



Nöroimmünolojik Tetkikler

Doç. Dr. Miraç Yıldırım

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı

03.05.2025



Nöroimmünolojik Testler

- **Önemi**

- Çocukluk çağında nöroimmünolojik hastalık sıklığı artıyor
- Erken tanı ve tedavi → prognoz için belirleyici
- Uygun örnek ve metod seçimi tanı açısından kritik öneme sahip
- Testlerin zamanlaması ve doğru yorumlanması önemli
- Bazı testler hastalığın şiddeti ve prognozu ile ilişkili
 - Tedavi ve takip planlarına etkili

Nöroimmünolojik Testler

- **Laboratuvar Temelli Testler**

- **BOS tetkikleri**

- Hücre sayımı, protein ve glukoz
 - OKB, IgG indeksi, kappa serbest hafif zincir
 - Antikor analizleri
 - Sitokin panelleri
 - Paraneoplastik paneller
 - Moleküler ve genetik testler

- **Serum tetkikleri**

- Antikor analizleri
 - Sitokin panelleri
 - Paraneoplastik paneller
 - Moleküler ve genetik testler

- **Elektrofizyolojik Testler**

- Sinir iletim çalışmaları
 - Elektromiyografi
 - Repetitif sinir stümlasyonu, tek lif EMG
 - Uyarılmış potansiyeller
 - VEP, MEP, SEP
 - Otonomik testler
 - Tilt testi, sempatik deri yanıtı testi

- **Radyolojik Tetkikler**

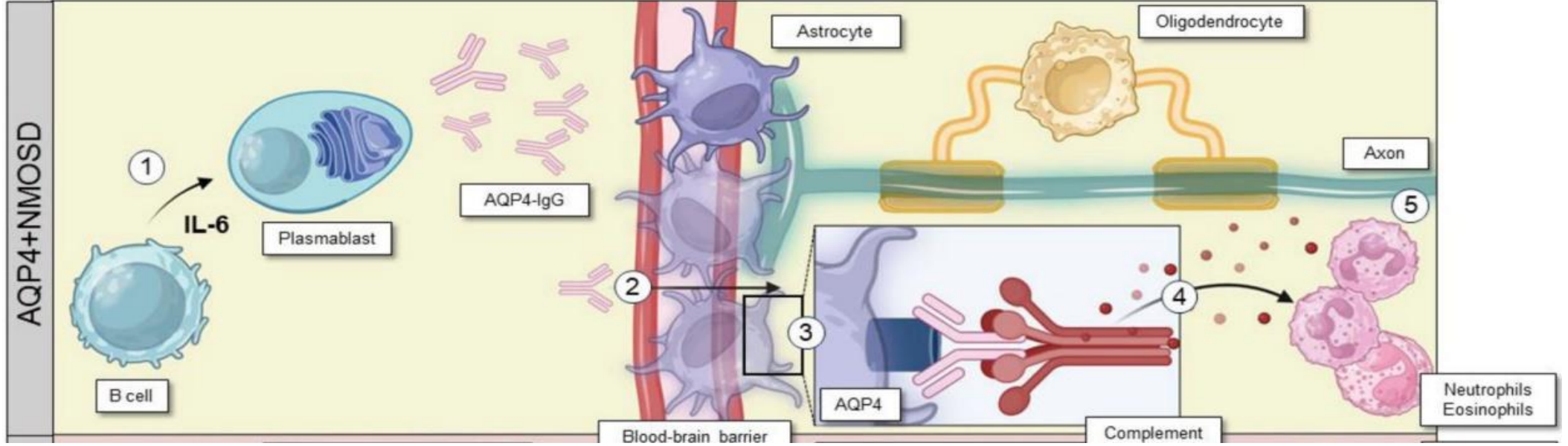
- MRG, BT, MRS
 - Optik koherens tomografi
 - PET

Anti-Aquaporin 4 Antikor

Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Aquaporin-4 (AQP4)**
 - Santral sinir sisteminde su homeostazını düzenleyen bir kanal
 - Özellikle **astroitlerin ayak uzantılarında**, kan-beyin bariyeri yakınında yoğun olarak bulunur.
- AQP4'e karşı gelişen IgG tipi otoantikolar (**Anti-AQP4-IgG**)
 - Astroitleri hedef alan bir otoimmün hastalık olan **nöromiyelitis optika spektrum bozukluğu** (NMOSB) ile ilişkilidir.
- **AQP4 IgM** ve/veya **AQP4 IgA** pozitiflikleri (AQP4 IgG negatifken)
 - Klinik önemleri net değil.
 - Seropozitif NMOSB tanısı koymak için yeterli değil

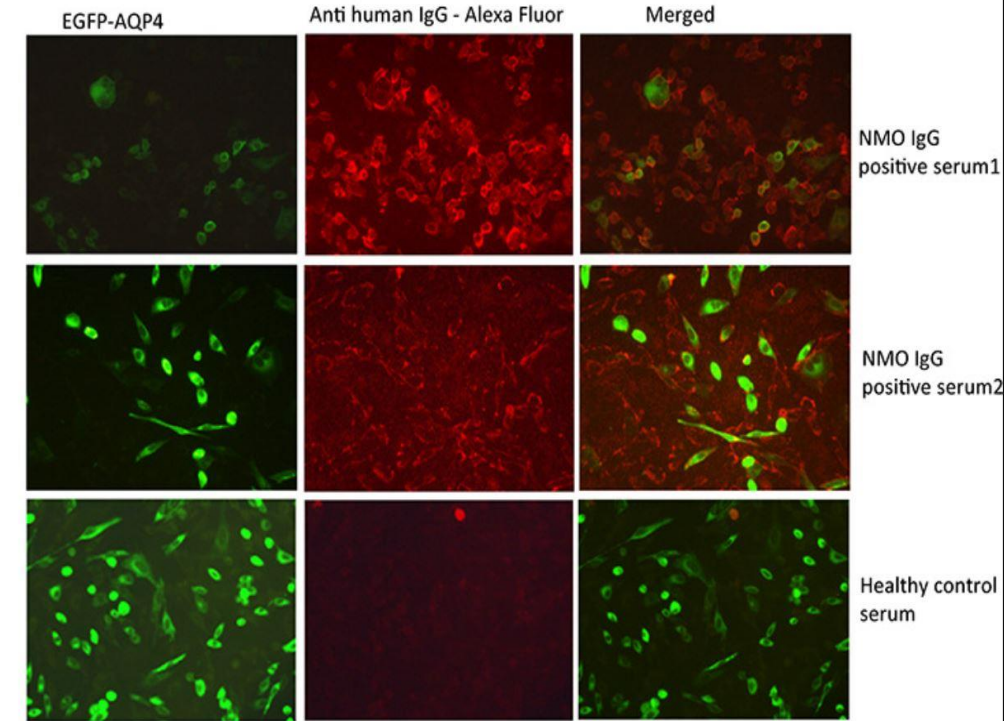
Anti-Aquaporin 4 Antikor



- İnterlökin-6, B hücrelerinin AQP4 IgG salgılayan plazmablastlara farklılaşmasını destekler
- AQP4-IgG'ler kan dolaşımına ulaşır ve kan-beyin bariyerini geçer
- AQP4-IgG'ler **astroitler üzerindeki AQP4'lere bağlanır**→ Klasik yol üzerinden kompleman kaskadını aktive eder→astroit hasarına yol açar
- Kompleman aktivasyonu sonrası anafilatoksinler salınır→ granülositler toplanır→ nöron ve oligodendrosit hasarına neden olur

Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Metodoloji**
 - **Hücre Bazlı Assay (CBA)**
 - **Altın standart**
 - İnsan AQP4 proteinini eksprese eden transfekte hücreler (sıklıkla HEK293) kullanılır.
 - Hastanın serumundaki Anti-AQP4 antikorları bu hücrelere bağlanır ve **floresan işaretli ikincil antikorlarla** tespit edilir.
 - **Avantajlar:**
 - **Yüksek spesifite** (>%99) **ve sensitivite**

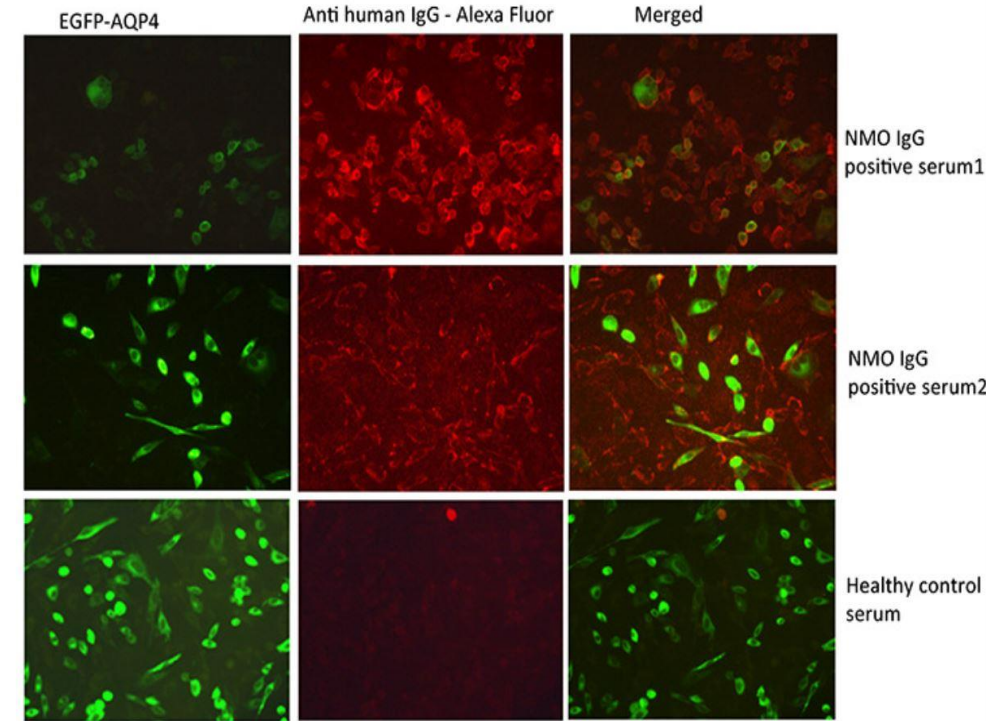


Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Hücre Bazlı Assay: Canlı mı, Fikse mi?**

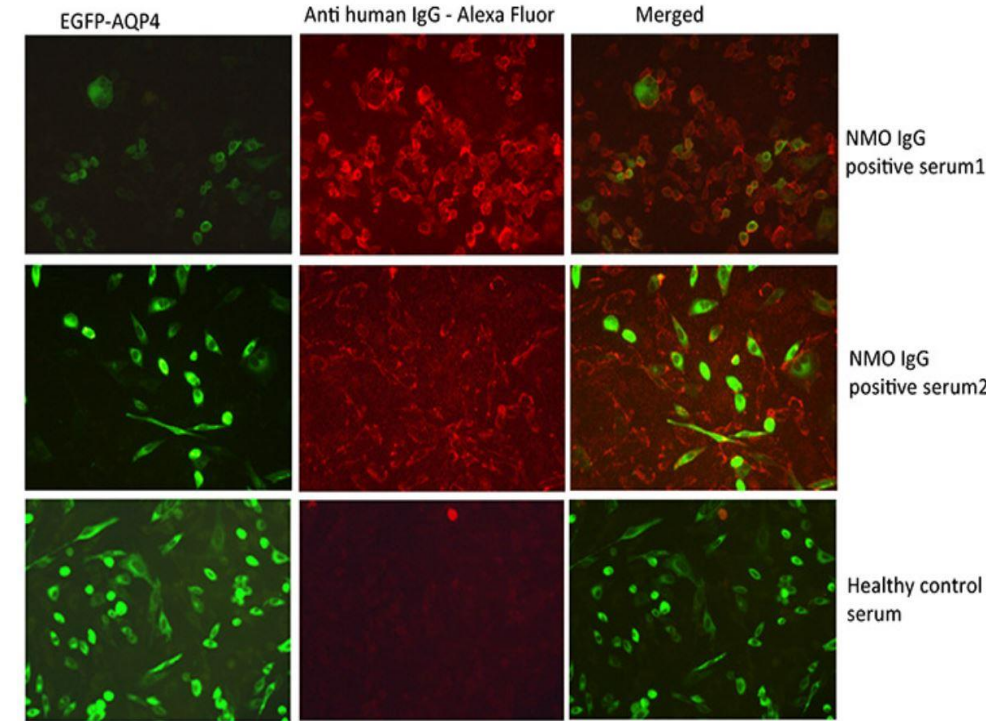
- **Canlı Hücre Bazlı Assay**

- **Yöntem:** Hedef antijen **canlı hücre yüzeyinde** ifade edilir.
 - **Avantajları:**
 - Antikorların **doğal (konformasyonel) yapıdaki antijenlere** bağlanmasını sağlar
 - Daha **yüksek sensitivite ve spesifite**ye sahiptir
 - **Altın standart** kabul edilir.
 - **Dezavantajları:**
 - Teknik olarak daha **zordur** (canlı hücre kültürü gerekir).
 - **Maliyeti yüksektir** ve özel laboratuvarlarda çalışılır.



Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Hücre Bazlı Assay: Canlı mı, Fikse mi?**
 - **Fikse Hücre Bazlı Assay**
 - **Yöntem:** Antijen ifade eden hücreler **kimyasal olarak sabitlenir** ve dondurularak saklanabilir
 - **Avantajları:**
 - Daha **pratik** ve stabildir (canlı hücre gerektirmez)
 - Ticari kitlerle standart laboratuvarlarda çalışılabilir
 - **Maliyeti daha uygun** ve **tetkik süresi daha kısa**
 - **Dezavantajları:**
 - Fiksasyon, antijenlerin doğal yapısını hafif değiştirebilir, **yanlış negatif sonuç riski** yaratabilir.
 - Canlı CBA'ya göre **biraz daha düşük sensitivite** gösterebilir



Anti-Aquaporin 4 Antikor

Canlı mı yoksa fikse mi hücre bazlı assay tercih edilmeli?

