2D hastalarında yapılan bir çalışmada ise plazma clusterin konsantrasyonunun rs11136000 C/T SNP genotipleri arasında herhangi bir fark göstermediği belirlenmiştir (Cai vd., 2016).

4.7.1.2 CLU rs3087554 T/C ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki

Bu tez çalışması kapsamında RRMS ile ilişkisi incelenen SNP'lerden olan rs3087554 T/C SNP'sinin plazma clusterin konsantrasyonu ile olan ilişkisi de kodominant, resesif ve dominant modelde incelenmiştir (Çizelge 3.36). Bu analizlerde, aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırıldığında kodominant modelde, resesif modelde ve dominant modelde herhangi bir anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Her bir grup kendi içinde olmak üzere, rs3087554 T/C genotiplerindeki plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise naif RRMS hastalarında, tedavi alan RRMS hastalarında ve sağlıklı kontrollerde genotipler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.36). Daha önce Alzheimer hastalarında sCLU ifade seviyesini arttırdığı belirlenen C alelinin (Szymanski vd., 2011) bu çalışmada plazma clusterin konsantrasyonu ile ilişkisinin bulunmamasının, CC genotipinin Grup-2'deki frekansının düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. MS hastalarında ilk defa rs3087554 T/C SNP'sinin genotipleri ile plazma clusterin konsantrasyonunun ilişkisinin incelendiği bu çalışmada anlamlı bir sonuç bulunmamış olup literatürde bu SNP'nin genotipleri ile plazma veya serum clusterin seviyesi arasındaki ilişkiyi inceleyen başka bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

4.7.1.3 CLU rs2279590 C/T ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki

Bu tez çalışması kapsamında RRMS ile ilişkisi incelenen SNP'lerden olan rs2279590 C/T SNP'sinin plazma clusterin konsantrasyonu ile olan ilişkisi de kodominant, resesif

ve dominant modelde incelenmiştir. Bu analizlerde, aynı genotipe sahip naif, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonları gruplar arasında karşılaştırıldığında kodominant modelde, resesif modelde ve dominant modelde herhangi bir anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Her bir grup kendi içinde olmak üzere, rs2279590 C/T genotiplerindeki plazma clusterin konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise naif RRMS hastalarında kodominant modele göre TT genotipe sahip naif RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonunun CC ve CT genotipinden daha düşük olduğu görülmüştür ($P=.03$) (Çizelge 3.37). Daha önce serum ve plazmada clusterin konsantrasyonu ile rs2279590 C/T arasındaki bir çalışmaya rastlanmasa da HEK293 hücre hattında yapılan bir çalışmada T alelinin *CLU* ifade seviyesini C aleline göre anlamlı ölçüde azalttığı görülmüştür (Padhy vd., 2017). Ayrıca, CC genotipli XFS hastalarının lens kapsüllerinde TT genotiplilere nazaran 2 kat daha fazla *CLU* ekspresyonu olduğu tespit edilmiştir (Padhy vd., 2014). Bu sonuçlar TT genotipinin *CLU* ifade seviyesini etkilediğini ve bunun naif RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonunda da azalmaya yol açtığını düşündürmektedir. Naif RRMS hastalarında resesif ve dominant modele göre plazma clusterin konsantrasyonu yönünden genotipler arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerde ise plazma clusterin konsantrasyonu kodominant, resesif ve dominant modele göre genotipler arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Çizelge 3.37). Bu tez çalışmasıyla birlikte RRMS hastalarında ilk defa plazma clusterin konsantrasyonu ve rs2279590 C/T arasındaki ilişki incelenmiştir.

4.7.1.4 *CLU* rs1532278 C/T ve plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişki

Bu tez çalışması kapsamında RRMS ile ilişkisi incelenen SNP'lerden olan rs1532278 C/T SNP'sinin plazma clusterin konsantrasyonu ile olan ilişkisi de kodominant, resesif ve dominant modelde incelenmiştir (Çizelge 3.39). Aynı genotipe sahip naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu karşılaştırıldığında kodominant ve resesif modelde gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Dominant modelde ise CT+TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin konsantrasyonunun, aynı genotipe sahip naif RRMS hastaları ve kontrol bireylerden anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür.

Ayrıca, dominant modelde CT+TT genotipli tedavi alan RRMS hastalarının CC genotipli tedavi alan RRMS hastalarına nazaran plazma clusterin konsantrasyonunun daha fazla olduğu görülmüştür. XFG ve XFS hastalıkları ile rs1532278 C/T SNP'sinin ilişkisini inceleyen bir çalışmada CC genotipli kontrol bireylerin CT ve TT genotiplilere göre gözyaşı örneklerinde daha düşük clusterin konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir (Demirkaya-Budak, 2018). Rosenthal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasıyla ilişkili olduğu tespit edilen rs1532278 C/T SNP'sinin T alelinin baskın olması durumunda *CLU* geninin ifade seviyesini arttırarak plazma clusterin konsantrasyonunu arttırmasının mümkün olduğu görülmektedir (Rosenthal vd., 2014).

4.7.2 Plazma clusterin konsantrasyonuna rs3087554 T/C ve miRNA'ların etkileri

Bu tez çalışması kapsamında, miR-21-5p ve miR-195-5p miRNA'larının plazma rölatif ekspresyon seviyelerinin, plazma clusterin konsantrasyonuna olan etkileri, *CLU* geninin 3'UTR'sinde bulunan rs3087554 T/C SNP'sinin genotipleri de göz önünde bulundurularak incelenmiştir (Çizelge 3.39, Çizelge 3.40, Çizelge 3.41, Çizelge 3.42) Daha önce *CLU* geninde bağlanma bölgesi olduğu deneysel olarak belirlenmiş olan miR-21-5p ve miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyelerine göre kişiler yüksek ve düşük rölatif ekspresyon seviyelerine sahip olanlar olarak gruplandırılmış ve analizler gerçekleştirilmiştir (Bölüm 3.4.7.1). Hasta – kontrol gruplarından bağımsız olarak rs3087554 T/C SNP genotiplerinin miR-21-5p ve miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyesinin plazma clusterin konsantrasyonuna etkileri incelendiğinde TT, TC ve CC genotipli bireylerin plazma clusterin konsantrasyonu düşük ve yüksek miRNA rölatif ekspresyon seviyeleri grupları arasında anlamlı bir fark göstermemektedir. Buna karşın, rs3087554 T/C SNP'sinden bağımsız olarak gruplarda ayrı ayrı incelendiğinde ise naif RRMS hastalarında yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyonu olan grupta plazma clusterin konsantrasyonunun da daha yüksek olduğu görülmüştür ($P=.04$) (Çizelge 3.40). Ayrıca, tüm RRMS hastaları bir arada ele alındığında da yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda plazma clusterin konsantrasyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür ($P=.03$) (Çizelge 3.40). Mydlarz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sağlıklı bireylerin oral mukozasından türetilen normal oral keratinosit hücre hattında *CLU* geninin 3' UTR'sinde miR-21-

5p'nin bağlanma bölgesi olduğu lusiferaz raportör testiyle teyit edilmiştir. Yine bu çalışmada, miR-21-5p'nin nCLU ifade seviyesini azalttığı görülmüştür (Mydlarz vd., 2014). Timofeeva ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hamile kadınların plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile plazma clusterin seviyesi arasında ters korelasyon olduğu görülmüştür (Timofeeva vd., 2021). Bu sonuçlar, miR-21-5p'nin *CLU* geninin düzenleyicisi olduğu sonucunu desteklemektedir. Buna karşın, akut pankreatit hastalarında dolaşımdaki clusterin seviyesi ve plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin incelendiği bir çalışmada akut pankreatit hastalarının plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon ve clusterin seviyesinin kontrol bireylerden daha yüksek olduğu görülmüştür (Li vd., 2019). Bu durum, clusterin ve miR-21-5p'nin dolaşımdaki seviyelerinin, miR-21-5p'nin *CLU* geni üzerine olan etkisinden bağımsız olarak patofizyolojik koşullar nedeniyle değişmesinden kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu tez çalışmasında da naif RRMS hastalarında hem dolaşımdaki clusterin seviyesinin hem de plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin artmasının MS'in patofizyolojik etmenlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, kardiyak miyosit hücrelerinde oksidatif hasar oluşturulduğunda miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Cheng vd., 2009). Patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı MS'te oksidatif hasar özellikle kontrast tutan lezyon alanlarındaki aktif demiyelinizasyon ve aksonal hasarın görüldüğü bölgelerdir (Ohl vd., 2020). Dolayısıyla, bu tez çalışmasındaki naif RRMS hastalarının %70'inde kontrast tutan lezyon bulunmasının da bu hastalardaki yüksek miR-21-5p ifade seviyesine neden olması muhtemeldir. Benzer şekilde, oksidatif stres gibi hücrel stres durumlarında ifade seviyesi artan *CLU* geninin indüklenmesinin de naif RRMS hastalarında clusterin protein seviyesinin artmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, hücrel stres ve hasar durumlarında clusterinin salgılanan formu olan sCLU'nun ifade seviyesini IL-1 β 'nın arttırdığı görülmüştür (Matta vd., 2020). Daha önceki çalışmalarda naif RRMS hastalarında ifadesinin arttığı görülen IL-1 β 'nin Liu ve arkadaşlarının çalışmasında oksidatif stresi ve reaktif oksijen türlerinin salınımını tetiklediğinin tespit edilmesi, dolaylı yoldan *CLU* ifade seviyesini arttırabileceğini düşündürmektedir (Connel vd., 2014; Liu vd., 2021). Bu bulgular, MS'in patofizyolojisinde önemli bir rol oynayan oksidatif stresin hem clusterin proteininin hem de miR-21-5p'nin ifade seviyesinin artmasında etmen olduğunu göstermektedir. Bunlara ilave olarak, Li ve arkadaşlarının çalışmasında, karaciğer

fibröz dokularında TGF- β 'nin indüklendiği durumda bu dokulardaki miR-21-5p seviyesinin arttığı görülmüştür (Li vd., 2021). Th17 hücre dönüşümünde de aktif rol oynayan TGF- β 'nin da naif RRMS hastalarında görülen yüksek miR-21-5p seviyesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu tezin çalışma grubundaki naif RRMS hastalarında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin, henüz tedavi almadıkları için hastalık aktivitelerinden kaynaklı olarak arttığı ve çalışma grubundaki naif RRMS hastalarında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin ve plazma clusterin konsantrasyonunun birbirlerinden bağımsız olarak ifade seviyelerinin yükseldiği düşünülmektedir.

MS hastalığının ortaya çıkmasında ve progresyonunda önemli bir rol oynayan Th17 hücre popülasyonunun hem IFN- β hem de GA tedavisi ile azaldığı gözlemlenmiştir (Ramgolam & Markovic-Plese, 2010; Sellebjerg vd., 2012). Bu yüzden, TGF- β ve oksidatif stres aracılığı ile ifade seviyesinin artmasıyla Th17 hücre farklılaşmasında rol oynayan miR-21-5p'nin ifade seviyesinin tedavi ajanları aracılığı ile dolaylı olarak azaltılmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, bu tez çalışması kapsamında tedavi alan RRMS hastalarının %20'sinde kontrast tutan lezyon bulunduğu belirlenmiş olup bu oran naif RRMS hastalarınınkinden anlamlı derecede düşüktür ($P < .001$) (Çizelge 3.25). Bu yüzden, tedavi alan RRMS hastalarında, hastalık aktivitesi naif RRMS hastalarından daha düşük olduğu için bu hastalarda plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile plazma clusterin konsantrasyonu arasında, naif RRMS hastalarındakine benzer bir ilişki olmadığı düşünülmektedir.



5. SONUÇ

MSS'nin demiyelinizan, otoimmün ve nörodejeneratif kronik bir hastalığı olan MS, genç erişkinlerde travma harici engelliliğe neden olan en yaygın hastalıktır (Filippi vd., 2018). Ölümcül olmamakla birlikte hastanın yaşam süresi ve yaşam kalitesini önemli ölçüde olumsuz yönde etkileyen MS'in ortaya çıkmasında tek bir etmen bulunmadığı gibi kesin bir tedavisi de mevcut değildir (Dobson & Giovannoni, 2019). MSS'deki nöronların demiyelinizasyonu ve tahribatı nedeniyle fiziksel engelliliğin yanı sıra bilişsel bozukluk da MS hastalarında yaygın olarak görülmektedir (Benedict vd., 2020; Reich vd., 2018). Genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşimleri ile ortaya çıkan MS'in hem teşhisinde hem de takibinde güvenilir biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır (Zailaie vd., 2022).

Clusterin, hücrel yaşam ve ölüm yollarında rol alan multifonksiyonel bir proteindir (Jones & Jomary, 2002). Oksidatif stres, ısı şoku gibi hücrel stres durumlarında ifade seviyesi artan *CLU* geninde birçok SNP mevcut olup bu SNP'ler Alzheimer, T2D, HBB, XFS ve XFG gibi birçok hastalıkla ilişkili bulunmuştur (Bettens vd., 2012; Daimon vd., 2011; Jones & Jomary, 2002; Lambert vd., 2009; Tan vd., 2016; Woody & Zhao, 2016). Başta beyin olmak üzere tüm dokularda ifade edilen clusterin proteininin dolaşımdaki seviyeleri Alzheimer, HBB ve T2D ile ilişkilendirilmiş olmasının yanı sıra serum ve plazmadaki clusterin seviyelerinin Alzheimer ve KOAH hastalarının bilişsel performansları ile de ilişkili olduğu görülmüştür (Aghajanjpour-Mir vd., 2019; Charnay vd., 2012; Li vd., 2013; Shi vd., 2019; Thambisetty vd., 2010, 2012).

Gen ifadesinin düzenleyicileri olan miRNA'lar, hedef mRNA'da bulunan spesifik tamamlayıcı diziyi tanıyarak gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel olarak düzenlemektedir. Hedef mRNA'nın yıkımı, translasyon başlangıcının veya translasyonun uzama aşamasının baskılanması gibi çeşitli mekanizmalarla genlerin ifadesini düzenleyen miRNA'lar hastalıkların teşhisi ve takibi için yapılan biyobelirteç keşif çalışmalarında sıklıkla çalışılmaktadırlar (Lee vd. 2016; Undi vd., 2013). Bir veya birden çok genin ifade seviyesini düzenleyerek fizyolojik süreçlerde rol alan

miRNA'lardan miR-21-5p'nin ve miR-195-5p'nin *CLU* genini hedeflediği deneysel olarak kanıtlanmıştır (Ma vd., 2018; Mydlarz vd., 2014).

Bu tez çalışmasında, patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı MS ile *CLU* SNP'lerinin ilişkilerinin incelenmesi ve bilişsel bozukluğun yaygın olarak görüldüğü bu hastalıkta plazma clusterin seviyesi, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyelerinin hem hastalık riski hem de bilişsel bozukluk ile ilişkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda iki çalışma grubu oluşturulmuştur. Grup-1, 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyden oluşurken Grup-2 30 naif RRMS hastası, 30 enjektabl tedavi alan (IFN- β veya GA) RRMS hastası ve 30 kontrol bireyden oluşmaktadır.

Grup-1'deki RRMS hastalarında yapılan analizlerde erkek RRMS hastalarının kadın RRMS hastalarına göre daha yüksek engellilik skoruna (EDSS), daha yüksek serum trigliserit ve VLDL-kolesterol seviyelerine sahip oldukları görülürken serum HDL-kolesterol seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Bu bulgular, erkek RRMS hastalarının kadın RRMS hastalarına nazaran daha kötü prognoza sahip olduklarına işaret etmektedir.

CLU SNP'leri olan rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'lerinin genotipleri Grup-1'de 310 RRMS hastası ve 310 kontrol bireyde belirlenmiş olup farklı genotip modellerine göre bu SNP'lerin RRMS riski ile ilişkileri incelenmiştir. Yapılan analizler neticesinde MS ile ilişkisi ilk defa çalışılmış olan *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin C alel frekansının RRMS grubunda anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülürken dominant modelde de RRMS riski ile ilişkili olduğu görülmüştür (OR=1.71). Yaşa ve cinsiyete göre OR ve *P* değerleri düzenlendiğinde *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin dominant modelde 1.73 kat, kodominant modelde 1.82 kat, overdominant modelde 1.80 kat ve log-additive modelde 1.48 kat RRMS riski ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bu *CLU* SNP'lerinin dörtlü kombinasyonları (sırasıyla rs11136000, rs3087554, rs2279590, rs1532278 olmak üzere) ile RRMS riski arasındaki ilişki incelendiğinde de CCTCCTCC, CTTTCCCT, TTTTCCTT, TTTTCTCT genotiplerinin RRMS hastalarında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülürken CTTTCTCT ve TTTTTTTT genotip kombinasyonlarının kontrollerde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, tek başına RRMS ile ilişkili bulunmayan *CLU* SNP'lerinin bir arada olduğu durumlarda MS ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Grup-1'de *CLU* SNP'lerinin MS hastalarının orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ve hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkileri ikili lojistik regresyon analizi ile incelenmiştir. Bu analizlerde rs11136000 C/T SNP'sinin T alelinin dominant modelde (CT+TT vs. CC) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için koruyucu rolde olduğu görülmüştür (OR=0.37). *CLU* SNP'lerinin dominant ve kodominant modelde olduğu analizlerde erkek olmanın da orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ile ilişkili olduğu görülmüştür (OR≈2.6). Dikkat çekici bir diğer sonuç da serum trigliserit seviyesinin *CLU* SNP'lerinin kodominant (OR=1.63), resesif (OR=1.58) ve dominant (OR=1.73) olduğu modellerde orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ile ilişkili olduğunun görülmesidir. Benzer şekilde, serum VLDL-kolesterol seviyelerinin de *CLU* SNP'lerinin kodominant (OR=4.33), resesif (OR=4.61) ve dominant (OR=4.97) olduğu modellerde orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) ile ilişkili olduğu görülmüştür. Hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için yapılan analizlerde ise rs3087554 T/C SNP'sinin C alelinin resesif modelde hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkili olduğu bulunmuştur (OR≈3.6). Bu durum, rs3087554 T/C SNP'sinin hem MS riski hem de MS progresyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bir diğer *CLU* SNP'si olan rs11136000 SNP'sinin T alelinin ise dominant modelde hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için koruyucu bir rolde olduğu görülmüştür (OR≈0.3). Serum trigliserit seviyesi, *CLU* SNP'lerinin kodominant (OR=1.73), resesif (OR=1.79) ve dominant (OR=1.81) olduğu modellerde hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, serum VLDL-kolesterol seviyesi de *CLU* SNP'lerinin kodominant (OR=3.44), resesif (OR=3.76) ve dominant (OR=3.95) olduğu modellerde hızlı MS progresyon riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlar, MS hastalarının serum lipit profillerinin de takip edilmesinin ve bu hastalığın takibinde diğer disiplinlerden de yardım alınmasının hastalığın seyrinin iyileştirilmesinde fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışması kapsamında Grup-2'deki 30 naif RRMS hastasına, 30 tedavi alan RRMS hastasına ve 30 kontrol bireye bilişsel performanslarını belirlemek üzere BICAMS bataryası uygulanmış ve bu bireylerin plazma clusterin seviyeleriyle plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Yaşa ve eğitim yılına göre düzenlenmiş BICAMS test skorları ile yapılan analizlerde, naif RRMS hastalarında bilişsel bozukluk görülme oranının %50, tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozukluk görülme oranının %60 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, naif RRMS

hastalarında plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesi ile düzenlenmiş BVMT-R skorları arasında negatif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Bunlara ilave olarak, tedavi alan RRMS hastalarında T1 ve T2 lezyon sayılarının bilişsel bozukluk görülen bireylerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Plazma clusterin konsantrasyonu, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesi, cinsiyet, T1 lezyon sayısı, T2 lezyon sayısı, kontrast tutan lezyon varlığı, sigara, serum 25-(OH) D₃ seviyesi, serum Vitamin B₁₂ seviyesi ve serum lipit parametreleri (trigliserit, total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, VLDL-kolesterol) ile birlikte yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde de tedavi alan RRMS hastalarında T1 ve T2 lezyon sayılarının bilişsel bozukluk ile ilişkili olduğu görülmüştür. Buna karşın naif RRMS hastalarında T1 ve T2 lezyon sayıları ile bilişsel bozukluk arasında anlamlı bir ilişki görülmemesi, lezyon sayılarının bilişsel bozukluk teşhisi için tek başına yeterli olamayabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, tedavi alan RRMS hastalarında serum trigliserit, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol seviyelerinin bilişsel bozukluğu olanlarda daha yüksek olduğu görülürken serum HDL-kolesterol seviyesinin bilişsel bozukluğu olan tedavi alan RRMS hastalarında daha düşük olduğu görülmüştür. MS hastaları ile yapılan çalışmalarda artan serum LDL-kolesterol ve trigliserit seviyeleri, yüksek hastalık aktivitesiyle ilişkilendirilmiştir (Boshra vd., 2022; Weinstock-Guttman vd., 2011). Yine MS hastaları ile yapılan çalışmalarda artan LDL-kolesterol ve trigliserit seviyelerinin bilişsel performans düşüklüğü ile ilişkili olduğu görülmüştür (Andaloro vd., 2022; Laura vd., 2020; Noori vd., 2019). Sağlıklı bireylerle yapılan boylamsal çalışmalarda ise HDL-kolesterolü yüksek olan bireylerin bilişsel performanslarının daha iyi korunduğu ve daha iyi bilişsel performans gösterdiklerine dair bulgular elde edilmiştir (Chernick vd., 2020; Crichton vd., 2014). Bu sonuçlar, özellikle orta yaşlı MS hastalarının daha iyi bir prognoza sahip olmaları için serum lipit profillerinin de takip edilmesinin faydalı olacağına işaret etmektedir. Plazma clusterin konsantrasyonu, miR-21-5p ve miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyeleri ile bilişsel bozukluk arasında ise anlamlı bir ilişki görülmemiştir.

