



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN NİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji

Yüksek Lisans Tezi

**MULTIPL SKLEROZ HASTALIĞI ETİYOPATOGENEZİNDE, İNSAN
ENDOJEN RETROVİRÜS-W (HERV-W)' NİN ROLÜ**

Zekeriya TAŞKIN
ORCID: 0000-0001-6885-7121

Danışman
Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU
ORCID: 0000-0002-0991-2132

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatorlüğü tarafından 21131800 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KONYA – 2023

ÖN SÖZ (TEŞEKKÜR)

Yüksek Lisans eğitimim boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim ve tez hazırlama sürecinde bana oldukça yardımcı olan, hiçbir konuda yardımını esirgemeyen çok değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU'na, hasta numunelerinin toplanmasında yardımcı olan Doç. Dr. Ali Ulvi UCA'ya, birçok konuda desteklerini aldığım ve danıştığım hocalarım Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR'e, Prof. Dr. Metin DOĞAN'a, Doç. Dr. Fatma ESENKAYA TAŞBENT'e, Dr. Öğretim Üyesi Selin UĞRAKLI'ya ve tezimi 211318002 no'lu proje ile destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü yöneticilerine, paylaşımlarıyla her zaman bana destek olan tüm mikrobiyoloji laboratuvarı asistan ve çalışma arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkür ederim.

Son olarak beni yetiştiren, her zaman bana destek olan kıymetli anneme, rahmetli babama hep yanımda olan aileme ve bana yardımcı olan hayat arkadaşım sevgili eşim Meral'e, hayatıma renk katan biricik göz nurlarım olan kızlarım Fatmanur ve Ayşenur'a candan teşekkür ederim.

Zekeriya TAŞKIN

MAYIS 2023

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ (TEŞEKKÜR).....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TEZ ONAY SAYFASI.....	vi
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vii
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
TABLO LİSTESİ	xiii
ÖZET.....	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Multipl skleroz (MS Hastalığı)	4
2.1.1. MS hastalığının kliniği.....	7
2.1.2. MS Hastalığının Tedavisi.....	11
2.2. İnsan Endojen Retrovirusleri (HERV).....	12
2.2.1. Tanımı	12
2.2.2. Yapısı	15
2.2.3. Sınıflandırılması.....	21
2.3. MS Hastalığı ile HERV Arasında İlişkiler.....	23
2.4. TRIM 5 Protein Ailesi	25
2.5. Kemik iliği Stromal Antijen 2 (BST-2)	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Gereç	34
3.1.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Toplanması	34
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Deney Malzemeleri.....	35
3.1.2.1. Kullanılan Kimyasallar	35
3.1.2.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları	35
3.2. Yöntem.....	36
3.2.1. mRNA'nın İzolasyonu.....	36
3.2.1.1. Primeler	37
3.2.2. mRNA'lardan cDNA Eldesi	38
3.3. Real Time PCR.....	39
3.3.1 Elde Edilen Sonuçların Analizi.....	40

4. BULGULAR	42
4.1. Demografik Veriler	42
4.2. MikroRNA Ekspresyon sonuçları	43
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
7. KAYNAKLAR	67
8.EKLER	74



TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Zekeriya TAŞKIN**'nın "**Multipl Skleroz Hastalığı Etiyopatogenezinde, İnsan Endojen Retrovirüs-W (HERV-W)' nin Rolü**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA / 29.05.2023

Tez Danışmanı Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU
N.E.Ü./Tıp Fakültesi/Tıbbi Mikrobiyoloji A.D

Jüri Üyesi Prof..Dr.Mehmet ÖZDEMİR
N.E.Ü./Tıp Fakültesi/Tıbbi Mikrobiyoloji A.D

Jüri Üyesi Prof. Dr. Mahmut BAYKAN
Bilecik Şeyh Edebali Üniv./Tıp Fakültesi/ Tıbbi Mikrobiyoloji A.D

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 07/06/2023 tarih ve 13/17 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL
Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

“*Multipl Skleroz Hastalığı Etiyopatogenezinde, İnsan Endojen Retrovirüs-W (HERV-W)’ nin Rolü*” başlıklı tez çalışmamın toplam 89 sayfalık kısmına ilişkin, 02.05.2023 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%11** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

02.05.2023

Zekeriya TAŞKIN

Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

05.05.2023

Zekeriya TAŞKIN

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALS: Amyotrofik Lateral Skleroz

ASCT-1: Amino asit taşıyıcıları -1

ASCT-2: Amino asit taşıyıcıları -2

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

BST2: Bone Marrow Stromal Cell Surface Gene (human)

CT: Sitoplazmik Kuyruk

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EBV: Epstein-Barr virüsü

EDSS: Expanded Disability Status Scale

FC: Akış Sitometresi

GPI: Glikosil-fosfatidilinositol

HBV: Hepatit B virüsü

HERV-W: Human Endojen Retrovirus

HHV-6: İnsan Herpes Virüs 6

HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

HSV-1: Herpes Simpleks Virüsü TİP -1

HTLV-1: Human T-lymphotropic virus type 1

IFN β : İnterferon Beta

LINE: Uzun Serpiştirilmiş Elementler (Long Intersperced Elements)

LncRNA: Long non-coding RNA

LTR: Long terminal repeat

MBP: Miyelin Bazik Protein

MHC: Major Doku Uygunluk Kompleksi

MOG: Miyelin Oligodendrosit Glikoproteini

MS: Multipl Skleroz

MSFC: Multiple Sclerosis Functional Composite

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

MuLV: Murin lösemi virüsleri

NF- κ B: Nuclear Factor-kappa B

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PRMS: Progresif Relaps MS

PRR: Model Tanıma Reseptörlerinin

RT: Ters Transkriptaz

SINE: Kısa Serpiştirilmiş Elementler (Short Interspersed Nucleotide)

SSS: Santral Sinir Sistemi

TBE: Ensefalit virüsü

TLR: Toll benzeri reseptörlerin

TM: Transmembran Alanı

TRIM5: (Tripartite Motif Containing 5 (human))

tRna: Taşıyıcı RNA

VPU: Viral pro protein U

VZV: Varisella zoster virüs

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Küresel MS gelişme riski.....	5
Şekil 2.2. Ailelerde multipl skleroz için tekrarlama riskleri	6
Şekil 2.3. Farklı tipte nörolojik hücre sınıfları (ependimal hücreler, mor ve endotelial hücreler, kırmızı)), alt popülasyonlar (A=astrositler, mavi; M=mikroglia, kahverengi; N=nöron, yeşil; O=oligodendrositler, turuncu), ve (akson, dendrit, sinaps ve glia endfelt.....	8
Şekil 2.4. MS hastalığının klinik formları	11
Şekil 2.5. Retrovirüsün genoma entegrasyonu	14
Şekil 2.6. Herv gen bölgeleri	16
Şekil 2.7. Hareketli genetik elementlerin hareket mekanizması. A: DNA transpozonun hareket mekanizması; B: Retrotranspozonun hareket mekanizması	17
Şekil 2.8. Transposable Elements (TE'ler)	18
Şekil 2.9. ERV'lerde patch repair gösterimi	19
Şekil 2.10. Syncytin-1 diğer adıyla <i>enverin</i>	20
Şekil 2.11. HERW Ailesinin Sınıflandırılması	22
Şekil 2.12. TRIM ailesi proteinlerinin yapısal sınıflandırması	26
Şekil 2.13. TRIM veya RBCC ailesi proitein yapısı	27
Şekil 2.14. HIV-1 kapsid benzeri tüplere bağlanan TRIM5 α 'nın yapısı	28
Şekil 2.15. TRIM5 aracılıyla retroviral kısıtlama mekanizmaların bazı yolları	29
Şekil 2.16. Retroviruslerin kapsidinin veya benzeri kapsidlerin TRIM5 ile kaplı tüplerin kriyotomografisi ve alt tomogramı	30
Şekil 2.17. BST-2'nin hücre yüzeyine fiziksel olarak bağlanması	32
Şekil 3.1. mRNA izalasyon kiti	37
Şekil 3.2. Çalıştığımız genlerin primeleri	38
Şekil 3.3. cDNA Mix içeriği	39

Şekil 5.1. HERW-W Expresyon diyagramı.....	53
Şekil 5.2. BTS2 Expresyon diyagramı	53
Şekil 5.3. TRİM5 Expresyon diyagramı	54
Şekil 5.4. BTS2, HER-W TRİM5 ve GAPDH genlerin Ekspresyonu diyagramı....	54



TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. cDNA Mix içeriği	38
Tablo 3.2. Real Time PCR Primer Mastermix İçeriği	39
Tablo 3.3. Real Time PCR Isı Protokolü	40
Tablo 4.1. Çalışılan RRMS Hasta Grubunun Demografik Özellikleri	42
Tablo 4.2.1. TRİM5 gen Ekspresyon sonuçları.....	43
Tablo 4.2.2. BTS-2 gen Ekspresyon sonuçları	46
Tablo 4.2.3. HERW-W gen Ekspresyon sonuçları	50

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji
Yüksek Lisans Tezi

MULTİPL SKLEROZ HASTALIĞI ETİYOPATOGENEZİNDE, İNSAN ENDOJEN RETROVİRÜS-W (HERV-W)' nin ROLÜ

Zekeriya TAŞKIN

Konya-2023

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin nörodejeneratif bir hastalığıdır. Erken yaşta gelişir ve sıklıkla sekel oluşturur. Hastalığın etiyolojik nedeni tam olarak aydınlatılamamıştır ve henüz etkili bir tedavi mevcut değildir. Araştırmamız, İnsan endojen retrovirüslerinin ekspresyonu ile multipl sklerozun patogenezi arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçladık.

Araştırmamızda Human Endogenous Retrovirus-W (HERV-W) *env* gen ekspresyon düzeyini belirlemeyi ve yine aynı gruplarda, HERV-W *env* gen ekspresyonunu sınırlama/düzenleme potansiyeli olan TRIM5 ve BST2 konak genlerinin ekspresyon düzeyini belirlemeyi hedefledik

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi (Konya, Türkiye) Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda McDonald (2017) tanı kriterlerine göre Relapsing-Remitting (RRMS) tanısı alan 50 takipli hasta ile nörodejeneratif hastalık dışlanmış yaş ve cinsiyet yönünden benzer 50 kişilik gönüllü kontrol olmak üzere 100 kişiyi dahil ettik. 50 RRMS tanısı almış hastaların yaşları 33.1 ortalamasındadır. Bu çalışma grubun hastalıklarının başlangıç yaşı 25,64 ortalaması, hastaların tanı alma yaş ortalaması 27,1 dir. Nöroloji kliniğinde rutin tanı, takip ve tedavi işlemleri devam eden hastalardan ve sağlıklı kan donörlerinden tam kan örnekleri kullanıldı. Gen ekspresyon düzeyleri, Real Time PCR yöntemi ile, CT değerleri ve referans gen CT değerleri kullanılarak fold-change analizi ile belirlendi.

HERV-W ekspresyon düzeyleri için çalışma grupları arasında önemli bir farklılık saptanmadı. HERV-W gen ekspresyon düzeylerinin oldukça dinamik ve sofistike etkileşimlerden etkilenebileceği gerçeği, araştırmamızda gerçekleştirdiğimiz ölçümlerin birden fazla zamanlı ölçüm ve bir süreç analizi ile yapılmasının daha sağlıklı olacağı kanaati uyandırdı. BTS-2 gen ekspresyonu kontrol grubuna göre yaklaşık 3,5 kat artış göstermiştir. Sağlıklı kişiler ile hasta grubu arasında TRIM5α proteinin ekspresyonu açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir TRIM5 gen ekspresyon düzeyleri ile hastalık ve hastalığın seyrine yönelik anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. BTS-2 gen ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek çıkması doğal bağışıklık yanıtın MS hastalığı üzerindeki etkisinin bir sonucu olabileceği yönünde değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: BTS2, HERV-W, Multipl skleroz (MS), TRIM5,

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Microbiology
Medical Microbiology
Master Thesis

THE ROLE OF HUMAN ENDOGENEUS RETROVIRUS-W (HERV-W) In THE ETIOPATHOGENESIS OF MULTIPLE SCLEROSIS DISEASE

Zekeriya TAŞKIN

Konya-2023

Multiple sclerosis (MS) is a neurodegenerative disease of the central nervous system. It develops at an early age and often causes sequelae. The etiological cause of the disease has not been fully elucidated and there is no effective treatment yet. Our research aimed to reveal the relationship between the expression of human endogenous retroviruses and the pathogenesis of multiple sclerosis.

In our study, we aimed to determine the Human Endogenous Retrovirus-W (HERV-W) env gene expression level and to determine the expression level of TRIM5 and BST2 host genes, which have the potential to limit/regulate HERV-W env gene expression.

This study was conducted in Necmettin Erbakan University (Konya, Turkey) Medical Faculty Hospital Neurology Department with 50 follow-up patients diagnosed with Relapsing-Remitting (RRMS) according to McDonald (2017) diagnostic criteria, neurodegenerative disease excluded, and 50 volunteer controls who were similar in terms of age and gender. We included 100 people. The mean age of 50 patients diagnosed with RRMS is 33.1. The mean age of onset of the diseases in this study group was 25.64, and the mean age of diagnosis of the patients was 27.1. Whole blood samples with a volume of at least 2 ml, from healthy blood donors and patients whose routine diagnosis, follow-up and treatment procedures were carried out in the neurology clinic, were used. The expression level of genes was obtained for each sample by Real Time PCR, and was determined by fold-change analysis using CT values and reference gene CT values.

No significant difference was found between the study groups for the HERV-W expression. The fact that HERV-W gene expression levels can be affected by highly dynamic and sophisticated interactions led to the conclusion that it would be healthier to make the measurements we performed in our research with more than one time measurement and a process analysis.

On the other hand, we found that the expression of the BST-2 gene increased approximately 3.5 times compared to the control group. However, no significant difference was found between the healthy subjects and the patient group in terms of expression of TRIM5 α protein. A significant relationship could not be established between TRIM5 gene expression levels and the disease and its course. High levels of BST-2 gene expression were evaluated as a result of the effect of innate immune response on MS disease.

Keywords: : BST2, HERV-W, Multiple sclerosis (MS), TRIM5

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Skleroz (MS), Santral Sinir Sistemi (SSS) lezyonlarının nörolojik defektler nedeniyle ciddi fiziksel ve kognitif engelliliğe yol açabilen, kronik, inflamatuvar bir hastalıktır (Ghasemi ve ark., 2017). MS, beyin ve omurilikteki sinir liflerinin miyelin kılıfında inflamasyon lokuslarının oluşumu ve hasarı ile karakterize kronik, heterojen, bağışıklıkla ilişkili bazı kalıcı sakatlığa yol açabilir (Wallin ve ark., 2019). Hastalık genel olarak 20-40 yaş arasında başlar ve genç yetişkinlerde travmatik olmayan özür lülüğün önde gelen nedenleri arasındadır (Karussis, 2014; Mark J. Tullman, 2013). Kadınların hastalıktan etkilenme oranı, erkeklerden iki kat daha fazladır (Wetzels ve ark., 2017). Dünya genelinde MS hastalığının 2 milyondan fazla insanı etkilemiş olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye’de sıklığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 40/100000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Kingwell ve ark., 2013). Multipl Sklerozun etiyolojisi tam olarak açıklanamamaktadır. Sigara, D vitamini eksikliği, az güneş ışığına maruziyet ve bazı çevresel faktörler üzerinde durulmuştur. Çeşitli nörodejeneratif hastalıklar (MS, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), Alzheimer Hastalığı) ile viral etkenlerin ilişkisini ortaya koyan çalışmaların sayısında son yıllarda belirgin bir artış söz konusudur. Bunların arasında, endojen retrovirüsler ile MS etiyopatogenezi arasında ilişki olabileceği yönünde ipuçları içeren bazı ilgi çekici raporlar sunulmuştur (Küry ve ark., 2018; Mameli ve ark., 2009). Araştırmamız bu ipuçlarından yola çıkarak MS ile HERV-W (Human Endojen Retrovirus) arasındaki ilişkiye yönelik somut veriler elde etmeyi amaçlamaktadır.

Son yıllarda, MS insidansı dünya çapında artmıştır. MS etiyolojisine yönelik, hastalığın çok faktörlü doğasının bir sonucu olarak kabul gören çok sayıda hipotez geliştirilmiştir. Cinsiyet (sıklıkla kadınlarda) ve yaş (genç yaşta en yaygın) hastalıkla ilişkili başlıca risk faktörleri olarak görülmektedir (Houzen ve ark., 2012). Çeşitli endojen ve eksojen başka risk faktörleri üzerinde de durulmaktadır. Endojen retrovirüsler sağlıklı insanlarda (hamilelik döneminde) özellikle embriyonal gelişim üzerindeki etkileri nedeniyle her geçen gün artan bir ilgi söz konusudur. (Huang ve ark., 2013). Bazı patolojik durumların tetikçisi olarak bazı hastalıkların oluşumu ve seyirinde bu virüslerin etkisine yönelik çalışmaların da sıklığı artmıştır (Fischer ve ark., 2014).

MS hastalarının yer aldığı bir araştırmada; HERV-W *env* gen ekspresyonu, tüm hastaların beyin dokusunda gözlemlenirken, erken aktif demiyelinizasyon ve geç hastalık progresyonu sırasında ekspresyonun da devam ettiği bulunmuştur (Van Horssen ve ark., 2016a). Diğer taraftan bu verileri destekler nitelikte; HERV-W *env* proteinin, çeşitli MS formlarına sahip hastaların serumlarında, infiltrate makrofajların, perivasküler infiltratlarda ve aktive mikrogliyal hücrelerinde bulunduğu raporlanmıştır (H. Perron ve ark., 2012). Kremer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, HERV-W *env* proteini mikrogliyal fagositozun inhibe ettiği için nöronal remiyelinasyonu önleyen miyelin derbisinin birikmesine yol açtığını ifade etmişlerdir (Kremer ve ark., 2019). Aynı çalışmada, nöroprotektif moleküllerin mikrogliyal hücrelerin HERV-W *env* ekspresyonunu azalttığı ifade edilmiştir. Hastalığın aktif ve stabil relapsing-remitting formunu gösteren hastaların B hücrelerinin ve monositlerinin yüzeyinde HERV-W *env* epitoplarının keşfedilmesi bir diğer ilginç noktadır (Brudek ve ark., 2009). HERV-W *env* proteininin MS'li hastaların beyin dokularında, serum ve beyin omurilik sıvısında (Arru ve ark., 2007) bulunması, hastalığın patogenezi açısından dikkat çekici bir hedef noktası olarak belirlenebileceğini göstermektedir.

HERV'ler insan genomunda bir provirüs olarak bulunur. Dikey gen transferi ile kalıtsal olarak aktarılırlar (Boeke & Stoye, 1997). İnsan genomuna ilk entegrasyon anından itibaren, endojen retrovirüsler birçok mutasyon biriktirmişlerdir. Bunun bir sonucu olarak neredeyse tüm retroviral eklerin tam virüs replikasyonu için gerekli olan açık okuma çerçeveleri (ORF) yoktur, ancak kısmi gen ürünlerinin sentezi söz konusudur (Griffiths, 2001; Nelson, Carnegie, Martin, Ejtehadı, ve ark., 2003; Vargiu ve ark., 2016). HERV-W *env* proteini, TLR-4 reseptörü ile etkileşime girerek doğuştan gelen bağışık yanıtı aktive edebilir (Viret ve ark., 2006). Bu süreç, nitrozatif stresin aktivasyonuna katkıda bulunarak oligodendrositlerin farklılaşmasının ve nöronların remiyelinasyonunun bozulmalarına yol açabilir (Kremer ve ark., 2013). Öte yandan, TRIM5 (Tripartite Motif Containing 5 (human)) ve BST2 (Bone Marrow Stromal Cell Surface Gene (human)) gibi intrinsik kısıtlama faktörlerinin bazı retrovirüs genleri üzerinde baskılayıcı etki gösteriyor olmasının keşfi, bu virüslerin konak hücre ile olan etkileşimleri üzerine yeni perspektifler kazandırmıştır (Bortlik ve ark., 2021). Yeni hipotezler viral ve konak gen etkileşimlerinin nihai sonuçları üzerine odaklanmaktadır. Araştırmamızın odak noktası da burasıdır. Hipotezimizde yer alan

HERV-W *env* gen ve bu gen ile ilişkili konak genlerinin etkileşimi üzerinde elde edeceğimiz bulguların önemli bir çıktı olabileceğini düşünüyoruz. Bu durumun özellikle oligodendrositlerin normal fonksiyonları üzerinde oluşabilecek olumsuz etki ve demiyelinizasyon mekanizmasının; hastalığın etyolojisi, patogenezi, prognozu ve tedavi seçenekleri açısından anahtar nokta olabileceği kanaatindeyiz. İnsan endojen retrovirüslerinin belirli otoimmün patolojilere katkıda bulunabileceği bilgisi henüz keşfedilmemiş çeşitli moleküler mekanizmaların varlığını düşündürmektedir. Bu muhtemel mekanizmaların araştırılması, otoimmün hastalıkların moleküler temeline ilişkin anlayışımızı geliştirebilir ve yeni tedavi yöntemlerine yön verebilir.

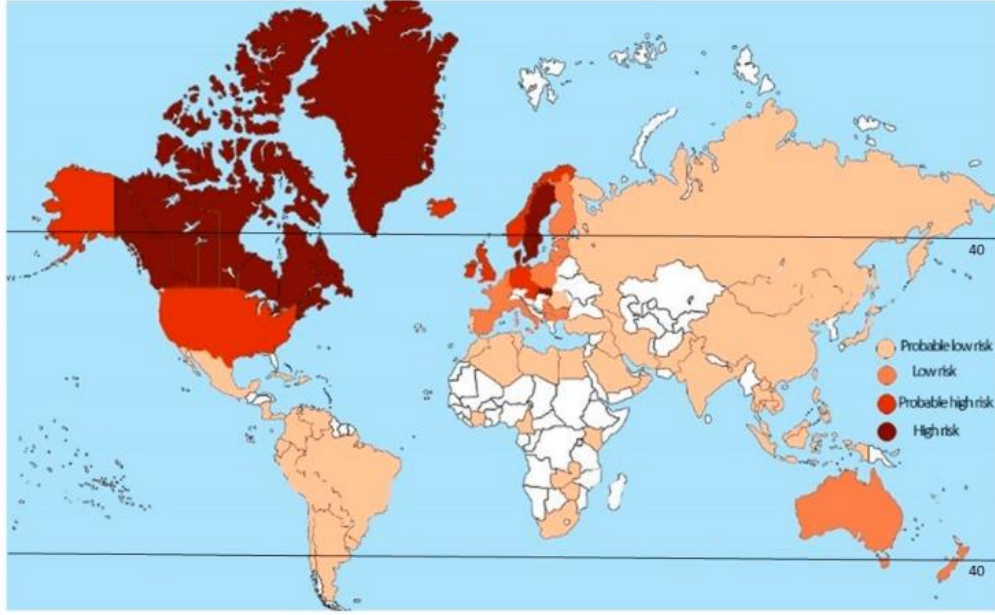
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multipl skleroz (MS Hastalığı)

İlk olarak 1868 yılında Jean-Martin Charcot tarafından tanımlanan MS çoklu etyolojik etkileşimlerin bir sonucu olarak gelişen merkezi sinir sisteminin inflamatuvar hastalığıdır. Miyelin kılıfların, oligodendrositlerin ve daha az oranda akson, sinir hücresinin hasarlanması ile kalıcı sakatlığa yol açabilmektedir. MS çok faktörlü, santral sinir sisteminde spinal korddan optik sinire kadar tüm parankimal sahayı etkilediğinden çok farklı semptomlar görülebilir. Etiyolojisi belirsizliğini hâlâ korusa da genetik ve çevresel faktörlerin beraber rol aldığı, kronik inflamatuvar demiyelinizan nörodejeneratif otoimmün bir hastalık olduğu kabul edilmektedir (Kaya 2020).

Klinik hastalık % 30 oranında 20-40 yaş arası dönemde ortaya çıkmaktadır. Hastalık belirtilerinin on beş yaş öncesi ve elli yaş sonrası görülmesi ender bir durumdur. MS, coğrafik farklılık sergileyen bir hastalıktır. Dünyanın her bölgesinde prevalansları farklıdır. MS için yüksek riskli bölgeler; Kuzey ve Orta Avrupa, Amerika'nın kuzeyi, Kanada, Avustralya'nın güneyi, Yeni Zelanda ve İsrail'dir. Düşük riskli bölgeler ise; Afrika ve Asya'nın geri kalan kısımları ve Meksika'dır (Mirza M. 2001).

Türkiye'de MS prevalansı ile ilgili çalışma sayısı yetersizdir. İstanbul'un Maltepe ilçesinde ve Türkiye'nin Karadeniz kıyısındaki kırsal bir bölge olan Erbaa'da yapılan araştırmalara göre orta yüksek riskli MS prevalansı bildirilmiştir. Türkiye'nin Kuzey Karadeniz Bölgesi'nden veriler içeren başka bir araştırma raporunda, MS prevalansı beklenenin üstünde olarak değerlendirilmiştir (68.97/100.000)(Akdemir ve ark., 2017).



Şekil 2.1. Küresel MS gelişme riskleri. (Tarlinton ve ark., 2019)

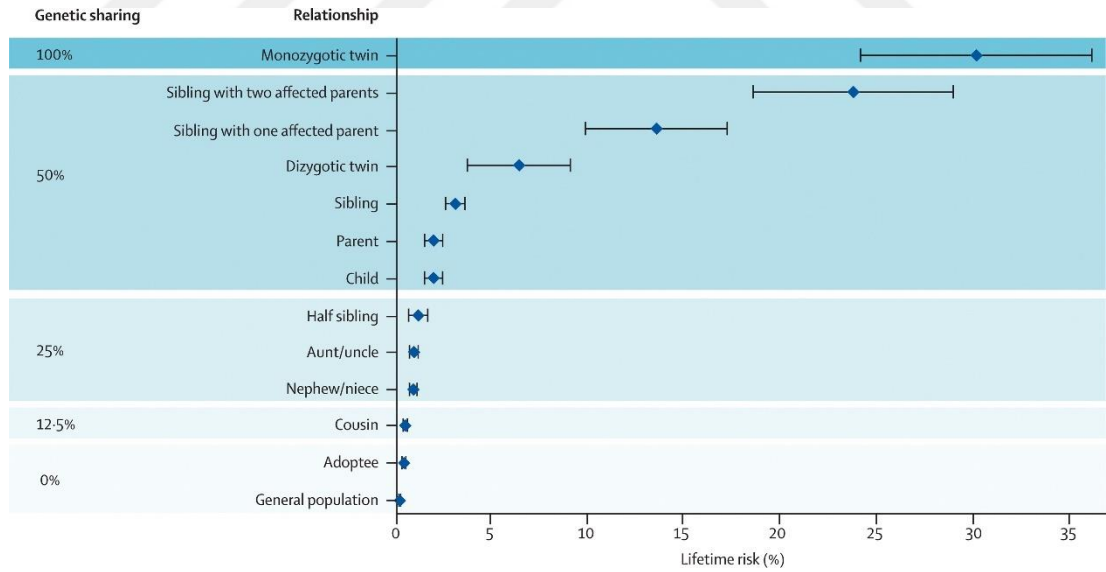
Çocukluk çağında geçirilen viral enfeksiyonların (kızamık, kabakulak, suçiçeği vb.) yetişkin döneme göre MS gelişimi açısından daha fazla rol oynadığı bazı araştırmalarda ortaya konmuştur (Casetta I, Granieri E 2000). Yetmişli yıllarda, MS'li hastaların beyin omurilik sıvısında (BOS) kızamıkçık, kızamık virüslerinin yüksek titrelerde kaydedilmesiyle MS için enfeksiyonların rolü tartışılmaya başlanmıştır (Adams JM 1975). Sonraki yıllarda yapılan pek çok çalışma bu hipotezi destekler nitelikte çeşitli veriler sunmuştur.