> [Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.](#) 2014 May 22;1(1):e11. doi: 10.1212/NXI.0000000000000011. eCollection 2014 Jun.

AQP4 autoantibody assay performance in clinical laboratory service

J P Fryer ¹, V A Lennon ¹, S J Pittock ¹, S M Jenkins ¹, P Fallier-Becker ¹, S L Clardy ¹, E Horta ¹, E A Jedynak ¹, C F Lucchinetti ¹, E A Shuster ¹, B G Weinshenker ¹, D M Wingerchuk ¹, A McKeon ¹

Affiliations + expand

PMID: 25340055 PMCID: [PMC4202686](#) DOI: [10.1212/NXI.0000000000000011](#)

[Randomized Controlled Trial](#) > [J Neurol Neurosurg Psychiatry.](#) 2016 Sep;87(9):1005-15. doi: 10.1136/jnnp-2015-312601. Epub 2016 Apr 25.

Multicentre comparison of a diagnostic assay: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica

Patrick Waters ¹, Markus Reindl ², Albert Saiz ³, Kathrin Schanda ², Friederike Tuller ², Vlastimil Kral ⁴, Petra Nytrova ⁵, Ondrej Sobek ⁶, Helle Hvilsted Nielsen ⁷, Torben Barington ⁷, Søren T Lillevang ⁷, Zsolt Illes ⁸, Kristin Rentzsch ⁹, Achim Berthele ¹⁰, Tímea Berki ¹¹, Letizia Granieri ¹², Antonio Bertolotto ¹², Bruno Giometto ¹³, Luigi Zuliani ¹³, Dörte Hamann ¹⁴, E Daniëlle van Pelt ¹⁵, Rogier Hintzen ¹⁵, Romana Höftberger ¹⁶, Carme Costa ¹⁷, Manuel Comabella ¹⁷, Xavier Montalban ¹⁷, Mar Tintoré ¹⁷, Aksel Siva ¹⁸, Ayse Altintas ¹⁸, Günnur Deniz ¹⁹, Mark Woodhall ¹, Jacqueline Palace ¹, Friedemann Paul ²⁰, Hans-Peter Hartung ²¹, Orhan Aktas ²¹, Sven Jarius ²², Brigitte Wildemann ²², Christian Vedula ²³, Anne Ruiz ²⁴, M Isabel Leite ¹, Peter Trillenber ²⁵, Monika Probst ²⁶, Sandra Saschenbrecker ⁹, Angela Vincent ¹, Romain Marignier ²⁴

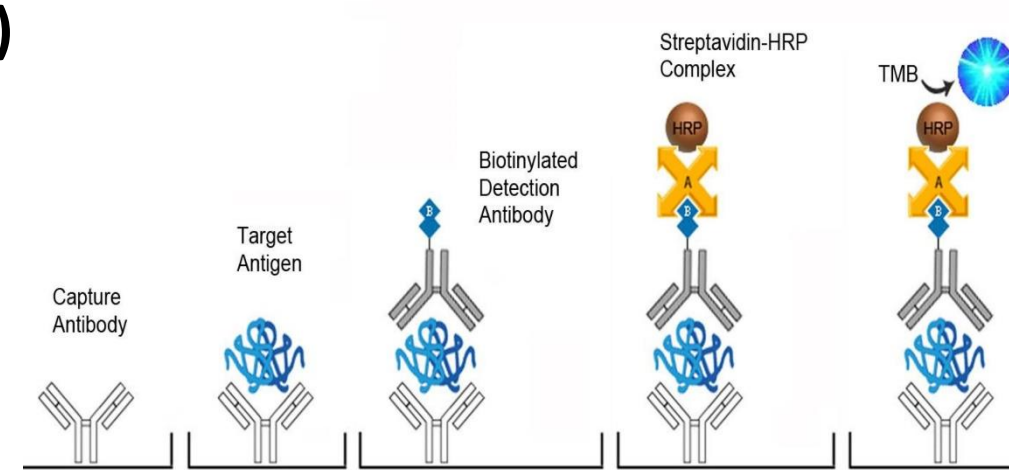
- Yapılan çalışmalar hastalık tanısında canlı ya da fikse hücre bazlı assaylerin **benzer tanısal güce/öneme** sahip olduklarını göstermiştir.

Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Metodoloji**

- **ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**

- Kantitatif veya yarı-kantitatif olarak spesifik protein-antikor etkileşimlerini saptar
 - Rekombinant AQP4 proteinine bağlanan IgG antikorlarını tespit eder
 - **Daha az sensitiftir** (%60-80)
 - Yalancı negatif ve yalancı pozitif riski sık
 - **Düşük maliyet ve hızlı sonuç** nedeniyle **tarama testi** olarak kullanılabilir, ancak **pozitif sonuçlar hücre bazlı assayler ile doğrulanmalıdır**.

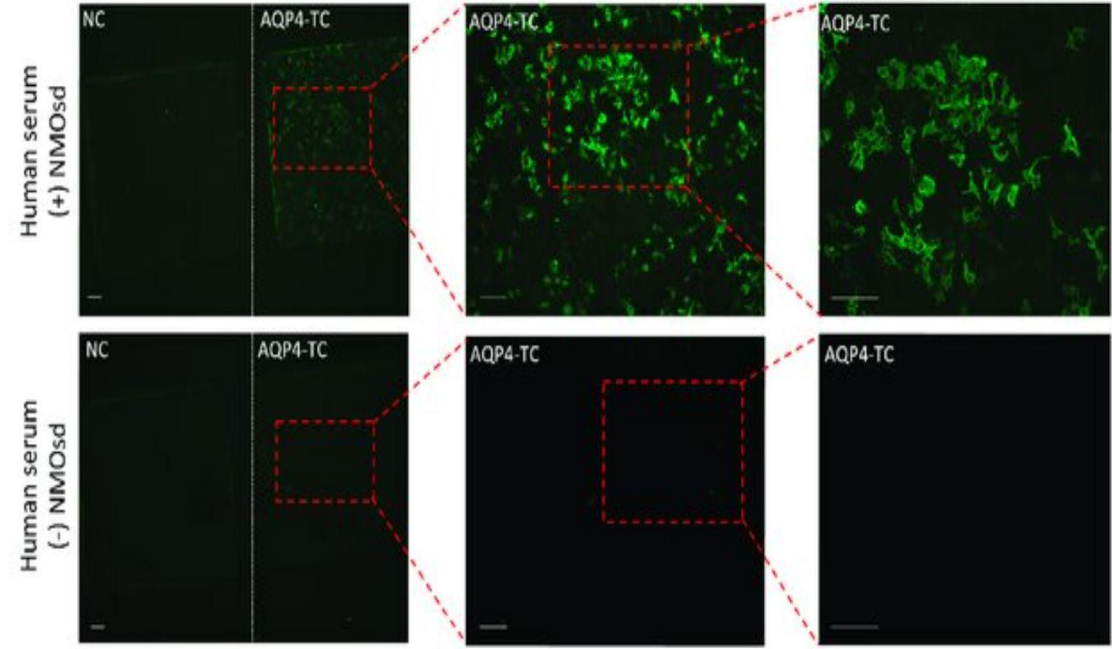


Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Metodoloji**

- **İndirekt İmmünofloresan (IIF)**

- Substrat olarak AQP4 eksprese eden hayvan dokuları (ör. sıçan sebellumu veya böbreği gibi) kullanılır
 - Ancak **sensitivite** ve **spesifitesi düşüktür**
 - **Tarama testi olarak** kullanılabilir, ancak pozitif sonuçlar CBA ile **doğrulanmalıdır**
 - Floresan paterninin değerlendirilmesi **subjektif yorumlara** yol açabilir