Grup 2'deki naif RRMS hastalarının plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin kontrol ve tedavi alan RRMS hastalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. Naif RRMS hastaları ile kontrol bireyler arasında yapılan ikili lojistik regresyon analizlerinde plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesi ile naif RRMS olma durumunun ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar üzerine gerçekleştirilen

ROC analizinde plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyleri ayırmada orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastaları arasında yapılan analizlerde de artan miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesi ile naif RRMS olma durumunun ilişkili olduğu görülmüştür. Yapılan ROC analizlerinde de plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastalarını ayırmada orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür. Önceki çalışmalarda, RRMS hastalarının CD4⁺ T hücrelerinde, BOS'unda ve atak döneminde PKMH'lerinde ekspresyon seviyesinin arttığı gözlemlenen miR-21-5p'nin bu çalışmada plazmadaki rölâtif ekspresyon seviyesinin Naif RRMS olma durumu ile ilişkili olduğu görülmüştür (Fenoglio vd., 2011; Munõz-San Martín vd., 2019; Wang vd., 2016). Tedavi alan RRMS hastalarında plazma miR-21-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin kontrol bireylerle benzerlik göstermesi, miR-21-5p'nin tedavi yanıtını değerlendirmeye yönelik bir biyobelirteç adayı olabileceğini düşündürmektedir. Potansiyel terapötik biyobelirteç adayı olan miR-21-5p'nin boylamsal çalışmalarla tedavi yanıtıyla ilişkisinin incelenmesi gerekmektedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, miR-195-5p'nin MSS'nin nörodejeneratif hastalıklarından olan Parkinson ve Alzheimer ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar olduğu görülmüştür (Ardashirova vd., 2020; Dobricic vd., 2022; Samadian vd., 2021). MS'teki rolüne dair doğrudan bir bulguya rastlanmamış olsa da miR-195-5p'nin MS'in immünopatolojisinde rol oynayan IFN- γ , TNF- α proenflamatuvar sitokinlerinin salınımı ve Th17/T_{reg} dengesiyle ilişkili olduğuna dair bulgular literatürde mevcuttur (He vd., 2018; Li vd., 2020). Grup-2'deki tedavi alan RRMS hastalarının plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyelerinin hem naif RRMS hastaları hem de kontrol bireylerden daha düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca, naif RRMS hastalarının plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin kontrol bireylerden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar üzerine gerçekleştirilen ROC analizlerinde plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastaları ve kontrol bireyleri sınıflandırmada orta düzeyde bir prediktör olduğu görülmüştür. Ayrıca, plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastalarını sınıflandırmada da orta düzey bir prediktör olduğu görülmüştür. Tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında gerçekleştirilen ROC analizinde ise plazma miR-195-5p rölâtif ekspresyon seviyesinin çok iyi düzeyde bir prediktör

olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS teşhisine yönelik bir biyobelirteç adayı olabileceği düşünülmektedir. Özellikle, miR-195-5p ile enjektabl immünomodülatör tedavi ajanları olan IFN- β ve GA arasındaki ilişkilerin moleküler düzeyde incelenmesinin miR-195-5p'nin bu tedavi ajanlarının hedefi olup olmadığının kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi için önem arz ettiği görülmektedir. Bunlara ilave olarak, plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile MSSS arasında naif RRMS hastalarında pozitif korelasyon ilişkisi bulunurken tedavi alan RRMS hastalarında miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile MSSS arasında negatif korelasyon ilişkisi bulunmaktadır. Bu durum, miR-195-5p'nin MS riskinin yanı sıra MS'in progresyonu ile de ilişkili olduğunu düşündürmekte olup moleküler seviyede yapılacak olan çalışmalarla miR-195-5p'nin MS'teki rolünün aydınlatılmasına ihtiyaç duyulduğuna dikkat çekmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, naif RRMS hastaları, tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında plazma clusterin konsantrasyonları bakımından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Buna karşın, lojistik regresyon analizlerinde plazma clusterin konsantrasyonunun, plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyeleri, cinsiyet, istihdam, sigara ve *CLU* SNP'leri ile bir arada olduğunda tedavi alan RRMS olma durumuyla ilişkili olduğu görülmüştür (OR=1.06). MS hastalarında bilişsel performansla ilişkisi ilk defa çalışılan plazma clusterin seviyesi ile bilişsel bozukluk arasında ise anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür. Daha önce Alzheimer ve KOAH hastalarında bilişsel performans ve bilişsel bozuklukla ilişkili bulunan plazma clusterin seviyesinin RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkisinin bulunmamasının, MS'in kompleks patofizyolojik süreçlerinin de plazma clusterin seviyesini etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında Grup-2'de plazma clusterin seviyesi ile *CLU* rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri arasındaki ilişki de ayrıca incelenmiştir. Bu analizlerde, tedavi alan RRMS hastalarında dominant modelde CT+TT genotipli olanların CC genotiplilere kıyasla plazma clusterin konsantrasyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür. Rosenthal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasıyla ilişkili olduğu tespit edilen rs1532278 C/T SNP'sinin, T alelinin baskın olması durumunda *CLU* geninin

ifade seviyesini arttırarak plazma clusterin konsantrasyonunu arttırmasının mümkün olduğu görölmektedir (Rosenthal vd., 2014).

Literatürdeki çalışmalarda, *CLU* geninin ifade seviyesini düzenlediği deneysel olarak tespit edilen miR-21-5p ile miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyeleri ile plazma clusterin konsantrasyonu arasındaki ilişkiler de bu çalışma kapsamında ayrıca değerlendirilmiştir. Bu analizlerde, naif RRMS hastalarında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile plazma clusterin seviyesi arasında pozitif korelasyon ilişkisi olduğu görölmüştür. Benzer şekilde, naif RRMS hastaları ve tüm RRMS hastaları (naif RRMS ve tedavi alan RRMS hastaları birlikte) plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyelerine göre yüksek ve düşük rölatif ekspresyon seviyeleri olarak iki gruba ayrıldıklarında plazma clusterin seviyelerinin yüksek miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi grubunda daha fazla olduğu görölmüştür. Bu durumun olası nedenleri bölüm 4.7.2'de detayları ile ele alınmış olup plazma miR-21-5p ve plazma clusterin seviyelerinin naif RRMS hastalarında görölen patofizyolojik süreçler neticesinde birbirlerinden bağımsız olarak artış gösterdiği düşünölmektedir. Bu tez çalışması kapsamındaki bir diğer miRNA olan miR-195-5p ile clusterin arasında ise herhangi bir ilişki olmadığı görölmüştür. Bu sonuçları değerlendirirken, dolaşımdaki miRNA seviyelerinin ve plazma clusterin konsantrasyonunun fizyolojik diğer süreçlerden de etkilenmesinin mümkün olduğunun da göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özet olarak ayrıca sunulmuşlardır:

- *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin C aleli dominant (OR=1.73; *P*=.002), kodominant (OR=1.82; *P*=.005), overdominant (OR=1.80; *P*=.001) ve log-additive (OR=1.48; *P*=.008) modelde RRMS riski ile ilişkilidir.
- İkili lojistik regresyon analizlerine göre, *CLU* rs3087554 T/C SNP'sinin C aleli resesif modelde hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile anlamlı düzeyde ilişkilidir (trigliserit modelde olduğunda: OR=3.71; *P*=.04, VLDL-kolesterol modelde olduğunda: OR=3.58; *P*=.045).
- *CLU* rs11136000 C/T SNP'sinin T aleli dominant modelde orta ile yüksek düzey EDSS (EDSS>3) riski (OR=0.37; *P*=.04) ve hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için koruyucu roldedir (trigliserit modelde olduğunda: OR=0.28; *P*=.03, VLDL-kolesterol modelde olduğunda: OR=0.25; *P*=.02).

- *CLU* rs1532278 C/T SNP'sinin T aleli dominant modelde tedavi alan RRMS hastalarının plazma clusterin seviyesini arttırmakta olup *CLU* geninin ifade seviyesinin düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir ($P=.03$).
- Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi naif RRMS hastalarında kontrollerden ve tedavi alan RRMS hastalarından daha yüksektir (naif RRMS vs. kontrol: $P<.001$; tedavi alan RRMS vs. naif RRMS: $P=.007$).
- Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi, naif RRMS hastalarının ve kontrol bireylerin sınıflandırmasında orta düzeyde bir prediktördür (AUC=0.789, $P<.001$, %95 CI= 0.68-0.90).
- Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi, tedavi alan RRMS ve naif RRMS hastalarının sınıflandırmasında orta düzeyde bir prediktördür (AUC=0.734, $P=.002$, %95 CI= 0.61-0.86).
- Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesinin naif RRMS hastalarında, kontrol bireylerden daha yüksek bulunması, RRMS teşhisine yönelik potansiyel bir biyobelirteç adayı olduğunu göstermektedir.
- Plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bakımından tedavi alan RRMS hastaları ve kontrol bireyler arasında fark olmaması, miR-21-5p'nin potansiyel bir terapötik biyobelirteç adayı olduğunu göstermektedir.
- Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, naif ve tedavi alan RRMS hastalarında kontrollere göre daha düşüktür (naif RRMS vs. kontrol: $P=.001$; tedavi alan RRMS vs. kontrol: $P<.001$). Bu yüzden miR-195-5p RRMS teşhisi için potansiyel bir biyobelirteç adaydır.
- Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi tedavi alan RRMS hastalarında, naif RRMS hastalarından daha düşüktür (tedavi alan RRMS vs. naif RRMS: $P=.03$).
- Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, naif RRMS hastalarının ve kontrol bireylerin sınıflandırmasında orta düzeyde bir prediktördür (AUC=0.791, $P<.001$, %95 CI= 0.67-0.91).
- Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, tedavi alan RRMS hastalarının ve kontrol bireylerin sınıflandırmasında çok iyi düzeyde bir prediktördür (AUC=0.943, $P<.001$, %95 CI= 0.88-1.00).

- Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, tedavi alan RRMS hastaları ve naif RRMS hastaların sınıflandırılmasında orta düzeyde bir prediktördür (AUC=0.708, $P<.001$, %95 CI= 0.58-0.84).
- Plazma miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi, enjektabl immünomodülatör tedavi ajanları olan IFN- β ve GA aracılığı ile azalmakta olup potansiyel terapötik bir hedefdir.
- MRG'deki T1 (OR=1.10; $P=.03$) ve T2 lezyon (OR=1.09; $P=.04$) sayıları tedavi alan RRMS hastalarında bilişsel bozuklukla ilişkilidir.
- RRMS hastaları için erkek olmak kadın olmaya kıyasla, orta ila yüksek düzey EDSS riski ile ilişkilidir (OR \approx 2.6; $P=.04$).
- Erkek RRMS hastalarının kadın RRMS hastalarına nazaran daha yüksek serum trigliserit ($P<.001$), LDL-kolesterol ($P=.04$) ve VLDL-kolesterol ($P<.0001$) seviyelerine sahip oldukları görülürken serum HDL-kolesterol seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür ($P<.001$).
- Serum trigliserit ve VLDL-kolesterol seviyeleri, hem orta ile yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) hem de hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) ile ilişkilidir.
- Düzenlenmiş ve düzenlenmemiş SDMT, CVLT-II ve BVMT-R skorlarının kontrol bireylerde, naif ve tedavi alan RRMS hastalarından daha yüksek olduğu görülmüştür ($P<.001$).
- Bilişsel bozukluk görülme oranları, naif RRMS hastalarında %50, tedavi alan RRMS hastalarında %60 olarak belirlenmiştir.
- Tedavi alan RRMS hastalarında T1 lezyon (OR=1.10; $P=.03$; %95 CI=1.01-1.20) ve T2 lezyon (OR=1.09; $P=.04$; 1.00-1.19) sayılarının artmasının bilişsel bozuklukla ilişkili olduğu görülmüştür.
- T1 (AUC=0.770, $P=.02$; %95 CI=0.60-0.94) ve T2 lezyon (AUC=0.775, $P=.01$; %95 CI=0.61-0.94) sayılarının bilişsel bozukluğu olan ve olmayan RRMS hastalarının sınıflandırılmasında orta düzeyde prediktör olduğu görülmüştür.
- Tedavi alan RRMS hastalarında, serum trigliserit ($P=.004$) ve LDL-kolesterol ($P=.03$) seviyelerinin bilişsel bozukluğu olanlarda daha yüksek olduğu görülürken serum HDL-kolesterol seviyesinin bilişsel bozukluğu olanlarda daha düşük olduğu görülmüştür ($P=.049$).

- RRMS hastalarının serum lipit profilinin takibinin, hastalığın seyrini iyileştirme ve hastanın bilişsel performansını koruma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasıyla birlikte clusterinin MS'teki rolü genotip, fenotip ve bilişsel seviyede kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. *CLU* SNP'lerinden olan rs11136000 C/T, rs3087554 T/C, rs2279590 C/T ve rs1532278 C/T ile RRMS riski arasındaki ilişki ilk defa bu tez çalışmasında incelenmiştir. Yine bu SNP'lerin RRMS hastalarının plazma konsantrasyonu ile ilişkileri ilk defa bu tezde çalışılmıştır. Bu tez çalışmasında MS ile ilişkili yeni bir SNP ortaya konmuş olup farklı popülasyonlarda da bu ilişkinin incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu tez çalışması ile ilk defa RRMS hastalarının plazma clusterin seviyesi ile bilişsel performansları arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Yine bu tez çalışmasında ilk defa plazma miR-21-5p ve miR-195-5p rölatif ekspresyon seviyesi ile RRMS hastalarının bilişsel performansı arasındaki ilişki incelenmiştir. Buna ilave olarak RRMS hastalarında plazma clusterin seviyesi ile, *CLU* geninin düzenleyicileri olan miR-21-5p ve miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyeleri arasındaki ilişki de ilk defa incelenmiş olup bu analizlerde *CLU* geninin 3' UTR'sinde bulunan rs3087554 T/C SNP'sinin etkisi ayrıca değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında RRMS ile ilişkisi incelenen miR-21-5p'nin ve miR-195-5p'nin plazma rölatif ekspresyon seviyesinin RRMS teşhisine yönelik birer biyobelirteç olabileceği görülmüştür. Ayrıca, tedavi alan RRMS hastalarında ve kontrol bireyler arasında plazma miR-21-5p rölatif ekspresyon seviyesi bakımından fark olmaması, miR-21-5p'yi potansiyel bir terapötik biyobelirteç adayı olarak öne çıkarmaktadır. Bu konuda yapılacak olan boylamsal ve kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Buna ilave olarak, miR-21-5p'nin IFN- β ve GA'nın terapötik hedefi olup olmadığının da belirlenmesi için moleküler düzeyde yeni çalışmalar yapılması önerilmektedir. Benzer şekilde, miR-195-5p'nin de RRMS teşhisine yönelik bir biyobelirteç adayı olarak ön plana çıkmasının yanı sıra tedavi ajanları olan IFN- β ve GA ile de plazma rölatif ekspresyon seviyesinin azaldığı görülmüştür. Bu yüzden, miR-195-5p'nin de terapötik bir hedef olup olmadığının değerlendirilmesi için de moleküler düzeyde çalışmalar yapılması önerilmektedir.

Bu tez çalışmasında miR-21-5p ve miR-195-5p'nin enjektabl immünomodülatör tedavilerin hedefi olabileceğine dair birtakım bulgular elde edilmiştir. Önerilen daha kapsamlı çalışmalarla birlikte bu miRNA'ların daha spesifik olarak hedeflenmesine

yönelik tedavi ajanları geliştirilebilir. RRMS'in teşhisi ve RRMS hastalarının prognozunun takibi için plazmadaki potansiyel biyobelirteç adaylarının ortaya koyan bu çalışmanın, ilerleyen dönemlerde geliştirilecek olan biyosensörlere, tedavi ajanlarına ve tanı kitlerine yol göstereceği öngörülmektedir. Multidisipliner bir yaklaşımın ürünü olan bu tez, bahsi geçen yönleriyle Biyomedikal Mühendisliği alanına katkı sağlayan bir çalışma niteliğindedir.





KAYNAKLAR

- Aghajanpour-Mir, M., Amjadi-Moheb, F., Dadkhah, T., Hosseini, S. R., Ghadami, E., Assadollahi, E., Akhavan-Niaki, H., & Ahmadi Ahangar, A. (2019). Informative combination of CLU rs11136000, serum HDL levels, diabetes, and age as a new piece of puzzle-picture of predictive medicine for cognitive disorders. *Molecular Biology Reports*, 46(1), 1033–1041. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4561-5>
- Aharoni, R. (2010). Immunomodulatory drug treatment in multiple sclerosis. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 10(9), 1423–1436. <https://doi.org/10.1586/ern.10.117>
- Aharoni, R., Kayhan, B., Eilam, R., Sela, M., & Arnon, R. (2003). Glatiramer acetate-specific T cells in the brain express T helper 2 γ cytokines and brain-derived neurotrophic factor in situ. 100(24). <https://doi.org/10.1073/pnas.2336171100>
- Aharoni, R., Schottlender, N., Bar-lev, D. D., Eilam, R., Sela, M., Tsoory, M., & Arnon, R. (2019). Cognitive impairment in an animal model of multiple sclerosis and its amelioration by glatiramer acetate. 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40713-4>
- Akbay-Delikanlı, G., Karakullukçu, E., Mutlu, A. A., & Besler, H. T. (2019). Determination of Lipid Profile and Anthropometric Measurements of Multiple Sclerosis Patients: A Controlled Descriptive Study. *Turkish Journal of Neurology*, 25, 218–228.
- Al-Badri, G., & Castorina, A. (2018). Insights into the role of neuroinflammation in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*, 3(1). <https://doi.org/10.3390/jfmk3010013>
- Al-Ghezi, Z. Z., Miranda, K., Nagarkatti, M., & Nagarkatti, P. S. (2019). Combination of cannabinoids, Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol, ameliorates experimental multiple sclerosis by suppressing neuroinflammation through regulation of miRNA-mediated signaling pathways. *Frontiers in Immunology*, 10(AUG), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01921>
- Alayhoğlu, M., Gezen-Ak, D., Dursun, E., Bilgiç, B., Hanağasl, H., Ertan, T., Gürvit, H., Emre, M., Eker, E., Uysal, Ö., & Yllmazer, S. (2016). The Association between Clusterin and APOE Polymorphisms and Late-Onset Alzheimer Disease in a Turkish Cohort. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 29(4), 221–226. <https://doi.org/10.1177/0891988716640373>
- Allawe, Q. H., Abed, M. Q., & Abdullah, H. N. (2022). Gene Reports The possible effect of expressive plasma level of miRNA-21-5P on the serum level of IL-23 in with and without lupus nephritis patients. *Gene Reports*, 26(October 2021), 101422. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101422>
- Alrouji, M., Manouchehrinia, A., Gran, B., & Constantinescu, C. S. (2019).

- Effects of cigarette smoke on immunity, neuroinflammation and multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 329, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.10.004>
- Amato, M. P., Prestipino, E., & Bellinva, A.** (2019). Identifying risk factors for cognitive issues in multiple sclerosis. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 19(4), 333–347. <https://doi.org/10.1080/14737175.2019.1590199>
- Amezcu, L., & McCauley, J. L.** (2017). Race and Ethnicity on MS presentation and Disease Course: ACTRIMS Forum 2019. *Physiology & Behavior*, 176(5), 139–148. <https://doi.org/10.1177/1352458519887328.Race>
- Amin, M., & Ontaneda, D.** (2021). Thalamic Injury and Cognition in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Neurology*, 11(February), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.623914>
- Andaloro, A., Russo, M., Pastura, C., Sessa, E., Calatizzo, P., Maggio, M. G., Bramanti, P., Andaloro, A., Russo, M., Pastura, C., Sessa, E., Calatizzo, P., & Maggio, M. G.** (2022). Is there a correlation between dyslipidemia and cognitive impairment in patients with multiple sclerosis? *International Journal of Neuroscience*, 132(2), 201–206. <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1807980>
- Andonian, B. J., Chou, C., Ilkayeva, O. R., Koves, T. R., Connelly, M. A., Kraus, W. E., Kraus, V. B., & Huffman, K. M.** (2019). Plasma MicroRNAs in Established Rheumatoid Arthritis Relate to Adiposity and Altered Plasma and Skeletal Muscle Cytokine and Metabolic Profiles. 10(June), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01475>
- Angeloni, B., Bigi, R., Bellucci, G., Mechelli, R., Ballerini, C., Romano, C., Morena, E., Pellicciari, G., Reniè, R., Rinaldi, V., Buscarinu, M. C., Romano, S., Ristori, G., & Salvetti, M.** (2021). A case of double standard: Sex differences in multiple sclerosis risk factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073696>
- Ardashirova, N. S., Fedotova, E. Y., & Illarioshkin, S. N.** (2020). The Role of MicroRNA in the Pathogenesis and Diagnostics of Parkinson's Disease. *Neurochemical Journal*, 14(2), 127–132. <https://doi.org/10.1134/s1819712420020026>
- Arndt, G. M., Dossey, L., Cullen, L. M., Lai, A., Druker, R., Eisbacher, M., Zhang, C., Tran, N., Fan, H., Retzlaff, K., Bittner, A., & Raponi, M.** (2009). Characterization of global microRNA expression reveals oncogenic potential of miR-145 in metastatic colorectal cancer. 17, 1–17. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-374>
- Ashida, S., Kondo, T., & Fujii, C.** (2022). Association of cerebrospinal inflammatory profile with radiological features in newly diagnosed treatment-naïve patients with multiple sclerosis.
- Auton, A., & Abecasis, G.** (2015). ARTICLE A global reference for human genetic variation. <https://doi.org/10.1038/nature15393>
- Axisa, P. P., & Hafler, D. A.** (2016). Multiple sclerosis: Genetics, biomarkers, treatments. *Current Opinion in Neurology*, 29(3), 345–353. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000319>