MS'li hastalarda, sağlıklı kontrol gruplarına ve diğer nörolojik hastalıkları olanlara göre Herpes simplex 2 ve EBV karşı daha yüksek titrelerde antikorlar bulunduğu başka çalışmalar ile durum teyit edilmiştir (Ferrante P ve ark 1987). Bir İtalyan adası olan Sardunya, MS'in küresel yaygınlığının en yüksek olduğu bölgelerden biridir. Genetik faktörlerin etkisini açıklamayı amaçlayan geniş katımlı bir çalışma ile Sardunya'da yaşayanların genetik olarak, otoimmün hastalıklara daha yatkın olduğu sonucu çıkarılmıştır (Frau J ve ark 2021).

MS ile bazı enfeksiyonlar arasındaki güçlü ilişkiyi ortaya koyan araştırmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. MS gelişiminde enfeksiyonların rolünü gösteren en güçlü kanıt, Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ortaya konmuştur. MS'in gelişme riski, çocuklukta EBV enfeksiyonu öyküsü olan kişilerde yaklaşık 15

kat, ergenlik döneminde veya daha sonra EBV ile enfekte olanlardan yaklaşık 30 kat daha yüksektir (Ascherio ve ark., 2010). Sardunyalı MS'li hastalarla yapılan çalışmada geçmişte EBV ile enfekte olmuş kişilerin anti-EBV antikörlerinin varlığı yıllar sonra MS gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Avrupa'da yapılan çok merkezli bir çalışmada, Sardunyalı MS'li hastaların normal bireylere göre yüksek HERV ekspresyonu varlığının, Sardunyalı MS'li popülasyonu arasında, hastaların %59 ila %100'ü arasında farklılık göstermiştir (Frau J ve ark 2021).

Multipl Skleroz, yaklaşık %20'lik bir ailesel nüks oranına sahiptir. Genel olarak, riskteki azalma birinci derece akrabalarda (kardeşler %5, ebeveynler %2 ve çocuklar %2) %3'ten, ikinci derece ve üçüncü derece akrabalarda %1'e kadar değişir. Kanada ve İngiltere'de ikizlerde yapılan çalışmalarda monozigotiklerde, dizigotik çiftlere göre daha yüksek oranlarda MS varlığını göstermektedir (Compston & Coles, 2008). MS yatkınlığının Mendel genetiği tarzında olmamasına rağmen, homozigotik ikizlerde %26'lık (dizigotik ikizlerde %3) uyum oranları tipik olarak görülüp, bu da önemli bir uyumsuzluğu (~%70) düşündürür (Brudek ve ark., 2004).



Şekil 2.2. Ailelerde multipl skleroz için tekrarlama riskleri (Compston & Coles, 2008)

MS hastalığının ortaya çıkmasında genetik faktörlerin tek başına yeterli olmadığı, özellikle yaşamın ilk on yılında bireyleri etkileyen birçok çevresel faktörün etkin rol oynadığı düşünülmektedir. Az güneş ışığı almaya bağlı düşük D vitamini seviyeleri, sigara içimi ve hayvansal/doymuş yağlar açısından beslenmenin MS gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Ascherio A, Munger KL 2007).

Genetik yatkınlığın yanı sıra MS patogenezi tetikleyebilen çevresel faktörler arasında viral enfeksiyonlar önemlidir. Kene kaynaklı Ensefalit virüsü (TBE), Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1), Herpes Simpleks Virüsü TİP -1 (HSV-1), Varisella zoster virüs (VZV), HHV-6 (İnsan Herpes Virüs 6) ve özellikle EBV (Epstein-Barr virüsü) 'de etkilidir.

Bu virüslere ek olarak, bizim de ilgilendimiz ve çalışmamızda mihenk taşı olan İnsan Endojen Retrovirüsünün (HERV) ekspresyonu, MS gelişimi ve hastalığın ilerlemesi için bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir (Morandi ve ark., 2017).

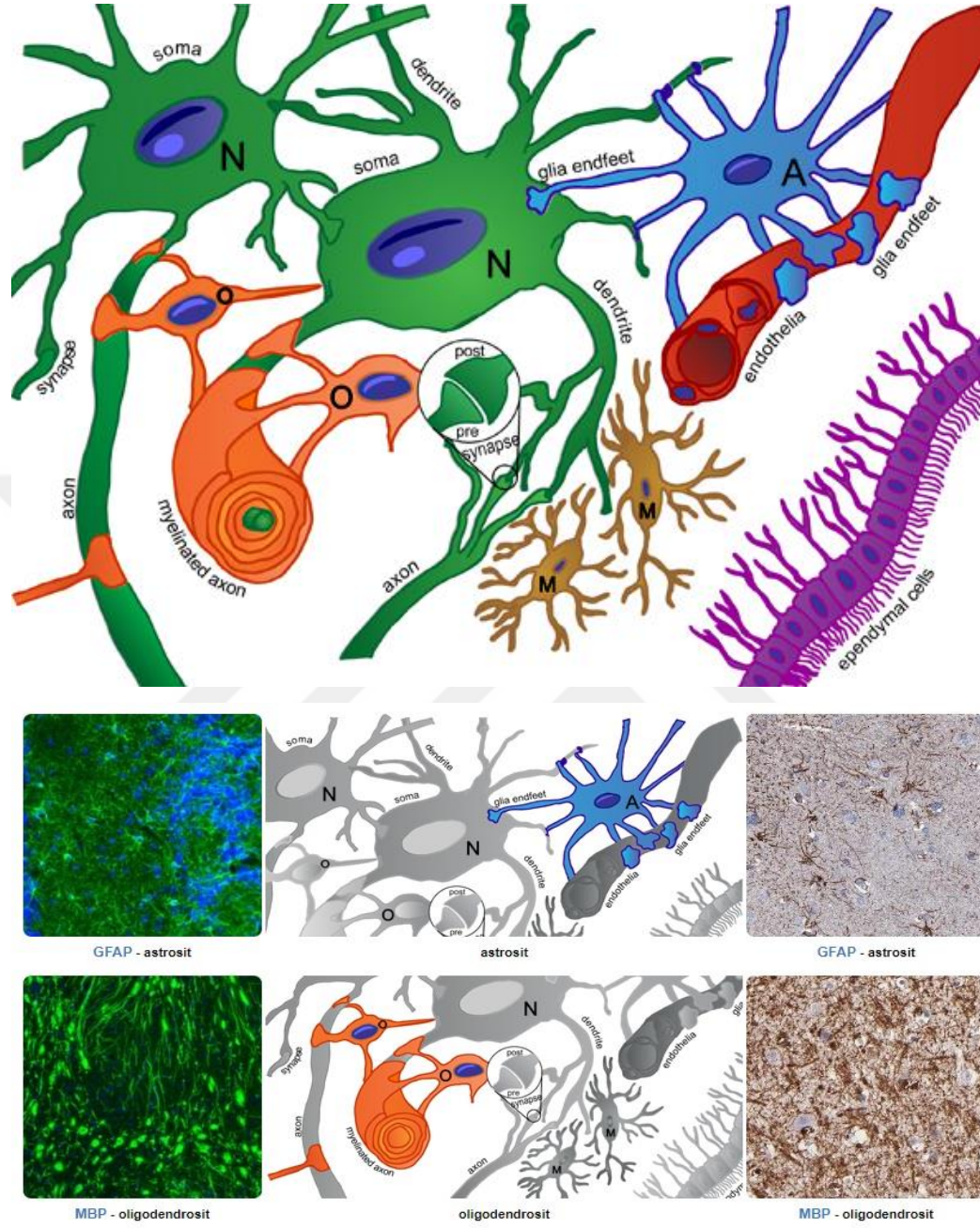
HERV-W etkisi, MS patogenezi epigenetik düzenlemede kromozomlarda azaltılmış metilasyon görülür. Kromozomların paketlenmesi sırasında azaltılmış metilasyon işleminin sonucu olarak artan inflamasyon, azalan miyelinsasyon ile demiyelinizasyon oluşmaması önerilen etki mekanizması birisi olarak düşünülmektedir (Kremer ve ark. 2013; Perron ve Lang, 2010). MS hastalığının etyopatogenezi tam olarak açıklanmamıştır. HERV için patogenezi, prognozda ve tedavi yanıtının tahmininde bir rolü olduğu önerilmiştir (Frau J ve ark 2021).

2.1.1. MS hastalığının kliniği

Santral sinir sistemi (SSS)'nin bir hastalığı olduğu için birçok semptom aynı anda görülür. Bunlar başlıca yorgunluk, depresyon, kognitif bozukluklar, duyuşal, motor, görsel, serebellar, cinsellik, sindirim, baş ağrısı, uyku, sekel ve konuşma bozukluğudur (Boz C.2020).

İnsan beyni, farklı hücre tiplerini ve bunların alt sınıflarını içerir. Sinir hücresi olan nöronlar, birbirleriyle sinapslar aracılığıyla iletişim kuran ana sinyal birimleridir. Nöronların iki ana alt sınıfı, inter nöronlar (nöronlar arasındaki yerel bağlantılar) ve projeksiyon nöronlardır. Nöronal olmayan hücreler arasında, damarları kaplayan endotelial hücreler, ventriküler duvarları kaplayan ependimal hücreler ve glial hücreler bulunur. Glial hücreler, kan beyin bariyeri, homeostaza, nöronal büyüme ve nörotransmitter geri dönüşümü gibi sayısız işlevde görev alırlar. Glial hücreler, oligodendrositler (daha hızlı sinyal iletimi için nöronal aksonları yalıtkanlığını sağlar), mikrogliya (hematopoietik kaynaklı beyin makrofajı) ve

astrozitlerdir.



Şekil 2.3. Farklı tipte nörolojik hücre sınıfları (ependimal hücreler, mor ve endotelial hücreler, kırmızı), alt popülasyonlar (A=astrozitler, mavi; M=mikroglia, kahverengi; N=nöron, yeşil; O=oligodendroditler, turuncu), ve (akson, dendrit, sinaps ve glia endfelt).(The Human Brain - Cell Types - The Human Protein Atlas, 2010.)

Miyelin, nöroglial hücreler tarafından nöronlar ve aksonlar etrafında oluşturulan çok katmanlı kılıftır. Miyelinin oluşması karmaşık bir süreçtir. Miyelin oluşması kendine özgü proteinlerin ekspresyonları oluşur. Miyelin oluşmasında birkaç küçük glikoprotein bulunur. Bunlar başlıcaları miyelin bazik protein (MBP),

miyelinle ilişkili glikoprotein, proteolipid protein ve miyelin kılıfında bulunan Miyelin Oligodendrosit Glikoproteini (MOG) dahil olmak üzere küçük glikoproteinler görev alır (Dubois-Dalcq ve ark., 1986; Peschl ve ark., 2017). MOG nin işlevi büyük ölçüde bilinmemekle birlikte, bu proteinin bir yapışma molekülü veya hücresele reseptör olarak hizmet ettiğine inanılmaktadır (Dubois-Dalcq ve ark., 1986; Peschl ve ark., 2017).

MS hastalığında miyelin yapısının bozulması söz konusudur (Dubois-Dalcq & Armstrong, 1990). Oligodendrositler, aksonları sararak ve koruyarak elektriğin etkili bir şekilde iletilmesini sağlayan miyelinin oluşumunda rol oynayan hücrelerdir. Oligodendrositler, iskemi, toksisite, travmatik yaralanma, inflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen türleri ve sitotoksik proteazlar gibi etkenler tarafından tetiklenirler. Oligodendrositler inflamatuvar hasarlanmaya karşı oldukça hassastır (Go ve ark., 2021). Hasarlı miyelin demiyelinizasyona yol açarken, demiyelinize aksonlar, inflamatuvar hasarlanma süreç ile daha da fazla hasar görmektedir. Mitokondriyal disfonksiyonu ve iyon kanalı disfonksiyonu sonucu oluşabilecek aşırı uyarıcı nörotransmitter salınımı birçok nörodejeneratif hastalık ortaya çıkar. Nörodejeneratif hastalıklar motor ve bilişsel bozulmayı beraberinde getiren demiyelinizasyonun bir sonucudur (Nasrabadı ve ark., 2018).

Motor liflerde oluşacak demiyelinizasyonun direkt sonucu olarak yanma, karıncalanma ve uyuşma gibi primer semptomlar ortaya çıkar. Bu primer semptomların ardından hareketsizlik, güçsüzlük ve osteoporoz gibi MS hastalığının sekonder bulgu ve semptomları gelişir. Hastalıkla ilgili yakınmaların zamanla yaşam kalitesi ve birey psikolojisindeki etkileri nedeniyle depresyon, öfke gibi duygu durum değişiklikleri, evlilik ve sosyal hayatıyla ilgili problemler tersiyer semptomlar olarak ortaya çıkar (Thompson AJ ve ark. 2018).

Jean Martin Charcot, klinik ve anatomik bulgular arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır. Charcot klinik gözlemler yoluyla, hastanın belirtileri ve semptomları ile ilgili, kapsamlı veriler topladı ve ardından bunları patolojik değerlendirme ile ilişkilendirdi (Kumar DR. 2011).

Charcot 1868 yılında, ilk kez bir hastaya MS tanısı kondu. MS' in

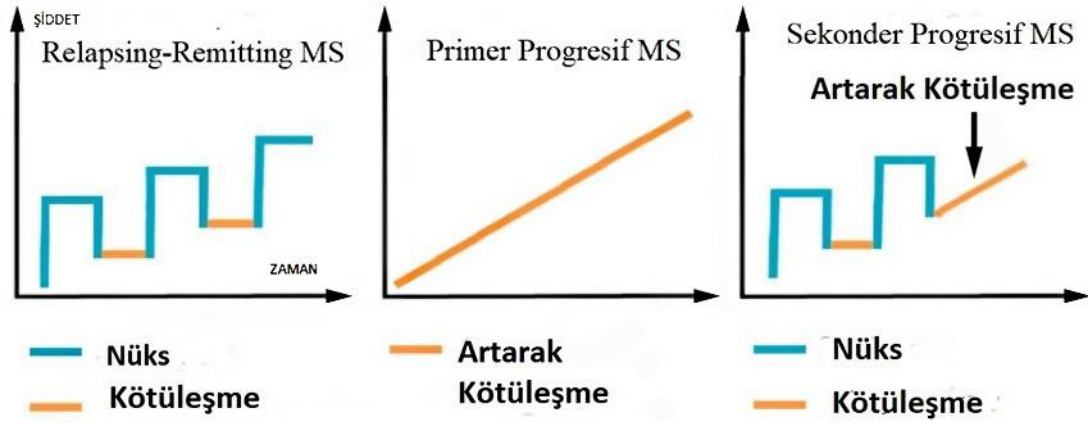
histopatolojik özellikleriyle ilgili tespitleri ve klinikopatolojik tanımlaması bugün içinde altın standart olarak kabul edilir. MS tanısı için 1950'lerden bu yana çok farklı klinik tanı kriterleri oluşturulmuştur. Bunlar sırasıyla en bilindik olanları Schumacher-1965, Poser-1985 ve Mc Donald 2001,2005,2010, son 2017 kriterleridir. MS tanısı öyküye ve muayeneye dayanan klinik bir tanıdır. Görüntüleme/MR, biyokimyasal analizler, Uyarılmış Potansiyel Testler (VEP), BOS'ta Oligoklonal Band ve IgG indeksi gibi analizler çoklu tanısal araçlar olarak değerlendirilirler. (Boz C.2020).

2.1.1. MS Hastalığının Klinik Formları

MS hastalığının klinik belirtileri hafiften şiddetliye doğru ilerleyen değişiklikler gösterir. MS'in değerlendirmesi, hastalığın evresi, özür seviyesinin takibi ve tedavi etkilerinin izlenmesi yönünden gelişimi ölçmek için pek çok ölçek vardır. Bu ölçeklere göre bazı klinik seyirleri belirlenmiştir.

Tablo 2.1 MS hastalığının Klinik Seyirleri (Klineova S, Lublin FD 2018)

Primer Progresif MS (PPMS);	Sekonder Progresif MS (SPMS);	Relapsing-Remitting MS (RRMS);	Progresif Relaps MS (PRMS);
Herhangi bir belirgin relaps veya remisyonlar olmaksızın semptomların başlangıcından itibaren nörolojik fonksiyonun sürekli kötüleşmesidir	Başlangıçta tekrarlayan bir remisyon seyrini takiben hastalık, relapslarla veya relapslar olmaksızın daha istikrarlı bir şekilde ilerleyici hale gelir.	Nörolojik fonksiyonun atak, tamamen veya kısmen iyileşmesi ile belirgin bir ilerlemenin olmadığı dönemlere denir. RRMS'nin yaklaşık yüzde ellisi 15 yıl ile 20 yıl sonrası SPSS'e olarak devam eder.	PPMS'nin giderek artan kötüleşme ile seyrederken ancak dönem içinde küçük dalgalanmalar gözlemlenebilir. Bu hastalarda progresyona aşikar ataklar eklenebilir bu duruma da Progresif relaps MS (PRMS) denir. PPMS ve PRMS prognozu aynıdır.



Şekil 2.4. MS Hastalığının Klinik Formlarına göre şiddet zaman grafiği

MS'in değerlendirmesinde ilk geliştirilen ölçek "Expanded Disability Status Scale (EDSS)" dir, daha sonra başka ölçekler de ortaya çıkmıştır. Bu ölçeklerden en yaygın EDSS ve "Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC)" kullanılmaktadır. Son yıllarda MSFC'nin EDSS'ye göre daha hassas olduğu rapor edilmiştir. EDSS kolay uygulanabilen bir ölçek olması nedeniyle yaygın kullanım alanı bulmuştur. Yeni geliştirilen ölçeklerin validasyon çalışmalarında EDSS hala altın standart olarak kullanılmaktadır (Kadriye Balcı Tombak, 2010).

2.1.2. MS Hastalığının Tedavisi

Hastalığı tamamen iyileştiren bir tedavi henüz yoktur. Günümüzdeki tedavi yaklaşımları; atağın kalıcı olmasını önleyen, belirtilerini hafifletmesini veya atak sıklığının azaltılmasına yönelik immunomodülatuar stratejileri içermektedir. Interferon beta (IFN- β), 1993'ten günümüze kadar RRMS tedavisinde temel dayanak noktası olmuştur. MS için mevcut tedavilerin çoğu lenfopeninin indüklenmesi veya TH2 güdümlü bir fenotipe geçiş yoluyla üreten immünomodülatör tedavilerin varyantlarıdır (Fox ve ark., 2019). Immünomodülatör tedavilerin çoğu kanser tedavisinde kullanılmaktadır ve yaygın yan etkileri arasında fırsatçı enfeksiyon artışı veya gizli enfeksiyonların tekrarlanması yer almaktadır. İlginç bir şekilde, MS'de başarılı sonuç alınan ilk ilaç, aynı zamanda virüsle enfekte fibroblastlar tarafından üretilen başlıca antiviral sitokinlerden biri olan IFN β 'dir (Ivashkiv & Donlin, 2014). İnflamatuar bir bozukluğu tedavi etmek için bir antiviral sitokin mantık dışı kullanımı gibi görülebilir. IFN β tarafından indüklenen bir çok yolak ile T hücre fonksiyonlarının hedefleyerek mümkün olmaktadır (Fox ve ark., 2019).

IFN- β , haftada bir veya birkaç kez intramüsküler veya subkutan enjeksiyonlar halinde uygulanır. Sonraki yıllarda Glatiramer Asetat, Dimetil Fumarate ve Teriflunomid gibi ilaçlar birinci basamakta tedavilerde, Fingolimod ve Natalizumab ikinci basamak tedavilerinde kullanılan ilaçlar arasına girmiştir (Sorensen PS.2014).

MS için yeni tedavi yaklaşımları, lenfosit yüzey antijenlerine karşı hümanize monoklonal antikoları içermektedir (Wootla ve ark., 2016). Ocrelizumab ve Rituksimab, B hücre yüzey proteini CD20'yi hedefleyerek bu lenfosit popülasyonunun seçici olarak tükenmesine neden olur. Bu monoklonal antikolar özellikle hastalığın belirtilerinin azaltılmasında etkili bulunmuşlardır (Tarlinton ve ark., 2020). Progresif Relaps MS (PRMS) tedavisinde kullanımı onaylı Ocrelizumab'ın MS bağlı sakatlık riskini % 24 azalttığı bildirilmiştir. Mart 2019'da FDA tarafından onaylanan Spinimodun'un ise SMPS'nin tedavisinde sakatlık riskini % 21 azalttığı bildirilmiştir.

Sigara kullanımı, kiloya bağlı olumsuzluklar, fiziksel aktivite kısıtlılığı ve ko-morbid durumlar hastalığın seyrini etkileyen önemli faktörlerdir. Bu durumlarla ilgili düzenleyici ve önleyici tedbirlerin alınması tedavinin bir parçası olarak değerlendirilmektedir (Yücesan C 2020).

2.2. İnsan Endojen Retrovirusleri (HERV)

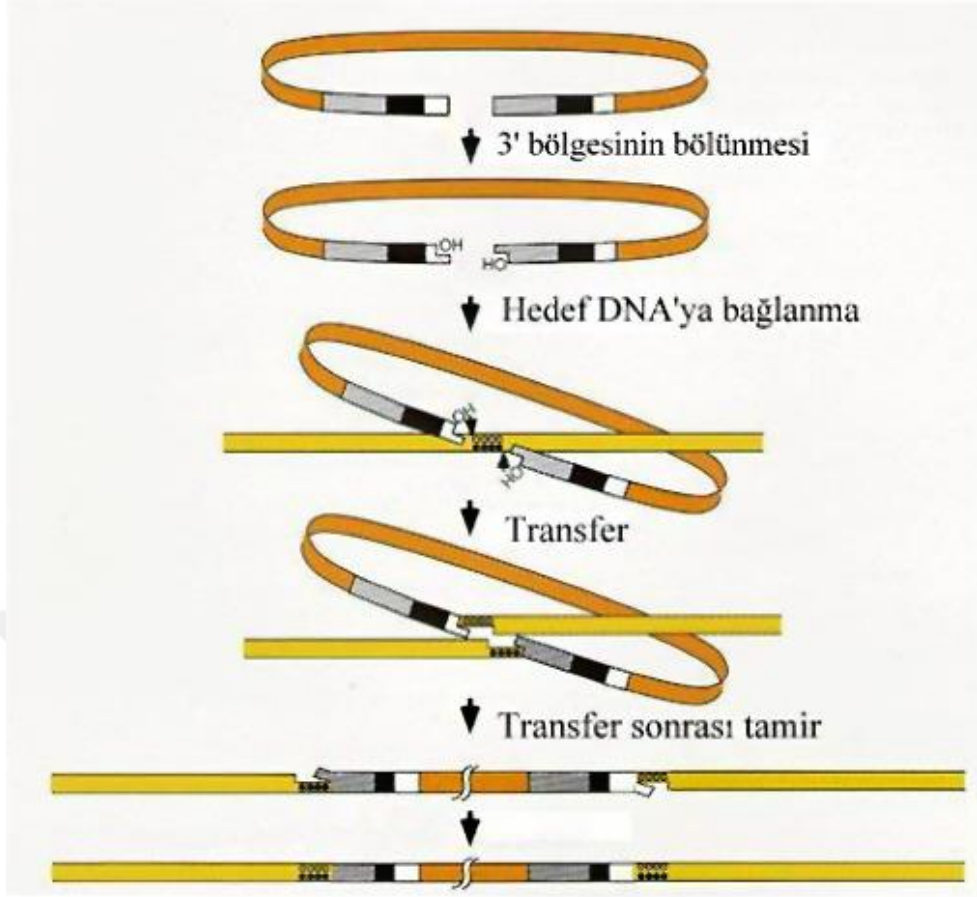
2.2.1. Tanımı

İnsan Endojen Retrovirüsleri (HERV) terimi, insanda ERV gen dizilerini ifade eder. HERV'ler retroviral genomların yapısal özelliklerini taşırlar ve korurlar (Küry ve ark., 2018). ERVW-1 diğer isimleri ENV, ENVW, ERVWE1, HERV-7q, HERV-W-ENV, HERV7Q, HERVW, HERVWENV, HERV-W olarak bilinir. HERV-W env proteinleri birbirinden güvenle ayırt edilip edilemeyeceği konusunda bazı tartışmalar vardır. Bu viral proteinlerin insan sağlığı üzerinde önemli bir etkisi olduğu öne sürülmüştür (Mameli ve ark., 2007).

İnsan Endojen Virusleri germ hattı DNA'sında sabitlenen atalardan kalma retroviral enfeksiyonların kalıntılarını temsil eder. HERV'ler, insan gen kütüphanesinden viral primer bağlanma bölgelerini oligonükleotid homolojisiyle

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kullanarak keşfedilmiştir. İnsan gen lokuslarının analizleri sırasında uzun doğrudan tekrarlarla çevrili (Long terminal repeat) LTR'leri ve iç kodlama bölgelerini çevreleyen primer bağlama bölgelerini içeren provirüs benzeri yapıları sebebiyle retrovirüsler olarak tanımlandı (Antony ve ark., 2011).

Retrovirüsler, RNA'dan DNA'ya geçişi katalize eden Ters Transkriptaz (RT) adlı bir enzimi kodlayan, ortalama 7-10 kb büyüklüğünde pozitif RNA zinciri içeren virüslerdir (Dolei A, Perron H.2009). Retrovirüsler basit ve kompleks olarak iki gruba ayrılırlar. Her iki grubun genom yapısında ortak üç gen bölgesi (*gag*, *pol*, *env*) ve üç okuma çevresi vardır. Kompleks retrovirüslerde ise karmaşık gen düzenlemeleri ve virüs-konak etkileşimlerinde kritik rol oynayan aksesuar genler (Multiple Accessory) vardır. Örneğin; Human T-cell Lymphotropic Virus (HTLV) *tax* ve *rex*; HIV (Human Immunodeficiency Virus) ise *vif*, *tat*, *rev*, *nef* ve *vpu* aksesuar genlerine sahiptir (Coffin ve diğ., 1999). Basit şekildeki retrovirüsler hücre bölünmesi (mitoz) sırasında hücre çekirdeğinin parçalanmasından sonra genoma bağlanabilir. Kompleks retrovirüsler mitoz gereksinim duymadan sahip olduğu "multiple accessory" (yardımcı protein grubu) proteinleri kullanarak nukleus zarının parçalanmasını beklemeden genoma entegre olabilirler (Gözükirmizi N. ve Ark. 2012).



Şekil 2.5. Retrovirüsün genoma entegrasyonu

İnsan endojen retrovirüsleri olarak insan genomuna dahil olduğunun bilinmesi ve HERV'lerin otoimmünite oluşumundaki olası rolü olduğu 1960'ların sonlarında 1970'lerin başında keşfedilmiştir. Mendel kalıtımı için tamamen yeni bir kavramı ortaya çıkarmış oldu. Bu keşif, virolojik ve immünolojik yöntemlerin mendel genetiği ile birleşmesiyle mümkün olmuştu. ERV'in varlığı daha sonraları nükleik asit hibridizasyonu ile de doğrulandı (Weiss, 2006).