Anti-Aquaporin 4 Antikor

Özellik	İndirekt İmmünofloresan	Hücre Bazlı Assay	ELISA
Sensitivite	Düşük (%50–70)	Yüksek (%80–95)	Orta (%60–80)
Spesifite	Orta (%80–90)	Çok Yüksek (>%99)	Orta-Yüksek (%85–95)
Çalışma süresi	2–3 saat	>24 saat	4–6 saat
Maliyet	Düşük	Yüksek	Orta

- **NMOSB’li çocuklarda AQP4-IgG pozitifliği** erişkinlere göre daha **nadir** ve daha **düşük spesifiteye** sahiptir.

Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Klinik Önem**

- **Pozitif Test:**

- **NMOSB tanısını destekler** (Spesifite >%90)
 - NMOSB'li tüm hastaların (çocuk ve erişkin) %70-80'inde pozitiftir (seropozitif NMOSB)
 - **NMOSB'li çocuklarda ise anti-AQP4-IgG pozitifliği %40-50** civarında

- **Negatif Test:**

- NMOSB tanısını dışlanmaz → **seronegatif NMOSB**
 - Alternatif tanıların gözden geçirilmesi gerekir

- **Yalancı Pozitiflik/Negatiflik:**

- Düşük titrede antikor düzeyleri, teknik hatalar, yanlış örnek veya test seçimi, bazı enfeksiyöz ajanlar (EBV, enterovirüsler) veya otoimmün hastalıklar (SLE gibi) yanlış sonuçlara yol açabilir

Anti-Aquaporin 4 Antikor

- **Beyin Omurilik Sıvısı mı Serum mu?**

- Serum → **ilk tercih** edilen örnek
 - AQP4-IgG'nin çoğu periferik lenfoid dokularda üretilir
 - **Yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip**

- **Serum (-) ve BOS (+) AQP4-IgG**

- Çok nadir
 - **Plazmaferez (PLEX) hemen sonra serum örneği alındıysa**
 - Serum incelemesinde teknik sorun varsa (immunfloresan boyanma sorunları)
- Bu durumda: Serum ve BOS'un yeni bir test ile tekrarlanması öneriliyor.

> [Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.](#) 2016 Apr 20;3(3):e231. doi: 10.1212/NXI.0000000000000231. eCollection 2016 Jun.

Clinical utility of testing AQP4-IgG in CSF: Guidance for physicians

Masoud Majed ¹, James P Fryer ¹, Andrew McKeon ¹, Vanda A Lennon ¹, Sean J Pittock ¹

Affiliations + expand

PMID: 27144221 PMID: [PMC4841640](#) DOI: [10.1212/NXI.0000000000000231](#)

[Review](#) > [J Neurol.](#) 2023 Jul;270(7):3341-3368. doi: 10.1007/s00415-023-11634-0. Epub 2023 Apr 6.

Update on the diagnosis and treatment of neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOSD) – revised recommendations of the Neuromyelitis Optica Study Group (NEMOS). Part I: Diagnosis and differential diagnosis

Sven Jarius ¹, Orhan Aktas ², Ilya Ayzenberg ³, Judith Bellmann-Strobl ⁴, ⁵ ⁶ ⁷, Achim Berthele ⁸, Katrin Gighlhuber ⁸, Vivien Häußler ⁹, Joachim Havla ¹⁰ ¹¹, Kerstin Hellwig ³, Martin W Hümmert ¹², Ingo Kleiter ³ ¹³, Luisa Klotz ¹⁴, Markus Krumbholz ¹⁵ ¹⁶ ¹⁷, Tania Kümpfel ¹⁰, Friedemann Paul ⁴ ⁵ ⁶ ⁷, Marius Ringelstein ² ¹⁸, Klemens Ruprecht ⁴, Makbule Senel ¹⁹, Jan-Patrick Stellmann ⁹ ²⁰ ²¹, Florian Then Bergh ²², Hayrettin Tumani ¹⁹, Brigitte Wildemann ²³, Corinna Trebst ²⁴; Neuromyelitis Optica Study Group (NEMOS)

Anti-Aquaporin 4 Antikor

Serum AQP4-IgG titresi hastalığın şiddeti veya klinik prognoz ile ilişkili mi?

> [Front Neurol.](#) 2021 Oct 20;12:746959. doi: 10.3389/fneur.2021.746959. eCollection 2021.

Serum Aquaporin 4-Immunoglobulin G Titer and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder Activity and Severity: A Systematic Review and Meta-Analysis

Jia Liu ^{1 2}, Guojun Tan ³, Bin Li ³, Jingze Zhang ¹, Ying Gao ^{1 2}, Yuanbo Cao ³, Zhen Jia ³, Kazuo Sugimoto ^{1 2}

Affiliations + expand

PMID: 34744983 PMCID: [PMC8565925](#) DOI: [10.3389/fneur.2021.746959](#)

- Serum AQP4-IgG titresi NMOSB'li hastalarda **hastalık aktivitesi ile ilişkili değil** ancak **atak sırasındaki hastalık şiddetini** gösterebilir.

> [J Neurol.](#) 2024 Jul;271(7):4503-4512. doi: 10.1007/s00415-024-12382-5. Epub 2024 May 4.