- Azoulay, D., Mausner-fainberg, K., Urshansky, N., Fahoum, F., & Karni, A.** (2009). Interferon- β therapy up-regulates BDNF secretion from PBMCs of MS patients through a CD40-dependent mechanism. *Journal of Neuroimmunology*, *211*(1–2), 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.04.004>
- Azoulay, D., Vachapova, V., Shihman, B., Miler, A., & Karni, A.** (2005). Lower brain-derived neurotrophic factor in serum of relapsing remitting MS : Reversal by glatiramer acetate. *Journal of Neuroimmunology*, *167*, 215–218. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.07.001>
- Bajan, S., & Hutvagner, G.** (2020). RNA-Based Therapeutics: From Antisense Oligonucleotides to miRNAs. *Cells*, *9*(1), 1–27. <https://doi.org/10.3390/cells9010137>
- Balkan, E., & Bilge, N.** (2021). Expression levels of IL-17/IL-23 cytokine-targeting microRNAs 20, 21, 26, 155, and Let-7 in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurological Research*, *43*(9), 778–783. <https://doi.org/10.1080/01616412.2021.1935099>
- Ballerini, C., Guerini, F. R., Rombolà, G., Rosati, E., Massacesi, L., Ferrante, P., Caputo, D., Talamanca, L. F., Naldi, P., Liguori, M., Alizadeh, M., Momigliano-Richiardi, P., & D’Alfonso, S.** (2004). HLA-multiple sclerosis association in Continental Italy and correlation with disease prevalence in Europe. *Journal of Neuroimmunology*, *150*(1–2), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2004.01.015>
- Banerjee, T., Saha, M., Ghosh, E., Hazra, A., Das, A., Choudhury, D., Ojha, S., Haldar, A., Mukherjee, A., Nandi, S., Ghosh, A., Mukherjee, A., Chatterjee, A., Datta, A., & Purakayastha, S.** (2019). Conversion of clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: a prospective multi-center study in Eastern India. *Multiple Sclerosis Journal - Experimental, Translational and Clinical*, *5*(2), 205521731984972. <https://doi.org/10.1177/2055217319849721>
- Baranzini, S. E.** (2011). Revealing the genetic basis of multiple sclerosis: Are we there yet? *Current Opinion in Genetics and Development*, *21*(3), 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2010.12.006>
- Barkhane, Z., Elmadi, J., Kumar, L. S., Pugalenthi, L. S., Ahmad, M., & Reddy, S.** (2022). Multiple Sclerosis and Autoimmunity : A Veiled Relationship. *Cureus*, *14*(4). <https://doi.org/10.7759/cureus.24294>
- Baçoğlu Köseahmet, Fulya.** (2017). *Relapsing Remitting Multipl Skleroz Hastalarında Klinik Gidiş ile TOB1 Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması*. Sağlık Bilimleri Üniversitesi.
- Baulina, N., Kulakova, O., Kiselev, I., Osmak, G., Popova, E., Boyko, A., & Favorova, O.** (2018). Immune-related miRNA expression patterns in peripheral blood mononuclear cells differ in multiple sclerosis relapse and remission. *Journal of Neuroimmunology*, *317*(January), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.01.005>
- Beecham, A. H., Patsopoulos, N. A., Xifara, D. K., Davis, M. F., Kempainen, A., Cotsapas, C., Shah, T. S., Spencer, C., Booth, D., Goris, A., Oturai, A., Saarela, J., Fontaine, B., Hemmer, B., Martin, C., Zipp, F., D’Alfonso, S., Martinelli-Boneschi, F., Taylor, B., ... McCauley, J. L.** (2013). Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple

- sclerosis. *Nature Genetics*, 45(11), 1353–1362. <https://doi.org/10.1038/ng.2770>
- Benedict, R. H. B., Amato, M. P., DeLuca, J., & Geurts, J. J. G.** (2020). Cognitive impairment in multiple sclerosis: clinical management, MRI, and therapeutic avenues. *The Lancet Neurology*, 19(10), 860–871. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30277-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30277-5)
- Benedict, R. H. B., DeLuca, J.,ENZINGER, C., Geurts, J. J. G., Krupp, L. B., & Rao, S. M.** (2017). Neuropsychology of multiple sclerosis: Looking back and moving forward. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 23(9-10 Special Issue), 832–842. <https://doi.org/10.1017/S1355617717000959>
- Benedict, R. H. B., Fischer, J. S., Archibald, C. J., Arnett, P. A., Beatty, W. W., Bobholz, J., Chelune, G. J., Fisk, J. D., Langdon, D. W., Caruso, L., Foley, F., LaRocca, N. G., Vowels, L., Weinstein, A., DeLuca, J., Rao, S. M., & Munschauer, F.** (2002). Minimal neuropsychological assessment of MS patients: A consensus approach. *Clinical Neuropsychologist*, 16(3), 381–397. <https://doi.org/10.1076/clin.16.3.381.13859>
- Berkovich, R.** (2013). Treatment of Acute Relapses in Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics*, 10(1), 97–105. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0160-7>
- Bettens, K., Brouwers, N., Engelborghs, S., Lambert, J.-C., Rogaeva, E., Vandenberghe, R., Le Bastard, N., Pasquier, F., Vermeulen, S., Van Dongen, J., Mattheijssens, M., Peeters, K., Mayeux, R., St George-Hyslop, P., Amouyel, P., De Deyn, P. P., Sleegers, K., & Van Broeckhoven, C.** (2012). Both common variations and rare non-synonymous substitutions and small insertion/deletions in CLU are associated with increased Alzheimer risk. *Molecular Neurodegeneration*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-3>
- Bielska, A., Skwarska, A., Kretowski, A., & Niemira, M.** (2022). The Role of Androgen Receptor and microRNA Interactions in Androgen-Dependent Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). <https://doi.org/10.3390/ijms23031553>
- Bier, J., Steiger, S. M., Reichardt, H. M., & Lühder, F.** (2021). *Protection of Antigen-Primed Effector T Cells From Glucocorticoid- Induced Apoptosis in Cell Culture and in a Mouse Model of Multiple Sclerosis*. 12(June), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.671258>
- Biliktu, M., Pinar, S., Meryem, S., Resitoglu, T., Sinem, D., Mehmet, G., & Horat, F.** (2020). Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase attenuates chronic experimental autoimmune encephalomyelitis by modulating inflammatory and anti - inflammatory pathways in an inflammasome - dependent and - independent manner. *Inflammopharmacology*, 28(6), 1509–1524. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00691-w>
- Bölük, C., Börü, Ü. T., Taşdemir, M., & Gezer, T.** (2021). Epidemiology of multiple sclerosis in turkey; a ten-year trend in rural cities. *Turk Noroloji Dergisi*, 27(1), 41–45. <https://doi.org/10.4274/tnd.2020.36418>
- Bonneau, E., Neveu, B., Kostantin, E., Tsongalis, G. J., & De Guire, V.** (2019). How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic market. *Electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 30(2), 114–127.

- Börü, Ü. T., Alp, R., Sur, H., & Gül, L.** (2006). Prevalence of multiple sclerosis door-to-door survey in Maltepe, Istanbul, Turkey. *Neuroepidemiology*, 27(1), 17–21. <https://doi.org/10.1159/000093895>
- Boshra, H., Awad, M., Hussein, M., & Elyamani, E.** (2022). Vascular dysfunction and dyslipidemia in multiple sclerosis : are they correlated with disease duration and disability status ? *The Egyptian Heart Journal*. <https://doi.org/10.1186/s43044-022-00244-2>
- Breuer, J., Loser, K., Mykicki, N., Wiendl, H., & Schwab, N.** (2019). Does the environment influence multiple sclerosis pathogenesis via UVB light and/or induction of vitamin D? *Journal of Neuroimmunology*, 329(May), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.05.006>
- Burdon, K. P., Sharma, S., Hewitt, A. W., McMellon, A. E., Wang, J. J., Mackey, D. A., Mitchell, P., & Craig, J. E.** (2008). Genetic analysis of the clusterin gene in pseudoexfoliation syndrome. *Molecular Vision*, 14(September), 1727–1736.
- Cai, R., Han, J., Sun, J., Huang, R., Tian, S., Shen, Y., Dong, X., Xia, W., & Wang, S.** (2016). Plasma clusterin and the CLU gene rs11136000 variant are associated with mild cognitive impairment in type 2 diabetic patients. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8(JUN), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00179>
- Çakmak, M. A.** (2009). *Multipl Skleroz Hastalarında IL-7 Reseptör Alfa Gen Polimorfizminin Araştırılması*.
- Calabrese, M., Rinaldi, F., Grossi, P., & Gallo, P.** (2011). Cortical pathology and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 11(3), 425–432. <https://doi.org/10.1586/ern.10.155>
- Calder, P. C., Ahluwalia, N., Brouns, F., Buetler, T., Clement, K., Cunningham, K., Esposito, K., Jönsson, L. S., Kolb, H., Lansink, M., Marcos, A., Margioris, A., Matusheski, N., Nordmann, H., O'Brien, J., Pugliese, G., Rizkalla, S., Schalkwijk, C., Tuomilehto, J., ... Winklhofer-Roob, B. M.** (2011). Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *British Journal of Nutrition*, 106(SUPPL. 3). <https://doi.org/10.1017/s0007114511005460>
- Cao, J., Huang, M., Guo, L., Zhu, L., Hou, J., Zhang, L., Pero, A., Ng, S., El Gaamouch, F., Elder, G., Sano, M., Goate, A., Tcw, J., Haroutunian, V., Zhang, B., & Cai, D.** (2021). MicroRNA-195 rescues ApoE4-induced cognitive deficits and lysosomal defects in Alzheimer's disease pathogenesis. *Molecular Psychiatry*, 26(9), 4687–4701. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0824-3>
- Catalanotto, C., Cogoni, C., & Zardo, G.** (2016). *MicroRNA in Control of Gene Expression : An Overview of Nuclear Functions*. <https://doi.org/10.3390/ijms17101712>
- Çelik, Y., Birgili, Ö., Kiyat, A., Güldiken, B., Özkan, H., Yılmaz, H., Saip, S., Kuşçu, D., Sütlas, N., Ağaoğlu, J., Utku, U., & Siva, A.** (2011). Prevalence of multiple sclerosis in the metropolitan area of Edirne city, Turkey. *Balkan Medical Journal*, 28(2), 193–196. <https://doi.org/10.5174/tutfd.2010.04089.0>
- Çetin, F.** (2020). *MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA SİRTUİN 7 , SEMA 3A ,* Fırat Üniversitesi.
- Chang, H.-I., Chang, Y.-T., Huang, C.-W., Huang, K.-L., Hsu, J.-L., Hsu, S.-W.,**

- Tsai, S.-J., Chang, W.-N., Lee, C.-C., Huang, S.-H., & Chang, C.-C.** (2021). *Structural Covariance Network as an Endophenotype in Alzheimer ' s Single-Nucleotide Polymorphisms and the Correlations With Cognitive Outcomes*. 13(December). <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.721217>
- Charnay, Y., Imhof, A., Vallet, P. G., Kovari, E., Bouras, C., & Giannakopoulos, P.** (2012). Clusterin in neurological disorders: Molecular perspectives and clinical relevance. *Brain Research Bulletin*, 88(5), 434–443. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.05.006>
- Chen, C., Wu, Y., Li, M., Cui, C., Zhao, Y., & Sun, X.** (2020). *Different Exosomal microRNA Profile in Aquaporin-4 Antibody Positive Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders*. 11(May), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01064>
- Chen, J., Wang, Z., & Lin, A.** (2017). *MicroRNAs Correlate with Multiple Sclerosis and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder in a Chinese Population*. 2565–2583. <https://doi.org/10.12659/MSM.904642>
- Chen, L. H., Heng Mak, T. S., Fan, Y., Yin Ho, D. T., Sham, P. C., Chu, L. W., & Song, Y. Q.** (2020). Associations between CLU polymorphisms and memory performance: The role of serum lipids in Alzheimer's disease. *Journal of Psychiatric Research*, 129, 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.07.015>
- Chen, L. H., Kao, P. Y. P., Fan, Y. H., Ho, D. T. Y., Chan, C. S. Y., Yik, P. Y., Ha, J. C. T., Chu, L. W., & Song, Y. Q.** (2012). Polymorphisms of CR1, CLU and PICALM confer susceptibility of Alzheimer's disease in a southern Chinese population. *Neurobiology of Aging*, 33(1), 210.e1-210.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.09.016>
- Chen, L., Li, J., Yao, Y., Wang, S., Zheng, S., Ju, X., & Zhang, B.** (2021). Circulating microRNA profile unveils mechanisms of action of acitretin for psoriasis vulgaris. *Bioengineered*, 12(1), 1838–1850. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1925205>
- Chen, W. W., Zhang, X., & Huang, W. J.** (2016). Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, 13(4), 3391–3396. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4948>
- Cheng, Y., Liu, X., Zhang, S., Lin, Y., Yang, J., & Zhang, C.** (2009). Journal of Molecular and Cellular Cardiology MicroRNA-21 protects against the H₂O₂ - induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 47(1), 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.01.008>
- Chernick, D., Zhong, R., & Li, L.** (2020). *The Role of HDL and HDL Mimetic Peptides as Potential Therapeutics for Alzheimer ' s Disease*. 1–28.
- Cinar, B. P., Kösehasanoğulları, G., Yigit, P., & Ozakbas, S.** (2017). Cognitive dysfunction in patients with multiple sclerosis treated with first-line disease-modifying therapy: a multi-center, controlled study using the BICAMS battery. *Neurological Sciences*, 38(2), 337–342. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2775-7>
- Coles, A. J., Jones, J., Trip, S. A., & Miller, D. H.** (2006). *The window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis Evidence from monoclonal antibody therapy*.

98–108. <https://doi.org/10.1007/s00415-005-0934-5>

- Comabella, M., & Khoury, S. J.** (2012). Immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Clinical Immunology*, *142*(1), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2011.03.004>
- Comi, G., Bar-Or, A., Lassmann, H., Uccelli, A., Hartung, H. P., Montalban, X., Sørensen, P. S., Hohlfeld, R., & Hauser, S. L.** (2021). Role of B Cells in Multiple Sclerosis and Related Disorders. *Annals of Neurology*, *89*(1), 13–23. <https://doi.org/10.1002/ana.25927>
- Conti, L., Rodolico, G., Kaur, S., Silvennoinen, O., Niccolai, E., Amedei, A., & Novelli, F.** (2012). Th17 Cells in Multiple Sclerosis Express Higher Levels of JAK2, Which Increases Their Surface Expression of IFN-. *The Journal of Immunology*, *2*. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1004013>
- Coyle, P. K.** (2009). Disease-modifying agents in multiple sclerosis. *Annals of Indian Academy of Neurology*, *12*(4), 273–282. <https://doi.org/10.4103/0972-2327.58280>
- Coyle, Patricia K.** (2021). *What Can We Learn from Sex Differences in MS?*
- Crawford, M., Batte, K., Yu, L., Wu, X., Nuovo, G. J., Marsh, C. B., Otterson, G. A., & Nana-sinkam, S. P.** (2009). Biochemical and Biophysical Research Communications MicroRNA 133B targets pro-survival molecules MCL-1 and BCL2L2 in lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *388*(3), 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.07.143>
- Crichton, G. E., Elias, M. F., Davey, A., Sullivan, K. J., & Robbins, M. A.** (2014). Higher HDL Cholesterol Is Associated with Better Cognitive Function: the Maine-Syracuse Study. 961–970. <https://doi.org/10.1017/S1355617714000885>
- Dahiya, N., Sherman-baust, C. A., Wang, T., Davidson, B., Shih, I., Iii, W. W., Becker, K. G., & Morin, P. J.** (2008). *MicroRNA Expression and Identification of Putative miRNA Targets in Ovarian Cancer*. 3(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002436>
- Daimon, M., Oizumi, T., Karasawa, S., Kaino, W., Takase, K., Tada, K., Jimbu, Y., Wada, K., Kameda, W., Susa, S., Muramatsu, M., Kubota, I., Kawata, S., & Kato, T.** (2011). Association of the clusterin gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *60*(6), 815–822. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2010.07.033>
- Daniel S. Reich, M.D., Ph.D., Claudia F. Lucchinetti, M.D., Calabresi, P. A.** (2018). Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, 169–180. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1401483>
- de Caneda, M. A. G., & de Vecino, M. C. A.** (2016). The correlation between EDSS and cognitive impairment in MS patients. Assessment of a Brazilian population using a BICAMS version. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *74*(12), 974–981. <https://doi.org/10.1590/0004-282x20160151>
- de Sousa, M. A. P., de Athayde, F. R. F., Maldonado, M. B. C., de Lima, A. O., Fortes, M. R. S., & Lopes, F. L.** (2021). Single nucleotide polymorphisms affect miRNA target prediction in bovine. *PLoS ONE*, *16*(4 April), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249406>
- Demirdöğen, B. C., Demirkaya-budak, S., & Özge, G.** (2020). Evaluation of Tear Fluid and Aqueous Humor Concentration of Clusterin as Biomarkers for Early

- Diagnosis of Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliative Glaucoma Evaluation of Tear Fluid and Aqueous Humor Concentration of Clusterin as Biomarkers for Early Diagnosis of Pseudoexfoliation Syndrome and. *Current Eye Research*, 45(7), 805–813. <https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1698055>
- Demirkaya-Budak, Sinem.** (2018). *Psödoeksfloasyon Sendromu ve Glokomu ile Clusterin Genetik Polimorfizmleri ve Clusterin Gözyaşı ve Aköz Humor Seviyesi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi*. TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi.
- Deng, N., Zhou, H., Fan, H., & Yuan, Y.** (2017). *Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility*. 8(66), 110635–110649.
- Desvignes, T., Batzel, P., Berezikov, E., Eilbeck, K., Eppig, J., McAndrews, M., Singer, A., & Postlethwait, J.** (2015). microRNA nomenclature: A view incorporating genetic origins, biosynthetic pathways, and sequence variants. *Trends in Genetics*, 31(11), 613–626. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.09.002>
- Ding, H., Huang, Z., Chen, M., Wang, C., Chen, X., Chen, J., & Zhang, J.** (2015). *Parkinsonism and Related Disorders Identification of a panel of five serum miRNAs as a biomarker for Parkinson's disease*. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.11.014>
- Dobricic, V., Schilling, M., Schulz, J., Zhu, L.-S., Zhou, C.-W., Fuß, J., Franzenburg, S., Zhu, L.-Q., Parkkinen, L., Lill, C. M., & Bertram, L.** (2022). Differential microRNA expression analyses across two brain regions in Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02108-4>
- Dobson, R., & Giovannoni, G.** (2019). Multiple sclerosis – a review. *European Journal of Neurology*, 26(1), 27–40. <https://doi.org/10.1111/ene.13819>
- Du, C., Liu, C., Kang, J., Zhao, G., Ye, Z., Huang, S., Li, Z., Wu, Z., & Pei, G.** (2009). MicroRNA miR-326 regulates TH-17 differentiation and is associated with the pathogenesis of multiple sclerosis. *Nature Immunology*, 10(12), 1252–1259. <https://doi.org/10.1038/ni.1798>
- Du, J., Lv, W., Yang, S., Liu, J., Zhen, J., & Leng, J.** (2020). Glatiramer acetate protects against oxygen-glucose deprivation / reperfusion-induced injury by inhibiting Egr-1 in H9c2 cells. *Molecular Immunology*, 120(1), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.02.003>
- Dubey, S. K., Hejtmancik, J. F., Krishnadas, S. R., Sharmila, R., Haripriya, A., & Sundaesan, P.** (2015). Evaluation of Genetic Polymorphisms in Clusterin and Tumor Necrosis Factor-Alpha Genes in South Indian Individuals with Pseudoexfoliation Syndrome. *Current Eye Research*, 40(12), 1218–1224. <https://doi.org/10.3109/02713683.2014.997884>
- Dukic, L., Simundic, A., Martinic-popovic, I., Kackov, S., Diamandis, A., Begcevic, I., & Diamandis, E. P.** (2016). The role of human kallikrein 6, clusterin and adiponectin as potential blood biomarkers of dementia. *Clinical Biochemistry*, 49(3), 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.10.014>
- Đurfinová, M., Bartová, R., Procházková, E., Petřleničová, D., Sýkora, P., & Repiská, V.** (2015). *Paraoxonase 1 activity and polymorphisms in multiple sclerosis patients*. 192, 1672–1676. <https://doi.org/10.1515/biolog-2015-0195>

- Dusankova, J. B., Kalincik, T., & Benedict, R. H. B.** (2012). Cross Cultural Validation of The Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis (MACFIMS) and The Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS). *The Clinical Neuropsychologist*, August 2013, 37–41. <https://doi.org/10.1080/13854046.2012.725101>
- Ebrahimkhani, S., Vafae, F., Young, P. E., Hur, S. S. J., Hawke, S., Devenney, E., Beadnall, H., Barnett, M. H., Suter, C. M., & Buckland, M. E.** (2017). Exosomal microRNA signatures in multiple sclerosis reflect disease status. *Scientific Reports*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14301-3>
- Efendi, H., & Yandım-Kuşçu, D.** (2018). *Multipl Skleroz Tani ve Tedavi Kılavuzu* (H. Efendi & D. Yandım-Kuşçu (eds.); 2018th ed.). Galenos Yayınevi.
- Eftekharian, M. M., Komaki, A., Mazdeh, M., Arsang-Jang, S., Taheri, M., & Ghafouri-Fard, S.** (2019). Expression Profile of Selected MicroRNAs in the Peripheral Blood of Multiple Sclerosis Patients: a Multivariate Statistical Analysis with ROC Curve to Find New Biomarkers for Fingolimod. *Journal of Molecular Neuroscience*, 153–161. <https://doi.org/10.1007/s12031-019-01294-z>
- Ehtesham, N., Khorvash, F., & Kheirollahi, M.** (2017). miR-145 and miR20a-5p Potentially Mediate Pleiotropic Effects of Interferon-Beta Through Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathway in Multiple Sclerosis Patients. *Journal of Molecular Neuroscience*, 16–24. <https://doi.org/10.1007/s12031-016-0851-3>
- Erkal, B., & Korkut, S. V.** (2022). Identification of miRNAs and their potential effects on multiple sclerosis related pathways using in silico analysis National Center for Biotechnology Information. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 59(January), 103642. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2022.103642>
- Fan, B. J., Pasquale, L. R., Kang, J. H., Levkovitch-Verbin, H., Haines, J. L., & Wiggs, J. L.** (2015). Association of clusterin (CLU) variants and exfoliation syndrome: an analysis in two Caucasian studies and a meta-analysis. *Experimental Eye Research*, 139(1), 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.08.004>
- Fang, B., Zhu, J., Wang, Y., Geng, F., & Li, G.** (2015). ScienceDirect MiR-454 inhibited cell proliferation of human glioblastoma cells by suppressing PDK1 expression. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 75, 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.07.029>
- Feng, P., Yang, Q., Luo, L., Sun, Y., Lv, W., Wan, S., & Guan, Z.** (2021). The kinase PDK1 regulates regulatory T cell survival via controlling redox homeostasis. *Theranostics*, 11(19). <https://doi.org/10.7150/thno.63992>
- Fenoglio, C., Cantoni, C., Riz, M. De, Ridolfi, E., Cortini, F., Serpente, M., Villa, C., Comi, C., Mellesi, L., Valzelli, S., Bresolin, N., Galimberti, D., & Scarpini, E.** (2011). Neuroscience Letters Expression and genetic analysis of miRNAs involved in CD4 + cell activation in patients with multiple sclerosis. *Neuroscience Letters*, 504(1), 9–12. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.08.021>
- Fenoglio, C., De Riz, M., Pietroboni, A. M., Calvi, A., Serpente, M., Cioffi, S. M. G., Arcaro, M., Oldoni, E., Scarpini, E., & Galimberti, D.** (2016). Effect of fingolimod treatment on circulating miR-15b, miR23a and miR-223 levels in patients with multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 299, 81–83.