HERV'ler milyonlarca yıl önce meydana gelen germ hattı hücrelerinin ekzojen retroviral enfeksiyonlarından türeyen ve insan genomunun yaklaşık %8,29'u temsil eder. Yakın zamana kadar HERV'lerin protein kodlama potansiyeline ilişkin fazla veri bulunmazken bu elementler "çöp DNA" olarak adlandırılıyordu. HERV'ler insan genomunun önemli bir bölümünü temsil ederken, büyük ölçüde deneysel reaktiflerin azlığı ve HERV'lerin "çöp DNA" olduğu yönündeki yaygın ve yanlış varsayım nedeniyle biyolojik etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir (Antony ve ark., 2011). Bazı HERV'lerin açık okuma çerçevelerine ve protein ekspresyonu

yapabilme potansiyeline sahip olduğu günümüzde bilinmektedir (Chen J, Foroozesh M, Qin Z. 2019).

Bazı endojen viral elementler hücrel genler olarak işlev görmektedir. Virüs kaynaklı genlerin, antiviral işlev kazandıkları birkaç türde keşfedilmiştir. Örneğin, farede bir retroviral gag geninden üretilen fare Fv1 geni, Murin Lösemi Virüsüne (MuLV) direnç sağlamaktadır (Nelson, Carnegie, Martin, Davari Ejtehadı, ve ark., 2003).

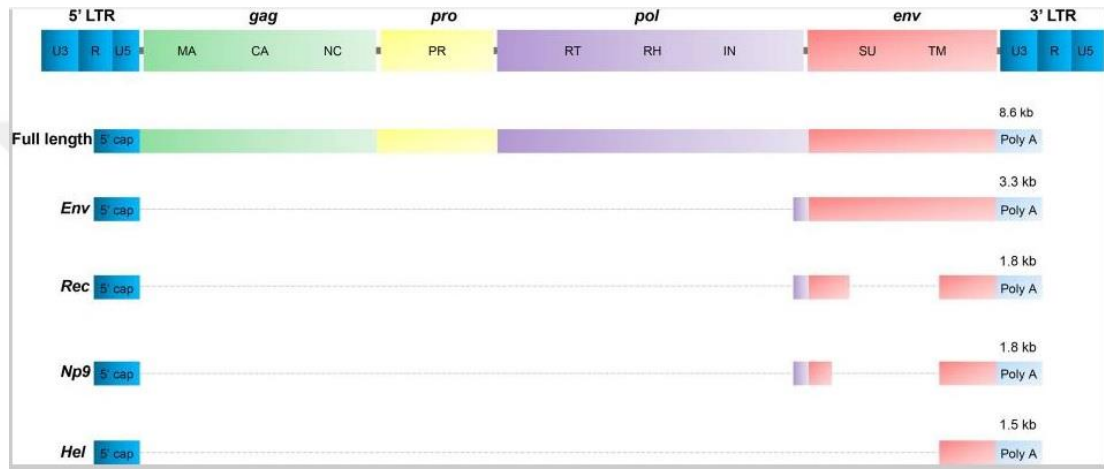
HERV'lerin kodladığı çeşitli proteinlerin insan sağlığı üzerinde etkili olabilecek çeşitli biyolojik süreçlere aracılık ettiği bilinmektedir. Bu yönleriyle bu orijinal provirüs dizilerinin, fonksiyonel ürünler üretmek için transaktive edilebilmesi fikri artan cazibeye sahiptir. Çoğu HERV işlevsel tam bir protein sentezleyemediği için kusurludur. HERV'ler büyük delesyonlar veya anlamsız mutasyonlar içerir. Mutasyonların birikmesi nedeniyle, çoğu genellikle çoğalamaz ve aktif değildir. Hâlâ açık okuma çerçevelerine (ORF) sahip olanları ise embriyonik gelişim, pluripotent hücre etkileşimleri, kanser, yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar ve otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Chen ve ark.2019).

2.2.2. Yapısı

İnsan endojen retrovirüsleri, insan genomunun hem gen hem de intergenik bölgelerine (IGR) yerleşirken, genellikle çoğu intergenik bölgelerde bulunurlar (van de Lagemaat ve ark., 2006). İntergenik bölgeler, kodlamayan DNA'nın bir alt kümesidir. Bazı intergenik DNA elementleri, yakındaki genleri kontrol etmek için hareket etmektedir. İntergenik DNA elementleri çoğunun şu anda bilinen bir işlevi yoktur (Bakel ve ark., 2010).

Spesifik lokuslara yönelik PCR kullanarak yapılan deneylerde intronik (intron) bölgelerdeki HERV-W elementlerinin intergenik bölgelerdeki elementlerden daha yüksek seviyelerde eksprese edildiği gösterilmiştir (Akan Karlsson at al. 2016). HERV'in transkripsiyonel aktivitesi üzerinde genomik bağların bir etkisi olduğu düşünülmektedir. HERV-W elementlerin yerleşim yeri ve diğer genlerle uyumunun onların gen ifadesini etkileyebileceğini söylenmiştir (F. Li ve ark., 2011).

HERV provirüs dizisi, iki uzun terminal tekrarları (LTR) arasına sıkıştırılmış *gag*, *pol*, *pro* ve *env* bölgelerinden oluşur. Gag, Matris (MA), Kapsid (CA) ve Nükleokapsidin (NC) yapısal bileşenlerini kodlar. Pol geninin ürünleri Ters Transkriptaz (RT), Integraz (IN) ve RNase H (RH)'dir. Pro, esas olarak enzim proteazını (PR) kodlarken, *Env* geni Env yüzeyi (SU) ve Transmembrane (TM) alt birimlerini kodlar. LTR'ler U5 bölgesi, U3 bölgesi ve tekrar dizilerinden (R) oluşur (Chen ve ark.2019).



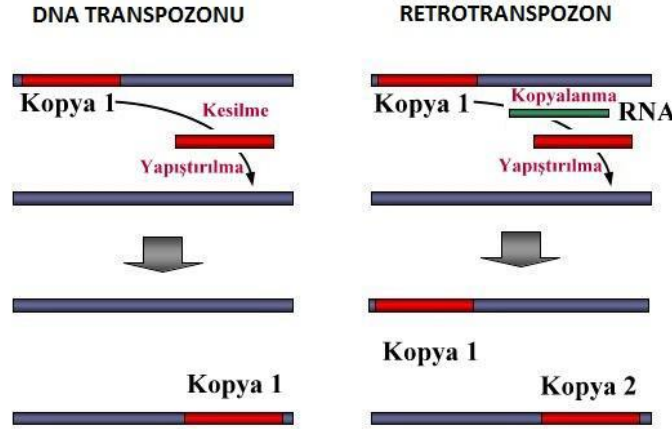
Şekil 2.6. HERV-W Gen Bölgeleri

LTR'ler, etkili promotörler, güçlendiriciler ve transkripsiyon faktörü bağlama bölgeleri gibi bir düzenleyici dizileri içerir. LTR, U3, R ve U5 bölgelerinden oluşur. 5'LTR'nin U3 bölgesi proviral promotör görevi görürken, 3'LTR'de bulunan R bölgesi bir poliadenilasyon sinyali olarak hizmet eder. LTR'ler, HERV-W üyelerinin transkripsiyonunun yönlendirilmesinde promotörler olarak hareket ederek dokuya özel ve oldukça çeşitlendirilmiş ekspresyon modellerine katkıda bulunur (Akan Karlsson at al. 2016).

ERV'ler, LTR'lerin sahip olup veya olmamasına göre iki gruba bölünür. LTR'lere sahip ve enfekte etmeyen elementler retrotranspozonlardır ve LTR'leri olmayanlara retropozonlar denir (Löwer ve ark., 1996).

İki tür transpozondan (Hareketli genetik elementler) birincisi DNA'yı ara ve kes-yapıştır mekanizması yoluyla transpoze edilebilen elementlere DNA

transpozonlar denir. RNA'nın kopyala-yapıştır mekanizması kullananlara retrotranspozonlar denir. Retrotranspozonlar endojen retrovirüsleri (ERV'ler) içerir (Küry ve ark., 2018).

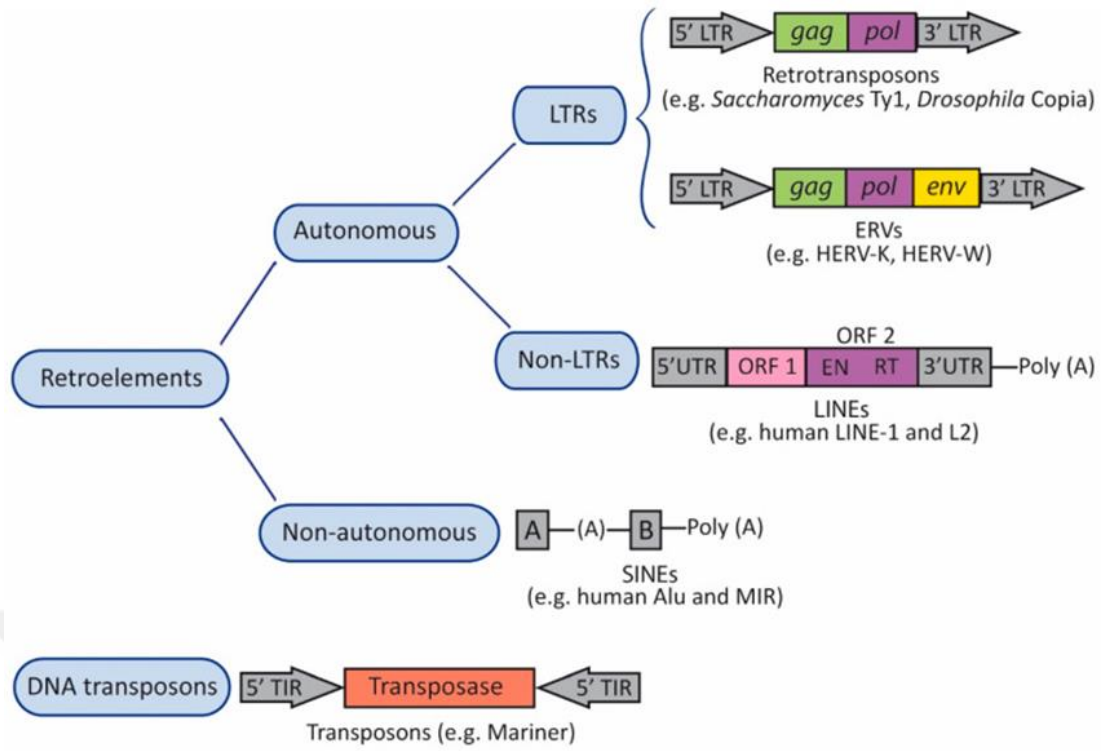


Şekil 2.7. Hareketli genetik elementlerin hareket mekanizması. A: DNA transpozonunun hareket mekanizması; B: Retrotranspozonun hareket mekanizması

ERV'lerin gen hareket mekanizmaları olduğunun göstergesi insan genomundaki polimorfizm olması ve her grup içinde bir veya daha fazla LTR dizisine sahiptir (Jern ve ark., 2005).

Çok az sayıdaki ERV'lerin gen hareketlerini retrotranspozisyon vasıtasıyla yapıldığı düşünülüyor. ERV'lerin genomlarında çok fazla LTR dizilerine sahip olmasına rağmen gen bölgeleri mutasyona uğradığı için hareket edemediklerinden diğer hücreleri enfekte edemezler (Griffiths, 2001).

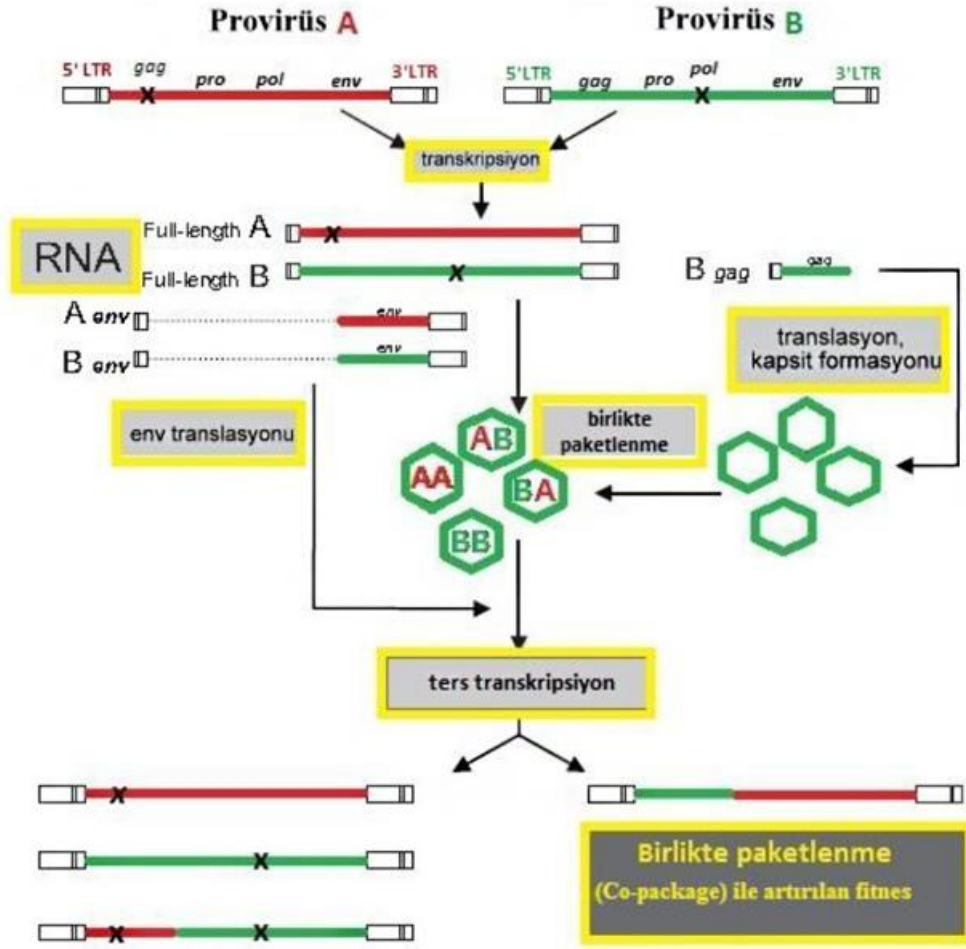
Transposable Elementleri (TE), Retrotranspozonlar ve DNA transpozonları olarak iki ana kategoriye ayırabiliriz. Otonom TE'ler, ters transkriptaz (RT) ve replikasyon ve transpozisyon için gerekli diğer proteinleri kodyabilirler. Otonom olmayan elementler bu proteinleri kodlamaz ve mobilizasyonları için başka TE'lere ihtiyaç duyar. Retrotranspozonlar, dahili kodlama gen bölgelerini çevreleyen LTR'lerin varlığı veya yokluğuna göre iki gruba ayrılabilir (Bello-Morales ve ark., 2021). Şekil 2.9'a bakınız.



Şekil 2.8. Transposable Elements (TE). (Bello-Morales ve ark., 2021)

HERV-W'nin transkripsiyonel aktivitelerinin çeşitli mekanizmalardan etkilendiği görülmektedir. Transkripsiyon faktörlerinin LTR promotörlerine ve LTR'lerin dışındaki güçlendiricilere bağlanabilir. DNA metilasyonunda genetik varyasyon ve histon modifikasyonu değişikliği, transkripsiyon faktörlerini etkiler. Bu değişiklikler HERV-W'nin kronik kompleks hastalıkların gelişiminde çevresel etki olma potansiyelini destekler (Akan Karlsson ve ark. 2016).

Bazı ERV'lerin mutasyona uğradıklarında sadece kapsülü yapan *gag* protein sentezler, bazı ERV'ler ise fonksiyonel proteinleri sadece *env* protein sentezler. Bu proteinler tek başlarına işlevsel olmadıklarından kusurlu kabul edilir. Bu iki farklı ERV'nin *gag* proteininin ile *env* proteinlerin RNA'larının birlikte paketlenmesi ile yeni retrovirus kombinasyonları oluşur. Bu mekanizma "ERV Break out" ya da "patch repair" olarak bilinir. Yeni oluşan ERV'ler aktif olarak hücreleri enfekte yeteneğine kavuşmuş olurlar. Sonuçta ERV'nin mutasyona uğrayan geni başka bir ERV'nin geni ile yer değişikliği yaparak aktif hale gelebilir (Jern ve ark., 2005).



Şekil 2.9. ERV'lerde patch repair gösterimi.(Jern ve ark., 2005).

DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları, HERV elementleride dahil olmak üzere insan genlerinin epigenetik kontrolü için gereklidir. Fonksiyonel transkripsiyon için ön koşul olan HERV dizilerinin fonksiyonel LTR tutmasını, açık okuma çerçevelerini (ORF) bozulması, silmelerin yapılması veya poliadenilasyon sinyali verilmesi başka bir promotör tarafından kontrol edilir (Küry ve ark., 2018).

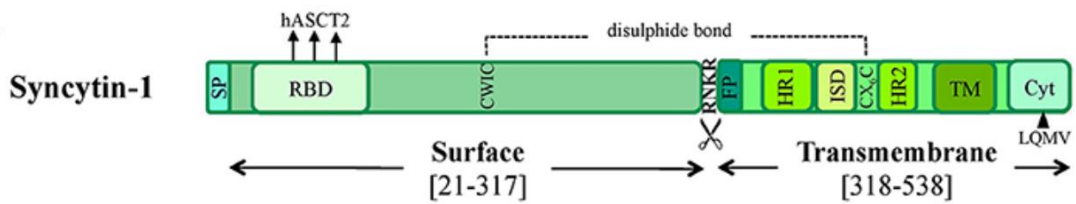
Kodlama bölgelerinin kromatin erişilebilirliğinden dolayı *nükleer microenvironment* dokular arasında farklılık gösterdiğinden, aktive edilecek bir HERV kopyasının temel yatkınlığı dokuya, hücreye veya olgunlaşma aşamasına özel olabilir. MS hastalarından alınan kültürlenmiş hücrelerde proinflamatuvar sitokinler tarafından HERV-W dizilerinin transkripsiyonunu yukarı regüle edildiği rapor edilmiştir. MS hastalarından alınan periferik kanda mononükleer hücrelerinin artan farklılaşması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Mameli ve ark., 2007).

HERV-W'nin düşük ekspresyonu seviyelerinde, insanın farklı dokularında ve hücrelerinde HERV-W'nin ekspresyonu gözlenmiştir. Hibridizasyona dayalı çalışmalar RT-PCR uygulandığında, HERV-W'nin yapısal genlerinin (*gag*, *pol* ve *env*) normal insan plasenta ve testisinde de yüksek oranda eksprese edildiği bulundu. Ek olarak, *gag* geni, normal beyin ve dalak dokularında spesifik olarak kopyalandığı fakat kanser hücrelerinin hiçbirinde rastlanmadığı bulunmuştur (Schön ve ark. 2001; Yi ve ark.2004).

İşlevsel proteinler üretebilen tam uzunlukta açık okuma çerçevelerine (ORF) sahip birkaç *env* bölgesi tanımlandı. 7q21.2 kromozomunda yer alan ERVWE1, şimdiye kadar uzun bir *env* ORF'yi koruyan doğrulanmış tek HERV-W proviral lokustur (Villesen ve ark., 2004).

7q21.2 (ERVWE1) lokusunda bir HERV-W provirüsü gebelikle ilgili işlevlere sahip syncytin-1'i üretmek için gerekli olan *env* gen bölgesi için gerekli ORF'yi muhafaza etse de *gag* ve *pol*'u kodlamada kusurludur (Staege ve ark., 2018). Bu safhada ERV'lerde patch repair sistemi devreye girerek kusursuz olan syncytin-1 üretiliyor.

Syncytin-1, 538 amino asitten (aa) oluşan ve bir N-terminal sinyal peptidi (SP, aa 1-20), bir SU alt birimi (aa 21-317), bir TM alt birimi (aa 318) sunan 73 kDa'lık bir glikozillenmiş proteindir (Gimenez ve Mallet, 2008).



Şekil 2.10. Syncytin-1 Protein Yapısı

Kromozom 7q21.2 üzerinde bulunan ERVWE1 geninin glikozile edilmiş ürünü olan fusojenik protein Syncytin-1 diğer adıyla enverin 'dir. Embriyogenez sırasında nötr amino asit taşıyıcılarına (amino acid transporters) ASCT-1'e ve ASCT-2 bağlandıktan sonra sinsityotrofoblast tabakasının oluşumu sırasında hücre zarlarının füzyonunda yer alır. *Env* gen bölgesi tarafından kodlanan zarf proteini

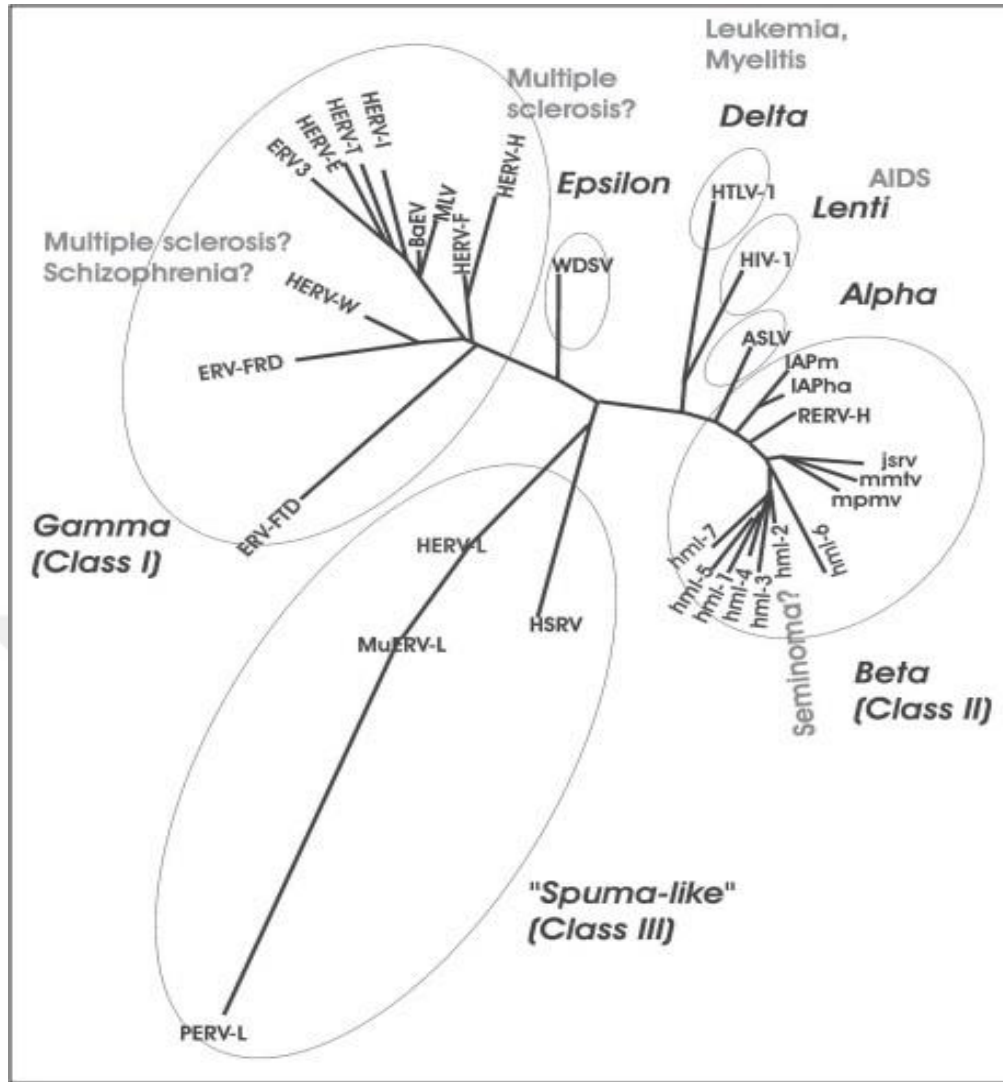
plasentanın morfogenezinde rol alır. Dolayısıyla bu gen, insan konakçı tarafından işlevsel olarak benimsenen bir retrovirüs geni gibi görünmektedir (Lezhnyova ve ark., 2020, Schmitt ve ark., 2013).

Endojen retrovirüslerde *env* geninin kodladığı sinsitin proteininin anormal bir şekilde yapıldığı durumlarda embriyonun gelişiminde önemli sorunlara sebep olan Preeklampsi ve HELLP sendromları gözlenmiştir. Sinsitin proteini fetüsü maternal bağışıklık sistemi karşı hücrelerinin baskılayıcı etkisinden korumaktadır. Fetüsün immünolojik etkilere karşı önemli rol aldığı bilinmektedir (Gözükirmizi N. ve Ark. 2012). ERV-H, ERV-E, ve CKS-17 grubu endojen retrovirüslerde fetüsün immün olarak baskılanması ve uyarılmasında görevli olduğu bilinmektedir (Takahashi ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalarda, HIV-1, HBV, HTLV-1, İnfluenza A virüsü ve herpes virüsleri gibi ekzojen virüsler enflamatuvar uyaranları tetikler. Bu tetikleme epigenetik disregülasyon yoluyla HERV'leri aktive edebilir. Önemli HERV'lerin aktif olmasıyla transaktivasyonunu indükleyebileceğini ve bununda hastalıkların gelişimine katkısı olduğu bulunmuştur (Chen J, Foroozesh M, ve ark 2019).

2.2.3. Sınıflandırılması

HERV'ler filogenetik benzerliklerine göre üç kategoride sınıflandırılır; Sınıf I (Gammaretrovirus, Epsilonretrovirus), Sınıf II (Deltaretrovirus, Alpharetrovirus, Lentivirus, Betaretrovirus) ve Sınıf III (Spumaretrovirüs)'dür. Otoimmüniteye en çok dahil olanlar endojen retrovirüsler sınıf I olanlardır (Gifford RJ ve Ark. 2018).



Şekil 2.11 HERV ailesinin Sınıflandırılması (Echaubard ve ark., 2018)

HERV aileleri, farklı kromozomlara dağılmış çok sayıda üyeden oluşur. HERV doğası gereği tekrarlanan dizilere sahiptir. Bu nedenle toplu olarak LINE, SINE ve basit tekrarlar içeren tekrarlayan elementler arasında sınıflandırılır (Akan Karlsson ve ark. 2016). Sekans özdeşliğine dayalı sınıflandırma sistemlerinde kullanılmış ve en az 31 HERV ailesi tanımlanmıştır. Şekil 2,11'e bakınız. Ters transkripsiyonu başlatmak için transfer RNA'sının (tRNA) kullanılmasına göre adlandırılmıştır. tRNA'nın primer bağlanma bölgesine karşılık gelen amino asit için ilk harfli kodun eklenmesiyle HERV, HERV-H, -T, -W, -K, vb. isimleri ile sınıflandırılır (Antony ve ark. 2011).

Bir başka sınıflandırma dizi homolojisine ise HERV'ler 80 farklı ailede gruplanmıştır (Antony ve ark. 2011). Mevcut literatürlerin eksik verilerin yol açtığı belirsizlik ERV için tam bir sınıflandırma yapmak için yanlış ve eksik veriler sunar

(Küry ve ark., 2018).

2.3. MS Hastalığı ile HERW Arasında İlişkiler

İnsan genomunda bulunan HERW patojen ve bulaşıcı virüsler olarak aktif olmamasına rağmen hem RNA hem de protein olarak ifade edilir. Her iki ucundaki LTR ile düzenleyici elemanların çeşitli hücrel transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girmektedir. ERV ifadesi ile MS arasındaki bağlantı epidemiyolojik bir birliktelik vardır. MS'in patojenik mekanizma açısından HERV'nin rolü hâlâ tartışmalıdır (Morandi ve ark., 2017). 1999 yılında MS hastalarının hem BOS'unda hem de serumlarında İnsan endojen retrovirüs grup W (HERVW) ile yüksek benzerliğe sahip retroviral benzeri sekanslar tanımlanmıştır (Komurian-Pradel ve ark., 1999).