Correlation between severe attacks and serum aquaporin-4 antibody titer in neuromyelitis optica spectrum disorder

Rui Wang ¹, Dongren Sun ¹, Xiaofei Wang ¹, Ziyang Shi ¹, Lingyao Kong ¹, Qin Du ¹, Ying Zhang ¹, Hongxi Chen ¹, Wenqin Luo ¹, Nana Zhang ¹, Hongyu Zhou ²



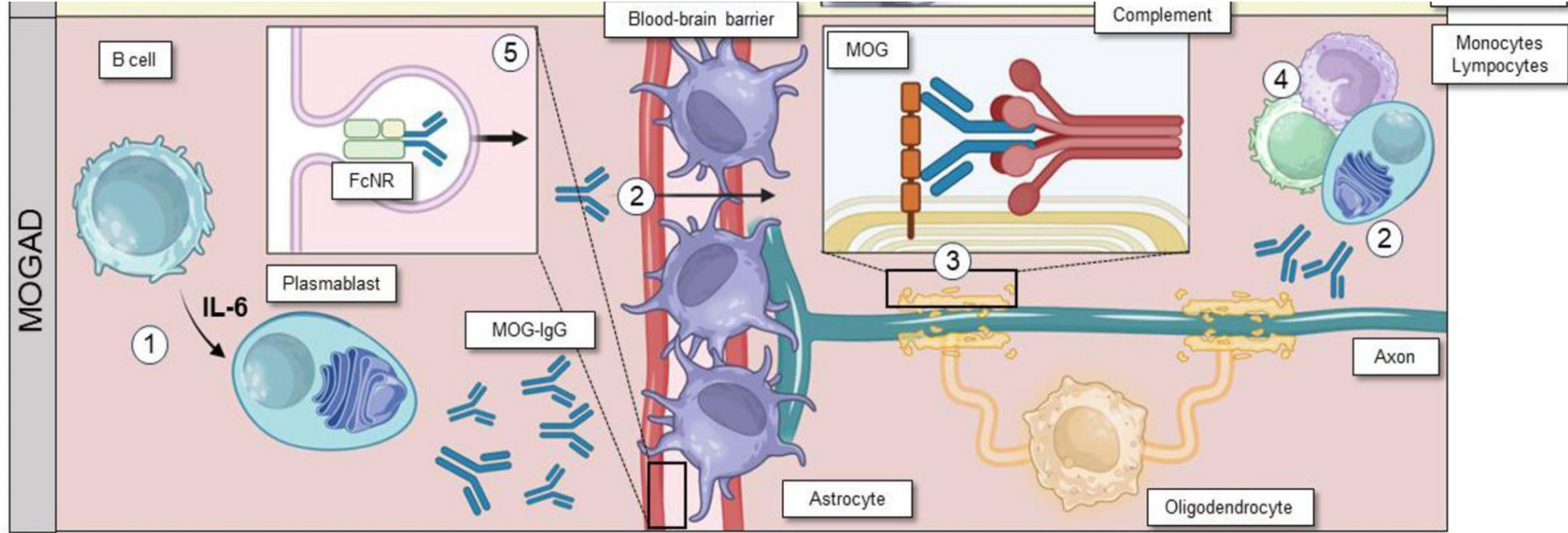
- NMOSB'li hastalarda yüksek AQP4-IgG titrelerinin **hastalık şiddeti ve görme engelliliği** ile ilişkili olabileceği tespit edilmiş.

Anti-Miyelin Oligodendrosit
Glikoprotein (MOG) Antikor

Anti-MOG Antikor

- Miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG)
 - Santral sinir sisteminde oligodendrositler tarafından eksprese edilir
 - Miyelin kılıfının dış yüzeyinde bulunur
- **Anti-MOG antikor ilişkili hastalıklar**
 - Akut dissemine ensefalomyelit (ADEM)
 - MOG antikor ilişkili hastalık (MOGAD)
 - Nöromiyelitis optika spektrum bozukluğu (NMOSB)
 - Tekrarlayan optik nörit
 - Transvers miyelit
 - Meningoensefalit
 - Lökodistrofi benzeri hastalık
- Antikor düzeyine **akut atak döneminde** bakılmalıdır, çünkü remisyonda antikor düzeylerinde sıklıkla düşüş görülür

Anti-MOG Antikor



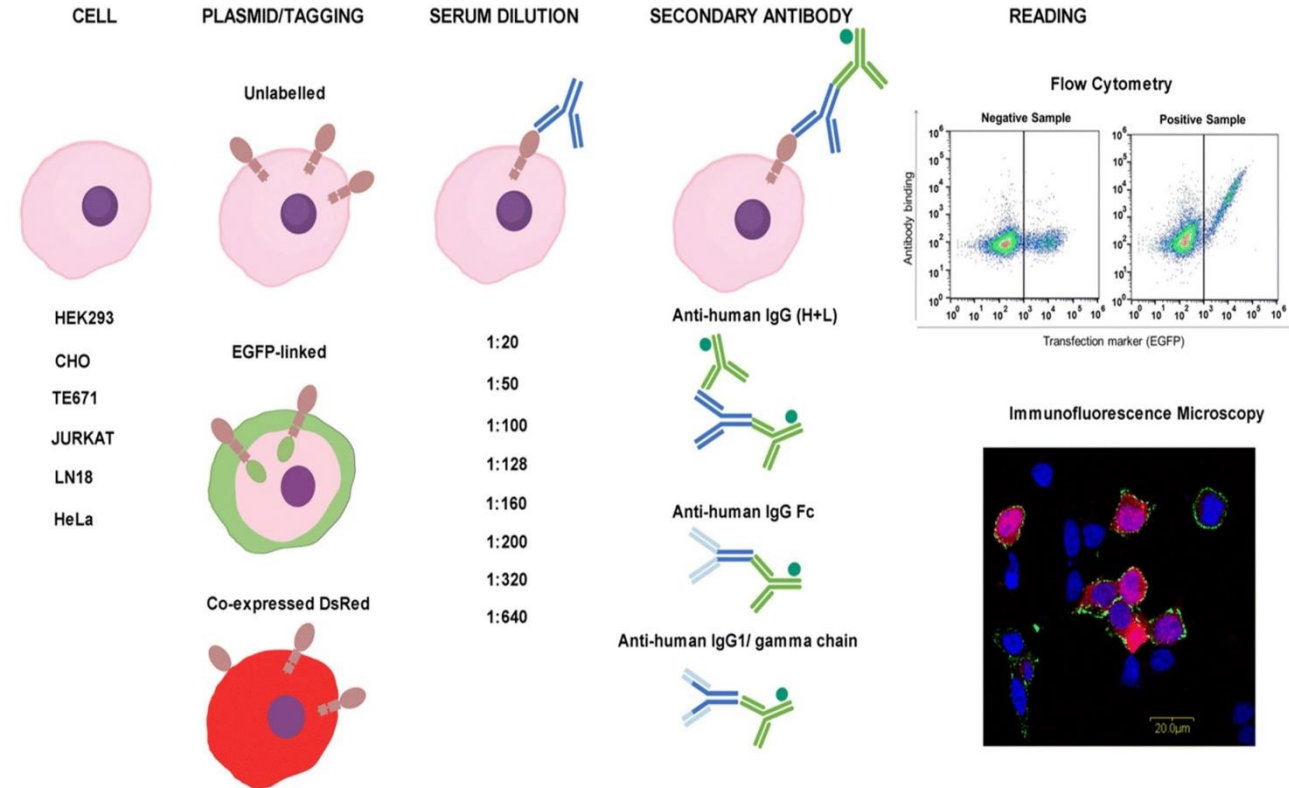
- İnterlökin-6, B hücrelerinin MOG-IgG salgılayan plazmablastlara farklılaşmasını arttırır
- MOG-IgG'ler kan dolaşımına ulaşır ve kan beyin bariyerini geçer (ancak **intratekal de üretilebilir**)
- MOG-IgG'ler **oligodendrositler üzerindeki MOG'a** bağlanır ve oligodendrosit hasarına yol açan klasik yol aracılığıyla kompleman kaskadını aktive eder
- Lokal inflamasyon T hücrelerini ve monositleri/makrofajları aktive eder
- MOG-IgG'lerin kan dolaşımına geri dönüşü, hasar mekanizmasının devamlılığına katkıda bulunur