<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.08.017>

- Ferrari, R., Moreno, J. H., Minhajuddin, A. T., Bryant, S. E. O., Reisch, J. S., Barber, R. C., & Momeni, P.** (2012). Implication of common and disease specific variants in *CLU*, *CR1*, and *PICALM*. *NBA*, 33(8), 1846.e7-1846.e18. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.01.110>
- Filippi, M., Bar-Or, A., Piehl, F., Preziosa, P., Solari, A., Vukusic, S., & Rocca, M. A.** (2018). Multiple sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1–27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0041-4>
- Fiorini, A., Koudriavtseva, T., Bucaj, E., Coccia, R., Foppoli, C., Giorgi, A., Schininà, M. E., Di Domenico, F., de Marco, F., & Perluigi, M.** (2013). Involvement of Oxidative Stress in Occurrence of Relapses in Multiple Sclerosis: The Spectrum of Oxidatively Modified Serum Proteins Detected by Proteomics and Redox Proteomics Analysis. *PLoS ONE*, 8(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065184>
- Freitas, C. L. De, Polonio, C. M., Brandão, W. N., Rossato, C., Zanluqui, N. G., Oliveira, L. G. De, Oliveira, M. G. De, Evangelista, L. P., Halpern, S., Maluf, M., Czresnia, C. E., Perin, P., Almeida, D. C. De, Pierre, J., & Peron, S.** (2022). Human Fallopian Tube – Derived Mesenchymal Stem Cells Inhibit Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Suppressing Th1 / Th17 Activation and Migration to Central Nervous System. 609–625. <https://doi.org/10.1007/s12015-021-10226-7>
- Gallucci, G., Tartarone, A., Lerosé, R., Lalinga, A. V., & Capobianco, A. M.** (2020). Cardiovascular risk of smoking and benefits of smoking cessation. *Journal of Thoracic Disease*, 12(7), 3866–3876. <https://doi.org/10.21037/jtd.2020.02.47>
- Gandhi, R., Healy, B., Gholipour, T., Egorova, S., Musallam, A., Hussain, M. S., Nejad, P., Patel, B., Hei, H., Khoury, S., Quintana, F., Kivisakk, P., Chitnis, T., & Weiner, H. L.** (2013). Circulating MicroRNAs as biomarkers for disease staging in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 73(6), 729–740. <https://doi.org/10.1002/ana.23880>
- Gao, X., Qiao, Y., Han, D., Zhang, Y., & Ma, N.** (2012). Enemy or partner: Relationship between intronic micrnas and their host genes. *IUBMB Life*, 64(10), 835–840. <https://doi.org/10.1002/iub.1079>
- García-Aranda, M., Téllez, T., Muñoz, M., & Redondo, M.** (2017). Clusterin inhibition mediates sensitivity to chemotherapy and radiotherapy in human cancer. *Anti-Cancer Drugs*, 28(7), 702–716. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000507>
- Garo, L. P., & Murugaiyan, G.** (2016). Contribution of MicroRNAs to autoimmune diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(10), 2041–2051. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2167-4>
- Gerrard, B., Singh, V., Babenko, O., Gauthier, I., Wee Yong, V., Kovalchuk, I., Luczak, A., & Metz, G. A. S.** (2017). Chronic mild stress exacerbates severity of experimental autoimmune encephalomyelitis in association with altered non-coding RNA and metabolic biomarkers. *Neuroscience*, 359, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.07.033>

- Gezer, A. (2016).** *Multipl Skleroz Hastalarında Atak ve Remisyon Dönemlerinde Serum Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması, Özürlülük Ölçeği (EDSS) ile İlişkisi.* Selçuk Üniversitesi.
- Giorgio, A., Stromillo, M. L., Bartolozzi, M. L., Rossi, F., Battaglini, M., De, A., Guidi, L., Maritato, P., Portaccio, E., Sormani, M. P., Amato, M. P., & Stefano, N. De. (2014).** Relevance of hypointense brain MRI lesions for long-term worsening of clinical disability in relapsing multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*. <https://doi.org/10.1177/1352458513494490>
- Giuliani, A., Gaetani, S., Sorgentoni, G., Agarbati, S., Laggetta, M., Maticchione, G., Gobbi, M., Rossi, T., Galeazzi, R., Piccinini, G., Pelliccioni, G., Bonfigli, A. R., Procopio, A. D., Albertini, M. C., Sabbatinelli, J., Olivieri, F., & Fazioli, F. (2021).** *Circulating Inflammation-miRs as Potential Biomarkers of Cognitive Impairment in Patients Affected by Alzheimer ' s Disease.* 13(March), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.647015>
- Giuliani, A., Lattanzi, S., Ramini, D., Graciotti, L., Danni, M. C., Procopio, A. D., Silvestrini, M., Olivieri, F., & Sabbatinelli, J. (2021).** Potential prognostic value of circulating inflammation-miR-146a-5p and miR-125a-5p in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 54(June), 103126. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.103126>
- Goodall, E. F., Heath, P. R., Bandmann, O., Kirby, J., & Shaw, P. J. (2013).** Neuronal dark matter: The emerging role of microRNAs in neurodegeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7(OCT), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00178>
- Gorur, A., Balci, S., Nil, F., & Unal, D. (2013).** *Determination of plasma microRNA for early detection of gastric cancer.* 2091–2096. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2267-7>
- Gourraud, P. A., Oksenberg, J. R., Baranzini, S. E., & Hauser, S. L. (2011).** The genetics of multiple sclerosis: an up-to-date review. *Multiple Sclerosis Therapeutics, Fourth Edition*, 9780521766, 35–45. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139023986.007>
- Graziano, E., Hagemeyer, J., Weinstock-guttman, B., Ramasamy, D. P., & Zivadinov, R. (2015).** NeuroImage : Clinical Increased contrast enhancing lesion activity in relapsing – remitting multiple sclerosis migraine patients ☆. *YNICL*, 9, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.07.013>
- Greiner, T., & Kipp, M. (2021).** What Guides Peripheral Immune Cells into the Central Nervous System ? *Cells*.
- Grigorova, A. A., Trenova, A. G., & Stanilova, S. A. (2021).** Association of polymorphism -308G / A in tumor necrosis factor-alpha gene (TNF- α) and TNF- α serum levels in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis sclerosis. *Neurological Research*, 43(4), 291–298. <https://doi.org/10.1080/01616412.2020.1853987>
- Guerau-de-Arellano, M., Alder, H., Ozer, H. G., Lovett-Racke, A., & Racke, M. K. (2012).** MiRNA profiling for biomarker discovery in multiple sclerosis: From microarray to deep sequencing. *Journal of Neuroimmunology*, 248(1–2), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2011.10.006>

- Guerreiro, R. J., Beck, J., Gibbs, J. R., Santana, I., Rossor, M. N., Schott, J. M., Nalls, M. A., Ribeiro, H., Santiago, B., Fox, N. C., Oliveira, C., Collinge, J., Mead, S., Singleton, A., & Hardy, J.** (2010). Genetic variability in CLU and its association with Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, *5*(3), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009510>
- Güven, G., Ozer, E., Bilgic, B., Hanagasi, H., Gurvit, H., Lohmann, E., & Nihan Erginel-Unaltuna.** (2020). *The Association of Serum Clusterin Levels and*. <https://doi.org/10.4103/NSN.NSN>
- Hauser, S. L., & Cree, B. A. C.** (2020). Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *American Journal of Medicine*, *133*(12), 1380-1390.e2. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.05.049>
- He, J. F., Luo, Y. M., Wan, X. H., & Jiang, D.** (2011). Biogenesis of MiRNA-195 and its role in biogenesis, the cell cycle, and apoptosis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *25*(6), 404–408. <https://doi.org/10.1002/jbt.20396>
- Hemmer, B., Kerschensteiner, M., & Korn, T.** (2015). Role of the innate and adaptive immune responses in the course of multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, *14*(4), 406–419. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70305-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70305-9)
- Hemmer, B., & Selter.** (2013). Update on immunopathogenesis and immunotherapy in multiple sclerosis. *ImmunoTargets and Therapy*, *2*(1), 21. <https://doi.org/10.2147/itt.s31813>
- Hollenbach, J. A., & Oksenberg, J. R.** (2015). The immunogenetics of multiple sclerosis: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*, *64*, 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.06.010>
- Hsu, J. L., Lee, W. J., Liao, Y. C., Lirng, J. F., Wang, S. J., & Fuh, J. L.** (2017). Plasma biomarkers are associated with agitation and regional brain atrophy in Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05390-1>
- Hsu, J., Lee, W., Liao, Y., Wang, S., & Fuh, J.** (2017). *The clinical significance of plasma clusterin and Aβ in the longitudinal follow-up of patients with Alzheimer's disease*. 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0319-x>
- Hu, Y., Li, Q., Zhang, L., Zhong, L., Gu, I. M., He, I. B., & Qu, I. Q.** (2021). *Serum miR-195-5p Exhibits Clinical Significance in the Diagnosis of Essential Hypertension with Type 2 Diabetes Mellitus by Targeting DRD1*. <https://doi.org/10.6061/clinics/2021/e2502>
- Hua, L., Shin, T., Mak, H., Fan, Y., Tip, D., Ho, Y., Chung, P., Wing, L., & Song, Y.** (2020). Associations between CLU polymorphisms and memory performance: The role of serum lipids in Alzheimer's disease. *Journal of Psychiatric Research*, *129*, 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.jpsyires.2020.07.015>
- Huang, Q., Xiao, B., Ma, X., Qu, M., Li, Y., Nagarkatti, P., Nagarkatti, M., & Zhou, J.** (2016). MicroRNAs associated with the pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, *296*, 148–161.
- Huang, X., Bao, C., Lv, Q., Zhao, J., Wang, Y., Lang, X., Li, Z., & Yi, Z.** (2020). *Psychoneuroendocrinology Sex difference in cognitive impairment in drug-free schizophrenia: Association with miR-195 levels*. *119*(January).

<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.104748>

- Hughes-austin, J. M., Gan, R. W., Deane, D., Weisman, M. H., Demoruelle, M. K., Robinson, H., Holers, V. M., Norris, M., & Ix, J. H.** (2017). *Nephrology Association of Antibodies to Citrullinated Protein Antigens with Blood Pressure in First-Degree Relatives of Rheumatoid Arthritis Patients : The Studies of the Etiology of Rheumatoid Arthritis.* 92093, 481–487. <https://doi.org/10.1159/000485259>
- Ichimi, T., Enokida, H., Okuno, Y., Kunimoto, R., Chiyomaru, T., & Kawamoto, K.** (2009). *Identification of novel microRNA targets based on microRNA signatures in bladder cancer.* 352(September 2008), 345–352. <https://doi.org/10.1002/ijc.24390>
- Islas, M. Á. M., & Ciampi, E.** (2019). Assessment and impact of cognitive impairment in multiple sclerosis: An overview. *Biomedicines*, 7(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7010022>
- Jager, P. L. De, Jia, X., Wang, J., Bakker, P. I. W. De, Aggarwal, N. T., Piccio, L., Raychaudhuri, S., Tran, D., Aubin, C., Briskin, R., Romano, S., Genetics, I. M. S., Baranzini, S. E., Mccauley, J. L., Pericak-vance, M. A., Haines, J. L., Gibson, R. A., Naeglin, Y., Uitdehaag, B., ... Jorge, R.** (2009). Meta-analysis of genome scans and replication identify CD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci. *Nature Genetics*, 41(7), 776–782. <https://doi.org/10.1038/ng.401>. Meta-analysis
- Jagot, F., & Davoust, N.** (2016). Is it worth considering circulating microRNAs in multiple sclerosis? *Frontiers in Immunology*, 7(APR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00129>
- Jakimovski, D., Zivadnov, R., Ramanathan, M., Hagemeyer, J., Weinstock-Guttman, B., Tomic, D., Kropshofer, H., Fuchs, T. A., Barro, C., Leppert, D., Yaldizli, Ö., Kuhle, J., & Benedict, R. H. B.** (2020). Serum neurofilament light chain level associations with clinical and cognitive performance in multiple sclerosis: A longitudinal retrospective 5-year study. *Multiple Sclerosis Journal*, 26(13), 1670–1681. <https://doi.org/10.1177/1352458519881428>
- Javor, J., Shawkatová, I., Ďurmanová, V., Daniel, P., Jozef, Č., Daniela, M., Cudráková, Č., Karin, S., Ľubica, G., & Mária, P.** (2018). *TNFRSF1A polymorphisms and their role in multiple sclerosis susceptibility and severity in the Slovak population.* June, 257–265. <https://doi.org/10.1111/iji.12388>
- Jazbutyte, V., & Thum, T.** (2010). MicroRNA-21: From Cancer to Cardiovascular Disease. *Current Drug Targets*, 11(8), 926–935. <https://doi.org/10.2174/138945010791591403>
- Jokubaitis, V. G., & Butzkueven, H.** (2016). A genetic basis for multiple sclerosis severity : Red herring or real ? *Molecular and Cellular Probes*, 30(6), 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2016.08.007>
- Jones, S. E., & Jomary, C.** (2002). Clusterin. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 34(5), 427–431. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(01\)00155-8](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00155-8)
- Jun, G., Naj, A. C., Beecham, G. W., Wang, L. S., Buros, J., Gallins, P. J., Buxbaum, J. D., Ertekin-Taner, N., Fallin, M. D., Friedland, R., Inzelberg,**

- R., Kramer, P., Rogaeva, E., St George-Hyslop, P., Cantwell, L. B., Dombroski, B. A., Saykin, A. J., Reiman, E. M., Bennett, D. A., ... Schellenberg, G. D.** (2010). Meta-analysis confirms CR1, CLU, and PICALM as Alzheimer disease risk loci and reveals interactions with APOE genotypes. *Archives of Neurology*, 67(12), 1473–1484. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.201>
- Jużwik, C. A., S. Drake, S., Zhang, Y., Paradis-Isler, N., Sylvester, A., Amar-Zifkin, A., Douglas, C., Morquette, B., Moore, C. S., & Fournier, A. E.** (2019). microRNA dysregulation in neurodegenerative diseases: A systematic review. *Progress in Neurobiology*, 182(July), 101664. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.101664>
- Kacperska, Magdalena J., Walenczak, J., & Tomasik, B.** (2016). Plasmatic microRNA as potential biomarkers of multiple sclerosis: Literature review. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 25(4), 775–779. <https://doi.org/10.17219/acem/60098>
- Kacperska, Magdalena Justyna, Jastrzebski, K., Tomasik, B., Walenczak, J., Konarska-Krol, M., & Glabinski, A.** (2015). Selected Extracellular microRNA as Potential Biomarkers of Multiple Sclerosis Activity—Preliminary Study. *Journal of Molecular Neuroscience*, 56(1), 154–163. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0476-3>
- Kamboh, M. I., Minster, R. L., Demirci, F. Y., Ganguli, M., DeKosky, S. T., Lopez, O. L., & Barmada, M. M.** (2012). Association of CLU and PICALM variants with Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 33(3), 518–521. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.015>
- Kasindi, A., Fuchs, D.-T., Koronyo, Y., Rentsendorj, A., Black, K. L., & Koronyo-Hamaoui, M.** (2022). *Glatiramer Acetate Immunomodulation: Evidence of Neuroprotection and Cognitive Preservation*. 1–38.
- Kasımay, H.** (2017). *Kognitif Fonksiyonların Multipl Sklerozda Uzunlamasına Takibi*. Celal Bayar Üniversitesi.
- Kiliçarslan, S., Tekcan, A., Demir, H. D., & Yiğit, S.** (2017). Investigation of Association with Clusterin Rs11136000 Gene Polymorphism of Pseudoexfoliation Syndrome. 7(2), 1–6.
- Kim, D., Nguyen, Q. T., Lee, J., Iii, W. M. B., Lee, J., Min, B., Kim, D., Nguyen, Q. T., Lee, J., Lee, S. H., Janocha, A., Kim, S., & Le, H. T.** (2020). Anti-inflammatory Roles of Glucocorticoids Are Mediated by Foxp3 + Regulatory T Cells via a miR-342-Dependent Mechanism II Article Anti-inflammatory Roles of Glucocorticoids Are Mediated by Foxp3 + Regulatory T Cells via a miR-342-Dependent Mechanism. *Immunity*, 53(3), 581-595.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.07.002>
- Kim, W., & Patsopoulos, N. A.** (2022). Genetics and functional genomics of multiple sclerosis. *Seminars in Immunopathology*, 44(1), 63–79. <https://doi.org/10.1007/s00281-021-00907-3>
- Kimura, K.** (2020). *Regulatory T cells in multiple sclerosis*. April, 148–155. <https://doi.org/10.1111/cen3.12591>
- Kinoshita, C., Kubota, N., & Aoyama, K.** (2021). Interplay of rna-binding proteins

and micrnas in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10). <https://doi.org/10.3390/ijms22105292>

- Kleinewietfeld, M., Manzel, A., Titze, J., Kvakan, H., Yosef, N., Linker, R. A., Muller, D. N., & Hafler, D. A.** (2013). Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH 17 cells. *Nature*, 496(7446), 518–522. <https://doi.org/10.1038/nature11868>
- Koçan, C.** (2018). *Psödoeksfoliasyon Sendromu ve Glokomu İle Bağ Dokusu Büyüme Faktörü (CTGF) Genetik Polimorfizmleri ve CTGF Gözyaşı ve Aköz Seviyeleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi*. TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi.
- Kodani, S. D., & Morisseau, C.** (2019). Biochimie Role of epoxy-fatty acids and epoxide hydrolases in the pathology of neuro-inflammation. *Biochimie*, 159, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.01.020>
- Kolčava, J., Kočica, J., Hulová, M., Dušek, L., Horáková, M., Keřkovský, M., Stulík, J., Dostál, M., Kuhn, M., Vlčková, E., Bednařík, J., & Benešová, Y.** (2020). Conversion of clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: a prospective study. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 44(April), 102262. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2020.102262>
- Koltai, T.** (2014). *Clusterin: a key player in cancer chemoresistance and its inhibition*. 447–456.
- Koudriavtseva, T., & Mainero, C.** (2016). Neuroinflammation, neurodegeneration and regeneration in multiple sclerosis: Intercorrelated manifestations of the immune response. *Neural Regeneration Research*, 11(11), 1727–1730. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.194804>
- Krumbiegel, M., Pasutto, F., Mardin, C. Y., Weisschuh, N., Paoli, D., Gramer, E., Zenkel, M., Weber, B. H. F., Kruse, F. E., Schlötzer-Schrehardt, U., & Reis, A.** (2009). Exploring functional candidate genes for genetic association in german patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 50(6), 2796–2801. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-2339>
- Kuot, A., Hewitt, A. W., Griggs, K., Klebe, S., Mills, R., Jhanji, V., Craig, J. E., Sharma, S., & Burdon, K. P.** (2012). Association of TCF4 and CLU polymorphisms with Fuchs endothelial dystrophy and implication of CLU and TGFBI proteins in the disease process. *European Journal of Human Genetics*, 20(6), 632–638. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.248>
- Kurtzke, J.** (1970). *Neurologic Impairment in Multiple Sclerosis and The Disability Status Scale*. 493–512.
- Kurtzke, J.** (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, Nov;33(11), 1444-52.
- Labbé, T., Ciampi, E., & Carcamo Rodríguez, C.** (2018). Social cognition: Concepts, neural basis and its role in multiple sclerosis. *Neurology and Clinical Neuroscience*, 6(1), 3–8. <https://doi.org/10.1111/ncn3.12164>
- Läderach, F., & Münz, C.** (2021). Epstein barr virus exploits genetic susceptibility to increase multiple sclerosis risk. *Microorganisms*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112191>
- Lambert, J. C., Heath, S., Even, G., Campion, D., Sleegers, K., Hiltunen, M.,**