Postmortem MSS (Merkezi Sinir Sistemi) dokularındaki MS lezyonlarının immünohistokimyası, HERVW'nin zarf geni (*Env*), hem aktif mikroglia hem de reaktif astrositlerde RNA ve protein seviyelerinde yukarı doğru düzenlendiğini gözlenilmektedir. Nöronlarda veya oligodendrositlerde böyle olmadığını göstermektedir (van Horssen ve ark., 2016).

Morandi ve arkadaşlarının yaptığı literatür taramalarındaki bazı araştırmalarda kandaki (PBMC veya serum/plazma) HERV-W viral proteinlerin veya RNA *env* ve *pol* protein ekspresyonu ilgili 15 çalışmada MSRV/HERV-W *env* ve MSRV/HERV-W *pol* MS'nin serum/plazma ve PBMC'sinde *env* ve *pol* proteinin ekspresyonunun arttığı bulmuştur. (Morandi ve ark., 2017b).

Hastalarda farklı tekniklerle [RT-PCR, Akış sitometrisi (FC) ve ELISA] sağlıklı kontrol gruplarıyla karşılaştırmasıyla ilgili 2 çalışma, farklı kan hücrelerinde HERV-W *env*'nin farklı ekspresyon düzeylerini göstermiştir. Başka çalışmalarda, RT-PCR ve FC tarafından saptanan HERV-W *env* RNA ve protein ekspresyonu monositlerde, NK ve B hücrelerinde artmış, ancak kontrollere kıyasla MS hastalarının CD4 ve CD8 + T hücrelerinde artmamıştır.

Plazmada, toplam PBMC'de ve MS'den hücre alt tiplerinde HERV-W *env* RNA'nın (RNA düzeyinde %94 sekans özdeşliğini paylaşan syncytin-1) kontrol gruplarıyla ve

diğer nörolojik hastalıklarla karşılaştırıldığında 3 çalışmada hastalar artan seviyelerine saptanmadı.

BOS'ta HERV-W'nin ekspresyonunu RT-PCR ile saptanmasıyla ilgili 6 makalede, MS hastalarından ve sağlıklı kontrollerden alınan BOS örnekleriyle yapılan çalışmalarda. Kontrol gruplarıyla ve diğer nörolojik hastalıklar karşılaştırıldığında MS'li kişilerde yüksek miktarda HERV-W *pol* ve *env* ekspresyonları olduğu Fransız ve İtalyan gruplar bulunmuştur. İspanyol ve Kanadalı gruplar ise MS hastalarında BOS örneklerinde RT-PCR ile HERV-W *env* RNA ekspresyonunda artış bulunmamıştır.

Dokuz yayında, beyin dokusunda MSR/HERV-W ekspresyonunu incelenmiştir. Bir Fransız ve bir İtalyan araştırmacı grubu, MS lezyonlarında endotel hücreleri etrafında kümelenmiş infiltrate makrofajlarda MSR/HERV-W *pol*, *gag* ve *env* proteinleri ve RNA'nın varlığını gösterdi ancak kontrol grupların beyinde MSR/HERV-W *pol*, *gag* ve *env* proteinleri ve RNA'nın varlığını gösterememiştir (Morandi ve ark., 2017). Aynı teknikleri kullanan Kanadalı bir araştırmacı grup, MS hastalarının beyinlerinde diğer nörolojik hastalıklar olan hastalara kıyasla, HERVWE1 *env* (sinsitin-1) RNA ekspresyonunda artış bulmuştur, ancak HERV-W *env*'de bulunmamıştır.

Bir Alman grubu, beyindeki HERV-W lokuslarının ekspresyonunu saptamak için Yeni Nesil Dizileme (NGS) kullandı, ancak kontrol gruplarıyla ve MS arasında önemli farklar yoktur sonucunu yayınladı.

Farklı tip MS hastalarında ve kontrol gruplarıyla yapılan çalışma HERV-W *env* MS'in ilerleyici formlarında ekspresyonu Sekonder Progresif MS (SPMS)'de Relapsing-Remitting MS (RRMS)'den daha yüksek bir HERV-W *env* RNA ifadesi saptanmıştır (Morandi ve ark., 2017). Morandi ve arkadaşlarının yaptığı tüm meta-analizler sonucunda HERV-W *pol* ile /HERV-W *env* bölgelerinin, MS ile arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösterilmiştir.

HERV'lerin yüksek ekspresyonu, potansiyel olarak başka bir hücre hasar mekanizması olarak hareket eder. Retrotranspozon transkriptlerinde kaynaklanan

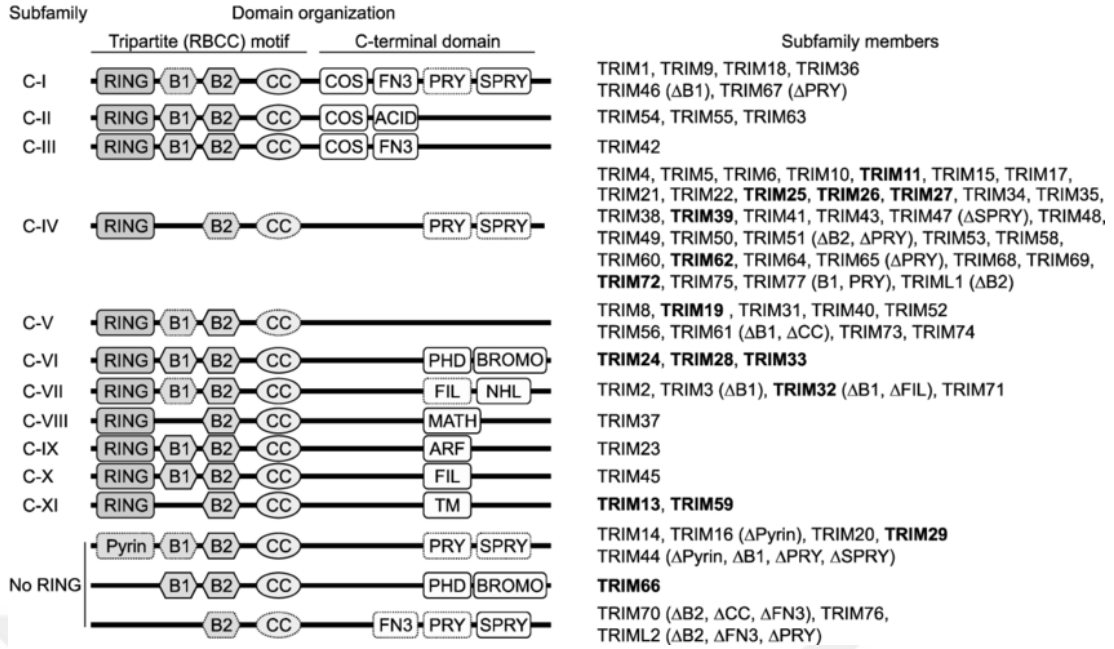
kütlesel protein artışlarına yol açabilir. Bu durum MS'nin çok faktörlü etiyojisi göz önüne alındığında MS'nin ilk gelişimine katkıda bulunabilir ya da hücre dışı herhangi bir inflamatuvar yanıtı güçlendirerek merkezi sinir sisteminde otonom hasara sebep olabilir (Tam ve ark., 2019).

2.4. TRIM 5 Protein Ailesi

Üç parçalı motif ailesi (Tripartite Motif Family) TRIM bir protein ailesidir. TRIM5 hücre içinde sitozollerde bulunur. Viral hayat döngüsünün hemen her aşamasında virüs replikasyonunu engelleme yetisine sahip doğuştan gelen tepkileri vardır. TRIM'ler, viral proteinlerle doğrudan etkileşime girme kabiliyetine sahiptir. TRIM'ler, içsel kısıtlama faktörleri, farklılaşma, gelişme, çoğalma, onkogeneze, viral otofaji, viral kısıtlama faktörleri, görevleri vardır. Antiviral sitokinleri indükleyerek dolaylı olarak hareket edebilir ve diğer antiviral efektörlerin aktivitesini düzenleyebilir. TRIM'ler viral girişi, kapsidin açılmasını, replikasyonu veya viral salınımı inhibe etmek için farklı mekanizmalar kullanabilir. Viral patogenezin azalmasına yardımcı olurlar (Giraldo ve ark., 2011)(Khan ve ark., 2019).

Kısıtlama faktörleri olarak görev alan TRIM'ler, çoğu zaman virüs replikasyonunu önlemek için yeterli miktarlarda sentezlenir. Sentezlenen birçok TRIM'in ifadesi, IFN'ler dahil olmak üzere çeşitli uyarınlarda daha da arttırılabilir (Berthoux, 2020).

TRIM gen ailesinin kromozomal lokalizasyonları insan lökosit antijeni (Human Leukocyte Antigen(HLA)) bölgesinde bulunan 6p21–23 (TRIM10, 15, 26, 27 ve 31) ve 11p15'te (TRIM5, 6, 21, 22, 34 ve TRIM ψ) iki küme dışında, genom boyunca dağılmıştır ve 12 ekzon bölgesi vardır (Henry ve ark., 1998).



Şekil 2.12. TRIM ailesi proteinlerinin yapısal sınıflandırması. (Lee, 2018)

TRIM proteinlerinin genel yapısında belirli alanlar vardır. Bu alanlar parmak alanı (RING), bir ve iki B kutusu alanı (B1 ve B2), sarmal bobin veya Coiled-coil (CC) alanı ve karboksi-terminal (C-terminal) bölgesini içerir. TRIM ailesi sahip olduğu alanların baş harflerinden dolayı diğer bir adı RBCC ailesi denilmiştir. TRIM proteinleri, değişken bir C-terminal alanına dayalı olarak 11 alt aileye (C-1 arasında C-11) sınıflandırılır. RING etki alanı olmayan (no RING), sınıflandırılmamış ek bir grup da vardır (Lee, 2018). Şekil 2,11'e bakınız.

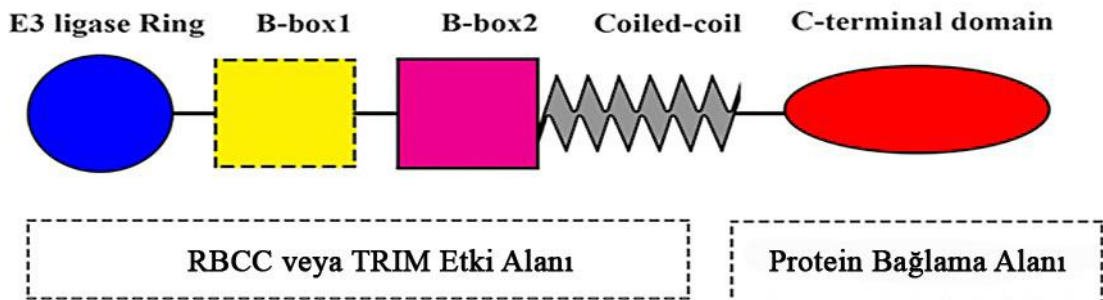
Ring alanında (R) sistein, histidin kalıntıları, iki çinko iyonlarını bulunduran, katalitik aktivitesi olan ve bulunduğu her yerde *Ubiquitination* ile antiviral aktiveyi sağlayan bir E3 ubiquitin ligazdır. E3 Ligaz alanı virüslere karşı güçlü bir inhibitör görevinden ötürü biyo-terapötik olarak ilaç olarak görev alabilir.

B kutusu olarak adlandırılan alanda iki farklı konsensüs dizilerine sahip B1 ve B2 kutularında oluşur. Bazen her iki B kutusu aynı anda olmayabilir, olursa önce B1 sonra B2 gelir. B1 kutusu histidin, 8 sistein kalıntısı ile çinko bağlama motifleri olan, Alfa 4 için bağlayıcı ara faz sağlayan ve katalitik aktiviteye yardımcı olurlar. B1 kutusunu antiviral aktivitesi yoktur. B2 kutusu histidin, 7 sistein kalıntısı ve çinko bağlama motifleri vardır. B2 alanı hedef proteinleri tanır ve bağlar. Karboksi-terminal alanında PRY/SPRY protein modülü tarafından antiretroviral aktivitesi aracılık etme kabiliyetini etkilediğini göstermiştir (Brass ve ark., 2008).

B kutusunun CC ile aracılıyla bağlanan hedef proteinlerin (PRY/SPRY) etkisi ile viral kapsidi tanır. PRY/SPRY etkisi ile sitoplazmik bir blok sağlar. Bu sağladığı blok Retrovirus enfeksiyonlarını kısıtlamasına sebep olur. PRY/SPRY alanı mutasyon analizine odaklı çalışmalarda PRY/SPRY alanın yokluğu TRIM5 tarafından antiviral kısıtlamada belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir (Battivelli ve ark., 2011)

PRY/SPRY bağlanma arayüzünün hedef proteinleri, hastalıkla ilişkili TRIM proteinlerinde işlevini etkilediği bilinmektedir. PRY/SPRY proteinlerindeki birçok mutasyonu açıklamaya yardımcı olur. TRIM5 α 'nın PRY/SPRY deki mutasyonları, viral kısıtlama özgülüğü ve etkinliğini belirler (Song ve ark., 2005). PRY/SPRY alanı, fonksiyonel olarak çeşitli TRIM ailesi dahil olmak üzere insan genomunda 11 ailede bulunan ortak bir protein modülüdür. PRY ve SPRY dizilerinin birleşik biyolojik etkilerini uygulamak için nasıl etkileşime girdiğine dair anlayışımız hala sınırlıdır (James ve ark., 2007).

B-kutusunun işlevi tam bilinmemekle beraber, B-kutusundaki mutasyonların TRIM5 α proteininin yarı ömrü üzerinde önemli etkileri vardır. B-Kutuları, TRIM ailesinin benzersiz ve tanımlayıcı bir alanıdır (Diaz-Griffero ve ark., 2007). Sarmal bobin bölgesi (Coiled-coil) TRIM ve diğer proteinler arasındaki heteromerik ve homomerik etkileşimler aracılık eder. TRIM'ler kapsidlerin üzerinde alfa-heliks bir alan oluşturulur, trimerizasyon ile viral enfeksiyonları kısıtlar. C-terminal bölgede mikrotübül motifi olarak işlevseldir. PRY/SPRY protein modülü HIV'e karşı antiviral aktivitesi mevcuttur (Khan ve ark., 2019).

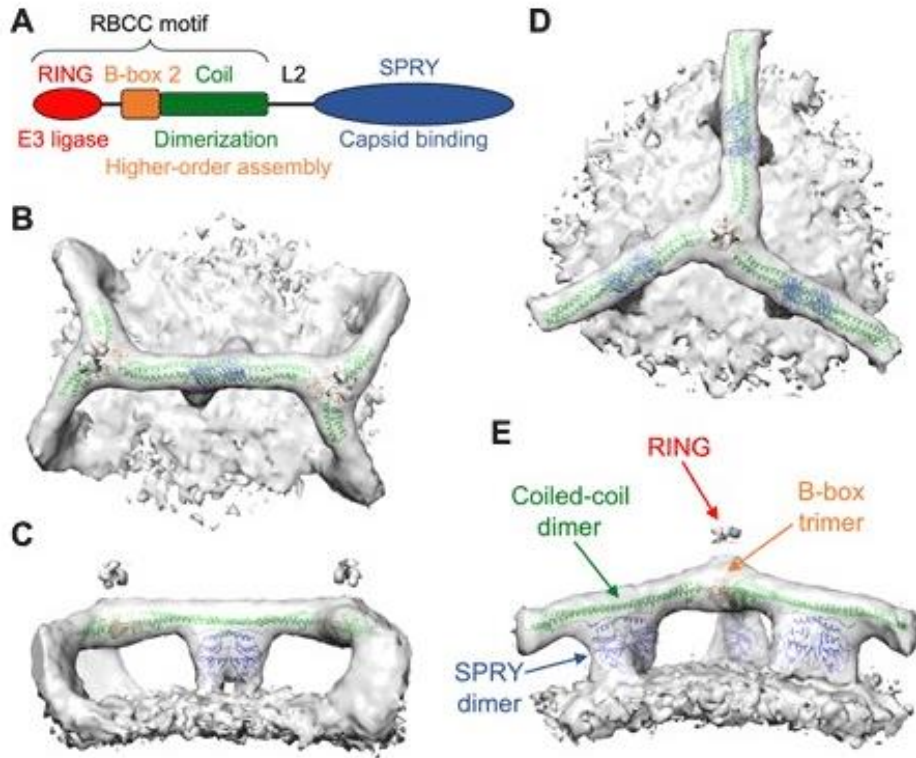


Şekil 2.13. TRIM veya RBCC ailesi proteini yapısı (Khan ve ark., 2019)

Doğal bağışıklık proteini TRIM5 α , retroviral kapsidleri tanıma konusundaki

spesifik yeteneğine bağlı olarak retroviral enfeksiyona karşı giriş sonrası birkaç hücre içi proteinleri güçlü bir şekilde inhibe ederek savunma sağlar (Sawyer ve ark., 2011).

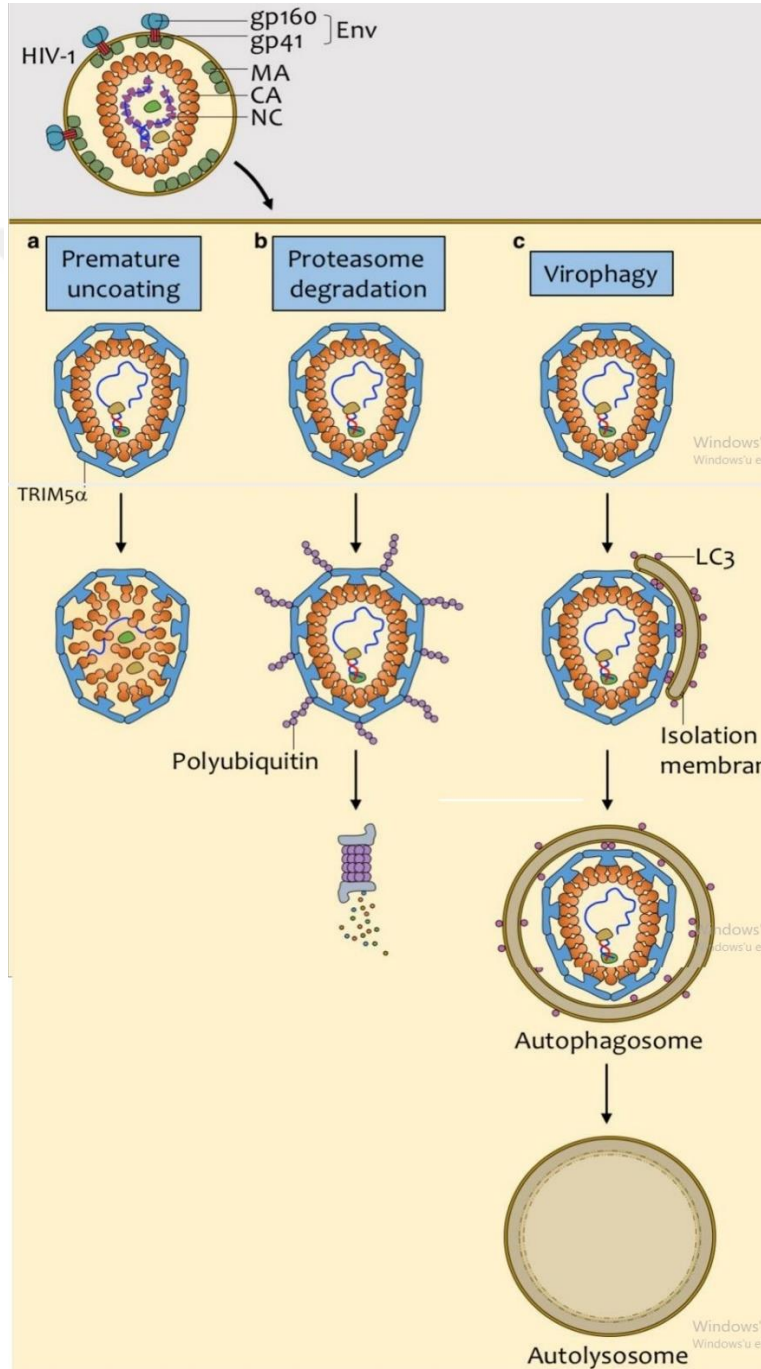
İnsan kodlama yapılan TRIM5 α bazı retrovirüsleri bloke edebilir, ancak HIV'e karşı yetersiz aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte, al yanaklı maymunlar ve diğer bazı primatlar tarafından kodlanan TRIM5 α proteini, HIV enfeksiyonunu etkili bir şekilde bloke eder (Stremlau ve ark., 2004).



Şekil 2.14. HIV-1 kapsid benzeri tüplere bağlanan TRIM5 α 'nın yapısı (Skorupka ve ark., 2019)

TRIM5 ilginç bir özelliği, sitoplazmik cisimler olarak adlandırılan farklı sitoplazmik kümelerde lokalize olmasıdır. Bu sitoplazmik cisimlerin TRIM5 işlevindeki potansiyel rolü henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Yapılan *Photobleaching* ve *Photoactivation* analizi, sitoplazmik gövdelerde bulunan TRIM5 proteininin çok dinamik olduğunu, sitoplazmik gövdeler ve daha yaygın bir sitoplazmik içerik arasında hızla değiş tokuş ettiğini ortaya koymaktadır. Bu yüzden protein dinamiği yüksek hücrelerin sitoplazmik yapılarda bulunur (Campbell ve ark., 2007).

Retroviral kapsidlerin hedef hücrelerin sitoplazmasına girmesini takiben viral yaşam döngüsünün erken adımlarını bloke eden hücresel kısıtlama faktörleriyle karşılaşabilirler. İyi karakterize edilmiş bir erken kısıtlama faktörü TRIM5'dir. TRIM5'in başka bir antiviral etki mekanizması gelen kapsidin hızlıca tanınması, kapsidin çözülmesine yol açarak ters transkripsiyonun tamamlanmasını engeller (Stremlau ve ark., 2006).

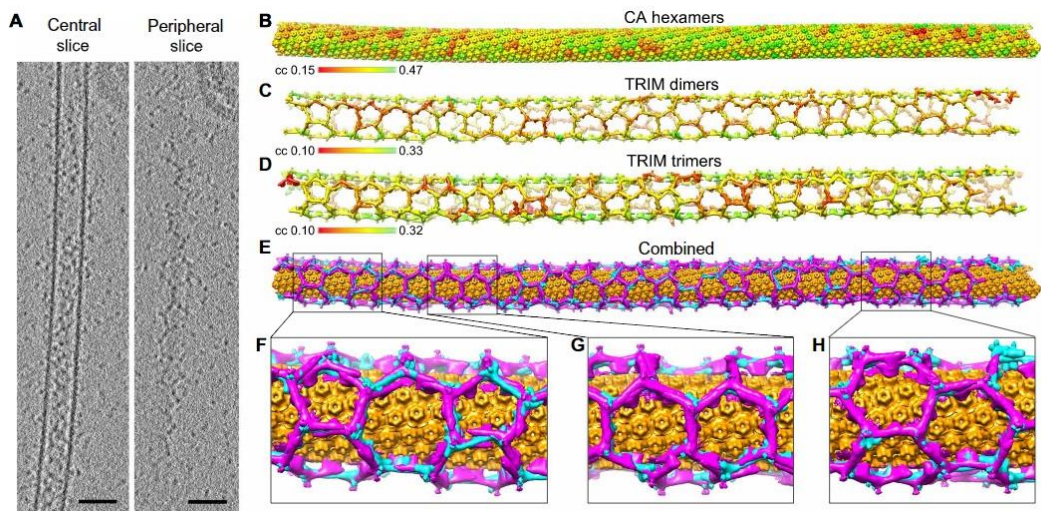


Şekil 2.15. TRIM5 aracılığıyla retroviral kısıtlama mekanizmalarının bazı yolları (Ganser-Pornillos & Pornillos, 2019.)

TRIM5 aracılığıyla retroviral kısıtlama mekanizması bazı yollarını açıklayan bazı çalışmalar, TRIM5'in antiviral savunması için yeterli olduğunu göstermektedir (Langelier ve ark., 2008; Zhao ve ark., 2011; Perez-Caballero ve ark., 2005; Perron ve ark., 2007).

TRIM5 tarafından indüklenen hızlandırılmış çekirdek ayrışması sonra Proteazom alımı ile çekirdek etkisiz hale getirilir. Virüsün çoğalmasını engeller (Anderson ve ark., 2006; Campbell ve ark., 2016; Wu ve ark., 2006). TRIM5'in bağlı retrovirüs çekirdeğini izolasyon zarlarına ve nihayetinde degradasyon için lizozomlara yönlendirdiği, virofaji olarak adlandırılan hassas bir otofaji mekanizması aracılığıyla virüsü engellemeye çalışır (Mandell ve ark., 2014).

TRIM5, virüs çekirdeğini çevreleyen ve koruyan kapsid kabuğuna ilgili ve istekli bir şekilde bağlanarak altıgen bir kafes oluşturarak yüzeyini kaplar. TRIM5 ve kapsid proteinin oluşturdukları kompleks halinde virüsün kapsidini otofagozomlara alır, lizozom yolu ile virüsün kapsidini bozulmasına sebep olur. (Khan ve ark., 2019). TRIM5 α , viral çekirdeği koruyan kapsid kaplamaya bağlanarak gelen retrovirüsleri algılayan, daha sonra erken çekirdek ayrışmasını indükleyen ve viral genomun ters transkripsiyonunu inhibe eder. IFN-I aracılı antiviral tepkiye katkıda bulunurlar. TRIM kafesinin kapsidi ne ölçüde kaplayabileceği ve TRIM5 α 'nın kapsid yüzeyiyle doğrudan nasıl temas ettiği henüz açıklanabilmiş değildir (Skorupka ve ark., 2019).



Şekil 2.16. Retroviruslerin kapsidinin veya benzeri kapsidlerin TRIM5 ile kaplı tüplerin kriyotomografisi ve alt tomogramı (Skorupka ve ark., 2019)

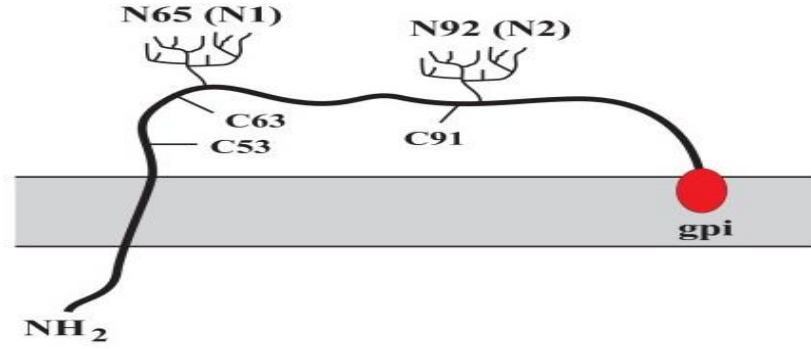
Doğal bağışıklık tepkileri, Toll benzeri reseptörlerin (TLR'ler) veya diğer Model Tanıma Reseptörlerinin (PRR'ler) bakteriyel, viral veya mantarlar tarafından devreye girmesiyle tetiklenir. PRR'lerin ligasyonu, sitokinlerin üretimi ve proinflatuar ve adaptif bağışıklık tepkilerinin başlatılması dahil olmak üzere çeşitli bağışıklık tepkilerini başlatır. İnterferonlar (IFN) bu uyarılara yanıt olarak üretilir. Genellikle etkili bağışıklığın indüklenmesi için çok önemlidir (Boehm ve ark., 1997a).