Anti-MOG Antikor

- **Metodoloji**

- **Hücre Bazlı Assay (CBA)**

- **Altın standart**
 - Transfeksiyon-inkübasyon-deteksiyon ve yorumlama
 - İnsan MOG proteinini eksprese eden transfekte hücreler (sıklıkla HEK293) kullanılır.
 - Hastanın serum ve/veya BOS'u ile inkübe edilir.
 - Anti-MOG antikorları bu hücrelere bağlanır ve **floresan işaretli ikincil antikorlarla veya flow sitometri** ile tespit edilir.
 - **Avantaj:**
 - **Yüksek sensitivite ve spesifite**
 - **Dezavantaj:**
 - **Pahalı** ve teknik olarak karmaşık



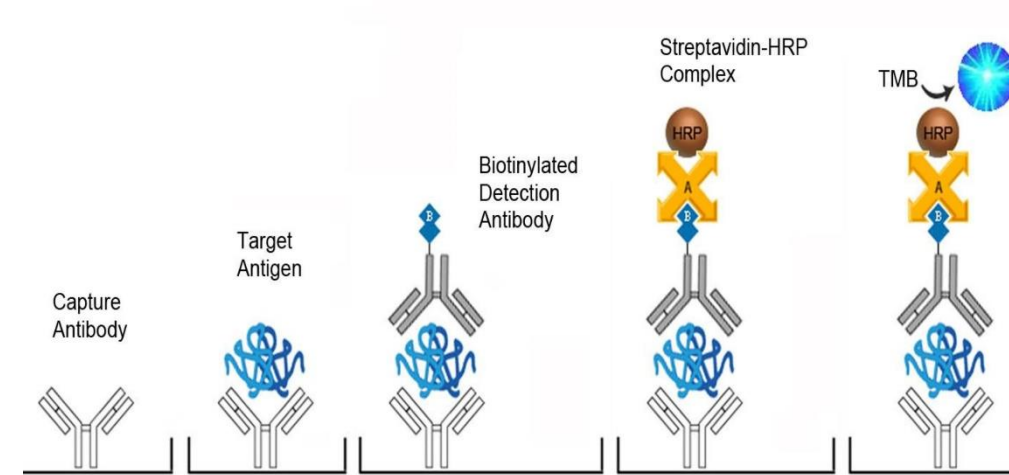
Marchionatti A, et al. Neurol Sci. 2021
Kim Y, et al. Mult Scler Relat Disord. 2020

Anti-MOG Antikor

- **Metodoloji**

- **ELISA**

- Yarı kantitatif bir yöntemdir.
 - Plaka kaplama-bloklama-inkübasyon-yıkama-ikincil antikor-sinyal değiştirme
 - Hücre bazlı assaylerden daha **hızlı ve düşük maliyetli** olması nedeniyle **tarama testi** olarak kullanılabilir
 - RF, ANA ve bazı enfeksiyonlar: **yalancı pozitiflik**
 - Düşük ya da çok yüksek titreler: **yalancı negatiflik**
 - Pozitif ELISA testi hücre bazlı assay ile **doğrulanmalı**

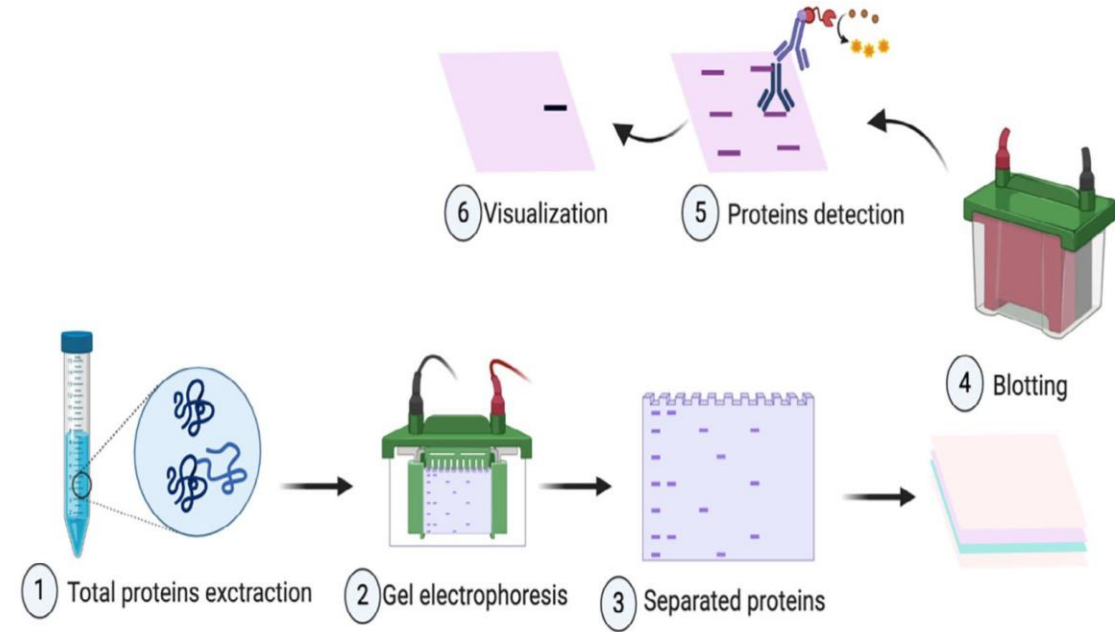


Anti-MOG Antikor

- **Metodoloji**

- **Western Blot**

- **MOG'un moleküler ağırlığını doğrulamak ve denatüre epitoplara karşı antikorları** tespit etmek için değerli
 - **Doğrulama testi** olarak kullanılabilir
 - Rekombinant insan MOG proteini kullanılır.
 - Jel elektroforezi-protein ayrıştırma-protein transferi-inkübasyon-hedef proteinin tespiti
 - **Spesifite yüksek ancak sensitivitesi düşük**



Anti-MOG Antikor

Beyin Omurilik Sıvısı mı Serum mu?



- BOS'ta anti-MOG IgG tespiti'nin yararı şüpheli (**İlk tercih: Serum**)
- Serum ve BOS pozitifliği arasında iyi bir korelasyon var
 - BOS-pozitif hastaların çoğunda serum da pozitiftir
 - Sadece küçük bir kısım hastada serum negatifken BOS-pozitif olabilir.
- ***MOGAD'ı düşündüren klinik ve radyolojik özelliklere sahip ancak serum testinde negatif veya düşük pozitif sonuç veren hastalarda BOS testi yapılması öneriliyor

> Ann Neurol. 2024 Jul;96(1):34-45. doi: 10.1002/ana.26931. Epub 2024 Apr 9.