- Combarros, O., Zelenika, D., Bullido, M. J., Tavernier, B., Letenneur, L., Bettens, K., Berr, C., Pasquier, F., Fiévet, N., Barberger-Gateau, P., Engelborghs, S., De Deyn, P., Mateo, I., ... Amouyel, P.** (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, *41*(10), 1094–1099. <https://doi.org/10.1038/ng.439>
- Lambert, J., Heath, S., Even, G., Campion, D., Sleegers, K., Hiltunen, M., Combarros, O., Zelenika, D., Bullido, M. J., Tavernier, B., Letenneur, L., Bettens, K., Berr, C., Pasquier, F., Fiévet, N., Barberger-gateau, P., Engelborghs, S., Deyn, P. De, Mateo, I., ... Piccardi, P.** (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer ' s disease. *Nature Genetics*, *41*(10), 1094–1099. <https://doi.org/10.1038/ng.439>
- Langdon, D. W., Amato, M. P., Boringa, J., Brochet, B., Foley, F., Fredrikson, S., Hämäläinen, P., Hartung, H. P., Krupp, L., Penner, I. K., Reder, A. T., & Benedict, R. H. B.** (2012). Recommendations for a brief international cognitive assessment for multiple sclerosis (BICAMS). *Multiple Sclerosis Journal*, *18*(6), 891–898. <https://doi.org/10.1177/1352458511431076>
- Lassmann, H.** (2013). Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, *333*(1–2), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2013.05.010>
- Laura, A., Ledesma, H., Jheny, A., Méndez, R., Susana, L., Vidal, G., García, T., Julia, G., Alatorre, M., Pablo, C., Solís, G., López, J., Juan, R., & Solís, C.** (2020). Lipid profile : causal relationship on cognitive performance in multiple sclerosis ? *Molecular Biology Reports*, *47*(12), 9667–9676. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06011-3>
- Lee, R. C.** (1993). *The C . elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to & II-14.* *75*, 843–854.
- Lesiewska, H., Linkowska, K., Stafiej, J., Grzybowski, T., Swobodziński, J., & Malukiewicz, G.** (2019). CLU polymorphisms in patients with pseudoexfoliation syndrome in polish population. *Journal of Ophthalmology*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/8787149>
- Li, J., Huang, Y., & Fei, G. H.** (2013). The evaluation of cognitive impairment and relevant factors in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration*, *85*(2), 98–105. <https://doi.org/10.1159/000342970>
- Li, S., Jiang, L., Yang, Y., Cao, J., Zhang, Q., Zhang, J., Wang, R., Deng, X., & Li, Y.** (2020). *MiR-195-5p inhibits the development of chronic obstructive pulmonary disease via targeting siglec1.* <https://doi.org/10.1177/0960327120920923>
- Li, W., Yu, X., Chen, X., Wang, Z., Yin, M., Zhao, Z., & Zhu, C.** (2021). *HBV induces liver fibrosis via the TGF - β 1 / miR - 21 - 5p pathway.* 1–10. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9600>
- Li, Y., Jiang, H., Han, L., Xiao, L., & Gan, J.** (2020). MiR-195 regulates CD40 to maintain Th17 / Treg balance in rats with non- alcoholic fatty liver disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *124*(August 2019), 109930. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109930>
- Lian, F., Cui, Y., Zhou, C., Gao, K., & Wu, L.** (2015). *Identification of a Plasma*

Four-microRNA Panel as Potential Noninvasive Biomarker for Osteosarcoma. 9608, 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121499>

- Lin, C., & Edelson, B. T.** (2018). New Insights into the Role of IL-1 β in EAE and MS. *Journal of Immunology*, 198(12), 4553–4560. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700263>.New
- Lin, S. H., Thakur, R., & Machiela, M. J.** (2021). LDexpress : an online tool for integrating population - specific linkage disequilibrium patterns with tissue - specific expression data. *BMC Bioinformatics*, 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12859-021-04531-8>
- Lin, Y., Lu, L., Zhou, M., Liu, H. Q., Ye, P., Zhang, W., Qiu, J., Zhang, Z., Yang, X., Ding, L., Guo, W., Mo, M., Zhu, X., Zhang, X., Chen, X., & Xu, P.** (2020). Association of CLU gene polymorphism with Parkinson’s disease in the Chinese Han population. *Journal of Gene Medicine*, 0–3. <https://doi.org/10.1002/jgm.3302>
- Lindberg, R. L. P., Hoffmann, F., Mehling, M., Kuhle, J., & Kappos, L.** (2010). Altered expression of miR-17-5p in CD4+ lymphocytes of relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *European Journal of Immunology*, 40(3), 888–898. <https://doi.org/10.1002/eji.200940032>
- Ling, I., Bhongsatiern, J., Simpson, J. F., Fardo, D. W., & Estus, S.** (2012). *Genetics of Clusterin Isoform Expression and Alzheimer’s Disease Risk*. 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033923>
- Lisak, M., Aslomdn, B., Pdalu, H., & Trkanjec, Z.** (2021). Cognitive Aspects in Multiple Sclerosis. *Psychiatria Danubina*, 33(2), 177–182. <https://doi.org/10.24869/psyd.2021.177>
- Liu, B., Shyr, Y., Cai, J., & Liu, Q.** (2019). Interplay between miRNAs and host genes and their role in cancer. *Briefings in Functional Genomics*, 18(4), 255–266. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elz002>
- Liu, G., Wang, H., Liu, J., Li, J., Li, H., Ma, G., Jiang, Y., Chen, Z., Zhao, B., & Li, K.** (2014). The CLU gene rs11136000 variant is significantly associated with Alzheimer’s disease in Caucasian and Asian populations. *NeuroMolecular Medicine*, 16(1), 52–60. <https://doi.org/10.1007/s12017-013-8250-1>
- Liu, H., Zhao, Y., Xie, A., Tao-Yun, K., Terentyeva, R., Liu, M., Shiu, G., Feng, F., Choi, B.-R., Terentyev, D., & Hamilton, S.** (2021). Interleukin-1b, Oxidative Stress, and Abnormal Calcium Handling Mediate Diabetic Arrhythmic Risk. *JACC*, 6(1). <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.11.002>
- Liu, Y., Chen, W., Chen, J., Ma, Y., Cen, Y., Wang, S., He, X., You, M., & Yang, G.** (2021). Ecotoxicology and Environmental Safety miR-122 – 5p regulates hepatocytes damage caused by BaP and DBP co-exposure through SOCS1 / STAT3 signaling in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112570. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112570>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D.** (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Loma, I., & Heyman, R.** (2011). Multiple sclerosis: pathogenesis and Treatments. *Current Neuropharmacology*, 9(3), 409–416.

<https://doi.org/10.1007/s001090050100>

- Lomakin, Y., Arapidi, G. P., Chernov, A., Ziganshin, R., Tcyganov, E., Lyadova, I., Butenko, I. O., Osetrova, M., Ponomarenko, N., Telegin, G., Govorun, V. M., Gabibov, A., & Belogurov, A.** (2017). Exposure to the Epstein-Barr viral antigen latent membrane protein 1 induces myelin-reactive antibodies in vivo. *Frontiers in Immunology*, 8(JUL), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00777>
- Lorincz, B., Jury, E. C., Vrablik, M., Ramanathan, M., & Uher, T.** (2022). Autoimmunity Reviews The role of cholesterol metabolism in multiple sclerosis : From molecular pathophysiology to radiological and clinical disease activity. *Autoimmunity Reviews*, 21(6), 103088. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2022.103088>
- Lu, S. J., Li, H. L., Sun, Y. M., Liu, Z. J., Yang, P., & Wu, Z. Y.** (2014). Clusterin variants are not associated with southern Chinese patients with Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(11), 2656.e9-2656.e11. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.015>
- Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A., Cutter, G. R., Thompson, A. J., Wolinsky, J. S., Banwell, B., Barkhof, F., Bebo, B., Calabresi, P. A., Clanet, M., Fox, R. J., Freedman, M. S., Goodman, A. D., Lincoln, J. A., Lubetzki, C., Miller, A. E., Montalban, X., Connor, P. W. O., & Sormani, M. P.** (2014). Defining clinical course of Multiple Sclerosis. *Neurology*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4117366/pdf/NEUROLOGY2013555623.pdf>
- Luo, D., Wang, J., Zhang, X., Rang, X., Xu, C., & Fu, J.** (2020). Identification and functional analysis of specific MS risk miRNAs and their target genes. *41*(December 2019), 1–8.
- Ma, J., & Qiu, S.** (2022). Genetic variant rs11136000 upregulates clusterin expression and reduces Alzheimer's disease risk. August, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.926830>
- Ma, X., Zou, L., Li, X., Chen, Z., Lin, Q., & Wu, X.** (2018). MicroRNA-195 regulates docetaxel resistance by targeting clusterin in prostate cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 99(July 2017), 445–450. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.088>
- Ma, Y. N., Xie, T. Y., & Chen, X. Y.** (2019). Multiple Gene Polymorphisms Associated with Exfoliation Syndrome in the Uygur Population. *Journal of Ophthalmology*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9687823>
- Maddalon, A., Iulini, M., Galbiati, V., Colosio, C., & Mandic, S.** (2022). Direct Effects of Glyphosate on In Vitro T Helper Cell Differentiation and Cytokine Production. *13*(March), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.854837>
- Magyari, M., & Koch, N.** (2022). Quantitative effect of sex on disease activity and disability accumulation in multiple sclerosis. 716–722. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2022-328994>
- Makar, T. K., Trisler, D., Bever, C. T., Goolsby, J. E., Sura, K. T., Balasubramanian, S., Sultana, S., Patel, N., Ford, D., Singh, I. S., Gupta, A., Valenzuela, R. M., & Dhib-jalbut, S.** (2008). Stem cell based delivery of IFN-

β reduces relapses in experimental. *Journal of Neuroimmunology*, 196, 67–81. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2008.02.014>

- Mallapura, B., & Narayanan, L.** (2017). Effect of CLU and PICALM polymorphisms on AD risk: A study from south India. *Asian Journal of Psychiatry*, 27, 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.12.017>
- Mancuso, R., Hernis, A., Agostini, S., Rovaris, M., Caputo, D., & Clerici, M.** (2015). *MicroRNA-572 expression in multiple sclerosis patients with different patterns of clinical progression*. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0504-2>
- Manouchehrinia, A., Tench, C. R., Maxted, J., Bibani, R. H., Britton, J., & Constantinescu, C. S.** (2013). *multiple sclerosis : United Kingdom cohort study*. 2298–2304. <https://doi.org/10.1093/brain/awt139>
- Mansoor, S. R., Ghasemi-Kasman, M., & Yavarpour-Bali, H.** (2020). The role of microRNAs in multiple sclerosis. *International Reviews of Immunology*, 0(0), 1–15. <https://doi.org/10.1080/08830185.2020.1826474>
- Markianos, M., Koutsis, G., Evangelopoulos, M.-E., Mandellos, D., Karahiolos, G., & Sfagos, C.** (2009). Relationship of CSF neurotransmitter metabolite levels to disease severity and disability in multiple sclerosis. *Journal of Neurochemistry*, 108, 158–164. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05750.x>
- Mastrototaro, G., Zaghi, M., Massimino, L., & Moneta, M.** (2021). *TBLIXR1 Ensures Balanced Neural Development Through NCOR Complex-Mediated Regulation of the MAPK Pathway*. 9(February), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.641410>
- Mathur, D., Mishra, B. K., Rout, S., Lopez-Iranzo, F. J., Lopez-Rodas, G., Vallamkondu, J., Kandimalla, R., & Casanova, B.** (2021). Potential biomarkers associated with multiple sclerosis pathology. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19). <https://doi.org/10.3390/ijms221910323>
- Matta, C., Fellows, C. R., & Quasnichka, H.** (2020). Clusterin secretion is attenuated by pro-inflammatory cytokines in culture models of cartilage degradation. *BioRxiv*.
- Melo, S. A., & Esteller, M.** (2014). Seminars in Cancer Biology Disruption of microRNA nuclear transport in human cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 27, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.02.012>
- Michel, L.** (2018). Environmental factors in the development of multiple sclerosis. *Revue Neurologique*, 174(6), 372–377. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.03.010>
- Mirshafiey, A., & Jadidi-Niaragh, N.** (2011). Th17 Cell , the New Player of Neuroinflammatory Process in Multiple Sclerosis. *Scandinavian Journal of Neuroimmunology*, 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02536.x>
- Miyazaki, Y., Moore, C., Farooqi, N., Solis, M., Li, R., Rezk, A., Goiry, L. G., Junior, O. D. F., Dang, V. D., Colman, D., & Dhaunchak, A. S.** (2014). *A Novel MicroRNA-132-Surtuin-1 Axis Underlies Aberrant B-cell Cytokine Regulation in Patients with Relapsing- Remitting Multiple Sclerosis*. 9(8), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105421>
- Mohammadi, N. N.** (2021). *Multipl Skleroz Patogenezinin Farklı Basamaklarında HLA-DQB1 ve HLA DRB1 Gen Transkriptlerini Hedefleyen MikroRNA'ların*

Araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi.

- Mohammed, E. M.** (2020). Environmental Influencers, MicroRNA, and Multiple Sclerosis. *Journal of Central Nervous System Disease*, *12*, 117957351989495. <https://doi.org/10.1177/1179573519894955>
- Montañola, A., de Retana, S. F., López-Rueda, A., Merino-Zamorano, C., Penalba, A., Fernández-Álvarez, P., Rodríguez-Luna, D., Malagelada, A., Pujadas, F., Montaner, J., & Hernández-Guillamon, M.** (2016). ApoA1, ApoJ and ApoE Plasma Levels and Genotype Frequencies in Cerebral Amyloid Angiopathy. *NeuroMolecular Medicine*, *18*(1), 99–108. <https://doi.org/10.1007/s12017-015-8381-7>
- Mori, F., Kusayanagi, H., Buttari, F., Centini, B., Monteleone, F., Nicoletti, C. G., Bernardi, G., Verdun, E., Cantogno, D., Marciani, M. G., & Centonze, D.** (2012). Early treatment with high-dose interferon beta-1a reverses cognitive and cortical plasticity deficits in multiple sclerosis. *27*(3), 163–168.
- Morsaljahan, Z., Ra, A., Valadan, R., Abedini, M., Pakseresht, M., & Khajavi, R.** (2017). Journal of the Neurological Sciences Association between interleukin-32 polymorphism and multiple sclerosis. *379*, 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.05.045>
- Mostert, J. P., Koch, M. W., Steen, C., Heersema, D. J., Groot, J. C. De, & Keyser, J. De.** (2010). T2 lesions and rate of progression of disability in multiple sclerosis. *1987*, 1471–1475. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03093.x>
- MSGC.** (2019). Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility. *Science*, *7188*. <https://doi.org/10.1126/science.aav7188>
- MSIF.** (2020). Atlas of MS, 3rd Edition. In *The Multiple Sclerosis International Federation* (Issue September, 2020).
- Mu, L., Yang, F., Guo, D., Li, P., & Zhang, M.** (2020). Overexpression of secretory clusterin (sCLU) induces chemotherapy resistance in human gastric cancer cells by targeting miR-195-5p. *Bioengineered*, *11*(1), 472–483. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1747825>
- Mudò, G., Frinchi, M., Nuzzo, D., Scaduto, P., Plescia, F., Massenti, M. F., Carlo, M. Di, Cannizzaro, C., Cassata, G., Cicero, L., Ruscica, M., Belluardo, N., & Grimaldi, L. M.** (2019). Anti-inflammatory and cognitive effects of interferon-β 1a (IFN β 1a) in a rat model of Alzheimer ' s disease. *4*, 1–16.
- Munõz-San Martín, M., Reverter, G., Robles-Cedenõ, R., Buxò, M., Ortega, F. J., Gómez, I., Tomàs-Roig, J., Celarain, N., Villar, L. M., Perkal, H., Fernández-Real, J. M., Quintana, E., & Ramió-Torrentà, L.** (2019). Analysis of miRNA signatures in CSF identifies upregulation of miR-21 and miR-146a/b in patients with multiple sclerosis and active lesions. *Journal of Neuroinflammation*, *16*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1590-5>
- Murray, T. J.** (2005). Multiple Sclerosis: The History of a Disease. In *Demos Medical Publishing*. Demos Medical Publishing. <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2005.01.006>
- Murugaiyan, G., Vaidya, V. S., Weiner, H. L., Murugaiyan, G., Pires, A., Ajay, A. K., Joller, N., Garo, L. P., Kumaradevan, S., Yosef, N., Vaidya, V. S., &**

- Weiner, H. L.** (2015). *experimental autoimmune encephalomyelitis MicroRNA-21 promotes Th17 differentiation and mediates experimental autoimmune encephalomyelitis*. *125*(3), 1069–1080. <https://doi.org/10.1172/JCI74347>. Introduction
- Mydlarz, W., Uemura, M., Ahn, S., Hennessey, P., Chang, S., Demokan, S., Sun, W., Shao, C., Bishop, J., Krosting, J., Mambo, E., Westra, W., Ha, P., Sidransky, D., & Califano, J.** (2014). Clusterin is a gene-specific target of microRNA-21 in head and neck squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*, *20*(4), 868–877. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-2675>
- Nabizadeh, F., Masrouri, S., Ramezannezhad, E., Ghaderi, A., Sharafi, A. M., Soraneh, S., & Naser Moghadasi, A.** (2022). Artificial intelligence in the diagnosis of multiple sclerosis: A systematic review. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, *59*(February), 103673. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2022.103673>
- Naj, A. C., Jun, G., Reitz, C., Kunkle, B. W., Perry, W., Park, Y. S., Beecham, G. W., Rajbhandary, R. A., Hamilton-Nelson, K. L., Wang, L. S., Kauwe, J. S. K., Huentelman, M. J., Myers, A. J., Bird, T. D., Boeve, B. F., Baldwin, C. T., Jarvik, G. P., Crane, P. K., Rogaeva, E., ... Yu, L.** (2014). Effects of multiple genetic loci on age at onset in late-onset Alzheimer disease: A genome-wide association study. *JAMA Neurology*, *71*(11), 1394–1404. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.1491>
- Nakatsuka, N., Patterson, N., Patsopoulos, N. A., Altemose, N., Tandon, A., Beecham, A. H., McCauley, J. L., Isobe, N., Hauser, S., De Jager, P. L., Hafler, D. A., Oksenberg, J. R., & Reich, D.** (2020). Two genetic variants explain the association of European ancestry with multiple sclerosis risk in African-Americans. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74035-7>
- Nischwitz, S., Müller-myhsok, B., & Weber, F.** (2011). *Risk conferring genes in multiple sclerosis*. *585*, 3789–3797. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.03.037>
- Nishanth, K., Tariq, E., Nzvere, F. P., Miqdad, M., & Cancarevic, I.** (2020). Role of Smoking in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis: A Review Article. *Cureus*, *12*(8). <https://doi.org/10.7759/cureus.9564>
- Niwald, M., Migdalska-Sęk, M., Brzezińska-Lasota, E., & Miller, E.** (2017). Evaluation of Selected MicroRNAs Expression in Remission Phase of Multiple Sclerosis and Their Potential Link to Cognition, Depression, and Disability. *Journal of Molecular Neuroscience*, *63*(3–4), 275–282. <https://doi.org/10.1007/s12031-017-0977-y>
- Nogueira, D., Oliveira, P., Carlsen, A. L., Heegaard, N. H. H., Id, P. P., Christensen, I. J., Claus, K. H., & Estrid, V. H.** (2019). *Diagnostic plasma miRNA-profiles for ovarian cancer in patients with pelvic mass*. 1–15.
- Noori, H., Reza, M., Rezaeimanesh, N., & Saeedi, R.** (2019). The correlation between dyslipidemia and cognitive impairment in multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, *36*(July), 101415. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.101415>
- Ntranos, A., Ntranos, V., Bonnefil, V., Liu, J., Kim-Schulze, S., He, Y., Zhu, Y., Brandstadter, R., Watson, C. T., Sharp, A. J., Katz Sand, I., & Casaccia, P.**

- (2019). Fumarates target the metabolic-epigenetic interplay of brain-homing T cells in multiple sclerosis. *Brain*, 142(3), 647–661. <https://doi.org/10.1093/brain/awy344>
- Nuutinen, T., Suuronen, T., Kauppinen, A., & Salminen, A.** (2009). Clusterin: A forgotten player in Alzheimer’s disease. *Brain Research Reviews*, 61(2), 89–104. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.05.007>
- Nuzziello, N., Consiglio, A., Viterbo, R. G., & Licciulli, F.** (2020). *applied sciences A Pilot Longitudinal Evaluation of MicroRNAs for Monitoring the Cognitive Impairment in Pediatric Multiple Sclerosis*. 1–10.
- O’Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C.** (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9(AUG), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
- Öğüş, E., Sürer, H., Kılınç, A. Ş., Fidancı, V., & Yılmaz, G.** (2015). *D Vitamini Düzeylerinin Aylara, Cinsiyete ve Yaşa Göre Değerlendirilmesi Evaluation of Vitamin D Levels by Months, Sex and Age*. 15(1), 1–5. <https://doi.org/10.17098/amj.88875>
- Ohara, T., Ninomiya, T., & Hirakawa, Y.** (2012). *Association study of susceptibility genes for late-onset Alzheimer ’ s disease in the Japanese population*. 290–293. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e3283586215>
- Ohl, K., Tenbrock, K., & Kipp, M.** (2020). Oxidative stress in multiple sclerosis: Central and peripheral mode of action. *Experimental Neurology Journal*, 277(January), 58–67.
- Oreja-Guevara, C., Blanco, T. A., Ruiz, L. B., Pérez, M. Á. H., Meca-Lallana, V., & Ramió-Torrentà, L.** (2019). Cognitive dysfunctions and assessments in multiple sclerosis. *Frontiers in Neurology*, 10(JUN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00581>
- Oreja-guevara, C., Ramos-cejudo, J., Aroeira, L. S., Chamorro, B., & Diez-tejedor, E.** (2012). TH1 / TH2 Cytokine profile in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with Glatiramer acetate or Natalizumab. *BMC Neurology*, 12(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-12-95>
- Ozakbas, S., Yigit, P., Cinar, B. P., Limoncu, H., Kahraman, T., & Kösehasanogullari, G.** (2017). The Turkish validation of the Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS) battery. *BMC Neurology*, 17(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12883-017-0993-0>
- Öztürk, O.** (2014). *Multipl Skleroz Hastalarında Atak Döneminde ve Sonrasında Uluslararası Kısa Bilişsel Değerlendirme (BICAMS) Bataryasının Kullanımı*. Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Ozyunuk, S. A., Fahri, A., Dogan, N., & Ekici, B.** (2022). Examining the effects of the CLU and APOE polymorphisms’ combination on coronary artery disease complexed with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 36(1), 108078. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacom.2021.108078>
- Padhy, B., Hayat, B., Nanda, G. G., Mohanty, P. P., & Alone, D. P.** (2017). Pseudoexfoliation and Alzheimer’s associated CLU risk variant, rs2279590, lies within an enhancer element and regulates CLU, EPHX2 and PTK2B gene expression. *Human Molecular Genetics*, 26(22), 4519–4529.