TRIM proteinlerinin doğuştan gelen bağışıklıktaki rollerine ek olarak, TRIM proteinlerinin biyolojik esnekliğine sahip büyük protein kompleksleri oluşturmak için sarmal-bobin alanları aracılığıyla kendi kendine birleşir. TRIM proteinleri, bazıları genetik ve nörolojik bozuklukların, kanserlerin altında yatan etkenler de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik süreçlerde yer alır (Ozato ve ark., 2008).

2.5. Kemik iliği Stromal Antijen 2 (BST-2)

CD317 veya tetherin olarak da adlandırılan kemik iliği stromal hücre antijeni 2 (BST-2), viral partikülleri hücre yüzeyine fiziksel olarak bağlayarak konakçı hücrelerden zarflı virüslerin salınımını baskılayan bir konak kısıtlama faktörü olarak tanımlanmıştır (Li ve ark., 2021). BST-2 ifadesi IFN α tarafından indüklenen bir hücre yüzeyi proteinidir (Liberatore & Bieniasz, 2011).

BST-2'nin yapısı 30-36 kDa boyutunda, tip II transmembran olan, integral membran proteindir. N-terminalinde bulunan Sitoplazmik Kuyruk (CT) ile sitoplazmaya yerleşir. BST-2'nin iki potansiyel bölgesi var içerir. BST-2'nin ektodomain pozisyonlarındaki üç sistein tortusu (C53, C63, C91) olan ve N-bağlı glikozilasyon için N65, N92 içeren bölgelere sahiptir. BST-2 nin C-terminalinde bir glikosil-fosfatidilinositol (GPI) çapası vardır (Andrew ve ark., 2009a; Xu ve ark., 2011). Şekil 2.16' a bakınız.



Şekil 2.17. BST-2'nin hücre yüzeyine fiziksel olarak bağlanması şeması (Andrew ve ark., 2009)

BST-2 stabil homodimerler oluşturur. Asparagine bağlı glikozilasyon ile modifiye edilir. İnsan BST-2'nin beş sistein kalıntısı içerir. Hücre dışı alandaki pozisyonlarındaki üç sistein tortusu vardır. Bunlar BST-2'nin disülfid bağına bağlı olarak dimerizasyonunda rol oynar (Xu ve ark., 2011). BST-2'in verimli sekresyonu ve katlanması için heterojen glikozilasyonu gerekli olduğu gösterilmiştir (Andrew ve ark., 2009; Bates ve ark., 2009; Goffinet ve ark., 2009; Miyagi ve ark., 2009).

Sisteinler, moleküller arası ve moleküller arası disülfid bağ oluşumunda çok önemlidir. Sistein BST-2'nin homodimerizasyonunu sağlar (Perez-Caballero ve ark., 2009). GPI modifikasyonu, BST-2'nin plazma zarındaki kolesterol ve sfingolipid bakımından zengin mikro alanlara bölünmesine ve çapraz bağlanmasına neden olur (Simons & Toomre, 2000).

BST-2 yerleştiği hücre yüzeyindeki lipid salları kaynağı genel olarak Golgi aygıtına ve geri dönüşüm endozomlarına lokalize olur. Lipid sallarında hücre içi lipid havuzu döngüsü katılır (Kupzig ve ark., 2003).

BST-2'nin antiviral aktivitesi, hücre tipine göre spesifik ekspresyonunu vardır. Belirli insan hücre hatlarından virüs salımı için HIV-1'in aksesuar proteini *Vpu*'ya (viral pro protein U) bağımlılığıyla yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu durum 2008 yılına kadar keşfedilemedi. (Neil ve ark., 2008; van Damme ve ark., 2008). BST-2, *Vpu*'nun eksik olduğu HIV-1 ile enfekte olmuş hücrelerin yüzeyinde oluşur ve olgun virionların tutulmasına neden olur. BST-2, Parçacık salınımı engeller, virionlar hücre yüzeyinde biriktirilir. Bunların bir kısmı BST-2'nin, klatrine

bağımlı bir mekanizma yoluyla endositoza tabi tutulur ve parçalanır (Masuyama ve ark., 2009; Rong ve ark., 2009).

BST-2 için mevcut modeller; BST-2 in hücre zarındaki partikül toplanma bölgelerinde mevcut olduğunu ve viryonlara dahil edildiğini tahmin etmektedir. Muhtemelen, BST-2'nin bir ucu hücrenin lipit çift tabakasına ve diğeri viriona gömülür, böylece hücre yüzeyinde BST-2, disülfid bağları yoluyla veya hücre dışı alandaki bağlanma bölgeleri yoluyla viryon ile BST-2 homodimerleşir. Böylece, virionlar hücre yüzeyine bağlı kalır. BST-2 ile birbirlerine çapraz ve sağlam şekilde bağlanırlar. (Fitzpatrick ve ark., 2010; Perez-Caballero ve ark., 2009).

HIV-1'in *Vpu* aksesuar proteini, BST-2'yi eksprese eder. HIV-1 ile enfekte olmuş insan hücreleri viryon salınımını destekleyen bir bütünleyici tip I membran fosfoprotein yapısındadır. *Vpu* aksesuar proteini, BST-2 ile birlikte lokalize olduğunda hücre yüzeyini bozunmaya hedefleyerek hücre yüzeyi ifadesini azalttığı gösterilmiştir (Neil ve ark., 2008; Van Damme ve ark., 2008). Böylelikle virion salınımını engeller.

Doğuştan gelen bağışıklığın diğeri bileşenleri gibi, BST-2 ekspresyonu da tip I interferonlar tarafından indüklenebilir. Doğrudan antiviral etkisine ek olarak, BST-2 ayrıca bir virüs oluşumu sensörüdür. Viral çıkışı bloke ederken NF- κ B (nuclear factor-kappa B) proinflatuar yanıtları indükler. Zamanla, virüsler BST-2 aracılığıyla kısıtlamadan kaçınmak için bazı stratejiler geliştirdi. BST-2'e karşı koyabilen çok sayıda bağımsız viral protein örneği, farklı viral ailelerde tanımlanmıştır. BST-2 etkisinden kurtulmak virüsler başka mekanizmalar geliştirmiş olmaları BST-2 protein antiviral özelliğinin kanıtlarıdır (Lemaître ve ark., 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Toplanması

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi (Konya, Türkiye) Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda RRMS tanısı alan 50 takipli hasta ile nörodejeneratif hastalık dışlanmış yaş ve cinsiyet yönünden benzer 50 kişilik kontrol olmak üzere 100 kişiyi dahil ettik. Nöroloji kliniğinde rutin tanı, takip ve tedavi işlemleri devam eden hastalardan ve sağlıklı kan donörlerinde rutin maksatla alınan ve artan en az 2 ml hacme sahip tam kan örnekleri kullanıldı. Örnekler in vitro RNA bozunması ya da gen indüksiyonu gibi in vivo ilgili gen transkripti sayısının olduğundan az veya fazla hesaplanmasına yol açabilecek faktörlerden korunması için alındıkları gün içerisinde bekletilmeden nükleik asit saflaştırma ve stabilize etme fonksiyonuna yarayan işlemlere maruz bırakıldı. Yaptığımız işlem uygulaması üretici firma önerilerine göre gerçekleştirildi. Ecotech Biotechnology adlı firmanın (Red Blood Cell Lysis Buffer Cat No: RBCLB-10x) olan ticari solusyondan 1 birim stok tampona 9 birim saf su karışımı ile sulandırılmış tampon (ST) hazırlandı. EDTA'lı (mor kapaklı) tüplerde gelen 2 ml kan örnekler 15 ml hacminde falkon tüpler aktarıldı. Aktarıldıktan sonra kanların üstüne 8 ml ST eklenir ve 10 dk boyunca ışıktan koruyarak, girdap oluşturmadan düzenli aralıklara elle karışım yapıldı. 10 dakikanın sonunda falkon tüpü 1500 rpm de 5 dk santrifüjledikten sonra kırmızı süpernatantı atıldı ve 1 ml ST eklenir pellet ile ST karışım kısmından 1 ml alınarak ependorf tüpüne aktarıldı. Aktarıldıktan sonra 5 dk karanlık ortamda bekletildi. Beklemenin ardından 1500 rpm de 3 dk santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant dışarıya atıldı, kalan pelletin üzerine 1 ml PBS (Posfat Buffer Saline) eklenildi. Tekrar 1500 rpm de 3 dk santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant dışarıya atıldı. Ardından pellete 0,2 ml PBS eklenilir -80°C biriktirildi.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Deney Malzemeleri

3.1.2.1. Kullanılan Kimyasallar

- Total mRNA izolasyon kiti
- Total mRNA izolasyon kitinin içeriği
 - ✓ miRna Extraction
 - ✓ Kloroform
 - ✓ RPE Solüsyon
 - ✓ RNaz-free Water
 - ✓ Etanol
- cDNA İzolasyon Kiti
- mRNA qPCR Mastermix
- GAPDH Referans Gen Primerleri
- Hedef mRNA Primerleri
- 96-100% Etanol

3.1.2.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları

- Santrifüj
- Roche LightCycler 96 Multiwell Plate
- Mikrosantrifüj
- Vorteks karıştırıcı
- (DNase & RNase free) ddH2O
- Mikrosantrifüj tüpleri (1.5 ml, 2.0 ml)
- Mikropipet seti ve steril filtreli mikropipet uçları
- Spin Kolonlar

- Toplama Tüpleri
- Elüsyon Tüpleri

3.2. Yöntem

3.2.1. mRNA'nın İzolasyonu

1. 500 ul Örnekleri (1 ml miRNA Extractor ile) odada inkübe (bekletin) edin. Örneklerin tamamen parçalanmasını sağlamak için 5-10 dakika bekletildi.
2. 0.2ml kloroform eklenilir, 30 saniye vortekslenir. 4 ° C'de 10 dakika boyunca 12.000 × g'de santrifüj yapılır. NOT: Santrifüjlemeden sonra numune 3 faza ayrılır. Üst, renksiz, sulu faz RNA'yı içerdi.
3. Santrifüjlemeden sonra, DNA ve protein içeren beyaz bir fazlar arası görünebilir. DNA kontaminasyonunu azaltmak için bu katmanı transfer etmekten kaçınıldı.
4. Süpernatantı (yaklaşık 540 µl) temiz bir 1,5 ml RNaz içermeyen santrifüj tüpüne aktarıldı.
5. 1,5 hacim (genellikle 810 µl) %100 etanol ekleyin ve birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırıldı.
6. Çözeltiyi Spin Column TR'ye aktarıldı, 2 dakika için 12.000 × g,de santrifüj yapıldı. Atık sıvı dışarıya atıldı.
7. NOT: Lizat hacmi 750 µl'i aşarsa, kolona 750 µl eklenir, 30 saniye santrifüj yapıldı ve atık sıvıyı dışarı atıldı. Kalan lizati aynı kolona eklenir ve yukarıdaki gibi tekrar santrifüj yapıldı.
8. Spin Column TR'ye 0,5 ml RPE Solüsyonu eklenildi, 12,000 × g'de 30 saniye santrifüj yapıldı, sıvı dışarıya atıldı. NOT: RPE Solüsyonunun etanol ile seyreltiğinden emin olmak için etiketi kontrol edildi.
9. 8. adımı bir kez tekrarlandı.
10. Column'ı 30 saniye boyunca 12.000 × g'de santrifüj yapıldı. NOT: Bu adım, kalıntı etanolün tamamen uzaklaştırılması için çok önemlidir.

11. Kolonu yeni bir 1,5 ml santrifüj tüpüne yerleştirildi, 30-50 ul RNase içermeyen su eklenildi ve 2 dakika bekledik 30 saniye boyunca 12.000 x g'de santrifüj yapıldı. Elüsyon yapılmış RNA solüsyonunu -80 ° C'de saklandı.

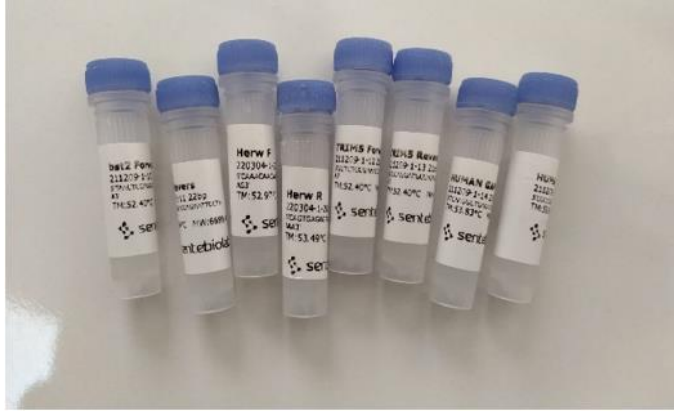


Şekil 3.1. mRNA izalasyon Kiti

3.2.1.1. Primeler

Çalışmamızda kullandığımız primeler

- Human BST-2 Forward TAACTCCAGGCCAGACTCTAA
- Human BST-2 Reverse CAGGAGCACCAGAATTCCTATC
- Human TRIM5 Forward GCTCTCCGAAACCACAGATAA
- Human TRIM5 Reverse CCCAGGATGCCAGTACAATAA
- Human GAPDH Forward TCAAGGCTGAGAACGGGAAG
- Human GAPDH Reverse CGCCCCACTTGATTTTGGAG
- Human HERW-Wenv Forward CAAACAACAACCAGGAGGAAAG
- Human HERW-Wenv Reverse CAGTGAGAGTGAAAGAGGGTAAA



Şekil 3.2. Çalıştığımız genlerin primeleri

3.2.2. mRNA'lardan cDNA Eldesi

- Elde edilen mRNA'lar ABM marka cDNA sentez kiti ile komplementer DNA ya çevrildi.
- Kitin içeriğinde yer alan tüm birleşenler her bir örnek için Tablo 3,1'de belirtilen miktarlarda hazırlandı. Son hacim 20 µl olacak şekilde kitin çalışma protokolüne uygun olarak çalışıldı.
- RNA'lar, UV-S spektrofotometrede ölçümleri yapıldı. Elde edilen ölçümler üzerinden her cDNA sentesi için eşit miktarda 1 ug RNA ilave edildi.
- Uygulanan protokol sonrasında cDNA'lar elde edildi. -20° C'ye kaldırıldı.

Tablo 3.1. cDNA Mix içeriği

RNA	1 ug
DNase RNase-Free Su	20 ul'e tamamlanır.
5X RT BUFFER	4 µl
dNTP	1 µl
Onescript Plus Rtase	20 µ
RNA	1 ng - 2ug



Şekil 3.3. cDNA Mix kiti

3.3. Real Time PCR

- cDNA'ların referans gen açısından amplifikasyonunu sağlamak, hedef ve referans bölgeleri işaretlemek amacıyla ABM master marka mix kiti kullanıldı. Ticari kitede yer alan proroKol tablo 3,2'de belirtilen hacimlere göre hazırlandı.

Tablo 3.2. Real time pcr primer mastermix içeriği

Master Mix	10µl
forward Primer	1µl
reverse primer	1 µl
cDNA	5 µl
H2O	3 µl
Total Volume	20 ul

- Hazırlanan referans gen real time PCR mix'leri ve hedef gen real time PCR mix'leri uygun cDNA'lar ile LightCycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu

plate'ler üzerinde biraraya getirildikten sonra tablo 3,3'de belirtilen ısı protokolü uygulanarak real time PCR işlemine alındı.

Tablo 3.3. Real time PCR ısı protokolü

Denaturasyon	95°C de 3 dk.
Amplifikasyon	95°C de 20 sn.
Bu döngü 40 kez sağlanır. (40 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	50°C de 20 sn 72 °C de 20 sn Okuma
Melting Curve	95°C de 30 sn. 65 °C de 1 dk. 97°C de continue (Acquisitions 3 per/°C)
Cooling	37 °C de 1 dk.

3.3.1 Elde Edilen Sonuçların Analizi

Çıkan sonuçlar Roche Light Cycler 96 analiz programından her örneğin referans ve hedef Ct değerleri alındı. Delta Ct formülü üzerinden hesaplama yapılarak bulunan sonuçlar istatistiğe gönderildi. RT-PCR tahlillerini kurmak ve bu yöntemleri MS hastalarında HERV-W ile diğer ilgili genlerin (BTS-2 ve TRIM5) transkriptlerin artmış ekspresyonunun olup olmadığını belirlemek için kullanıldı. Bu çalışmada kullanılan primerler Uluslararası kılavuzlara (McDonald) göre MS olan, N.E. Üniversitesi, Nörobilim Bölümünde takipli tedavileri devam eden 50 hastadan kan örnekleri alındı.

MS hastalarından ve 50 sağlıklı kontrollerden alınan DNA'lardaki üç dizinin nispi miktarlarının karşılaştırılması, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle yapıldı (Livak ve Schmittgen, 2001, Serra ve diğerleri, 2008). Kısaca, döngü eşiği (Ct) değerleri gerçek zamanlı PCR ile elde edilen ilgili genlerin çoğu, etkinliği %95 olan GAPDH geninin Ct'si ile karşılaştırılarak yapıldı. İlgili genlerin (BTS-2 ve TRIM5) bu nispi miktarlarında DNA kat artışı aşağıdaki şekilde formülize edilir.

$$\text{Foldincrease} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

$\Delta\Delta Ct = [Ct \text{ GI MS örneği} - Ct \text{ GAPDH MS örneği}] - [Ct \text{ GI BD örneği} - Ct \text{ GAPDH BDsample}]$.

İlgili üç DNA geninin nispi miktarları, GAPDH geni ile ilgili $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle (Livak ve Schmittgen, 2001, Serra ve diğerleri, 2008) gerçekleştirilmiştir. Veriler kan bağışçısı numunelerinin ortalama değerinin üzerindeki artış olarak ifade edildi.



4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmaya dahil edilen Necmettin Erbakan Üniversitesi (Konya, Türkiye) Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalında 50 RRMS tanısı almış hastaların yaşları 33.1 ortalamasındadır. Bu çalışma grubun hastalıklarının başlangıç yaşı 25,64 ortalaması, hastaların tanı alma yaş ortalaması 27,1 dir.

Tablo 4.1. Çalışılan RRMS Hasta grubunun demografik özellikleri

Özellikler	Kişi Sayısı:(N)/(Yüzdeler Dilimi)
Cinsiyet	
Erkek	n:11/(22)
Kadın	n:39/(78)
Tanı Alma Yaş	
<20 Yaş	n:5/(10)
20-40 Yaş	n:41/(82)
>40 Yaş	n:4/(8)
Takip Süresi	
0-5 Yıl	n:27/(54)
5-10 Yıl	n:9/(18)
>10 Yıl	n:14/(28)
Toplam Atak Sayısı	
1-2 Atak	n:25/(50)
3-5 Atak	n:15/(30)
>5 Atak	n: 10/(20)
Son Bir Yıl İçinde Atak Sayısı	
<0,5 kez	n:27/(54)
0,5-1 kez	n:22/(44)
>1 kez	n:1/(2)

EDSS

0-2 kez	n:45/(90)
2,5-4,5 kez	n:5/(10)
>4,5 kez	n:0/(0)

4.2. MikroRNA Ekspresyon sonuçları**Tablo 4.2.1** TRIM5 Genin Ekspresyon Sonuçları

ÖRNEKLER	GAPDH	TRIM5	Δ CT	$2^{-\Delta CT}$
1	29,29	35,05	5,76	0,0184530
2	29,38	33,57	4,19	0,0547879
3	29,43	35,01	5,58	0,0209051
4	29,7	35,94	6,24	0,0132304
5	29,63	36,53	6,90	0,0083732
6	29,3	34,35	5,05	0,0301855
7	29,43	34,9	5,47	0,0225614
8	29,6	36,98	7,38	0,0060034
9	28,84	35,98	7,14	0,0070900
10	29,22	33,05	3,83	0,0703162
11	29,29	34,18	4,89	0,0337259
12	29,89	34,41	4,52	0,0435857
13	29,37	33,59	4,22	0,0536603
14	27,97	36,87	8,90	0,0020933
15	28,97	35,55	6,58	0,0104526
16	29,38	36,45	7,07	0,0074425
17	28,62	32,32	3,70	0,0769465
18	29,39	35,77	6,38	0,0120068
19	29,51	33,86	4,35	0,0490365
20	29,38	33,15	3,77	0,0733022
21	29,24	33,68	4,44	0,0460709
22	29,41	35,33	5,92	0,0165159
23	29,36	35,19	5,83	0,0175790
24	29,66	32,58	2,92	0,1321273

Tablo 4.2.1. TRİM5 Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	TRİM5	Δ CT	2^{-Δ CT}
25	29,45	35,97	6,52	0,0108964
26	28,3	31,19	2,89	0,1349035
27	28,66	37,74	9,08	0,0018478
28	29,57	34,1	4,53	0,0432847
29	29,48	33,72	4,24	0,0529216
30	29,11	33,02	3,91	0,0665231
31	29,93	33,29	3,36	0,0973956
32	29,89	36,24	6,35	0,0122591
33	29,32	35,59	6,27	0,0129581
34	29,59	32,9	3,31	0,1008302
35	29,23	37,69	8,46	0,0028398
36	25,75	32,87	7,12	0,0071890
37	29,88	34,45	4,57	0,0421010
38	29,28	37,19	7,91	0,0041577
39	29,73	36,53	6,80	0,0089742
40	29,5	36,51	7,01	0,0077585
41	29,86	33,22	3,36	0,0973956
42	30,28	36,43	6,15	0,0140820
43	29,32	36,67	7,35	0,0061296
44	30,54	34,66	4,12	0,0575117
45	30,14	36,27	6,13	0,0142786
46	29,14	34,35	5,21	0,0270168
47	29,38	36,13	6,75	0,0092907
48	29,09	35,84	6,75	0,0092907
49	29,57	36,55	6,98	0,0079216
50	29,45	32,4	2,95	0,1294081
K1	29,91	32,8	2,89	0,1349035
K2	29,18	34,36	5,18	0,0275845
K3	29,92	39,1	9,18	0,0017240
K4	30,09	32,94	2,85	0,1386962

Tablo 4.2.1. TRİM5 Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	TRİM5	Δ CT	2^{-Δ CT}
K5	29,72	32,3	2,58	0,1672409
K6	28,88	34,73	5,85	0,0173370
K7	29,81	34,72	4,91	0,0332616
K8	30,27	33,2	2,93	0,1312146
K9	29,95	37,97	8,02	0,0038525
K10	28,85	32,58	3,73	0,0753630
K11	27,31	30,3	2,99	0,1258694
K12	30,02	33,71	3,69	0,0774817
K13	27,5	30,84	3,34	0,0987552
K14	29,87	32,5	2,63	0,1615441
K15	28,73	31,9	3,17	0,1111053
K16	29,93	36,68	6,75	0,0092907
K17	29,56	34,71	5,15	0,0281641
K18	29,4	32,7	3,30	0,1015315
K19	26,33	30,08	3,75	0,0743254
K20	30,13	37,43	7,30	0,0063457
K21	29,61	32,54	2,93	0,1312146
K22	29,53	36,41	6,88	0,0084901
K23	29,84	35,32	5,48	0,0224056
K24	29,41	32,44	3,03	0,1224275
K25	30,01	34,55	4,54	0,0429857
K26	29,64	37,14	7,50	0,0055243
K27	29,28	33,82	4,54	0,0429857
K28	29,76	34,28	4,52	0,0435857
K29	29,55	34,02	4,47	0,0451228
K30	28,25	34,45	6,20	0,0136024
K31	30,11	35,93	5,82	0,0177013
K32	30,48	35,2	4,72	0,0379436
K33	29,77	34,9	5,13	0,0285572
K34	30,37	33,76	3,39	0,0953912

Tablo 4.2.1. TRİM5 Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	TRİM5	Δ CT	2^{-Δ CT}
K35	30,29	35,1	4,81	0,0356489
K36	30,24	35,83	5,59	0,0207607
K37	29,48	34,7	5,22	0,0268302
K38	28,73	31,89	3,16	0,1118781
K39	29,49	33,6	4,11	0,0579118
K40	30,37	36,22	5,85	0,0173370
K41	30,44	33,48	3,04	0,1215819
K42	29,73	33,3	3,57	0,0842021
K43	28,76	33,31	4,55	0,0426888
K44	29,83	36,21	6,38	0,0120068
K45	29,61	35,41	5,80	0,0179484
K46	29,48	35,44	5,96	0,0160643
K47	29,77	32,37	2,60	0,1649385
K48	29,45	36,1	6,65	0,0099575
K49	29,25	31,05	1,80	0,2871746
K50	29,78	33,29	3,51	0,0877778

Tablo 4.2.2 BST-2 Genin Ekspersyon Sonuçları

ÖRNEKLER	GAPDH	BST2	Δ CT	2^{-Δ CT}
1	29,29	34,14	4,85	0,0346740
2	29,38	33,52	4,14	0,0567199
3	29,43	37,54	8,11	0,0036195
4	29,7	32,78	3,08	0,1182572
5	29,63	34,42	4,79	0,0361465
6	29,3	35,67	6,37	0,0120904
7	29,43	39,3	9,87	0,0010686
8	29,6	32,85	3,25	0,1051121
9	28,84	34,28	5,44	0,0230355
10	29,22	34,91	5,69	0,0193704

Tablo 4.2.2. BTS-2 Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	BTS-2	Δ CT	$2^{-\Delta$ CT
11	29,29	34,65	5,36	0,0243489
12	29,89	37,06	7,17	0,0069441
13	29,37	33,81	4,44	0,0460709
14	27,97	34,41	6,44	0,0115177
15	28,97	34,72	5,75	0,0185814
16	29,38	33,57	4,19	0,0547879
17	28,62	33,63	5,01	0,0310341
18	29,39	35,21	5,82	0,0177013
19	29,51	33,62	4,11	0,0579118
20	29,38	34,63	5,25	0,0262780
21	29,24	36,14	6,90	0,0083732
22	29,41	32,97	3,56	0,0847878
23	29,36	36,17	6,81	0,0089122
24	29,66	35	5,34	0,0246888
25	29,45	35,08	5,63	0,0201930
26	28,3	33,14	4,84	0,0349152
27	28,66	34,19	5,53	0,0216423
28	29,57	34,44	4,87	0,0341967
29	29,48	36,39	6,91	0,0083154
30	29,11	33,62	4,51	0,0438889
31	29,93	33,91	3,98	0,0633725
32	29,89	33,84	3,95	0,0647041
33	29,32	33,6	4,28	0,0514744
34	29,59	36,88	7,29	0,0063899
35	29,23	35,55	6,32	0,0125167
36	25,75	36,42	10,67	0,0006138
37	29,88	37,26	7,38	0,0060034
38	29,28	33,9	4,62	0,0406669
39	29,73	36,05	6,32	0,0125167
40	29,5	33,12	3,62	0,0813339