Diagnostic Utility of MOG Antibody Testing in Cerebrospinal Fluid

Vyanka Redenbaugh^{1,2}, James P Fryer², Laura Cacciaguerra¹, John J Chen^{1,3}, Tammy M Greenwood³, Michael Gilligan^{1,2,4}, Smathorn Thakolwiboon¹, Masoud Majed¹, Nicholas H Chia¹, Andrew McKeon^{1,2}, John R Mills², A Sebastian Lopez Chiriboga⁵, Jan-Mendelt Tillemma¹, Binxia Yang², Yahya Abdulrahman², Kai Guo², Nisa Vorasoot^{1,2,6}, Cristina Valencia Sanchez⁷, Deena A Tajfirouz^{1,3}, Michel Toledano¹, Anastasia Zekeridou^{1,2}, Divyanshu Dubey^{1,2}, Grace Y Gombolay⁸, César Caparó-Zamalloa⁹, Ilya Kister¹⁰, Sean J Pittock^{1,2}, Eoin P Flanagan^{1,2}



► Front Neurol. 2022 Jun 17;13:885218. doi: [10.3389/fneur.2022.885218](https://doi.org/10.3389/fneur.2022.885218)

Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disease (MOGAD): A Review of Clinical and MRI Features, Diagnosis, and Management

Elia Sechi¹, Laura Cacciaguerra^{2,3}, John J Chen^{3,4}, Sara Mariotto⁵, Giulia Fadda⁶, Alessandro Dinoto⁵, A Sebastian Lopez-Chiriboga⁷, Sean J Pittock^{3,8}, Eoin P Flanagan^{3,8,*}

Anti-MOG Antikor

Serum anti-MOG antikor titresi hastalığın şiddeti veya klinik prognoz ile ilişkili mi?

Multicenter Study > JAMA Neurol. 2020 Jan 1;77(1):82-93. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.2940.

Serial Anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody Analyses and Outcomes in Children With Demyelinating Syndromes

Patrick Waters¹, Giulia Fadda², Mark Woodhall¹, Julia O'Mahony³, Robert A Brown⁴, Denise A Castro⁵, Giulia Longoni⁶, Sarosh R Irani¹, Bo Sun¹, E Ann Yeh⁶, Ruth Ann Marrie^{7 8}, Douglas L Arnold⁴, Brenda Banwell^{9 10}, Amit Bar-Or^{2 4 9 10}, Canadian Pediatric Demyelinating Disease Network

Review > Eur J Paediatr Neurol. 2020 Nov;29:32-40. doi: 10.1016/j.ejpn.2020.10.007.

Epub 2020 Nov 4.

E.U. paediatric MOG consortium consensus: Part 4 – Outcome of paediatric myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disorders

Arlette L Bruijstens¹, Markus Breu², Eva-Maria Wendel³, Evangeline Wassmer⁴, Ming Lim⁵, Rinze F Neuteboom⁶, Ronny Wickström⁷; E.U. paediatric MOG consortium; M Baumann, F Bartels, C Finke, C Adamsbaum, Y Hacohen, K Rostasy

- **İlk çalışmalar:** Yüksek anti-MOG antikor titrelerinin nüksü öngörebileceğini öne sürmüş
- **Son çalışmalar:** Hastaların yıllarca seropozitif kalabileceğini ve nüksetmeyebileceğini ve hatta seronegatif hale gelen hastaların bile takipte nüksedebileceğini göstermiştir
- Antikor titreleri, uzun süreli takipte engellilik sonuçlarıyla net bir korelasyon göstermemektedir
- Bu nedenlerle hastalarda **anti-MOG antikor titre takibi önerilmiyor.**

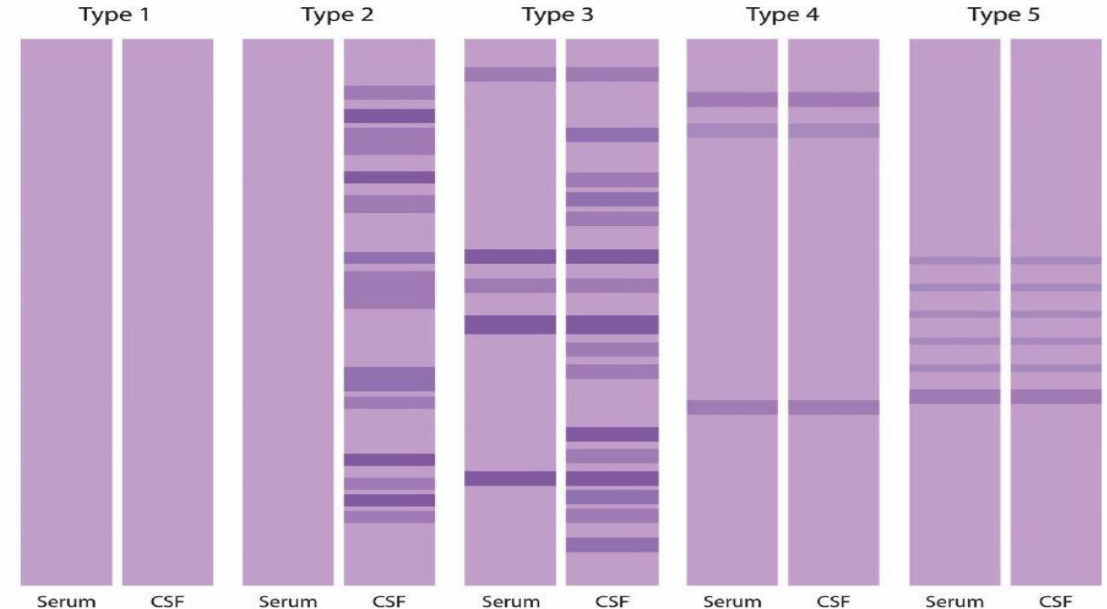
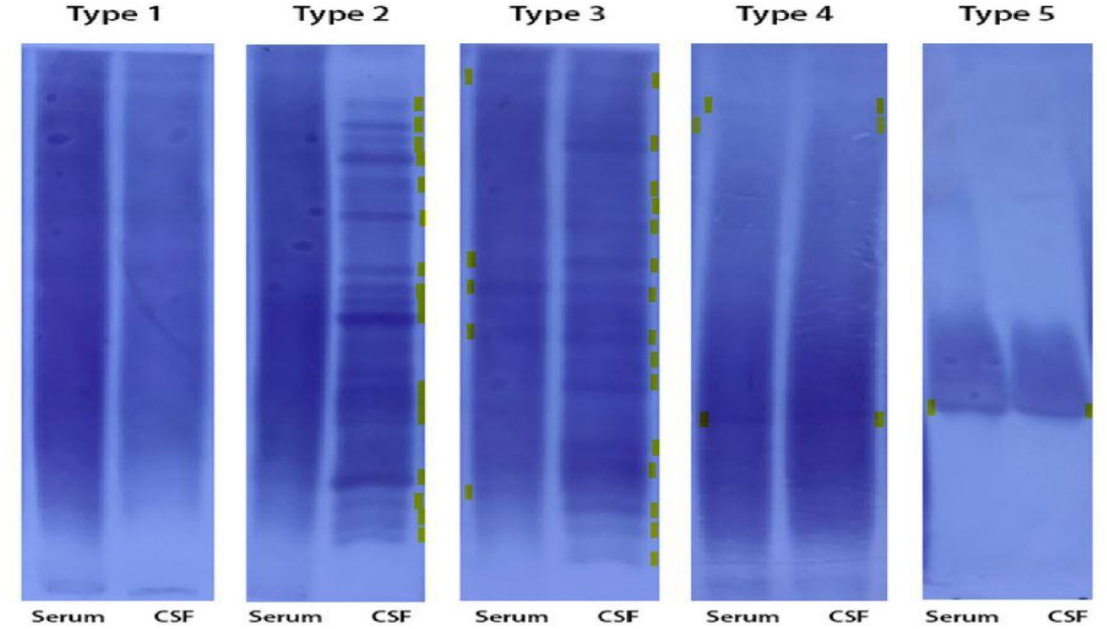
Oligoklonal Band