<https://doi.org/10.1093/hmg/ddx329>

- Padhy, B., Nanda, G. G., Chowdhury, M., Padhi, D., Rao, A., & Alone, D. P.** (2014). Role of an extracellular chaperone, Clusterin in the pathogenesis of Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma. *Experimental Eye Research*, 127, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.07.005>
- Padhy, B., Shyam, R., Hayat, B., Paramita, P., & Pankaj, D.** (2023). Wide-spread enhancer effect of SNP rs2279590 on regulating epoxide hydrolase-2 and protein tyrosine kinase 2-beta gene expression. *Gene*, 854(October 2022), 147096. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.147096>
- Pan, S., Feng, W., Li, Y., Huang, J., Chen, S., Cui, Y., Tian, B., Tan, S., Wang, Z., Yao, S., Chiappelli, J., Kochunov, P., Chen, S., Yang, F., Li, C. R., Tian, L., Tan, Y., & Hong, L. E.** (2021). The microRNA-195 - BDNF pathway and cognitive deficits in schizophrenia patients with minimal antipsychotic medication exposure. *Translational Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01240-x>
- Paolillo, A., Pozzilli, C., Giugni, E., Tomassini, V., Gasperini, C., Fiorelli, M., & Mainero, C.** (2002). A 6-year clinical and MRI follow-up study of patients with relapsing – remitting multiple sclerosis treated with Interferon-beta. 645–655.
- Papa, L., Slobounov, S. M., Breiter, H. C., Bream, T., Seidenberg, P., Bailes, J. E., Bravo, S., Johnson, B., Kaufman, D., Molfese, D. L., Thomas, M., Zhu, D. C., Knollmann-ritschel, B., Bhomia, M., Regional, O., Sciences, B., Wright, W., Imaging, S., & Lansing, E.** (2018). Elevations in MicroRNA Biomarkers in Serum Are Associated with Measures of Concussion , Neurocognitive Function and Subconcussive Trauma over a single NCAA Division I Season in Collegiate Football Players. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6072>
- Parnell, G. P., & Booth, D. R.** (2017). The Multiple Sclerosis (MS) genetic risk factors indicate both acquired and innate immune cell subsets contribute to MS pathogenesis and identify novel therapeutic opportunities. *Frontiers in Immunology*, 8(APR), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00425>
- Parry, A., Clare, S., Jenkinson, M., Smith, S., & Palace, J.** (2002). White matter and lesion T1 relaxation times increase in parallel and correlate with disability in multiple sclerosis. 1279–1286. <https://doi.org/10.1007/s00415-002-0837-7>
- Patti, F., Amato, M. P., Bastianello, S., Caniatti, L., Monte, E. Di, Lijoi, F., Goretti, B., Messina, S., Picconi, O., Tola, M. R., & Trojano, M.** (2009). Subcutaneous interferon beta-1a has a positive effect on cognitive performance in mildly disabled patients with relapsing – remitting multiple sclerosis : 2-year results from the COGIMUS study. 67–77. <https://doi.org/10.1177/1756285608101379>
- Patti, F., Morra, V. B., Amato, M. P., Trojano, M., Bastianello, S., Tola, M. R., Cottone, S., Plant, A., Picconi, O., & Study, C.** (2013). Subcutaneous Interferon b -1a May Protect against Cognitive Impairment in Patients with Relapsing – Remitting Multiple Sclerosis : 5-Year Follow-up of the COGIMUS Study. 8(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074111>
- Peng, Y., & Croce, C. M.** (2016). The role of microRNAs in human cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 1(November 2015).

<https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>

- Petkovic, F., Blaz, J., Momc, M., Stojkovic, M. M., & Miljkovic, D.** (2013). Nitric oxide inhibits CXCL12 expression in neuroinflammation. *Immunology and Cell Biology*, *June*, 427–434. <https://doi.org/10.1038/icb.2013.23>
- Pinna, S., Pasella, S., Deiana, M., Baralla, A., Mannu, A., Giovanni, A., Masala, E., Veronica, P., Deiana, N., Scognamillo, F., Pala, C., Zinellu, A., Carru, C., & Deiana, L.** (2017). Proteomic analysis of human plasma and peripheral blood mononuclear cells in Systemic Lupus Erythematosus patients. *Journal of Immunological Methods*, *446*, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2017.03.019>
- Piri Çinar, B., & Güven Yorgun, Y.** (2018). What we learned from the history of multiple sclerosis measurement: Expanded disability status scale. *Noropsikiyatri Arsivi*, *55*(Supplement 1), S69–S75. <https://doi.org/10.29399/NPA.23343>
- Piri Cinar, B., & Ozakbas, S.** (2018). Prediction of Conversion from Clinically Isolated Syndrome to Multiple Sclerosis According to Baseline Characteristics: A Prospective Study. *Archives of Neuropsychiatry*, 15–21. <https://doi.org/10.29399/npa.12667>
- Polihronis, M., Paizis, K., Carter, G., Sedal, L., & Murphy, B.** (1993). Elevation of human cerebrospinal fluid clusterin concentration is associated with acute neuropathology. *Journal of the Neurological Sciences*, *115*(2), 230–233. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(93\)90230-V](https://doi.org/10.1016/0022-510X(93)90230-V)
- Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Lublin, F. D., Montalban, X., O'Connor, P., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A. J., Waubant, E., Weinshenker, B., & Wolinsky, J. S.** (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology*, *69*(2), 292–302. <https://doi.org/10.1002/ana.22366>
- Polychroniadou, E., Bakirtzis, C., Langdon, D., Lagoudaki, R., Kesidou, E., Theotokis, P., Tsalikakis, D., Poulatsidou, K., Kyriazis, O., Boziki, M., Papadopoulos, G., Boura, E., Sintila, L., Hatzigeorgiou, S., Ziamos, C., Ioannidis, P., Karacostas, D., & Grigoriadis, N.** (2016). Validation of the Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS) in Greek population with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, *9*, 68–72. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2016.06.011>
- Pratt, C. W., Gill, K. J., Barrett, N. M., & Roberts, M. M.** (2014). *Psychiatric Rehabilitation* (Third). Elsevier.
- Qiao, L., Deng, C., Wang, Q., Zhang, W., Fei, Y., Xu, Y., & Zhao, Y.** (2019). Serum Clusterin and Complement Factor H May Be Biomarkers Differentiate Primary Sjögren 's Syndrome With and Without Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder. *10*(October), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02527>
- Radvansky, G. A., & Ashcraft, M. H.** (2014). Cognition Sixth Edition. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Ramgolam, V. S., & Markovic-plese, S.** (2010). Interferon-beta Inhibits Th17 Cell Differentiation in Patients with Multiple Sclerosis. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 161–167.
- Ramos, L., Ferreira, J., Almeida, F., Helena, L., & Pimassoni, S.** (2020). *The*

combined risk effect among BIN1 , CLU , and APOE genes in Alzheimer ' s disease. 20180320, 1–7.

- Razia, R., Majeed, F., Amin, R., Mukhtar, S., Mehmood, K., & Noreen, D.** (2022). The analysis of dynamic gene expression patterns in peripheral blood of multiple sclerosis patients indicates possible diagnostic and prognostic biomarkers. *Molecular Immunology*, 147(May), 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2022.05.002>
- Reale, M., Angelis, F. De, Nicola, M., Capello, E., Ioia, M., Luca, G. De, Lugaresi, A., & Tata, A. M.** (2012). *Relation between Pro-inflammatory Cytokines and Acetylcholine Levels in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Patients*. 12656–12664. <https://doi.org/10.3390/ijms131012656>
- Reich, D. S., Claudia F. Lucchinetti, & Peter A. Calabresi.** (2018). Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, 378(378), 169–180. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1401483>
- Ren, X., Wang, Z., & Guo, C.** (2021). *MiR-195-5p Ameliorates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury by Regulating the PTEN-AKT Signaling Pathway*. 1231–1242.
- Ribbons, K. A., Mcelduff, P., Boz, C., Trojano, M., Izquierdo, G., Duquette, P., Girard, M., & Maison, F. G.** (2015). *Male Sex Is Independently Associated with Faster Disability Accumulation in Relapse-Onset MS but Not in Primary Progressive MS*. 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122686>
- Ridolfi, E., Fenoglio, C., Cantoni, C., Calvi, A., & Riz, M. De.** (2013). *Expression and Genetic Analysis of MicroRNAs Involved in Multiple Sclerosis*. 4375–4384. <https://doi.org/10.3390/ijms14034375>
- Rithidech, K. N., Honikel, L., Milazzo, M., Madigan, D., Troxell, R., & Krupp, L. B.** (2009). Protein expression profiles in pediatric multiple sclerosis: Potential biomarkers. *Multiple Sclerosis*, 15(4), 455–464. <https://doi.org/10.1177/1352458508100047>
- Rosenthal, S. L., Barmada, M. M., Wang, X., Demirci, F. Y., & Kamboh, M. I.** (2014). Connecting the dots: Potential of data integration to identify regulatory snps in late-onset alzheimer's disease GWAS findings. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095152>
- Rosso, M., & Chitnis, T.** (2020). Association between Cigarette Smoking and Multiple Sclerosis: A Review. *JAMA Neurology*, 77(2), 245–253. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.4271>
- Roxburgh, R. H. S. , Seaman, S. R., & Masterman, T.** (2013). *Multiple Sclerosis Severity Score : Using disability and disease duration to rate disease severity*. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000156155.19270.F8>
- Samadian, M., Gholipour, M., Hajiesmaeili, M., Taheri, M., & Ghafouri-Fard, S.** (2021). The Eminent Role of microRNAs in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(March). <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.641080>
- Sampedro, F., Marín-Lahoz, J., Martínez-Horta, S., Pérez-González, R., Pagonabarraga, J., & Kulisevsky, J.** (2020). CLU rs11136000 promotes early cognitive decline in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 35(3), 508–513.

<https://doi.org/10.1002/mds.27949>

- Sandi, D., Biernacki, T., Szekeres, D., Füvesi, J., Kincses, Z. T., Rózsa, C., Mátyás, K., Kása, K., Matolcsi, J., Zboznovits, D., Burány, Z., Langane, É., Vécsei, L., & Bencsik, K.** (2017). Prevalence of cognitive impairment among Hungarian patients with relapsing-remitting multiple sclerosis and clinically isolated syndrome. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 17(February), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.06.017>
- Scazzone, C., Agnello, L., Ragonese, P., Lo, B., Chiara, S., Giulia, B., Rosaria, B., Salemi, G., & Ciaccio, M.** (2018). Association of CYP2R1 rs10766197 with MS risk and disease progression. <https://doi.org/10.1002/jnr.24133>
- Schrijvers, E. M. C., Koudstaal, P. J., Hofman, A., & Breteler, M. M. B.** (2011). Plasma clusterin and the risk of Alzheimer disease. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 305(13), 1322–1326. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.381>
- Schürmann, B., Wiese, B., Bickel, H., Weyerer, S., Riedel-Heller, S. G., Pentzek, M., Bachmann, C., Williams, J., Van Den Bussche, H., Maier, W., & Jessen, F.** (2011). Association of the Alzheimer's disease clusterin risk allele with plasma clusterin concentration. *Journal of Alzheimer's Disease*, 25(3), 421–424. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110251>
- Schwid, S. R., Goodman, A. D., Weinstein, A., Mcdermott, M. P., & Johnson, K. P.** (2007). Cognitive function in relapsing multiple sclerosis : Minimal changes in a 10-year clinical trial. 255, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.01.070>
- Sellebjerg, F., Hedegaard, C. J., Krakauer, M., Hesse, D., Lund, H., Nielsen, C. H., Søndergaard, H. B., & Sørensen, P. S.** (2012). Glatiramer acetate antibodies , gene expression and disease activity in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*. <https://doi.org/10.1177/1352458511420268>
- Selmaj, I., Cichalewska, M., Namiecinska, M., Galazka, G., Horzelski, W., Selmaj, K. W., & Mycko, M. P.** (2017). Global Exosome Transcriptome Profiling Reveals Biomarkers for Multiple Sclerosis. <https://doi.org/10.1002/ana.24931>
- Sen, A., Training, B., & Erdal, M. E.** (2015). Lack of associations between CLU and PICALM gene polymorphisms and Alzheimer's disease in a Turkish population. *October*.
- Şenyiğit, A., Orhanoglu, T., İnce, B., & Yaprak, B.** (2018). Rutin Sağlık Taraması Yapılan Bireylerde Vitamin D Düzeyleri. *İst Tıp Fak Derg*, 115–118. <https://doi.org/10.26650/IUITFD.391192>
- Seshadri, S., Fitzpatrick, A., Ikram, A., DeStefano, A., Gudnason, V., Merce, B., Bis, J., & Smith, A.** (2010). Genome-wide Analysis of Genetic Loci Associated With Alzheimer Disease. 303(18).
- Sessa, F., Maglietta, F., Bertozzi, G., Salerno, M., Mizio, G. Di, Messina, G., Montana, A., Ricci, P., & Pomara, C.** (2019). Human Brain Injury and miRNAs : An Experimental Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1546). <https://doi.org/10.3390/ijms20071546>
- Sevim, S.** (2016). Relapses in Multiple Sclerosis : Definition , Pathophysiology , Features , Imitators , and Treatment. *Turkish Journal of Neurology*, 99–108.

- Sezer, E., Can, B., Şeref, D., Giray, D., Merve, B., & Emre, A.** (2022). Association of cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) promoter polymorphism (rs3808607) and cholesterol 24S-hydroxylase (CYP46A1) intron 2 polymorphism (rs754203) with serum lipids , vitamin D levels , and multiple sclerosis risk in the Turkish population. 2611–2620. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05597-1>
- Sezer, E., Can Demirdöğen, B., Demirkaya, Ş., Bulut, G., Akkulak, M., Evin, E., & Adalı, O.** (2022). Association of cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) promoter polymorphism (rs3808607) and cholesterol 24S-hydroxylase (CYP46A1) intron 2 polymorphism (rs754203) with serum lipids, vitamin D levels, and multiple sclerosis risk in the Turkish population. *Neurological Sciences*, 43(4), 2611–2620. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05597-1>
- Sharaf-eldin, W. E., Kishk, N. A., Gad, Y. Z., Hassan, H., Ali, M. A. M., Zaki, M. S., Mohamed, M. R., & Essawi, M. L.** (2017). *Journal of the Neurological Sciences Extracellular miR-145 , miR-223 and miR-326 expression signature allow for differential diagnosis of immune-mediated neuroinflammatory diseases*. 383(November), 188–198.
- Shastri, B. S.** (2009). Single Nucleotide Polymorphisms: Impact on Gene Function & Phenotype. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods & Protocols*, 578, 1–22. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1>
- Shen, W., Weng, Z., Fan, M., Wang, S., Wang, R., Zhang, Y., & Tian, H.** (2020). Exploration on the regulatory mechanisms of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 1–22.
- Shi, X., Xie, B., Xing, Y., & Tang, Y.** (2019). *Plasma Clusterin as a Potential Biomarker for Alzheimer's Disease-A Systematic Review and Meta-analysis*. 1018–1027. <https://doi.org/10.2174/1567205016666191024141757>
- Silajdzic, E., Minthon, L., & Bjo, M.** (2012). *No Diagnostic Value of Plasma Clusterin in Alzheimer's Disease*. 7(11), 23–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050237>
- Simpson, S., Blizzard, L., Otahal, P., Van Der Mei, I., & Taylor, B.** (2011). Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: A meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 82(10), 1132–1141. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2011.240432>
- Sintzel, M. B., Rametta, M., & Reder, A. T.** (2018). Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review. *Neurology and Therapy*, 7(1), 59–85. <https://doi.org/10.1007/s40120-017-0086-4>
- Slota, J. A., & Booth, S. A.** (2019). MicroRNAs in neuroinflammation: Implications in disease pathogenesis, biomarker discovery and therapeutic applications. *Non-Coding RNA*, 5(2). <https://doi.org/10.3390/ncrna5020035>
- Søndergaard, H. B., Hesse, D., Krakauer, M., Sørensen, P. S., & Sellebjerg, F.** (2013). Differential microRNA expression in blood in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 19(14), 1849–1857. <https://doi.org/10.1177/1352458513490542>
- Song, F., Poljak, A., Crawford, J., Kochan, N. A., Wen, W., Cameron, B., Lux, O., Brodaty, H., Mather, K., Smythe, G. A., & Sachdev, P. S.** (2012). Plasma apolipoprotein levels are associated with cognitive status and decline in a

- community cohort of older individuals. *PLoS ONE*, 7(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034078>
- Soydar, P.** (2020). *Radyolojiz İzole Sendrom'da Bilişsel Fonksiyonlar*. Celal Bayar Üniversitesi.
- Su, Y., Tsai, N., Kung, C., Wang, H., Lin, W., Huang, C., Chang, Y., Su, C., Chiang, Y., Cheng, B., Lin, Y., & Lu, C.** (2018). *Investigation of MicroRNA in Mitochondrial Apoptotic Pathway in Systemic Lupus Erythematosus*. 2018.
- Subhan, M., Saji Parel, N., Krishna, P. V., Gupta, A., Uthayaseelan, K., Uthayaseelan, K., & Kadari, M.** (2022). Smoking and Pancreatic Cancer: Smoking Patterns, Tobacco Type, and Dose-Response Relationship. *Cureus*, 14(6), 20–27. <https://doi.org/10.7759/cureus.26009>
- Sumowski, J. F., Benedict, R., Enzinger, C., Filippi, M., Geurts, J. J., Hamalainen, P., Hulst, H., Inglese, M., Leavitt, V. M., Rocca, M. A., Rosti-Otajarvi, E. M., & Rao, S.** (2018). Cognition in multiple sclerosis: State of the field and priorities for the future. *Neurology*, 90(6), 278–288. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004977>
- Sun, C., Huang, F., Liu, X., & Xiao, X.** (2015). *miR-21 regulates triglyceride and cholesterol metabolism in non-alcoholic fatty liver disease by targeting HMGCR*. 847–853. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2076>
- Szwed, K., Szwed, M., Kozakiewicz, M., Karłowska-pik, J., Soja-kukiela, N., Bartoszevska, A., & Borkowska, A.** (2021). *Circulating MicroRNAs and Novel Proteins as Potential Biomarkers of Neurological Complications after Heart Bypass Surgery*. 1–11.
- Szymanski, M., Wang, R., Bassett, S. S., & Avramopoulos, D.** (2011). Alzheimer's risk variants in the clusterin gene are associated with alternative splicing. *Translational Psychiatry*, 1(7), e18-7. <https://doi.org/10.1038/tp.2011.17>
- Tagoma, A., Alnek, K., Kirss, A., Uibo, R., & Haller-kikkatalo, K.** (2018). MicroRNA profile of second trimester maternal plasma shows upregulation of miR-195-5p in patients with gestational diabetes. *Gene*, 672(June), 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.06.004>
- Takuma, A., Abe, A., Saito, Y., Nito, C., Ueda, M., Ishimaru, Y., Harada, H., Abe, K., Kimura, K., & Asakura, T.** (2017). Gene Expression Analysis of the Effect of Ischemic Infarction in Whole Blood. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2835). <https://doi.org/10.3390/ijms18112335>
- Tan, L., Wang, H. F., Tan, M. S., Tan, C. C., Zhu, X. C., Miao, D., Yu, W. J., Jiang, T., Tan, L., & Yu, J. T.** (2016). Effect of CLU genetic variants on cerebrospinal fluid and neuroimaging markers in healthy, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease cohorts. *Scientific Reports*, 6(May), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep26027>
- Tao, B., & Shi, K.** (2016). *Decreased miR-195 Expression Protects Rats from Spinal Cord Injury Primarily by Targeting HIF-1 α* . 46(1), 49–53.
- Tedeschi, S. K., Cui, J., Arkema, E. V., Robinson, W. H., Sokolove, J., Lingampalli, N., Sparks, J. A., Karlson, E. W., & Costenbader, K. H.** (2017). Elevated BMI and antibodies to citrullinated proteins interact to increase rheumatoid arthritis risk and shorten time to diagnosis : A nested case – control

study of women in the Nurses ' Health Studies. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 46(6), 692–698. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2016.09.001>

- Tettey, P., Simpson, S., Taylor, B., Ponsonby, A.-L., Lucas M., R., Dwyer, T., Kostner, K., & van der Mei, I. A.** (2014). An adverse lipid profile and increased levels of adiposity significantly predict clinical course after a first demyelinating event. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. <https://doi.org/10.1177/1352458514533162>
- Thambisetty, M., An, Y., Kinsey, A., Koka, D., Saleem, M., Guntert, A., Kraut, M., Ferrucci, L., Davatzikos, C., Lovestone, S., & Resnick, S. M.** (2012). Plasma clusterin concentration is associated with longitudinal brain atrophy in mild cognitive impairment. *NeuroImage*, 59(1), 212–217. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.07.056>
- Thambisetty, M., Beason-held, L. L., An, Y., Kraut, M., Nalls, M., Hernandez, D. G., Singleton, A. B., Zonderman, A. B., Ferrucci, L., Lovestone, S., & Resnick, S. M.** (2013). Alzheimer Risk Variant CLU and Brain Function During Aging. *Biological Psychiatry*, 73(5), 399–405. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.05.026>
- Thambisetty, M., Simmons, A., Velayudhan, L., Hye, A., Campbell, J., Zhang, Y., Wahlund, L. O., Westman, E., Kinsey, A., Guntert, A., Proitsi, P., Powell, J., Causevic, M., Killick, R., Lunnon, K., Lynham, S., Broadstock, M., Choudhry, F., Howlett, D. R., ... Lovestone, S.** (2010). Association of plasma clusterin concentration with severity, pathology, and progression in Alzheimer disease. *Archives of General Psychiatry*, 67(7), 739–748. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.78>
- Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., Correale, J., Fazekas, F., Filippi, M., Freedman, M. S., Fujihara, K., Galetta, S. L., Hartung, H. P., Kappos, L., Lublin, F. D., Marrie, R. A., Miller, A. E., Miller, D. H., Montalban, X., ... Cohen, J. A.** (2018). Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*, 17(2), 162–173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)
- Tili, E., Croce, C. M., & Michaille, J.** (2009). *International Reviews of Immunology miR-155 : On the Crosstalk Between Inflammation and Cancer miR-155 : On the Crosstalk Between Inflammation.* 0185. <https://doi.org/10.1080/08830180903093796>
- Tim, C., Barnett, M., & Barnett, Y.** (2019). *Imaging the multiple sclerosis lesion : insights into pathogenesis , progression and repair.* 32(3), 338–345. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000698>
- Timofeeva, A. V., Fedorov, I. S., Pirogova, M. M., Vasilchenko, O. N., Chagovets, V. V., Ezhova, L. S., Zabelina, T. M., Shmakov, R. G., & Sukhikh, G. T.** (2021). Clusterin and its potential regulatory micrnas as a part of secretome for the diagnosis of abnormally invasive placenta: Accreta, increta, and percreta cases. *Life*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/life11040270>
- Torbati, S., Karami, F., Sc, M., Ghaffarpour, M., Zamani, M.** (2015). *Association of CD58 Polymorphism with Multiple Sclerosis and Response to Interferon β Therapy in A Subset of Iranian Population.* 16(4), 506–513.
- Troakes, C., Smyth, R., Noor, F., Maekawa, S., Killick, R., King, A., & Al-Sarraj,**