Tablo 4.2.2. BTS-2 Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	BTS-2	Δ CT	$2^{-\Delta$ CT
41	29,86	37,32	7,46	0,0056796
42	30,28	38,24	7,96	0,0040161
43	29,32	35,43	6,11	0,0144779
44	30,54	37,72	7,18	0,0068961
45	30,14	37,56	7,42	0,0058393
46	29,14	33,32	4,18	0,0551689
47	29,38	36,33	6,95	0,0080880
48	29,09	35,64	6,55	0,0106722
49	29,57	36,21	6,64	0,0100268
50	29,45	38,96	9,51	0,0013715
K1	29,91	35,79	5,88	0,0169802
K2	29,18	34,68	5,50	0,0220971
K3	29,92	35,9	5,98	0,0158431
K4	30,09	36,3	6,21	0,0135084
K5	29,72	36,5	6,78	0,0090995
K6	28,88	36,6	7,72	0,0047429
K7	29,81	35,48	5,67	0,0196408
K8	30,27	38,67	8,40	0,0029604
K9	29,95	37,6	7,65	0,0049788
K10	28,85	37,07	8,22	0,0033538
K11	27,31	35,33	8,02	0,0038525
K12	30,02	37,45	7,43	0,0057989
K13	27,5	33,41	5,91	0,0166308
K14	29,87	37,4	7,53	0,0054106
K15	28,73	37,36	8,63	0,0025241
K16	29,93	37,47	7,54	0,0053732
K17	29,56	30,19	0,63	0,6461764
K18	29,4	39,38	9,98	0,0009902
K19	26,33	35,07	8,74	0,0023388
K20	30,13	35,04	4,91	0,0332616

Tablo 4.2.2. BTS-2 Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	BTS-2	Δ CT	$2^{-\Delta$ CT
K21	29,61	39,22	9,61	0,0012797
K22	29,53	37,4	7,87	0,0042746
K23	29,84	35,94	6,10	0,0145786
K24	29,41	39,69	10,28	0,0008043
K25	30,01	35,93	5,92	0,0165159
K26	29,64	35,19	5,55	0,0213444
K27	29,28	39,35	10,07	0,0009303
K28	29,76	35,71	5,95	0,0161760
K29	29,55	39,3	9,75	0,0011613
K30	28,25	38,86	10,61	0,0006398
K31	30,11	37,55	7,44	0,0057589
K32	30,48	39,42	8,94	0,0020361
K33	29,77	36,86	7,09	0,0073400
K34	30,37	36,45	6,08	0,0147822
K35	30,29	37,23	6,94	0,0081443
K36	30,24	36,45	6,21	0,0135084
K37	29,48	37,22	7,74	0,0046777
K38	28,73	37,11	8,38	0,0030017
K39	29,49	36,58	7,09	0,0073400
K40	30,37	36,32	5,95	0,0161760
K41	30,44	38,97	8,53	0,0027053
K42	29,73	-		
K43	28,76	36,21	7,45	0,0057191
K44	29,83	35,82	5,99	0,0157337
K45	29,61	36,78	7,17	0,0069441
K46	29,48	36,36	6,88	0,0084901
K47	29,77	38,14	8,37	0,0030226
K48	29,45	38,29	8,84	0,0021822
K49	29,25	35,42	6,17	0,0138882
K50	29,78	36,84	7,06	0,0074943

Tablo 4.2.3 HERW-W Genin Ekspersyon Sonuçları

Örnekler	GAPDH	HERW	Δ CT	$2^{-\Delta$ CT
1	29,29	34,45	5,16	0,0279695
2	29,38	33,67	4,29	0,0511189
3	29,43	32,19	2,76	0,1476241
4	29,7	33,19	3,49	0,0890031
5	29,63	36,01	6,38	0,0120068
6	29,3	32,96	3,66	0,0791098
7	29,43	33,4	3,97	0,0638133
8	29,6	36,6	7,00	0,0078125
9	28,84	32,56	3,72	0,0758872
10	29,22	37,22	8,00	0,0039063
11	29,29	34,7	5,41	0,0235195
12	29,89	34,61	4,72	0,0379436
13	29,37	34,49	5,12	0,0287559
14	27,97	32,97	5,00	0,0312500
15	28,97	34,44	5,47	0,0225614
16	29,38	34,09	4,71	0,0382075
17	28,62	31,74	3,12	0,1150235
18	29,39	34,07	4,68	0,0390103
19	29,51	32,49	2,98	0,1267449
20	29,38	34	4,62	0,0406669
21	29,24	33,41	4,17	0,0555527
22	29,41	32,84	3,43	0,0927827
23	29,36	35,05	5,69	0,0193704
24	29,66	-		
25	29,45	33,64	4,19	0,0547879
26	28,3	31,34	3,04	0,1215819
27	28,66	34,56	5,90	0,0167465
28	29,57	33,68	4,11	0,0579118
29	29,48	36,8	7,32	0,0062584
30	29,11	33,19	4,08	0,0591286

Tablo 4.2.3. HERV-W Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	HERV-W	Δ CT	$2^{-\Delta$ CT
31	29,93	32,71	2,78	0,1455917
32	29,89	36,58	6,69	0,0096852
33	29,32	32,25	2,93	0,1312146
34	29,59	33,64	4,05	0,0603710
35	29,23	33,46	4,23	0,0532897
36	25,75	31,95	6,20	0,0136024
37	29,88	33,47	3,59	0,0830429
38	29,28	35,57	6,29	0,0127797
39	29,73	34,64	4,91	0,0332616
40	29,5	33,86	4,36	0,0486978
41	29,86	35,06	5,20	0,0272047
42	30,28	33,62	3,34	0,0987552
43	29,32	34,36	5,04	0,0303955
44	30,54	31,72	1,18	0,4413515
45	30,14	33,77	3,63	0,0807721
46	29,14	32,21	3,07	0,1190797
47	29,38	35,74	6,36	0,0121744
48	29,09	34,67	5,58	0,0209051
49	29,57	35,46	5,89	0,0168629
50	29,45	32,1	2,65	0,1593201
K1	29,91	33,1	3,19	0,1095757
K2	29,18	34,06	4,88	0,0339605
K3	29,92	31,91	1,99	0,2517389
K4	30,09	34,27	4,18	0,0551689
K5	29,72	33,02	3,30	0,1015315
K6	28,88	33	4,12	0,0575117
K7	29,81	34,4	4,59	0,0415214
K8	30,27	34,43	4,16	0,0559391
K9	29,95	32,56	2,61	0,1637992
K10	28,85	31,92	3,07	0,1190797

Tablo 4.2.3. HERV-W Genin Ekspersyon Sonuçları (devamı)

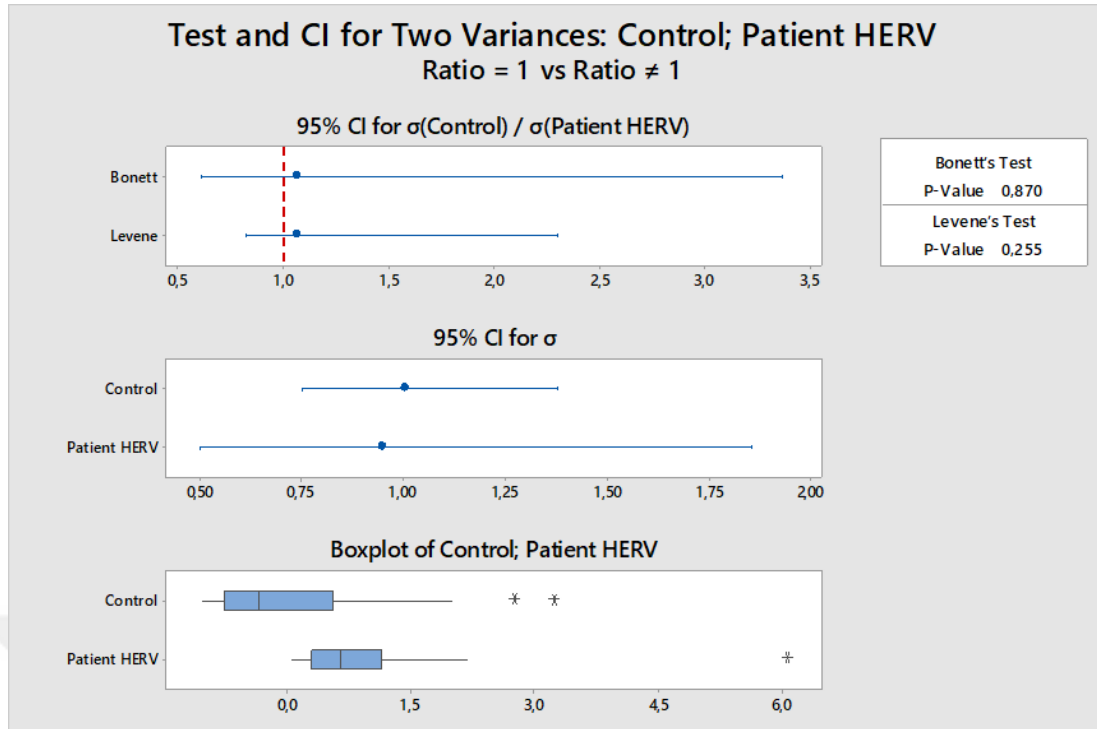
ÖRNEKLER	GAPDH	HERV-W	Δ CT	2^{-Δ CT}
K11	27,31	29,11	1,80	0,2871746
K12	30,02	33,73	3,71	0,0764150
K13	27,5	29,65	2,15	0,2253126
K14	29,87	34,49	4,62	0,0406669
K15	28,73	30,69	1,96	0,2570285
K16	29,93	-		
K17	29,56	33,06	3,50	0,0883883
K18	29,4	33,76	4,36	0,0486978
K19	26,33	28,37	2,04	0,2431637
K20	30,13	34,2	4,07	0,0595399
K21	29,61	35,35	5,74	0,0187106
K22	29,53	36,95	7,42	0,0058393
K23	29,84	36,84	7,00	0,0078125
K24	29,41	31,75	2,34	0,1975103
K25	30,01	33,15	3,14	0,1134399
K26	29,64	34,25	4,61	0,0409498
K27	29,28	31,06	1,78	0,2911834
K28	29,76	32,93	3,17	0,1111053
K29	29,55	33,72	4,17	0,0555527
K30	28,25	35,2	6,95	0,0080880
K31	30,11	33,52	3,41	0,0940779
K32	30,48	33,61	3,13	0,1142289
K33	29,77	34	4,23	0,0532897
K34	30,37	32,92	2,55	0,1707550
K35	30,29	34,26	3,97	0,0638133
K36	30,24	33,57	3,33	0,0994421
K37	29,48	35,13	5,65	0,0199150
K38	28,73	31,74	3,01	0,1241366
K39	29,49	30,71	1,22	0,4292827
K40	30,37	33,18	2,81	0,1425955

Tablo 4.2.3. HERV-W Genin Ekspresyon Sonuçları (devamı)

ÖRNEKLER	GAPDH	HERV-W	Δ CT	$2^{-\Delta$ CT
K41	30,44	34,23	3,79	0,0722930
K42	29,73	32,99	3,26	0,1043860
K43	28,76	32,15	3,39	0,0953912
K44	29,83	34,19	4,36	0,0486978
K45	29,61	36,6	6,99	0,0078668
K46	29,48	37,27	7,79	0,0045183
K47	29,77	34,67	4,90	0,0334929
K48	29,45	32,19	2,74	0,1496848
K49	29,25	29,05	-0,20	1,1486984
K50	29,78	34,13	4,35	0,0490365

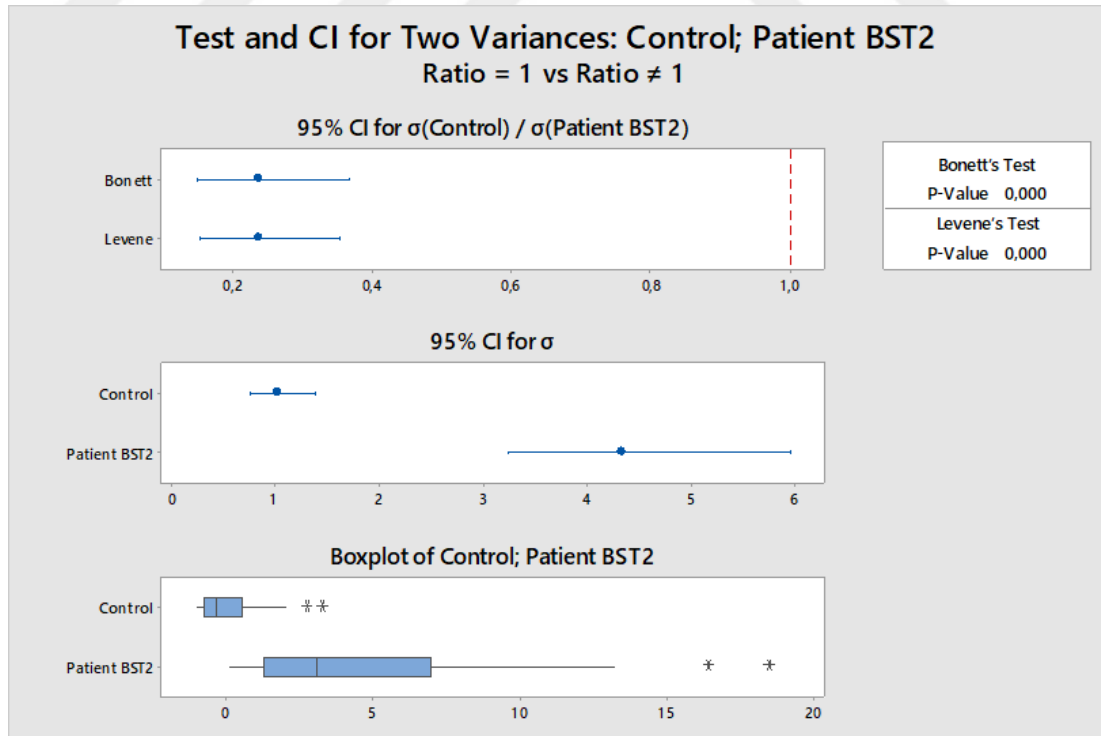
Üç gerçek zamanlı PCR tahlili ile elde edilen deneysel değerler $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle GAPDH marker genine göre normalleştirildi.

Seçtiğimiz antiviral proteinlerin (TRIM5 ve BTS-2) provirus yapısındaki HERV-W nin ve MS hastalığı karşısında etkisini görebilmek ve kıyasla bilmek için HERV-W nin ekspresyonu seviyelerine bakıldı. HERV-W ekspresyon karşılaştırmasının sonucunda çalışma grupları arasında önemli bir farklılık saptanmadı. Şekil 5.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1.HERV-W Ekspresyon diyagramı

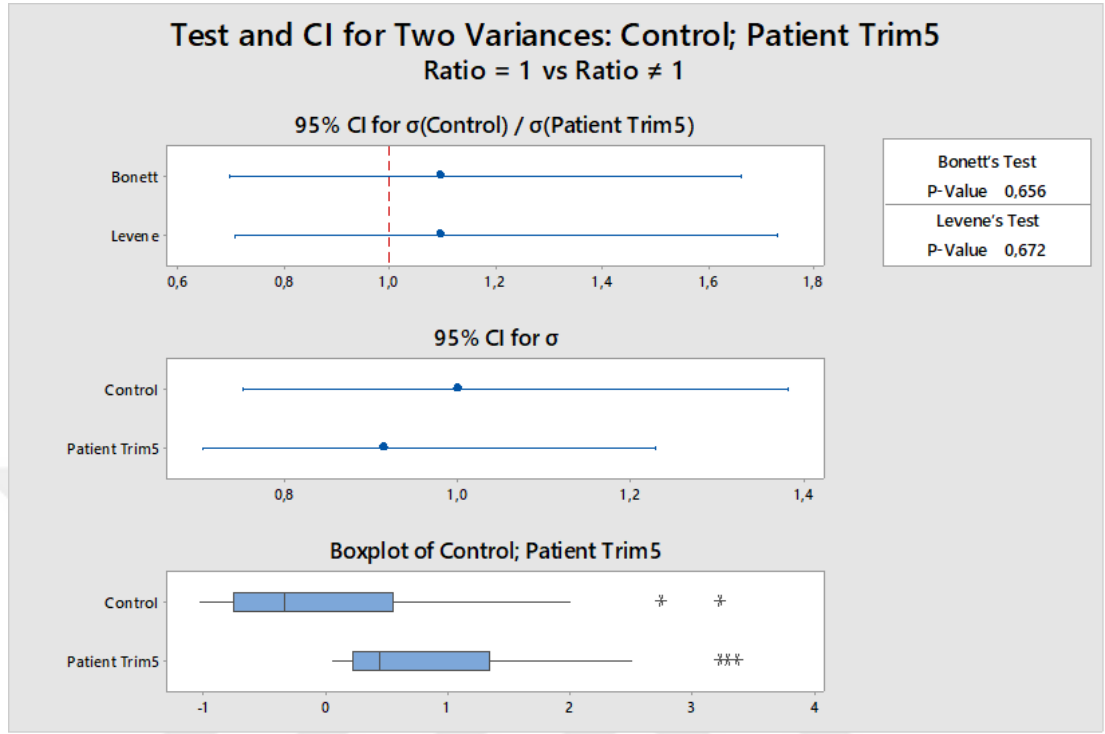
Çalışmamızın sonuçlarına göre BTS-2 geni ekspresyonu ise anlamlı bir farkın olduğu, yaklaşık 3,5 kat artış olduğu görülmektedir. Şekil 5.2. de gösterilmiştir.



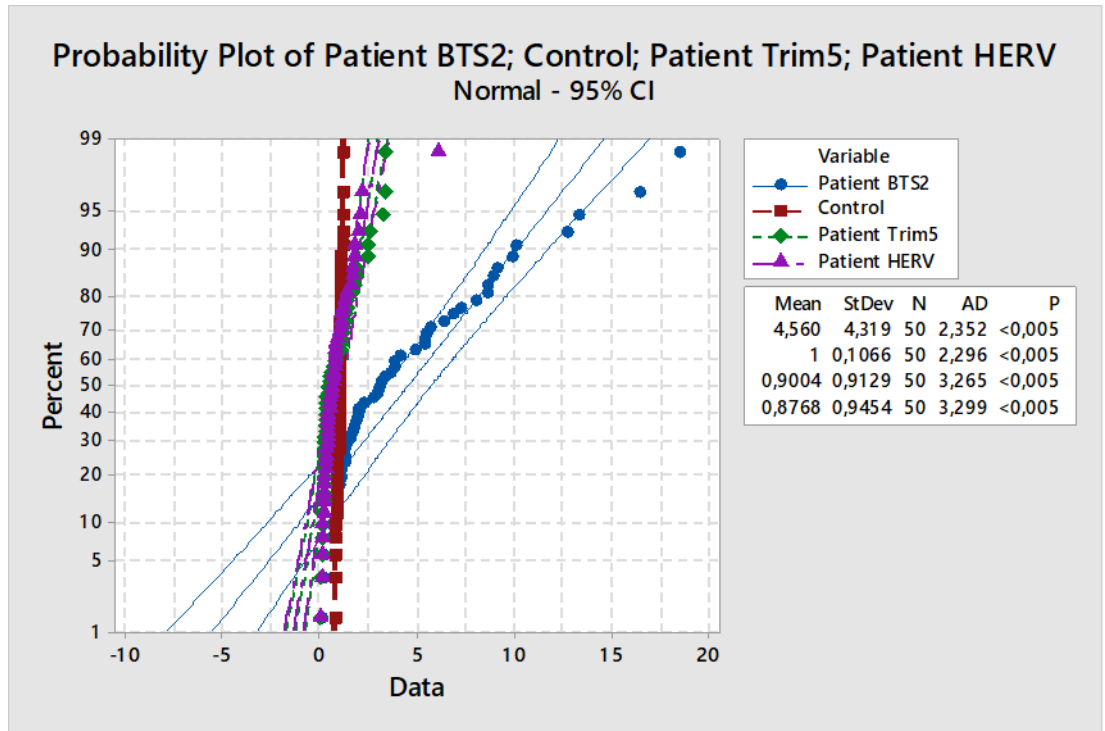
Şekil 5.2. BST2 Ekspresyon diyagramı

TRİM5 proteinin ekspresyonu seviyelerinde sağlıklı kişiler ile hasta grubu

arasında anlamlı bir farkın olmadığı yönündedir. Şekil 5.3.'de gösterilmiştir. TRİM5 ekspresyonu, Herw ekspresyonunda olduğu gibi anlamlı bir fark olmamıştır.



Şekil 5.3. TRİM5 Gen Ekspresyon Diyagramı



Şekil 5.4. BTS2, HER-W TRİM5 ve GAPDH genlerin Ekspresyonu diyagramı grafikleri

Araştırmamıza göre GAPDH markeri, BTS2, HER-W ve TRİM5 proteinlerin gen ekspresyonu diyagramında BTS2 genin ekspresyonu diğer genlere göre daha fazla ekspresyon olduğu Şekil 5.4.'de gösterilmiştir.



5. TARTIŞMA

Multipl Skleroz (MS); Santral Sinir Sistemi (SSS) lezyonlarının nörolojik defektler nedeniyle ciddi fiziksel ve kognitif engelliliğe yol açan, fokal lenfositik infiltrasyonun miyelin ve aksonlarda hasara yol açtığı nörolojik bir hastalıktır (Ghasemi ve ark., 2017).

Oligodendrositler, sinirsel iletinin etkili bir şekilde iletilmesini sağlayan, aksonları saran ve koruyan miyelini oluşturan merkezi sinir sistemi hücreleridir. İskemi, toksisite, travmatik yaralanma, inflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen türleri ve sitotoksik proteazlar gibi oligodendrositlerin inflamatuvar hasarlanmasına sebep olan birçok etken vardır (Go ve ark., 2021). Miyelinlerin hasarlanması sonucunda demiyelinizan aksonlar oluşmaktadır. Bu demiyelinizan aksonlar; inflamatuvar mekanizmalar ve oksidatif stres ile daha fazla hasar görebilir. Aşırı nörotransmitter salınım ile sonuçlanan; Mitokondriyal ve iyon kanalı disfonksiyonları demiyelinizasyon ile seyreden çoğu nörodejeneratif hastalığın temelinde yer almaktadır (Nasrabadı ve ark., 2018).

Dünya genelinde MS hastalığı 2 milyondan fazla insanın sağlığını etkilemiş olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye'de MS prevalansı ile ilgili çalışma sayısı yetersizdir (Börü ve ark., 2006). Türkiye'de MS prevalansının Doğu Yunanistan'da yapılan çalışmalardan çıkarım yapılarak benzer coğrafi yakınlıktan dolayı aynı olduğu düşünülmektedir. Türkiye'de sıklığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 40/100000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Kingwell ve ark., 2013). Kuzey Amerika (140/100000), Avrupa (108/100000) yüksek prevalansların görüldüğü bölgeler olurken; Asya (2,2/100000) ve Sahra altı Afrika ülkeleri (2,1/100000) düşük prevalanslara sahiptir. Ancak Asya'nın bazı bölgelerinde prevalanslar, önemli bölgesel farklılıklar (Hong Kong'da 100.000'de 0.77; İran'da 100.000'de 85.80) raporlanmıştır. Son çalışmalar, Kuzey Japonya da dahil olmak üzere bir dizi bölgede artan prevalansı göstermektedir. Bildirilen pek çok araştırma sonucu; Multipl skleroz insidansının küresel olarak artma eğiliminde olduğu göstermektedir (Compston & Coles, 2008).

MS tanısı ve izleminde kullanılan kriterler yıllar içerisinde değişerek çeşitli standartlar oluşturulmuştur. Fazekes(1988), Paty(1988), Barkhof (1997), McDonald

(2001) Swanton (2006) ve en son McDonald (2005,2010,2017) kriterleri bu amaçla tasarlanmıştır.

MS hastalığının seyri sırasında ilk klinik semptomlarının görüldüğü dönemde yapılan zeka testi (IQ) puanı ile, 2 yıl sonrasına yapılan kontroller arasında önemli gerilemeler olduğu ortaya konmuştur (Cortese ve ark., 2016). MS hastalarının; tiroid hastalıkları, enflamatuvar bağırsak hastalıkları ve psöriyazis gibi otoimmün tablolara yakalanma olasılığı da artmaktadır (Goodin ve ark., 2012).

Danimarka'da yapılan, 1949–1996 dönemine ait standart tanı kriterlerine göre sınıflandırılmış 9881 MS'li hastayı kapsayan büyük ölçekli bir çalışmada; hastaların yarısına yakın kısmı (4254) takip süresi bitmeden hayatını kaybetmiştir. Bu çalışmaya göre; başlangıçtan itibaren medyan sağkalım süresi, MS hastaları için aynı yaştaki genel popülasyona göre yaklaşık 10 yıl daha kısa olduğu ve ölüm riskinde neredeyse üç kat artışla ilişkili olduğu ortaya çıkarıldı. (Brønnum-Hansen ve ark., 2004). Son yıllarda elde edilen veriler erken başlayan koruyucu tedaviler (IFN β -1b kullanımı vb.) ile mortalitenin % 32 oranında azaldığı ortaya çıkarmıştır (Goodin ve ark., 2012). Güncel tedavi yaklaşımları immunsupresif ve immünomodülatör seçenekleri içermektedir. Multipl skleroz karmaşık bir hastalıktır. İmmünoloji, epidemiyoloji, nöroloji ve genetik biliminin entegre olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır (Holmøy & Hestvik, 2008).

Genetik yatkınlık, yaşam tarzı ve sosyoekonomik durumu içeren çevresel faktörlerle beraber; enfeksiyöz ajanlar (tetikleyici veya koruyucu ajanlar), besleme, güneş ışığına maruz kalmaya bağlı olarak bu tür durumlar epidemiyoloji etkiler. İnsan otoimmünitesinin doğru bir şekilde anlamak için, pleiotropik faktörleri göz önünde bulundurmak önemlidir. İnsan otoimmünitesinin ilgili derlemelerde odak noktası öncelikle cinsiyettir. Genel olarak, otoimmün hastalıkların kadın baskınlığına sahip olduğu iyi bilinmektedir. Kadın baskınlığını etkileyen mekanizmalar tam anlamıyla bilinmemektedir (Moroni ve ark., 2012).

Bir bireyin MS'e yatkınlığında genetiğin rolünün, tetikleyici faktörlere bağlantılı olarak çok önemli olduğunu destekleyen bol miktarda kanıt vardır. MS'a yatkınlık Mendel genetiği ile açıklanamaz (Brudek ve ark., 2004).

MS patogenezi tetikleyebilen çevresel faktörler arasında viral enfeksiyonların rolü her geçen gün daha fazla tartışılmaya başlanmıştır. Kene kaynaklı Ensefalit virüsü (TBE), Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1), Herpes Simpleks Virüsü TİP -1 (HSV-1), Varisella zoster virüsü (VZV), (İnsan Herpes Virüsü 6) HHV-6 ve özellikle (Epstein-Barr virüsü) EBV üzerinde en çok durulan viral etkenlerdir.

MS gelişme riski; çocuklukta EBV enfeksiyonu öyküsü olan kişilerde yaklaşık 15 kat, ergenlik döneminde veya daha sonra EBV ile enfekte olanlarda yaklaşık 30 kat daha yüksektir (Ascherio ve ark.,2010). Son zamanlarda yapılan araştırmalar; İnsan Endojen Retrovirüslerin (HERV), MS gelişimi ve hastalığın ilerlemesi için bir risk faktörü olabileceği yönünde ciddi ipuçları içermektedir (Morandi ve ark., 2017).

Retrovirüsler, RNA'dan DNA'ya geçişi katalize eden ters transkriptaz (RT) adlı bir enzimi kodlayan, pozitif RNA zinciri taşıyan 7-10 kb içeren bir protein zarfı (yaklaşık 100 nm çapında) olan virüslerdir (Dolei A, Perron H.2009). HERV provirüs dizisi, iki uzun terminal tekrarı (LTR'ler) arasına sıkıştırılmış *gag*, *pol*, *pro* ve *env* bölgelerinden oluşur. HERV'ler, promotörler/arttırıcılar veya Long non-coding RNA (lncRNA) lar aracılığıyla protein sentezi üzerindeki etkisi insan sağlığını etkileyen çeşitli biyolojik süreçleri tetikler. HERV'ler, insan genomuna, ekzojen retrovirüsler vasıtasıyla germ hattı hücrelerinin enfeksiyonları sırasında viral DNA kopyalarının (provirüsler) kromozomlara yerleştirilmesi yoluyla girmiştir. Olgun viral partikül oluşumu ve eksojenik saçılım mekanizmasının ortadan kalktığı bu entegrasyonda; kromozomal bir gen ifadesine dönüşmüş. Kodlama kabiliyeti devam eden viral dizilimler sözkonusudur. Çevresel faktörler ve diğer birçok epigenetik etkileşim; tıpkı kromozomal genler gibi, entegre retroviral genlere de hareketlilik ve fonksiyonellik kazandırmaktadır (Perron ve Lang 2010; Charvet ve diğerleri. 2018).

HERV dizilimlerinin neden ve nasıl ifade edilebileceği, bu dizilimin entegre olduğu/bulunduğu kromatinin durumuna bağlıdır (Van de Lagemaat ve ark., 2006). HERV elementleri de dahil olmak üzere insan genlerinin epigenetik kontrolü için DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gereklidir. Fonksiyonel transkripsiyon

için ön koşulları vardır. HERV dizilerinin fonksiyonel uzun terminal tekrarlarını (LTR) tutması gerekir. Açık okuma çerçevelerini (ORF) bozan silmeler veya nükleotit ikameleri olmaksızın başka bir promotör tarafından kontrol edilmesidir. Kodlama bölgelerinin kromatin erişilebilirliğini içeren nükleer mikro-ortam dokular arasında farklılık gösterir. Aktif edilecek bir HERV kopyasının temel yatkınlığı; dokuya, hücreye veya olgunlaşma aşamasına göre değişebilir (Küry ve ark., 2018).

Epigenetik düzenleme, kromatin oluşturmak için hem DNA'nın hem de DNA'nın etrafına sarıldığı histonların modifikasyonunu içerir. Kromatinin oluşumu ve paketlenmesinin kendisi epigenetik bir mekanizmadır. Sıkı bir şekilde paketlenmiş kromatin, gen susturma ile ilişkilidir ve bunun tersi de geçerlidir. Düzenleme, metil veya asetil grupları gibi kimyasal grupların eklenmesiyle nükleotidlerin ve proteinlerin modifikasyonu ile sağlanır. HERV'nin LTR dizilerinin, proinflamatuvar sitokin genleri için promotörler olarak hareket ettiği dikkate alındığında, bu tür sinyaller, düzenleyici bir geri besleme döngüsünün parçası olabilir. Epigenetik değişiklikler dokulara özgüdür. Geleneksel DNA amplifikasyon yöntemlerine dayanan ilişkilendirme veya bağlantı çalışmaları ile tespit edilemez (Küçükali ve ark., 2015). DNA veya histon değiştirici enzimleri inhibe eden ilaçların kullanımını susturulmuş genlerin yeniden aktivasyonu ile sonuçlanır (Hurst & Magiorkinis, 2017).

Son yıllarda, HERV-W ile ilişkilendirilen DNA azaltılmış metilasyon; artan inflamasyon, azalan miyelinasyon ve demiyelinizasyonla MS patogenezinde bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Kremer ve ark. 2013; Perron ve Lang, 2010). DNA metilasyonunun bozulması, otoreaktif CD4+ T hücrelerinin oluşumunda önemli bir epigenetik faktör gibi görünmektedir. DNA metilasyon inhibitörlerinin antijen aracılı immün hücre aktivasyonu üzerindeki baskıyı serbest bırakabileceği gösterilmiştir. Yapılan bazı hayvan deneylerinde T hücrelerinde daha geniş bir antijen dizisine yanıt vermesini sağladığını gösteren kanıtların, epigenetiğin otoimmünedeki rolünü ortaya koymaktadır (Küçükali ve ark., 2015).

Demiyelinizasyon oluşması beyin parankimini veya periferik sinirleri etkileyen enfeksiyonları oluşturur. Demiyelinizasyon oluşumu için bu zamana kadar önerilen bazı etki mekanizmaları vardır. Sinir miyeline karşı otoreaktif T hücrelerinin

aktivasyonu, seyirci aktivasyonu, epitop yayılması, moleküler taklit ve virüs-virüs etkileşimler demiyelinizasyona sebep olan etki mekanizmalarıdır. Bununla birlikte, virüslerin çoğu için MS bağlantısının zayıf olduğu gösterilmiştir. MS'de viral tutulum için en tutarlı ve bağımsız olarak doğrulanmış çalışmalar EBV için tanımlanmıştır. EBV'nin HERV-W aktif edebildiğini Küry ve arkadaşları bildirmiştir. EBV enfeksiyonu ile tetiklenen, HERV-W'nin otoreaktif T hücrelerini indükleyerek, enflamasyon ve remiyelinizasyon blokajına yol açtığını ifade etmişlerdir. Buna ek olarak, MS öncesinde ve sırasında doğrudan bir nöropatojenik etkinin varlığı da kuvvetle muhtemeldir (Küry ve ark., 2018).

Mameli ve arkadaşları; susturulmuş HERV'lerin, altta yatan karmaşık aktivasyon mekanizmalarına dayalı olarak çeşitli nörolojik koşullarda spesifik olarak tekrar aktive edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Bu bağlamda, çok sayıda çalışmada, HERV aktivasyonu ile Epstein Barr virüsü (EBV) gibi virüslerin yol açtığı hastalıklar arasında bağlantılar kurulmuştur. EBV gp350 proteinin, B hücreleri ve monositlerde HERV-W ekspresyonunu aktive ettiği, ancak T hücrelerinde HERV-W ekspresyonunu aktivite olmadığı in vitro olarak gösterilmiştir.

HERV ekspresyonunun engelleyen mekanizmaların düzenleyicisi olarak görev alan aktivatörler enfeksiyon sırasında daha uzun vadeli epigenetik modifikasyon yoluyla aktif olabilirler. Kültürde yapılan çalışmalarda, HERV-W genlerinin/proteinlerinin ekspresyonu, Epstein Barr virüsü (EBV), herpes simpleks virüsü tip 1 ve influenza virüsü tarafından aktive edildiği, ancak kuduz virüsü tarafından aktiveleştirilemediği gösterilmiştir (Dolei & Perron, 2009). İlginç bir şekilde, HERV-W'yi aktif edebilen Herpesviridae epidemiyolojik çalışmalarda MS ile güçlü bir ilişkisi olduğu belirtilmiştir. (Mameli ve ark., 2013) HERV-W ekspresyonu, geçmiş EBV enfeksiyonunun bir belirteci olan yüksek düzeyde anti-EBNA IgG'si olan hastalarda artmaktadır. EBV'nin ayrıca konak hücre DNA'sının epigenetik özelliklerini güçlü bir şekilde değiştirdiği gösterilmiş olması, EBV'nin bir hazırlayıcı yada tetikleyici olarak hareket ettiği hipotezini destekleyebilir. Ancak bu doğrudan kanıtlanmamıştır. Herpesviridae'nin (veya diğer çevresel aktive edici faktörlerin), MS'de patojenik bir efektör olarak hareket eden Env proteini ile HERV-W ekspresyonunu yukarı regüle ettiği öne sürülmektedir (Mameli ve ark., 2013).

Bruked ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, retrovirüs antijenlerinin diğer viral antijenlere karşı hücrel immünolojik reaktivite üzerindeki etkisi analiz edilmiştir. Bu araştırma ile, MS hastalarının retrovirüs ve herpes virüsü antijenlerine, özellikle antijen kombinasyonlarına karşı hücre aracılı bağışıklık tepkileri irdelenmiştir. 47 MS hastası ve 36 sağlıklı gönüllü den alınan periferik kan mononükleer hücreleri analiz edilmiştir. Endojen retrovirüs HERV-H ve Herpes virüsü antijenlerinin kombinasyonları, hem MS hastaları hem de sağlıklı denekler arasında yüksek oranda artan hücrel bağışıklık tepkileriyle sonuçlandı. Artış, çoğu örnekte karakter olarak sinerjiktir. İki farklı Herpes virüsün antijenleri veya Kızamık ve Herpes virüslerin antijenlerin den oluşan kombinasyonlarını birleştiren blast transformasyon deneyleri de hiçbir sinerji göstermedi. Retrovirüs ve Herpes virüslerinin antijenleri birlikte hücrel bağışıklık tepkisi üzerinde belirgin bir sinerjistik etki gösterdi fakat sinerjinin nedeni bilinmiyor (Brudek ve ark., 2004). HERV ekspresyonu yükselmesinde sinerjik etkiler önemli rol almaktadır.

Normal bireylerde, astrositler, monositler, NK ve B hücrelerinde az miktarda da olsa HERV-W'nin ekspresyonu mevcuttur. MS hastalarında normal bireylere göre daha yüksek HERV-W ekspresyonunu vardır. Fakat HERV-W, T hücrelerinde ifade edilmemektedir. Beyinde oligodendroglial öncü hücrelerde HERV-W *Env* gen aktivasyonu proinflamatuvar sitokinlerini etkiler. Böylelikle indüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) üretilmesine, nitro-tirozin gruplarının oluşumuna ve miyelin protein ekspresyonunun azalmasına yol açar. Kronik aktif MS'li hastaların beyin lezyonlarında, oligodendroglial öncü hücrelere yakın mikroglia/makrofajlarda HERV-W *Env* saptanmıştır.

HERV-W *Env* proteininin T-lenfositleri aktive ederek nöropatolojiye neden olan bir süper antijen olan (T lenfositlerin antijenden bağımsız bir poliklonal aktivasyonunu ortaya çıkarabilen bir protein) V16'ya benzer özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Bortlik ve ark., 2021).

Enflamatuvar süreçler, epigenetik düzensizlik yoluyla HERV'leri aktif edebilen başlıca uyarılardır. HERV-W dizilerinin transkripsiyonunun, MS hastalarından alınan kültür hücrelerinde proinflamatuvar sitokinler tarafından yukarı regüle edildiği bunu teyit etmiştir (Serra ve ark., 2003). Araştırmamızın temel hipotezlerinden biri;

MS hastalığın etyolojisinde yer alan enflamatuar süreçlerde HERV-W *Env* dizilerinin aktif ve artmış olabileceği yönündeydi. Öte yandan, araştırmamızın hedefleri arasında TRIM5a ve BTS-2 antiviral proteinlerinin farklı hasta grupları ve kontrol grubundaki düzeylerinin belirlenmesi vardı.

Normal dokularda eksojen ve endojen retrovirüslerin baskılanmasında bütünüleyici bir rol oynayan ve retroviral kısıtlama faktörlerini içeren bir dizi hücrel protein vardır. Bu proteinlerin (Herpes virüsleri ve grip virüsleri gibi) başka virüslerin replikasyonunu da etkiledikleri bilinmektedir. (Bortlik ve ark., 2021).

Serra ve arkadaşları MS seyrinde sitokinlerin HERV-W modülasyonu üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında; virüs salımı ile interlekin (IL)-4 ve IL-6, interferon gama ve tümör nekroz faktörü (TNF)alfa üretimini korele bulmuşlardır. Araştırmacılar, MS tedavisinde kullanılan interferon betanın HERV-W salınımını inhibe ettiğini göstermişlerdir (Serra ve ark., 2003).

Çoğu çalışmada, MS hastalarının kontrollere kıyasla daha yüksek HERV ekspresyonuna sahip olduğunu göstermektedir. Bu kanıt, Morandi ve arkadaşlarının 43 çalışmayı analiz ettikleri ve HERV'lerin, özellikle HERV-W ailesi ile MS arasında bir ilişki olduğunu gösterdikleri bir meta-analiz ile desteklenmiştir (Morandi ve ark., 2017). Natalizumab'ın MS hastalarında kullanımının HERV-W gen ekspresyonunu engellediği gösterilmiştir. Natalizumab kullanılan hastalarda tedavi sırasında hiçbir MS hastası relaps olmaması enteresan bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (Arru ve ark., 2013). Hastalık modifiye edici immünoterapiler (Natalizumab ve interferon (IFN)- β) ile ilgili yapılan çalışmalar, MS hastalarında bu ilaçların 3 ve 6 aylık tedavileri sırasında HERV-W/MSRV ekspresyonunu inhibe edebildiğini göstermektedir. (Küçükali ve ark., 2015).

Çalışmamızda, McDonald (2017) tanı kriterine göre RRMS tansı almış hastalar dahil edilmiştir. Araştırmamızda MS'li hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında HERV-W *Env* protein düzeyi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Nitekim benzer amaçlarla yapılmış farklı bir çalışmada; MS'li doku numuneleri ve sağlıklı doku numuneleri arasında nispi transkripsiyon seviyeleri için net bir fark

ortaya konmamıştır (Schmitt ve ark., 2013). MS'li hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan PBMC örneklerinde HERV-W ekspresyonunu karşılaştıran başka bir çalışmada da farklı ekspresyonun seviyeleri açısından bir fark saptanmamıştır.(Laufer ve ark., 2009). Endojen viral gen ifadesinin uzun soluklu hücresel süreçler ve kronik hastalık sürecindeki potansiyel rolü; uzun takip, farklı zamanlar ve farklı numuneler ile elde edilecek süreç analizleriyle daha net ortaya konabilecektir. Bu durum çalışmamız sonuçları açısından da kısıtlayıcı bir faktör olarak ortaya çıkmıştır.

Endojen retrovirüslerin bazılarının neden belirli patolojik koşullarda eksprese edildiği hala tam olarak belirlenmemiştir. Mutasyonlar nedeniyle retrovirüsün inaktivasyonuna ek olarak, HERV replikasyonunu etkileyebilecek ve kısıtlayabilen farklı hücre içi faktörler vardır. Hücresel proteinlerin DNA'yı metilleyebildiği ve viral RNA transkripsiyonunu susturmak veya bastırmak için histon modifikasyonu getirebildiği epigenetik mekanizmalar söz konusudur (Stoye, 2012)

MS ile değişen epigenetik düzenleme arasında doğrudan bir bağlantı, MS'in immünopatolojisi, özellikle Th1, Th2 ve Th17 hücrelerinin farklılaşması ve sitokin üretimi üzerine yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Benzer epigenetik değişikliklerin HERV'lerin ekspresyonunu etkilemesi beklenebilir bir durumdur (Küçükali ve ark., 2015).

Hastalığın remisyona girmesi ya da immünosupresif/immünomodülatör tedavilerin kısıtlı klinik faydaları HERV-W'nin ekspresyonu üzerinde frenleyici bir rol oluşturuyor olabilir.

TRIM ailesinin (TRIM5 α ve TRIM22) iki kısıtlama faktöründeki SNP ler, MS hastalığının patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Nexø ve ark., 2013). Çalışmamızda BTS-2 ve TRIM5 α ile hedef gen ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır.

TRIM5 ve BST2 gibi intrinsik kısıtlama faktörlerinin bazı retrovirüs genleri üzerinde baskılayıcı etki gösteriyor olmasının keşfi, bu virüslerin konak hücre ile olan etkileşimleri üzerine yeni perspektifler kazandırmıştır (Bortlik ve ark., 2021). Bu etki, hem viral replikasyonun bizzat engellenmesi hemde interferonlar gibi

antiviral mekanizmaların tetiklenmesi ile oluşmaktadır.

Kısıtlama faktörleri olarak görev alan TRIM'ler, çoğu zaman virüs replikasyonunu önlemek için yeterli miktarlarda sentezlenir. Buna rağmen IFN'ler dahil olmak üzere çeşitli uyarıcılar aracılığı ile TRIM'in ekspresyonunu daha da arttırılabilir (Berthoux, 2020). TRIM faktörleri birçok retrovirüsü çeşitli derecelerde etkiler (Passerini ve ark., 2006). Araştırma sonuçlarımıza göre, TRIM5 α 'nin ekspresyonu çalışma grupları arasında anlamlı bir fark sergilemedi. Çalışma gruplarında yer alan her bir bireyin kullandığı ilaçların yol açabileceği etkileşimleri, bireysel sitokin kompozisyonlarını veya potansiyel epigenetik etkileri değerlendirmemiz araştırmamızın kısıtlı yönleri olarak değerlendirilmiştir.

IFN α tarafından indüklenen BST-2 bir hücre yüzeyi proteini (Liberatore & Bieniasz, 2011). Konakçı hücrelerden zarflı virüslerin salınımını baskılayan bir konak kısıtlama faktörü olarak tanımlanmıştır (Li ve ark., 2021). Doğuştan gelen bağışıklığın diğer bileşenleri gibi, BST-2 ekspresyonu da tip I interferonlar tarafından indüklenebilir. Doğrudan antiviral etkisine ek olarak, BST-2 ayrıca bir virüs oluşumu sensörüdür. Viral çıkışı bloke ederken NF-KB (nuclear factor-kappa B) üzerinden proinflamatuar yanıtı indükler. Zamanla, virüsler BST-2 aracılı kısıtlamadan kaçınmak için stratejiler geliştirmişlerdir. BST-2'e karşı koyabilen çok sayıda bağımsız viral protein örneği, farklı viral ailelerde tanımlanmıştır (Lemaître ve ark., 2014). MS li bireylerin daha fazla HERV-W lokusuna sahip olabileceği iddia edilmiştir (Garcia-Mortojo ve diğerleri 2013). Erken dönem teşhis almış RRMS hastalarda sıklıkla tanımlanan inflamatuvar süreçte, DNA heterokromatin/ökromatin dönüşümleri viral gen içeren lokuslardan daha fazla ekspresyona sebep olabilir. Tip I IFN'ye yanıt olarak yüksek miktarda ekspresyona yol açabilen bu süreç; olgun B hücreleri, plazma hücreleri ve plazmasitoid dendritik hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde ortaya çıkar (Khan ve ark., 2019). Çalışmamızda BST-2'nin, MS'li hastalarda kontrol grubuna göre 3,5 kat artış olması bu süreçle ilgili beklentiler yönünde korelasyon göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda HERV-W *erv* ve TRIM5 gen ekspresyon düzeyleri kontrol ve hasta gruplarında benzer profil sergiledi. Öte yandan BTS-2 ekspresyon düzeyleri MS'li hastalarda kontrol grubuna göre 3,5 kat yüksek tespit edildi.

HERV-W gen ekspresyon düzeylerinin oldukça dinamik ve sofistike etkileşimlerden (Epigenetik, hücrel kontrol mekanizmaları, sitokinler, interferon salınımı vb durumlar) etkilenebileceği gerçeği, araştırmamızda gerçekleştirdiğimiz ölçümlerin birden fazla zamanlı ölçüm ve bir süreç analizi ile yapılmasının daha sağlıklı olacağı kanaati uyandırdı.

TRIM5 gen ekspresyon düzeyleri ile hastalık ve hastalığın seyrine yönelik anlamlı bir ilişki kurulamadı.

BTS-2 gen ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek çıktı ve bu durum doğal bağışıklık yanıtın MS hastalığı üzerindeki etkisinin bir sonucu olarak değerlendirildi.

HERV'ler ve MS hastalığının arasında bir ilişki olduğunu destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Yine artan bazı antiviral proteinlerin artan ekspresyonunun hastalığındaki inflamatuvar süreçleri tetiklediği birçok araştırmada vurgulanmıştır. Bu iki temel aks üzerinden kurguladığımız araştırmamızın geniş kapsamlı çalışmalara esin kaynağı olmasını ümit ediyoruz. Bu anlamda; Antiviral proteinlerin çalışma mekanizmaları hakkında daha fazla olası faktörlerin irdelenmesi gerekirken, HERV'ler ile MS hastalığının net olarak ilişkilendirilmesi için standart ve optimize edilmiş bir tekniğin henüz olmaması önemli bir sorundur.

7. KAYNAKLAR

- Adams, J. M., & Angeles, L. (1975). Medical Progress). In *West J Med* (Vol. 122).
- Akan Karlsson, H., & Li, F. (2016). Expression and regulation of human endogenous retrovirus W elements. *APMIS*, 124, 52–66. <https://doi.org/10.1111/apm.12478>
- Akdemir, N., Terzi, M., Arslan, N., & Onar, M. (2017). Prevalence of Multiple Sclerosis in the Middle Black Sea Region of Turkey and Demographic Characteristics of Patients. *Archives of Neuropsychiatry*, 54(1), 11. <https://doi.org/10.5152/NPA.2016.12451>
- Anderson, J. L., Campbell, † Edward M, Wu, † Xiaolu, Vandegraaff, N., Engelman, A., & Hope, T. J. (2006). Proteasome Inhibition Reveals that a Functional Preintegration Complex Intermediate Can Be Generated during Restriction by Diverse TRIM5 Proteins. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 80(19), 9754–9760. <https://doi.org/10.1128/JVI.01052-06>
- Andrew, A. J., Miyagi, E., Kao, S., & Strebel, K. (2009a). *The formation of cysteine-linked dimers of BST-2/tetherin is important for inhibition of HIV-1 virus release but not for sensitivity to Vpu*. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-80>
- Antony, J. M., DesLauriers, A. M., Bhat, R. K., Ellestad, K. K., & Power, C. (2011). Human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: Innocent bystanders or disease determinants? In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* (Vol. 1812, Issue 2, pp. 162–176). <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.07.016>
- Arru, G., Leoni, S., Pugliatti, M., Mei, A., Serra, C., Delogu, L. G., Manetti, R., Dolei, A., Sotgiu, S., & Mameli, G. (2013). Natalizumab inhibits the expression of human endogenous retroviruses of the W family in multiple sclerosis patients: a longitudinal cohort study. *Http://Dx.Doi.Org/10.1177/1352458513494957*, 20(2), 174–182. <https://doi.org/10.1177/1352458513494957>
- Arru, G., Mameli, G., Astone, V., Serra, C., Huang, Y.-M., Link, H., Fainardi, E., Castellazzi, M., Granieri, E., Fernandez, M., Villoslada, P., Fois, M. L., Sanna, A., Rosati, G., Dolei, A., & Sotgiu, S. (2007). *International journal of Biomedical science Multiple Sclerosis and HERV-W/MSRV: A Multicentric Study*. www.ijbs.org
- Ascherio, A., & Munger, K. L. (2007). *Environmental Risk Factors for Multiple Sclerosis. Part I: The Role of Infection*. <https://doi.org/10.1002/ana.21117>
- Balestrieri, E., Minutolo, A., Petrone, V., Fanelli, M., Iannetta, M., Malagnino, V., Zordan, M., Vitale, P., Charvet, B., Horvat, B., Bernardini, S., Garaci, E., di Francesco, P., Sinibaldi Vallebbona, P., Sarmati, L., Grelli, S., Andreoni, M., Perron, H., & Matteucci, C. (2021). Evidence of the pathogenic HERV-W envelope expression in T lymphocytes in association with the respiratory outcome of COVID-19 patients. *EBioMedicine*, 66. <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2021.103341>
- Bates, P., Kaletsky, R. L., Francica, J. R., & Agrawal-Gamse, C. (2009). Tetherin-mediated restriction of filovirus budding is antagonized by the Ebola glycoprotein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(8), 2886–2891. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0811014106>
- Battivelli, E., Migraine, J., Lecossier, D., Matsuoka, S., Perez-Bercoff, D., Saragosti, S., Clavel, F., & Hance, A. J. (2011). Modulation of TRIM5 Activity in Human Cells by Alternatively Spliced TRIM5 Isoforms ‡. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 85(15), 7828–7835. <https://doi.org/10.1128/JVI.00648-11>
- Bello-Morales, R., Andreu, S., Ripa, I., & López-Guerrero, J. A. (2021). HSV-1 and Endogenous Retroviruses as Risk Factors in Demyelination. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS22115738>
- Berthoux, L. (2011). *The Restrictome of Flaviviruses*. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00208-3>
- Boehm, U., Klamp, T., Groot, M., & Howard, J. C. (1997a). Cellular responses to interferon-gamma. *Annual Review of Immunology*, 15, 749–795. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.15.1.749>
- Boeke, J., & Stoye, J. (1997). Retrotransposons, Endogenous Retroviruses, and the Evolution of Retroelements. *Retroviruses*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19468/>
- Bortlik, M., Copertino, D. C., Brailey, P. M., Beckerle, G. A., Ormsby, C. E., Rosenberg, M. G., Wiznia, A. A., Raposo, R. A. S., Nixon, D. F., & de Mulder Rougvie, M. (2021). Restriction Factor Expression in Vertically Infected Children Living with HIV-1. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 144–146. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002924>
- Boz C. Multiple skleroz tanısı; Septomatoloji ve güncel tanı kriterleri. Duman T, editör. Multipl skleroz.1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020 . p.5-12.
- Brass, A. L., Dykxhoorn, D. M., Benita, Y., Yan, N., Engelman, A., Xavier, R. J., Lieberman, J., & Elledge, S. J. (2008). Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. *Science (New York, N.Y.)*, 319(5865), 921–926. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1152725>
- Brudek, T., Christensen, T., Aagaard, L., Petersen, T., Hansen, H. J., & Møller-Larsen, A. (2009). B cells

- and monocytes from patients with active multiple sclerosis exhibit increased surface expression of both HERV-H Env and HERV-W Env, accompanied by increased seroreactivity. *Retrovirology*, 6. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-104>
- Casetta I, Granieri E. Clinical infections and multiple sclerosis: contribution from analytical epidemiology. *J Neuro Virol* 2000; 6 (Suppl 2): 147-151.
- Campbell, E. M., Dodding, M. P., Yap, M. W., Wu, X., Gallois-Montbrun, S., Malim, M. H., Stoye, J. P., & Hope, T. J. (2007). TRIM5 Cytoplasmic Bodies Are Highly Dynamic Structures □ V. *Molecular Biology of the Cell*, 18, 2102–2111. <https://doi.org/10.1091/mbc.E06>
- Campbell, E. M., Weingart, J., Sette, P., Opp, S., Sastri, J., O’connor, S. K., Talley, S., Diaz-Griffero, F., Hirsch, V., Bouamr, F., Campbell, C., Sk, W. J., Diaz-Griffero, T. S., & Bouamr, H. v. (2016). TRIM5-Mediated Ubiquitin Chain Conjugation Is Required for Inhibition of HIV-1 Reverse Transcription and Capsid Destabilization. *J Virol*, 90, 1849–1857. <https://doi.org/10.1128/JVI.01948-15>
- Chen, J., Foroozesh, M., & Qin, Z. (2011). *Transactivation of human endogenous retroviruses by tumor viruses and their functions in virus-associated malignancies*. <https://doi.org/10.1038/s41389-018-0114-y>
- Compston, A., & Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *The Lancet*, 372(9648), 1502–1517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61620-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61620-7)
- Diaz-Griffero, F., Kar, A., Perron, M., Xiang, S.-H., Javanbakht, H., Li, X., & Sodroski, J. (2007). Modulation of Retroviral Restriction and Proteasome Inhibitor-Resistant Turnover by Changes in the TRIM5 B-Box 2 Domain. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 81(19), 10362–10378. <https://doi.org/10.1128/JVI.00703-07>
- Dubois-Dalcq, M., & Armstrong, R. (1990). The cellular and molecular events of central nervous system remyelination. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 12(12), 569–576. <https://doi.org/10.1002/BIES.950121203>
- Dubois-Dalcq, M., Behar, T., Hudson, L., & Lazzarini, R. A. (1986). Emergence of three myelin proteins in oligodendrocytes cultured without neurons. *The Journal of Cell Biology*, 102(2), 384–392. <https://doi.org/10.1083/JCB.102.2.384>
- Ebers GC, Sadovnick AD. Epidemiology. In: Paty DW, Ebers GC (eds), Multiple Sclerosis. FA Davis Company, Philadelphia 1998, pp 5- 28
- Ferrante P, Castellani P, Barbi M, Bergamini F. The Italian Cooperative Multiple Sclerosis case-control study: preliminary results on viral antibodies. *Ital J Neurol Sci*. 1987 Jun;Suppl 6:45-50.
- Fischer, S., Echeverría, N., Moratorio, G., Landoni, A. I., Dighiero, G., Cristina, J., Oppezzo, P., & Moreno, P. (2014). Human endogenous retrovirus np9 gene is over expressed in chronic lymphocytic leukemia patients. *Leukemia Research Reports*, 3(2), 70–72. <https://doi.org/10.1016/J.LRR.2014.06.005>
- Fitzpatrick, K., Skasko, M., Deerinck, T. J., Crum, J., Ellisman, M. H., & Guatelli, J. (2010). Direct restriction of virus release and incorporation of the interferon-induced protein BST-2 into HIV-1 particles. *PLoS Pathogens*, 6(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1000701>
- Fox, E. J., Buckle, G. J., Singer, B., Singh, V., & Boster, A. (2019). Lymphopenia and DMTs for relapsing forms of MS: Considerations for the treating neurologist. *Neurology. Clinical Practice*, 9(1), 53–63. <https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000000567>
- Ganser-Pornillos, B. K., & Pornillos, O. (2011). *The restriction activity of TRIM5a and TRIMCyp collectively termed*. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0225-2>
- Ghasemi, N., Razavi, S., & Nikzad, E. (2017). Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. *Cell Journal (Yakhteh)*, 19(1), 1. <https://doi.org/10.22074/CELLJ.2016.4867>
- Gimenez, J., Cile Montgiraud, C. É., Oriol, G., Pichon, J.-P., Ruel, K., Tsatsaris, V., Gerbaud, P., Frendo, J.-L., Danie` , D., Evain-Brion, D., & Mallet, F. (2011). *Comparative Methylation of ERVWE1/Syncytin-1 and Other Human Endogenous Retrovirus LTRs in Placenta Tissues*. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsp011>
- Giraldo, M. I., Hage, A., van Tol, S., & Rajsbaum, R. (2011). *TRIM Proteins in Host Defense and Viral Pathogenesis*. <https://doi.org/10.1007/s40588-020-00150-8>
- Go, V., Sarikaya, D., Zhou, Y., Bowley, B. G. E., Pessina, M. A., Rosene, D. L., Zhang, Z. G., Chopp, M., Finklestein, S. P., Medalla, M., Buller, B., & Moore, T. L. (2021). Extracellular vesicles derived from bone marrow mesenchymal stem cells enhance myelin maintenance after cortical injury in aged rhesus monkeys. *Experimental Neurology*, 337, 113540. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2020.113540>
- Goffinet, C., Allespach, I., Homann, S., Tervo, H. M., Habermann, A., Rupp, D., Oberbremer, L., Kern, C., Tibroni, N., Welsch, S., Krijnse-Locker, J., Banting, G., Kräusslich, H. G., Fackler, O. T., & Keppler, O. T. (2009). HIV-1 antagonism of CD317 is species specific and involves Vpu-mediated proteasomal degradation of the restriction factor. *Cell Host & Microbe*, 5(3), 285–297.