- S. (2017). Clusterin expression is upregulated following acute head injury and localizes to astrocytes in old head injury. *Neuropathology*, 37(1), 12–24. <https://doi.org/10.1111/neup.12320>
- Turchinovich, A., Samatov, T. R., Tonevitsky, A. G., & Burwinkel, B.** (2013). Circulating miRNAs: Cell-cell communication function? *Frontiers in Genetics*, 4(JUN), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00119>
- Türk Börü, Ü., Duman, A., Kulualp, A. Ş., Güler, N., Taşdemir, M., Yılmaz, Ü., Alp, R., & Bölük, C.** (2018). Multiple sclerosis prevalence study. *Medicine*, 97(42), e12856. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000012856>
- Uher, T., Fellows, K., Horakova, D., Zivadinov, R., Vaneckova, M., Sobisek, L., Tyblova, M., Seidl, Z., Krasensky, J., Bergsland, N., Weinstock-guttman, B., Havrdova, E., & Ramanathan, M.** (2017). Serum lipid profile changes predict neurodegeneration in interferon- beta 1a-treated multiple sclerosis patients. 58, 403–411. <https://doi.org/10.1194/jlr.M072751>
- Van Luijn, M. M., Van Meurs, M., Stoop, M. P., Verbraak, E., Wierenga-Wolf, A. F., Melief, M. J., Kreft, K. L., Verdijk, R. M., 'T Hart, B. A., Luider, T. M., Laman, J. D., & Hintzen, R. Q.** (2016). Elevated expression of the cerebrospinal fluid disease markers chromogranin a and clusterin in astrocytes of multiple sclerosis white matter lesions. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 75(1), 86–98. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlv004>
- Varma-doyle, A. V., Lukiw, W. J., Zhao, Y., Lovera, J., & Devier, D.** (2021). Journal of the Neurological Sciences A hypothesis-generating scoping review of miRs identified in both multiple sclerosis and dementia , their protein targets , and miR signaling pathways. *Journal of the Neurological Sciences*, 420(April 2020), 117202. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117202>
- Vasu, M. M., Anitha, A., Thanseem, I., Suzuki, K., Yamada, K., & Takahashi, T.** (2014). Serum microRNA profiles in children with autism. 1–9.
- Vishnu, V. Y., Modi, M., Sharma, S., Mohanty, M., Goyal, K., Lal, V., Khandelwal, N., Mittal, B. R., & Prabhakar, S.** (2016). Role of Plasma Clusterin in Alzheimer ' s Disease — A Pilot Study in a Tertiary Hospital in Northern India. 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166369>
- Vistbakka, J., Sumelahti, M. L., Lehtimäki, T., Elovaara, I., & Hagman, S.** (2018). Evaluation of serum miR-191-5p, miR-24-3p, miR-128-3p, and miR-376c-3 in multiple sclerosis patients. In *Acta Neurologica Scandinavica* (Vol. 138, Issue 2, pp. 130–136). <https://doi.org/10.1111/ane.12921>
- Voskuhl, R. R., Patel, K., Paul, F., Gold, S. M., Scheel, M., Kuchling, J., Cooper, G., Asseyer, S., Chien, C., Brandt, A. U., Meyer, C. E., & Mackenzie-graham, A.** (2020). Sex differences in brain atrophy in multiple sclerosis. 1–10.
- Vranová, H. P., Mareš, J., Nevrlý, M., Stejskal, D., Zapletalová, J., Hlušík, P., & Kaňovský, P.** (2010). CSF markers of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, 117(10), 1177–1181. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0462-z>
- Vukusic, S.** (2017). Primary and secondary progressive MS have a similar age at onset of progression – YES. 638–639. <https://doi.org/10.1177/1352458517690273>

- Walderveen, M. A. A. Van, Barkhof, F., Pouwels, P. J. W., Schijndel, R. A. Van, Polman, C. H., & Castelijns, J. A.** (1999). *Neuronal Damage in T1-Hypointense Multiple Sclerosis Lesions Demonstrated In Vivo Using Proton Magnetic Resonance Spectroscopy*. 79–87.
- Wallin, M. T., Culpepper, W. J., Nichols, E., Bhutta, Z. A., Gebrehiwot, T. T., Hay, S. I., Khalil, I. A., Krohn, K. J., Liang, X., Naghavi, M., Mokdad, A. H., Nixon, M. R., Reiner, R. C., Sartorius, B., Smith, M., Topor-Madry, R., Werdecker, A., Vos, T., Feigin, V. L., & Murray, C. J. L.** (2019). Global, regional, and national burden of multiple sclerosis 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, 18(3), 269–285. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30443-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30443-5)
- Wang, H.** (2021). Micrnas, multiple sclerosis and depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15). <https://doi.org/10.3390/ijms22157802>
- Wang, J., Pan, Y., Dai, F., Wang, F., & Qiu, H.** (2020). Serum miR-195-5p is upregulated in gestational diabetes mellitus. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(8). <https://doi.org/10.1002/jcla.23325>
- Wang, S., Wan, X., & Ruan, Q.** (2016). The microRNA-21 in autoimmune diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/ijms17060864>
- Weinstock-guttman, B., Zivadinov, R., Mahfooz, N., Carl, E., Drake, A., Schneider, J., Teter, B., Hussein, S., Mehta, B., Weiskopf, M., Durfee, J., & Bergsland, N.** (2011). *Serum lipid profiles are associated with disability and MRI outcomes in multiple sclerosis*. 1–7.
- Wiggs, J. L., Kang, J. H., Levkovitch-Verbin, H., & Pasquale, L. R.** (2018). A Role for Clusterin in Exfoliation syndrome and Exfoliation glaucoma? *J Glaucoma*, 176(3), 61–66. <https://doi.org/doi:0.1097/IJG.0000000000000916>.
- Wildner, P., Stasiolek, M., & Matysiak, M.** (2020). Differential diagnosis of multiple sclerosis and other inflammatory CNS diseases. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 37(October 2019), 101452. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.101452>
- Woody, S. K., & Zhao, L.** (2016). Clusterin (APOJ) in Alzheimer’s Disease: An Old Molecule with a New Role. *Update on Dementia*. <https://doi.org/10.5772/64233>
- Wu, K., Wen, L., Duan, R., Li, Y., Yao, Y., Jing, L., & Jia, Y.** (2019). *Triglyceride Level Is an Independent Risk Factor in First-Attacked Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders Patients*. 10(November), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01230>
- Xian, W., Tao, H., Zhao, J., Fu, J., Zhong, W., Chen, Y., Zhou, H., Li, K., & Pan, S.** (2017). *Association Between Clusterin Gene Polymorphisms and Epilepsy in a Han Chinese Population*. 21(11), 1–6. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2017.0032>
- Xing, Y., Yu, J., Cui, W., Zhong, X., & Wu, Z.** (2012). *Blood Clusterin Levels , rs9331888 Polymorphism , and the Risk of Alzheimer ’ s Disease*. 29, 515–519. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111844>
- Xu, H., Liu, X., Zhou, J., Chen, X., & Zhao, J.** (2016). *miR-574-3p acts as a tumor promoter in osteosarcoma by targeting SMAD4 signaling pathway*. 5247–5253. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5355>

- Xu, T., Zhu, Y., Xiong, Y., Ge, Y., Yun, J., & Zhuang, S.** (2009). MicroRNA-195 Suppresses Tumorigenicity and Regulates G 1 /S Transition of Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Hepatology*, 113–121. <https://doi.org/10.1002/hep.22919>
- Xu, Y., Jiang, W., Zhong, L., Li, H., Bai, L., Chen, X., Lin, Y., & Zheng, D.** (2020). miR-195-5p alleviates acute kidney injury through repression of inflammation and oxidative stress by targeting vascular endothelial growth factor A. *Aging*, 12(11), 10235–10245. <https://doi.org/10.18632/aging.103160>
- Yadav, S. K., Mindur, J. E., Ito, K., & Dhib-Jalbut, S.** (2015). Advances in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*, 28(3), 206–219. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000205>
- Yamout, B. I., & Alroughani, R.** (2018). Multiple Sclerosis. *Seminars in Neurology*, 38(2), 212–225. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1649502>
- Yardımcı, B., & Eceder, T.** (2019). Smoking and chronic kidney disease. *Turkish Journal of Nephrology*, 28(1), 75–80. <https://doi.org/10.5152/turkjnephrol.2019.3440>
- Yiğit, P.** (2018). *Multipl Sklerozlu Bireylerde Bilişsel Fonksiyonlar ile Depresyon, Yorgunluk ve Yeti Yitimi Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi*. İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Yu, J. T., Li, L., Zhu, Q. X., Zhang, Q., Zhang, W., Wu, Z. C., Guan, J., & Tan, L.** (2010). Implication of CLU gene polymorphisms in Chinese patients with Alzheimer's disease. *Clinica Chimica Acta*, 411(19–20), 1516–1519. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.06.013>
- Yu, W., Liang, X., Li, X., Zhang, Y., Sun, Z., Liu, Y., & Wang, J.** (2018). MicroRNA-195: A review of its role in cancers. *OncoTargets and Therapy*, 11, 7109–7123. <https://doi.org/10.2147/OTT.S183600>
- Yuan, M., Guo, Y., Zhang, X., Gao, Z., Shen, X., Han, Y., & Bi, X.** (2022). *and miR-200b serums in post-stroke cognitive impairment patients*. 228–236.
- Zadehbagheri, F., Hosseini, E., & Bagheri-hosseiniabadi, Z.** (2019). *Pro fi ling of miRNAs in serum of children with attention-de fi cit hyperactivity disorder shows signi fi cant alterations*. 109(December 2018), 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.12.013>
- Zailaie, S. A., Siddiqui, J. J., Al Saadi, R. M., Anbari, D. M., S. Alomari, A., & Cupler, E. J.** (2022). Serum Based miRNA as a Diagnostic Biomarker for Multiple Sclerosis: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Immunological Investigations*, 51(4), 947–962. <https://doi.org/10.1080/08820139.2021.1887888>
- Zanoni, M., Orlandi, E., Rossetti, G., Turatti, M., Calabrese, M., Gomez, M., & Alberto, L.** (2020). *Upregulated serum miR-128-3p in progressive and relapse-free multiple sclerosis patients*. May, 511–516. <https://doi.org/10.1111/ane.13288>
- Zhai, Y., Zhu, Z., Li, H., Zhao, C., Huang, Y., & Wang, P.** (2020). *miR-195 and miR-497 in acute stroke and their correlations with post-stroke cognitive impairment*. 13(12), 3092–3099.
- Zhang, S., Zhang, D., Jiang, Y., Wu, L., Shang, H., Liu, J., Feng, R., Liao, M., Zhang, L., Liu, Y., Liu, G., & Li, K.** (2015). CLU rs2279590 polymorphism contributes to Alzheimer's disease susceptibility in Caucasian and Asian

populations. *Journal of Neural Transmission*, 122(3), 433–439. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1260-9>

Zhang, X. Y., Wang, Y. F., Zheng, L. J., Zhang, H., Lin, L., Lu, G. M., & Zhang, L. J. (2020). Impacts of AD-Related ABCA7 and CLU Variants on Default Mode Network Connectivity in Healthy Middle-Age Adults. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13(July), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00145>

Zhao, C., Sun, X., & Li, L. (2019). Biogenesis and function of extracellular miRNAs. *ExRNA*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s41544-019-0039-4>

Zhu, R., Liu, X., & He, Z. (2018). Association between CLU gene rs11136000 polymorphism and Alzheimer's disease: an updated meta-analysis. *Neurological Sciences*, 39(4), 679–689. <https://doi.org/10.1007/s10072-018-3259-8>

URL-1:

<https://stagenmss.blob.core.windows.net/cmssite/nationalmssociety/media/msnationa1/charts-graphics/demyelination-horz.png>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-2: <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-3: <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/P10909>. Erişim Tarihi 22.12.2022

URL-4: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1191>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-5: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs11136000>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-6: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3087554>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-7:

<https://loschmidt.chemi.muni.cz/predictsnp2/?action=results&jid=5oflrg&gchr=>

URL-8: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2279590>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-9: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1532278>. Erişim Tarihi: 22.12.2022

URL-10: <https://international.neb.com/products/r0114-apai#Product%20Information>. Erişim Tarihi: 15.01.2023

URL-11: <https://international.neb.com/products/r0551-acii#Product%20Information>. Erişim Tarihi: 15.01.2023

URL-12: <https://www.temd.org.tr/hastaliklar/d-vitamini-eksikligi>. Erişim Tarihi 26.04.2023

URL-13: <https://www.dogrulukpayi.com/bulten/turkiye-de-lisans-mezunu-sayisi-10-milyonu-asti>. Erişim tarihi: 26.04.2023



EKLER

- EK-1: Genetik Polimorfizm Çalışma Grubu için Alınan Etik Kurul İzin Onayı
- EK-2: Bilişsel Test Uygulanan ve Plazma Clusterin, miR-21-5p ve miR-195-5p Çalışmaları için Alınan Etik Kurul İzin Onayı
- EK-3: Kullanılan Malzemelerin Katalog Numaraları, Üretici Firmaları ve Üretim Yerleri
- EK-4: Kullanılan Cihazların Modelleri ve Üretim Yerleri
- EK-5: Kullanılan Primerlere Ait Bilgiler
- EK-6: SDMT
- EK-7: CVLT-II
- EK-8: BVMT-R
- EK-9: Grup-1'deki RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizlerinin oluşturulması.
- EK-10: Grup-1'deki RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizlerinin oluşturulması.
- EK-11: Grup-2'de naif RRMS (n=30) tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireyler (n=30) ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için kullanılan lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.
- EK-12: Grup-2'de naif RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.
- EK-13: Grup-2'de tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.

EK-1



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Ankara Şehir Hastanesi
1 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E.Kurul –E1-21-1957

1957-no'lu çalışma

Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Kliniği'nde yapılması planlanan“Clusterin Genetik Polimorfizmleri İle Multipl Skleroz Riski ve Engellilik Skorları Arasındaki İlişkinin İncelenmesi” konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

06/10/2021

Prof. Dr. Hürrem Boaur
Etik Kurul Başkanı

Not: Islak imzalar silinmiştir.

EK-2



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Ankara Şehir Hastanesi
1 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E.Kurul –E1-21-1588

1588-no’lu çalışma

Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Kliniği’nde yapılması planlanan “Relapsing remitting multipl sklerozda plazma clusterin konsantrasyonunun ve dolaşımdaki mikroRNA’ların bilişsel performansla ilişkisinin incelenmesi” konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

03/03/2021

Prof. Dr. Hürrem Bodur
Etik Kurul Başkanı

Not: Islak imzalar silinmiştir.

EK-3

Çizelge Ek.1: Kullanılan malzemelerin katalog numaraları, üretici firmaları ve üretim yerleri

Malzeme	Katalog Numarası	Üretici Firma ve Menşei
<i>Acil</i>	R0551L	New England Biolabs Inc., ABD
Agaroz	16500500	Thermo Scientific, ABD
<i>Apol</i>	R0566L	New England Biolabs Inc., ABD
Borik Asit	B6768	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Carrier RNA	1068337	Qiagen, Almanya
dNTP mix	R0192	Thermo Scientific, Litvanya
Etanol	920.026	ISOLAB, Almanya
Etidyum bromür	15585011	Thermo Scientific, ABD
Etilen diamin tetra asetik asit disodyum tuz (EDTA)	E5134	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Gene Ruler™ 50 bp DNA Ladder	SM0372	Thermo Scientific, Litvanya
İnsan Clusterin ELISA kit	SEB180Hu	USCN, Çin
Magnezyum klorür (MgCl ₂)	M8266	Sigma-Aldrich Co., Çin
miRCURY LNA RT Kit	339340	Qiagen, Almanya
miRCURY LNA SYBR Green PCR Kit	339346	Qiagen, Almanya
miRNEasy Serum/Plasma Kit	217184	Qiagen, Almanya
Phosphate buffered saline (PBS)	P4417	Sigma-Aldrich Co., İsviçre
Potasyum klorür (KCl)	sc-203207	Santa Cruz Biotechnology, ABD
Qiazol Liziz Reajeni	79306	Qiagen, Almanya
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	L3771	Sigma-Aldrich Co., Japonya
Sodyum klorür (NaCl)	31434	Sigma-Aldrich Co., Danimarka
Taq DNA polimeraz	EP0402	Thermo Scientific, ABD
TaqMan® genotyping master mix	4371355	Applied Biosystems, Avustralya
TaqMan® SNP genotyping assays	4351376	Applied Biosystems, ABD
Tris (hidroksimetil) amino-metan	252859	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Triton X-100	T8787	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Trizma hidroklorür (Tris-HCl)	T5941	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Tween 20	P1379	Sigma-Aldrich Co., Fransa

Çizelge Ek.2: Kullanılan cihazların modelleri ve üretim yerleri

Cihaz	Model	Marka ve Üretim Yeri
-20°C Buzdolabı	LGex 3410 Index 22A/001	Liebherr, Almanya
+4°C Buzdolabı	LKv 3913 Index 20B/001	Liebherr, Almanya
-86°C Buzdolabı	MDF-U55V-PE	Panasonic, Japonya
Biyogüvenlik kabini	S2020 1.2	Thermo Scientific™, Almanya
Çalkalamalı inkübatör	Innova	New Brunswick Scientific, ABD
Eş zamanlı PCR cihazı	StepOne Plus	Applied Biosystems, ABD
Hassas tartı	PLJ 300	Kern, Almanya
Kuru blok ısıtıcı	Bio TDB-100	BioSan, Letonya
Laminar akış kabini	LAF-90	MetiSafe, Türkiye
Manyetik Karıştırıcı	ArecX	Velp Scientifica, İtalya
Mikrodalga fırın	MD1610	Beko, Türkiye
Mikroplaka okuyucu	MultiSkan GO	Thermo Scientific™, ABD
Mikrosantrifüj	MiniSpin®	Eppendorf, Almanya
Multispin	MSC-6000	BioSan, Letonya
Otoklav	MLS-3751L	Panasonic, Japonya
PCR cihazı	Mastercycler® Nexus	Eppendorf, Almanya
pH metre	pH 1100 L	VWR, ABD
Saf su cihazı	Minipure	MES Medikal, Türkiye
Saf su cihazı	Smart2Pure 6 UV/UF	Thermo Scientific™, ABD
Soğutmalı santrifüj	Universal 320R	Hettich, Almanya
Su banyosu	462-0353	VWR, ABD
UV görüntüleme sistemi	Vilber Lourmat	Vilber Lourmat, Fransa
UV-Vis spektrofotometre	NanoDrop™ One/OneC	Thermo Scientific™, ABD
Vorteks	622.01.001	ISOLAB, Almanya
Yatay elektroforez sistemi	Owl™ EasyCast™	Thermo Scientific™, ABD

EK-5

Çizelge Ek.3: PCR-RFLP metodu ile genotipleme çalışmalarında kullanılan primerlerin dizileri ve üreticileri

SNP	Primer	Dizi	Üretici
rs11136000	İleri Primer	5'- CAT CTT CCA AAG CAG GCT G - 3'	Iontek İlaç Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri, Türkiye
	Geri Primer	5'- CCT GAC CCC AAG TAA TAT GC - 3'	Iontek İlaç Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri, Türkiye
rs3087554	İleri Primer	5' - AGA TTG TCG CAC CTT GGT CA - 3'	Iontek İlaç Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri, Türkiye
	Geri Primer	5' - TGT GAG CTG ATC GCT TGG AG - 3'	Iontek İlaç Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri, Türkiye

Çizelge Ek.4: Eş zamanlı PCR ile genotipleme çalışmalarında kullanılan kitlerin bilgileri

SNP	ID	Prob Dizisi	Üretici
rs2279590	C__1842470_20	CTTCTGATAAGGAAGTCCTCCTGCT[C/T]CTCCAAGGAAACCTAGAGAGCTGAC	Thermo Fisher, ABD
rs1532278	C__1522420_1_	CAAATGAACCTTCCCTGCTTCTTAA[C/T]TGCAGCCTCAGCATCAGCTGACACA	Thermo Fisher, ABD

EK-6

SDMT - 2011

Adı Soyadı:	
Tarih:	
Yaş:	
Eğitim Durumu (yıl):	
Süre:	Doğru sayısı:
Toplam yanıt:	Yanlış sayısı:

Kılavuz

(-	+	Γ	+	>	+)	÷
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Test

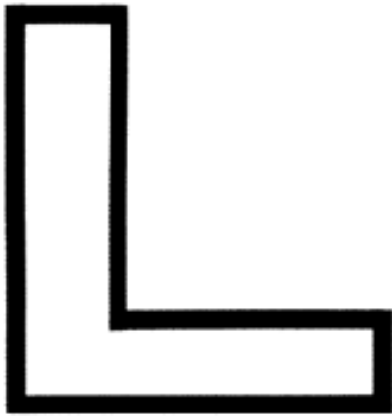
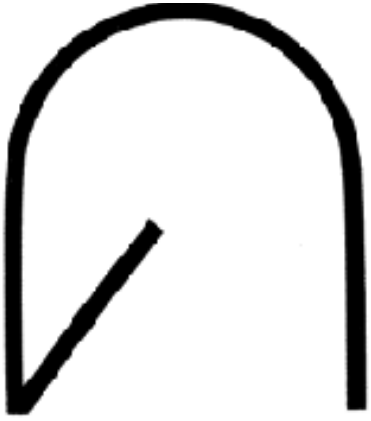
(+	-	(+	>	-	Γ	(>	-	(>	(-
Γ	>	(-	+	>	+	Γ	(-	>	÷	Γ	+)
Γ	+	+)	(+	+	Γ)	+	-	÷	+	Γ	+
-	Γ	+	(>	Γ	(+	>	+	÷)	+	>	Γ
÷	+)	+	>	+	Γ	+	-	+	÷	÷)	(
>	÷	+	-	+	>	Γ	÷	(+	-	+	>)	Γ
-)	+	÷	+	+)	+	(÷	-	(Γ	+	>
+	-	(>	Γ	-	(>	÷	+	+	+	Γ)	÷