- <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2009.01.009>
- Griffiths, D. J. (2001). Endogenous retroviruses in the human genome sequence. *Genome Biology*, 2(6). <https://doi.org/10.1186/GB-2001-2-6-REVIEWS1017>
- Henry, J., Mather, I. H., Mcdermott, M. F., & Pontarotti, P. (1998). B30.2-like Domain Proteins: Update and New Insights into a Rapidly Expanding Family of Proteins. *Mol. Biol. Evol.*, 15(12), 1696–1705. www.sanger.ac.uk
- Houzen, H., Niino, M., Hirotsu, M., Fukazawa, T., Kikuchi, S., Tanaka, K., & Sasaki, H. (2012). Increased prevalence, incidence, and female predominance of multiple sclerosis in northern Japan. *Journal of the Neurological Sciences*, 323(1–2), 117–122. <https://doi.org/10.1016/J.JNS.2012.08.032>
- Huang, Q., Li, J., Wang, F., Oliver, M. T., Tipton, T., Gao, Y., & Jiang, S.-W. (2013). Syncytin-1 modulates placental trophoblast cell proliferation by promoting G1/S transition HHS Public Access. *Cell Signal*, 25(4), 1027–1035. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.01.008>
- James, L. C., Keeble, A. H., Khan, Z., Rhodes, D. A., & Trowsdale, J. (2007). *Structural basis for PRYSPRY-mediated tripartite motif (TRIM) protein function.* www.pnas.org/cgi/content/full/
- Jern, P., Sperber, G. O., & Blomberg, J. (2005). Use of endogenous retroviral sequences (ERVs) and structural markers for retroviral phylogenetic inference and taxonomy. *Retrovirology*, 2. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-2-50>
- (Kaya 2020). Kale N. Multipl sklerozun immunopatogenezi, nöroinflamasyon, demyelinizasyon, remyelinizasyon, nörodejenerasyon ve akson kaybı. Duman T, editör. Multipl Skleroz. 1. Baskı. Ankara :Türkiye Klinikleri; 2020. p.1-4.
- Kadriye Balcı Tombak, K. A. R. K. (2010). *Multipl Sklerozlu Hastalarda Yürüme Mesafesinin EDSS Puanı Üzerine Etkileri The Effect of Walking Distance on EDSS Score in Patients with Multiple Sclerosis.*
- Karussis, D. (2014). The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: a critical review. *Journal of Autoimmunity*, 48–49, 134–142. <https://doi.org/10.1016/J.JAUT.2014.01.022>
- Khan, R., Khan, A., Ali, A., & Idrees, M. (2019). The interplay between viruses and TRIM family proteins. *Reviews in Medical Virology*, 29(2), e2028. <https://doi.org/10.1002/RMV.2028>
- Kieseier, B. C. (2011). *The Mechanism of Action of Interferon-β in Relapsing Multiple Sclerosis.*
- Kingwell, E., Marriott, J. J., Jetté, N., Pringsheim, T., Makhani, N., Morrow, S. A., Fisk, J. D., Evans, C., Béland, S. G., Kulaga, S., Dykeman, J., Wolfson, C., Koch, M. W., & Marrie, R. A. (2013). Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Europe: a systematic review. *BMC Neurology*, 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-13-128>
- Klineova, S., & Lublin, F. D. (2018). *Clinical Course of Multiple Sclerosis.* <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028928>
- Komurian-Pradel, F., Paranhos-Baccala, G., Bedin, F., Ounanian-Paraz, A., Sodoyer, M., Ott, C., Rajoharison, A., Garcia, E., Mallet, F., Mandrand, B., & Perron, H. (1999). Molecular cloning and characterization of MSRV-related sequences associated with retrovirus-like particles. *Virology*, 260(1), 1–9. <https://doi.org/10.1006/VIRO.1999.9792>
- Kremer, D., Gruchot, J., Weyers, V., Oldemeier, L., Göttle, P., Healy, L., Jang, J. H., Xu, Y. K. T., Volsko, C., Dutta, R., Trapp, B. D., Perron, H., Hartung, H. P., & Küry, P. (2019). pHERV-W envelope protein fuels microglial cell-dependent damage of myelinated axons in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(30), 15216–15225. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1901283116>
- Kremer, D., Schichel, T., Förster, M., Tzekova, N., Bernard, C., van der Valk, P., van Horssen, J., Hartung, H. P., Perron, H., & Küry, P. (2013). Human endogenous retrovirus type W envelope protein inhibits oligodendroglial precursor cell differentiation. *Annals of Neurology*, 74(5), 721–732. <https://doi.org/10.1002/ANA.23970>
- Kupzig, S., Korolchuk, V., Rollason, R., Sugden, A., Wilde, A., & Banting, G. (2003). Bst-2/HM1.24 is a raft-associated apical membrane protein with an unusual topology. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 4(10), 694–709. <https://doi.org/10.1034/J.1600-0854.2003.00129.X>
- Küry, P., Nath, A., Créange, A., Dolei, A., Marche, P., Gold, J., Giovannoni, G., Hartung, H. P., & Perron, H. (2018a). Human Endogenous Retroviruses in Neurological Diseases. *Trends in Molecular Medicine*, 24(4), 379–394. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2018.02.007>
- Langelier, C. R., Sandrin, V., Eckert, D. M., Christensen, D. E., Chandrasekaran, V., Alam, S. L., Aiken, C., Olsen, J. C., Kar, A. K., Sodroski, J. G., & Sundquist, W. I. (2008). Biochemical Characterization of a Recombinant TRIM5 Protein That Restricts Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication †. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 82(23), 11682–11694. <https://doi.org/10.1128/JVI.01562-08>
- Laufer, G., Mayer, J., Mueller, B. F., Mueller-Lantzsch, N., & Ruprecht, K. (2009). *Analysis of transcribed human endogenous retrovirus W env loci clarifies the origin of multiple sclerosis-associated retrovirus env sequences.* <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-37>

- Lee, H.-J. (2018). The Role of Tripartite Motif Family Proteins in TGF- β Signaling Pathway and Cancer. *Journal of Cancer Prevention*, 23(4), 162–169. <https://doi.org/10.15430/jcp.2018.23.4.162>
- Lemaître, C., Harper, F., Pierron, G., Heidmann, T., & Dewannieux, M. (2014). The HERV-K Human Endogenous Retrovirus Envelope Protein Antagonizes Tetherin Antiviral Activity. *Journal of Virology*, 88(23), 13626. <https://doi.org/10.1128/JVI.02234-14>
- Lezhnyova, V. R., Martynova, E. v., Khaiboullin, T. I., Urbanowicz, R. A., Khaiboullina, S. F., & Rizvanov, A. A. (2020). The relationship of the mechanisms of the pathogenesis of multiple sclerosis and the expression of endogenous retroviruses. In *Biology* (Vol. 9, Issue 12, pp. 1–17). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biology9120464>
- Li, F., Nellåker, C., Yolken, R. H., & Karlsson, H. (2011). *A systematic evaluation of expression of HERV-W elements; influence of genomic context, viral structure and orientation.* <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-22>
- Löwer, R., Löwer, J., & Kurth, R. (1996). The viruses in all of us: Characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(11), 5177–5184. <https://doi.org/10.1073/PNAS.93.11.5177>
- Mameli, G., Astone, V., Arru, G., Marconi, S., Lovato, L., Serra, C., Sotgiu, S., Bonetti, B., & Dolei, A. (2007). Brains and peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis (MS) patients hyperexpress MS-associated retrovirus/HERV-W endogenous retrovirus, but not human herpesvirus 6. *Journal of General Virology*, 88(1), 264–274. <https://doi.org/10.1099/VIR.0.81890-0>
- Mameli, G., Poddighe, L., Astone, V., Delogu, G., Arru, G., Sotgiu, S., Serra, C., & Dolei, A. (2009). Novel reliable real-time PCR for differential detection of MSRVenV and syncytin-1 in RNA and DNA from patients with multiple sclerosis. *Journal of Virological Methods*, 161(1), 98–106. <https://doi.org/10.1016/J.JVIROMET.2009.05.024>
- Mandell, M. A., Jain, A., Arko-Mensah, J., Chauhan, S., Kimura, T., Dinkins, C., Silvestri, G., Münch, J., Kirchoff, F., Simonsen, A., Wei, Y., Levine, B., Johansen, T., & Deretic, V. (2014). TRIM Proteins Regulate Autophagy and Can Target Autophagic Substrates by Direct Recognition. *Developmental Cell*, 30(4), 394–409. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.06.013>
- Mark J. Tullman, M. (2013). *Overview of the Epidemiology, Diagnosis, and Disease Progression Associated With Multiple Sclerosis.* https://www.ajmc.com/view/ace008_13feb_ms_tullmans15tos20
- Masuyama, N., Kuronita, T., Tanaka, R., Muto, T., Hirota, Y., Takigawa, A., Fujita, H., Aso, Y., Amano, J., & Tanaka, Y. (2009). HM1.24 is internalized from lipid rafts by clathrin-mediated endocytosis through interaction with alpha-adaptin. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(23), 15927–15941. <https://doi.org/10.1074/JBC.M109.005124>
- Mirza, M. (2011). The Etiology And The Epidemiology of Multiple Sclerosis. *ERCİYES MEDICAL JOURNAL*, 24(1), 40–47.
- Miyagi, E., Andrew, A. J., Kao, S., & Strebe, K. (2009). Vpu enhances HIV-1 virus release in the absence of Bst-2 cell surface down-modulation and intracellular depletion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(8), 2868–2873. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0813223106>
- Morandi, E., Tanasescu, R., Tarlinton, R. E., Constantinescu, C. S., Zhang, W., Tench, C., & Gran, B. (2017a). *The association between human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172415>
- Morris G, Maes M, Murdjeva M, Puri BK. Do Human Endogenous Retroviruses Contribute to Multiple Sclerosis, and if So, How? *Mol Neurobiol.* 2019 Apr;56(4):2590-2605. doi: 10.1007/s12035-018-1255-x. Epub 2018 Jul 25. PMID: 30047100; PMCID: PMC6459794.
- Nasrabad, S. E., Rizvi, B., Goldman, J. E., & Brickman, A. M. (2018). White matter changes in Alzheimer's disease: a focus on myelin and oligodendrocytes. *Acta Neuropathologica Communications*, 6(1), 22. <https://doi.org/10.1186/S40478-018-0515-3/FIGURES/3>
- Neil, S. J. D., Zang, T., & Bieniasz, P. D. (2008). Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature*, 451(7177), 425–430. <https://doi.org/10.1038/NATURE06553>
- Nelson, P. N., Carnegie, P. R., Martin, J., Davari Ejtehadi, H., Hooley, P., Roden, D., Rowland-Jones, S., Warren, P., Astley, J., & Murray, P. G. (2003). Demystified. Human endogenous retroviruses. *Molecular Pathology : MP*, 56(1), 11–18. <https://doi.org/10.1136/MP.56.1.11>
- Nelson, P. N., Carnegie, P. R., Martin, J., Ejtehadi, D., Hooley, P., Roden, D., Rowland-Jones, S., Warren, P., & Astley, J. (2003). Demystified. .. Human endogenous retroviruses. *J Clin Pathol: Mol Pathol*, 56, 11–18. <https://doi.org/10.1136/mp.56.1.11>
- Ozato, K., Shin, D.-M., Chang, T.-H., & Iii, H. C. M. (2008). TRIM family proteins and their emerging roles in innate immunity. *NATURE REVIEWS Immunology*, 8, 849. <https://doi.org/10.1038/nri2413>
- Passerini, L. D., Keckesova, Z., & Towers, G. J. (2006). Retroviral Restriction Factors Fv1 and TRIM5 Act

- Independently and Can Compete for Incoming Virus before Reverse Transcription. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 80(5), 2100–2105. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.5.2100-2105.2006>
- Perez-Caballero, D., Hatziiannou, T., Zhang, F., Cowan, S., & Bieniasz, P. D. (2005). Restriction of Human Immunodeficiency Virus Type 1 by TRIM-CypA Occurs with Rapid Kinetics and Independently of Cytoplasmic Bodies, Ubiquitin, and Proteasome Activity. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 79(24), 15567–15572. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.24.15567-15572.2005>
- Perez-Caballero, D., Zang, T., Ebrahimi, A., McNatt, M. W., Gregory, D. A., Johnson, M. C., & Bieniasz, P. D. (2009). Tetherin inhibits HIV-1 release by directly tethering virions to cells. *Cell*, 139(3), 499–511. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2009.08.039>
- Perron, H., Germi, R., Bernard, C., Garcia-Montojo, M., Deluen, C., Farinelli, L., Faucard, R., Veas, F., Stefas, I., Fabrick, B. O., Van-Horssen, J., Van-Der-Valk, P., Gerdil, C., Mancuso, R., Saresella, M., Clerici, M., Marcel, S., Creange, A., Cavaretta, R., ... Hartung, H. P. (2012). Human endogenous retrovirus type W envelope expression in blood and brain cells provides new insights into multiple sclerosis disease. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 18(12), 1721. <https://doi.org/10.1177/1352458512441381>
- Perron, M. J., Stremlau, M., Lee, M., Javanbakht, H., Song, B., & Sodroski, J. (2007). The Human TRIM5 Restriction Factor Mediates Accelerated Uncoating of the N-Tropic Murine Leukemia Virus Capsid. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 81(5), 2138–2148. <https://doi.org/10.1128/JVI.02318-06>
- Peschl, P., Bradl, M., Höftberger, R., Berger, T., & Reindl, M. (2017). Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein: Deciphering a Target in Inflammatory Demyelinating Diseases. *Frontiers in Immunology*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00529>
- Posso-Osorio, I., Tobón, G. J., & Cañas, C. A. (2021). Human endogenous retroviruses (HERV) and non-HERV viruses incorporated into the human genome and their role in the development of autoimmune diseases. *Journal of Translational Autoimmunity*, 4, 100137. <https://doi.org/10.1016/j.jtauto.2021.100137>
- Prof, D., & Gözükmizi, N. (2012). İnsan Endojen Retrovirus H (Herv-H)'In Genomik Analizi Mehrab Guliyev Moleküler Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Ve Genetik Programı İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi İstanbul.
- Rong, L., Zhang, J., Lu, J., Pan, Q., Lorgeoux, R.-P., Aloysius, C., Guo, F., Liu, S.-L., Wainberg, M. A., & Liang, C. (2009). The transmembrane domain of BST-2 determines its sensitivity to down-modulation by human immunodeficiency virus type 1 Vpu. *Journal of Virology*, 83(15), 7536–7546. <https://doi.org/10.1128/JVI.00620-09>
- Sawyer, S. L., Emerman, M., & Malik, H. S. (2011). *Discordant Evolution of the Adjacent Antiretroviral Genes TRIM22 and TRIM5 in Mammals*. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030197.g001>
- Schmitt, K., Richter, C., Backes, C., Meese, E., Ruprecht, K., & Mayer, J. (2013). *Comprehensive Analysis of Human Endogenous Retrovirus Group HERV-W Locus Transcription in Multiple Sclerosis Brain Lesions by High-Throughput Amplicon Sequencing*. <https://doi.org/10.1128/JVI.02388-13>
- Schön, U., Seifarth, W., Baust, C., Hohenadl, C., Erfle, V., & Leib-Mösch, C. (2001). Cell type-specific expression and promoter activity of human endogenous retroviral long terminal repeats. *Virology*, 279(1), 280–291. <https://doi.org/10.1006/VIRO.2000.0712>
- Simons, K., & Toomre, D. (2000). Lipid rafts and signal transduction. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 1(1), 31–39. <https://doi.org/10.1038/35036052>
- Skorupka, K. A., Roganowicz, M. D., Christensen, D. E., Wan, Y., Pornillos, O., & Ganser-Pornillos, B. K. (2019a). Hierarchical assembly governs TRIM5 α recognition of HIV-1 and retroviral capsids. In *Sci. Adv* (Vol. 5). <https://www.science.org>
- Song, B., Javanbakht, H., Perron, M., Park, D. H., Stremlau, M., & Sodroski, J. (2005). Retrovirus Restriction by TRIM5 Variants from Old World and New World Primates. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 79(7), 3930–3937. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.7.3930-3937.2005>
- Staeger, M. S., Miyazawa, M., Grandi, N., & Tramontano, E. (2018). HERV Envelope Proteins: Physiological Role and Pathogenic Potential in Cancer and Autoimmunity. *Frontiers in Microbiology | Www.Frontiersin.Org*, 1, 462. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00462>
- Stremlau, M., Owens, C. M., Perron, M. J., Kiessling, M., Autissier, P., & Sodroski, J. (2004). The cytoplasmic body component TRIM5 α restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature*, 427(6977), 848–853. <https://doi.org/10.1038/NATURE02343>
- Stremlau, M., Perron, M., Lee, M., Li, Y., Song, B., Javanbakht, H., Diaz-Griffero, F., Anderson, D. J., Sundquist, W. I., & Sodroski, J. (2006). *Specific recognition and accelerated uncoating of retroviral capsids by the TRIM5 restriction factor*. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0509996103
- Stremlau, M., Perron, M., Welikala, S., & Sodroski, J. (2005). Species-Specific Variation in the B30.2(SPRY) Domain of TRIM5 Determines the Potency of Human Immunodeficiency Virus Restriction. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 79(5), 3139–3145. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.5.3139->

- Takahashi, Y., Harashima, N., Kajigaya, S., Yokoyama, H., Cherkasova, E., McCoy, J. P., Hanada, K.-I., Mena, O., Kurlander, R., Abdul, T., Srinivasan, R., Lundqvist, A., Malinzak, E., Geller, N., Lerman, M. I., & Childs, R. W. (2008). Regression of human kidney cancer following allogeneic stem cell transplantation is associated with recognition of an HERV-E antigen by T cells. *The Journal of Clinical Investigation*, *118*. <https://doi.org/10.1172/JCI34409>
- Tam, O. H., Ostrow, L. W., & Gale Hammell, M. (2019). Diseases of the nERVous system: retrotransposon activity in neurodegenerative disease. *Mobile DNA*, *10*(1). <https://doi.org/10.1186/S13100-019-0176-1>
- Tarlinton, R. E., Khaibullin, T., Granatov, E., Martynova, E., Rizvanov, A., & Khaiboullina, S. (2019). The Interaction between Viral and Environmental Risk Factors in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(2). <https://doi.org/10.3390/IJMS20020303>
- Tarlinton, R. E., Martynova, E., Rizvanov, A. A., Khaiboullina, S., & Verma, S. (2020). Role of Viruses in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *Viruses*, *12*(6). <https://doi.org/10.3390/V12060643>
- The human brain - cell types - The Human Protein Atlas*. (2011). Retrieved September 21, 2022, from <https://www.proteinatlas.org/humanproteome/brain/cell+types>
- Thompson, A. J., Baranzini, S. E., Geurts, J., Hemmer, B., & Ciccarelli, O. (2018). Multiple sclerosis. *The Lancet*, *391*(10130), 1622–1636. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30481-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30481-1)
- Tie, C. H., Fernandes, L., Conde, L., Robbez-Masson, L., Sumner, R. P., Peacock, T., Rodriguez-Plata, M. T., Mickute, G., Gifford, R., Towers, G. J., Herrero, J., & Rowe, H. M. (2018). KAP 1 regulates endogenous retroviruses in adult human cells and contributes to innate immune control. *EMBO Reports*, *19*(10). <https://doi.org/10.15252/EMBR.201745000>
- van Bakel, H., Nislow, C., Blencowe, B. J., & Hughes, T. R. (2010). Most “Dark Matter” Transcripts Are Associated With Known Genes. *PLoS Biol*, *8*(5), 1000371. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000371>
- van Damme, N., Goff, D., Katsura, C., Jorgenson, R. L., Mitchell, R., Johnson, M. C., Stephens, E. B., & Guatelli, J. (2008). The interferon-induced protein BST-2 restricts HIV-1 release and is downregulated from the cell surface by the viral Vpu protein. *Cell Host & Microbe*, *3*(4), 245–252. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2008.03.001>
- van de Lagemaat, L. N., Medstrand, P., & Mager, D. L. (2006). Multiple effects govern endogenous retrovirus survival patterns in human gene introns. *Genome Biology*. <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-9-r86>
- van Horssen, J., van der Pol, S., Nijland, P., Amor, S., & Perron, H. (2016a). Human endogenous retrovirus W in brain lesions: Rationale for targeted therapy in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, *8*, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2016.04.006>
- Vargiu, L., Rodriguez-Tomé, P., Sperber, G. O., Cadeddu, M., Grandi, N., Blikstad, V., Tramontano, E., & Blomberg, J. (2016). Classification and characterization of human endogenous retroviruses; mosaic forms are common. *Retrovirology*, *13*(1). <https://doi.org/10.1186/S12977-015-0232-Y>
- Villesen, P., Aagaard, L., Wiuf, C., & Pedersen, F. S. (2004). Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology*, *1*, 32. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-1-32>
- Viret, M., Faure, H., Perron, P. N., Marche, A., Rolland, E., & Jouvin-Marche, C. (2006). Promotes Th1-Like Responses Innate Immunity through CD14/TLR4 and Endogenous Retrovirus-W Family Activates The Envelope Protein of a Human. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.12.7636>
- 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)
- Weiss, R. A. (2006). The discovery of endogenous retroviruses. In *Retrovirology* (Vol. 3). <https://doi.org/10.1186/1742-4690-3-67>
- Wetzels, S., Wouters, K., Schalkwijk, C. G., Vanmierlo, T., & Hendriks, J. J. A. (2017). Methylglyoxal-Derived Advanced Glycation Endproducts in Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(2). <https://doi.org/10.3390/IJMS18020421>
- Wootla, B., Watzlawik, J. O., Stavropoulos, N., Wittenberg, N. J., Dasari, H., Abdelrahim, M. A., Henley, J. R., Oh, S. H., Warrington, A. E., & Rodriguez, M. (2016). Recent Advances in Monoclonal Antibody Therapies for Multiple Sclerosis. *Expert Opinion on Biological Therapy*, *16*(6), 827. <https://doi.org/10.1517/14712598.2016.1158809>
- Wu, X., Anderson, J. L., Campbell, E. M., Joseph, A. M., & Hope, T. J. (2006). Proteasome inhibitors uncouple rhesus TRIM5 restriction of HIV-1 reverse transcription and infection (Vol. 103). www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0510483103

- Xu, F., Tan, J., Liu, R., Xu, D., Li, Y., Geng, Y., Liang, C., & Qiao, W. (2011). *Tetherin inhibits prototypic foamy virus release*. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-198>
- Yi, J.-M., Kim, H.-M., Kim, H.-S., & Kim, -S. (2011). *Expression of the human endogenous retrovirus HERV-W family in various human tissues and cancer cells*. <https://doi.org/10.1099/vir.0.79791-0>
- Yücesan C. Multipl sklerozda primer progresyon ve multipl sklerozda sekonder progresyon. Duman T, editör. Multipl Skleroz. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. s.13-6.
- Zhao, G., Ke, D., Vu, T., Ahn, J., & Shah, V. B. (2011). Rhesus TRIM5a Disrupts the HIV-1 Capsid at the Inter-Hexamer Interfaces. *PLoS Pathog*, 7(3), 1002009. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002009>



8.EKLER

Ek1: Etik Kurul Onayı

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ DIŞI ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Toplantı Sayısı: 131	Toplantı Tarihi: 07 Mayıs 2021
-----------------------------	---------------------------------------

Karar Sayısı: 2021/3232:(5530)N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU'nun "**Multipl Skleroz Hastalığı Etyopatogenezinde, İnsan Endojen Retrovirüs-W(HERV-W)'nin Rolü**" başlıklı yüksek lisans tez çalışması ile ilgili 22.04.2021 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü. Zekeriya TAŞKIN'ın yüksek lisans tez çalışmasının N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU'nun sorumluluğunda bütçe desteğinin sağlandığına dair belgenin İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kuruluna sunulduktan sonra çalışmanın başlamasının uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.
Not: Çalışma ile ilgili gerekli izin ve yasal sorumluluk araştırmacılara aittir.
Sorumlu Araştırmacı: Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU
Yardımcı Araştırmacılar: Zekeriya TAŞKIN, Doç. Dr. Ali Ulvi UCA

ASLI GİBİDİR
07.05.2021

Prof. Dr. Saim AÇIKGÖZOĞLU
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurul Başkanı