Şekil Ek.1: SDMT testi

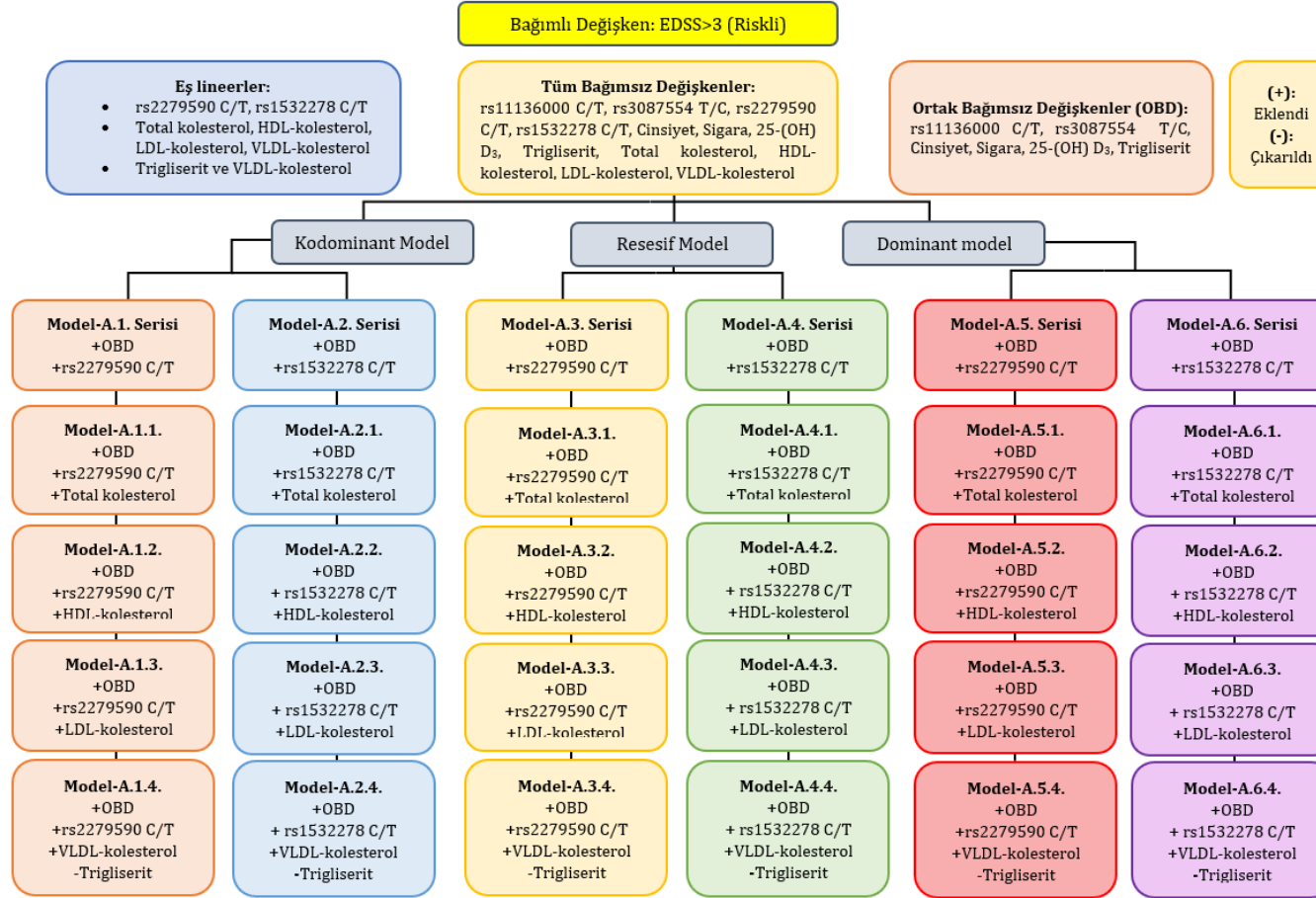
A Listesi	Freze Recesi 1.Deneme					2.Deneme					3. ve 4.Denemeler					5.Deneme				
	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut	Yeni Tut		
Size kelimelerden oluşan bir liste okuyacağım. Dikkatle dinleyin, çünkü okunamam bittğinde, söyleyebileceğiniz kadar çok kelimeyi bana söylemenizi istiyorum. Bunları istediğiniz sırada söyleyebilirsiniz, sadece söyleyebileceğiniz kadar çok kelime söyleyin. Hazır mısınız?	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
Eğer bir aralıkla, her kelimeye bir saniyeden biraz daha uzun kalarak A Listesini okuyun. Böylece listedeki tüm kelimeleri okumak 18 ile 20 saniye kadar sürecektir. Sonra şöyle deyin: Şimdi başlayın	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
Aynı listeyi tekrar okuyacağım. Daha önceden olduğu gibi, herhangi bir sıralama ile, bana söyleyebileceğiniz kadar çok kelime söyleyin. İlk seferde listeden bana söylemiş olduğunuz kelimeleri de söyledikten sonra emin olun.	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
Aynı listeyi tekrar okuyacağım. Daha önceden olduğu gibi, herhangi bir sıralama ile, bana önceki listeden söylediğiniz kelimeler dahil, bana söyleyebileceğiniz kadar çok kelime söyleyin.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
Aynı listeyi bir defa daha okuyacağım. Daha önceden olduğu gibi, herhangi bir sıralama ile, daha önceki listeden söylediğiniz kelimeler dahil, bana söyleyebileceğiniz kadar çok kelime söyleyin.	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
Tüm yanıtları, hatırladıkları sıra ile, kelimesi kelimesine kaydedin. İlk ve sonraki denemelerin sonunda (Yeni denek 15 saniye süreyle hiç yanıtlı vermediğinde ya da daha fazla kelime hatırlamadığını söylediğinde) sadece bir kez tekrar edici bir söz söyleyin (örneğin "Daha başkası?").	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11		
12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13		
14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14		
15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15		
16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16		
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17		
18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18		
19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19		
20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20		
Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	Toplam Doğru Sayısı: D	<input type="checkbox"/>	
Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	Toplam Tekrar Sayısı: T	<input type="checkbox"/>	
Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	Toplam Yeni Kelime/Hata/ Madanî Sayısı: Y	<input type="checkbox"/>	

Şekil Ek.2: CVLT-II testi

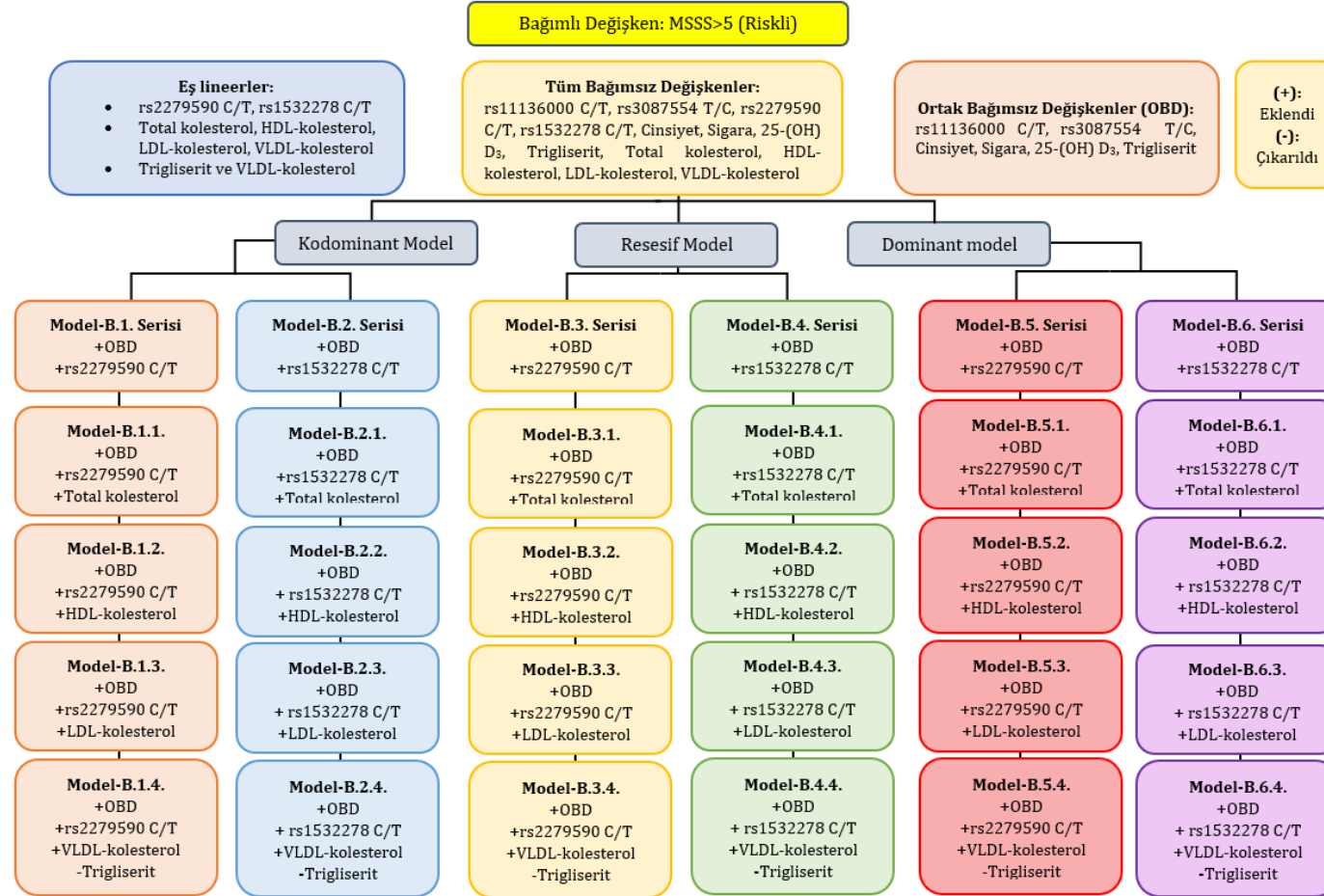
EK-8



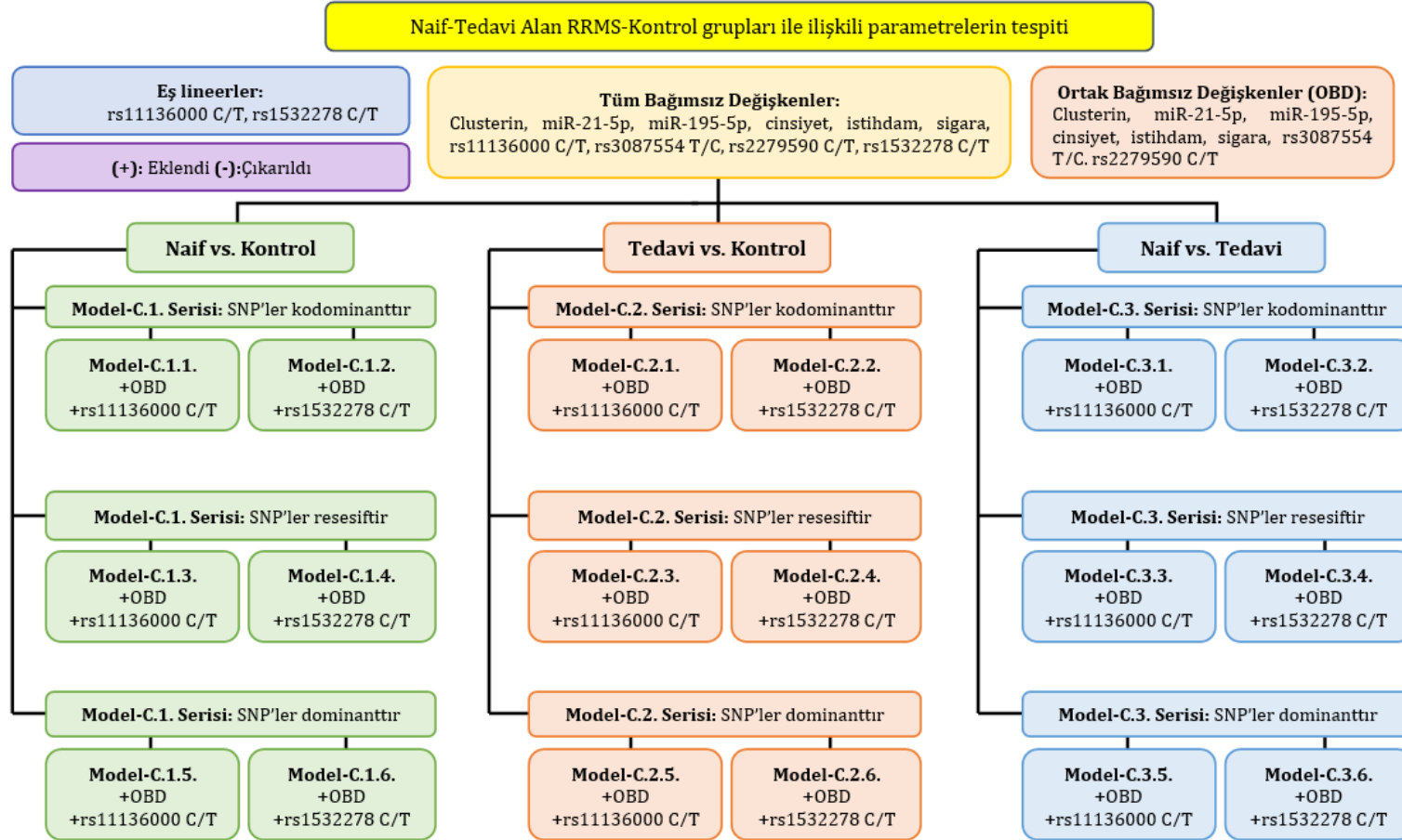
Şekil Ek.3: BVMT-R testi



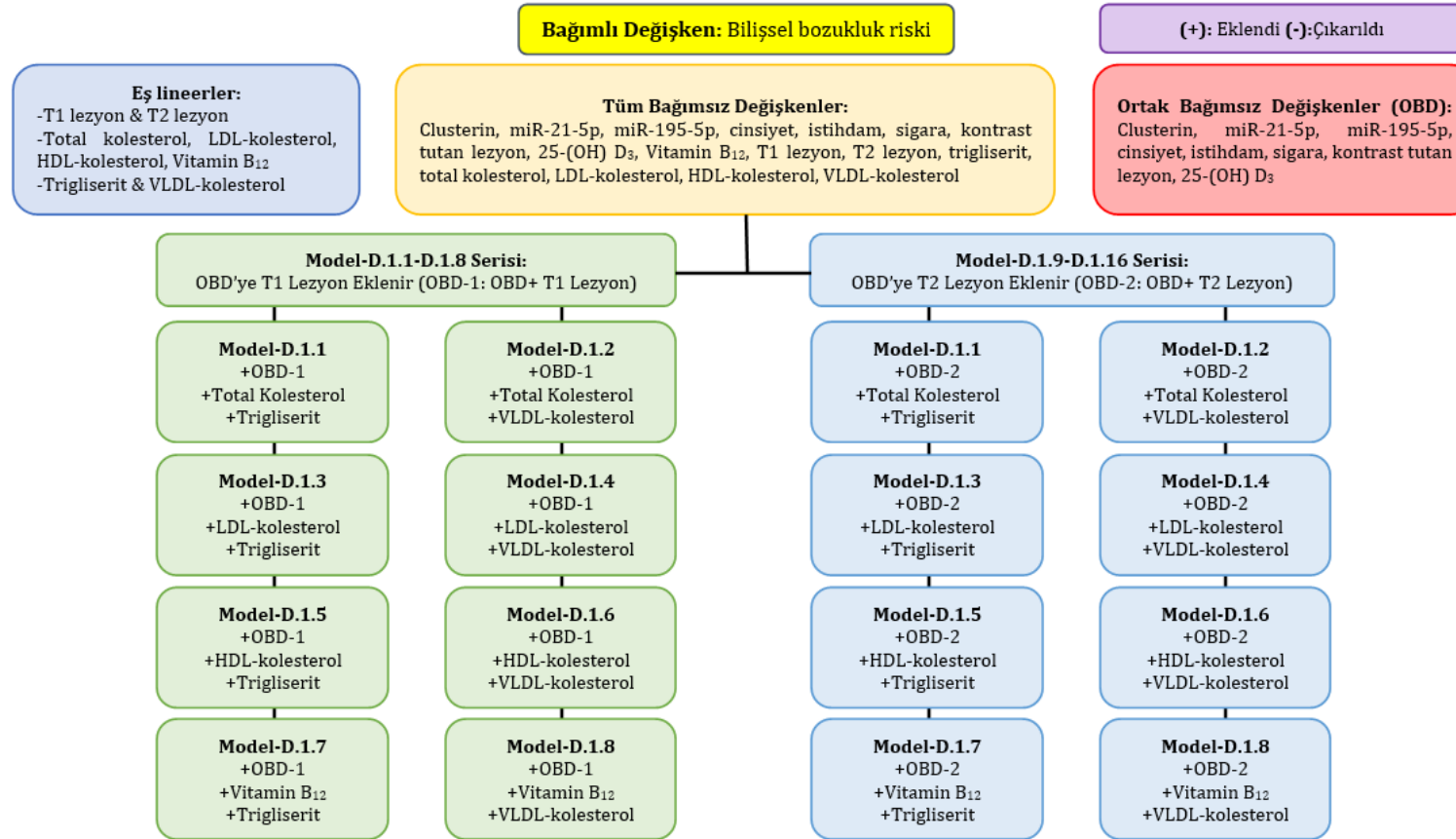
Şekil Ek.4: Grup-1'deki RRMS hastalarında (n=310) orta ila yüksek düzey EDSS riski (EDSS>3) için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizlerinin oluşturulması.



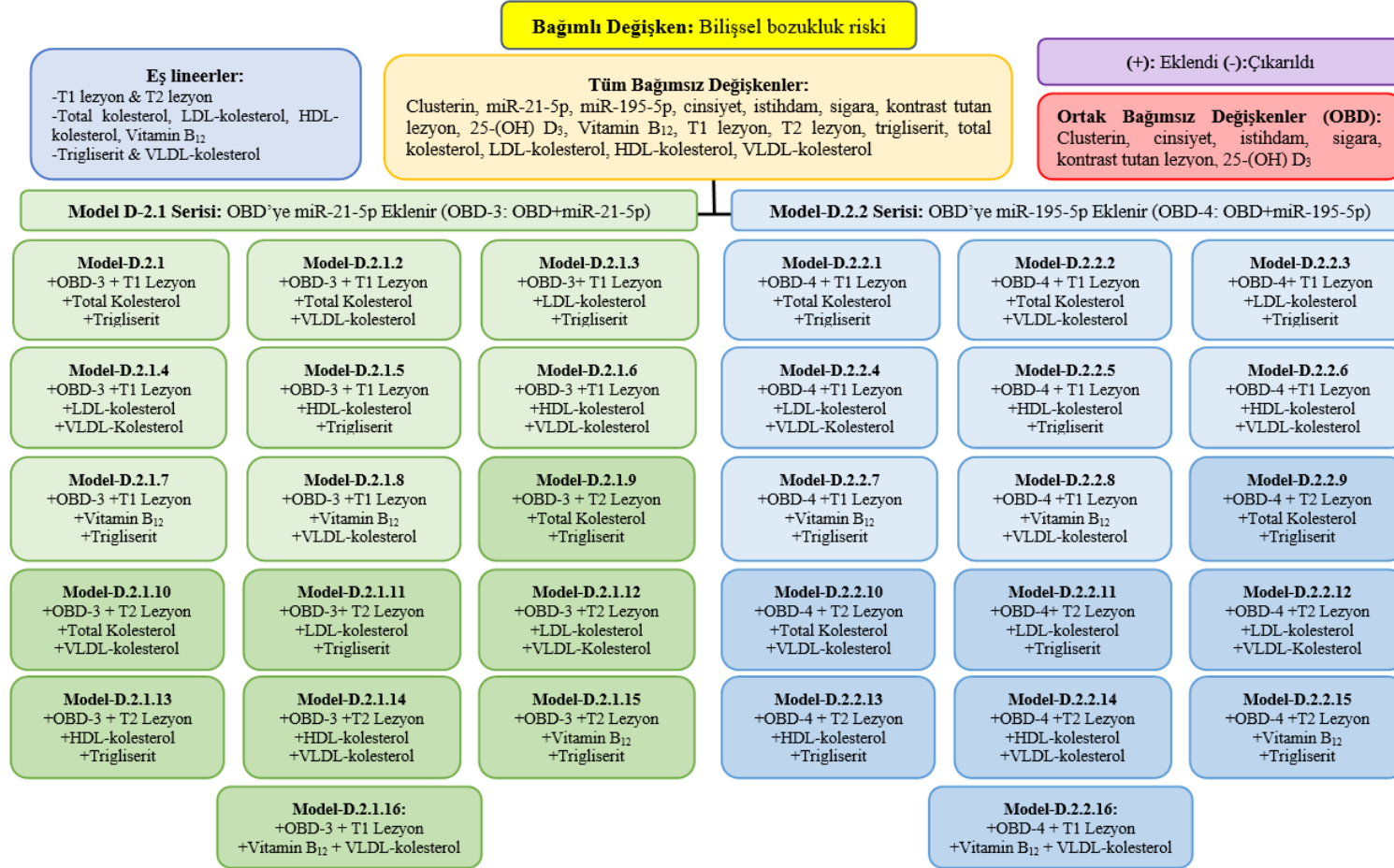
Şekil Ek.5: Grup-1'deki RRMS hastalarında (n=310) hızlı MS progresyon riski (MSSS>5) için gerçekleştirilen ikili lojistik regresyon analizlerinin oluşturulması.



Şekil Ek.0.6: Grup-2’de naif RRMS (n=30) tedavi alan RRMS hastaları (n=30) ve kontrol bireyler (n=30) ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için kullanılan lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.



Şekil Ek.7: Grup-2’de naif RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.



Şekil Ek.8: Grup-2’de tedavi alan RRMS hastalarında (n=30) bilişsel bozukluk ile ilişkili parametrelerin belirlenmesi için gerçekleştirilen lojistik regresyon analiz modellerinin oluşturulması.