Oligoklonal Band

- **Serum ve BOS** örneklerinde IgG üretimini karşılaştırarak SSS'de intratekal antikor sentezi varlığını gösterir.
- OKB testi rutininde **IgG tipi** immünoglobulinler analiz edilir
 - Özel durumlarda **IgM** veya **IgA OKB** da araştırılabilir
 - IgM OKB:
 - Akut inflamasyonda (viral enfeksiyonlar, akut demyelinizasyonda pozitifleşebilir)
 - Daha agresif hastalık seyri ve uzun vadeli daha kötü prognozla ilişkili olabilir
 - IgA OKB:
 - Nörosfiliz ve immün yetmezliklerde saptanabilir.
 - **IgM veya IgA OKB testleri:** Standartize değildir ve klinikte sık kullanılmazlar

Oligoklonal Band

- **Tip 1 patern:**
 - BOS ve serumda OKB yoktur (intratekal IgG sentezi yok, normal patern)
- **Tip 2 patern:**
 - Sadece BOS'ta OKB'ler vardır (**intratekal IgG sentezi var**)
- **Tip 3 patern:**
 - Sadece BOS'a ait OKB'lerin yanısıra BOS ve serumda aynı bantlar vardır (**intratekal IgG sentezi var**)
- **Tip 4 patern:**
 - BOS ve serumda aynı OKB'ler vardır (intratekal IgG sentezi yok)
- **Tip 5 patern:**
 - BOS ve serumda monoklonal bantlar var (intratekal IgG sentezi yok, monoklonal gammopati)



Oligoklonal Band

- Hangi durumlarda pozitifleşebilir?
 - **Nöroinflamatuvar/Demyelinizan Hastalıklar**
 - Multipl skleroz (%87-95)
 - Klinik/radyolojik izole send. (%40-70)
 - MOGAD (%12-43)
 - NMOSB (%16-27)
 - ADEM (%20-30)
 - İnflamatuar polinöropati (%5-10)

Willis MD, et al. Oligoclonal bands. Pract Neurol. 2024
Cabrera CM. Adv Clin Chem. 2022

	n=	Positive OCBs (%)	Type 1 (%)	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5
		Type 2/3—unpaired	Normal	Unpaired		Paired	Monoclonal
Primary neuroinflammatory							
Multiple sclerosis	12 253	87.7					
	62	95					
	206	90.3	9.2	87.9	2.4	0.5	0
Clinically isolated syndrome	2685	68.6					
MOGAD	23	43.5					
	57	12.3					
	150	12.6	67.3	9.3	3.3	18.7	1.3
Neuromyelitis optica (AQP4 positive)	177	16.4	71.8	10.7	5.7	11.3	0.6
Systemic inflammatory with CNS involvement							
Neurosarcoidosis	41	40					
	11	27					
	61	3					
SLE with CNS involvement	19	42					
CNS vasculitis	17	23.5					
Parenchymal neuro-Behçet's syndrome	74	10.8	78.4	10.8	0	10.8	0
CVST Behçet's syndrome	22	0	86.4	0	0	13.6	0
Sjögren's syndrome with CNS involvement	8	25					
Autoimmune encephalitides							
NMDAR	82	35					
	196	>50					
	57	78.9					
LGI1	36	19					
	41	5					
CASPR2	38	23–32					
GABA-B	10	40					
	19	>50					
GABA-A	24	23–32					
AMPA	19	37					
IgLON5	29	7					
GlyR	62	23–32					
GAD	163	>50					
GFAP	24	54					
	39	77					

Oligoklonal Band

- Hangi durumlarda pozitifleşebilir?
 - **Otoimmün ensefalitler**
 - Anti-NMDAR ensefaliti (**%35-79**)
 - LGI1 (**%5-19**)
 - CASPR2 (**%23-32**)
 - GABA-A ve B (**%23-50**)
 - Anti GAD ensefaliti (**>%50**)
 - GFAP astrositopatisi (**%54-77**)
 - **Sistemik inflamatuvar/otoimmün hast.**
 - Nörolupus (**%42-65**)
 - Sjögren sendromu (**%25**)
 - Nörobeçet sendromu (**%10-56**)
 - Nörosarkoidoz (**%3-40**)

Willis MD, et al. Oligoclonal bands. Pract Neurol. 2024
Cabrera CM. Adv Clin Chem. 2022

	n=	Positive OCBs (%)	Type 1 (%)	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5
		Type 2/3—unpaired	Normal	Unpaired		Paired	Monoclonal
Primary neuroinflammatory							
Multiple sclerosis	12 253	87.7					
	62	95					
	206	90.3	9.2	87.9	2.4	0.5	0
Clinically isolated syndrome	2685	68.6					
MOGAD	23	43.5					
	57	12.3					
	150	12.6	67.3	9.3	3.3	18.7	1.3
Neuromyelitis optica (AQP4 positive)	177	16.4	71.8	10.7	5.7	11.3	0.6
Systemic inflammatory with CNS involvement							
Neurosarcoidosis	41	40					
	11	27					
	61	3					
SLE with CNS involvement	19	42					
CNS vasculitis	17	23.5					
Parenchymal neuro-Behçet's syndrome	74	10.8	78.4	10.8	0	10.8	0
CVST Behçet's syndrome	22	0	86.4	0	0	13.6	0
Sjögren's syndrome with CNS involvement	8	25					
Autoimmune encephalitides							
NMDAR	82	35					
	196	>50					
	57	78.9					
LGI1	36	19					
	41	5					
CASPR2	38	23–32					
GABA-B	10	40					
	19	>50					
GABA-A	24	23–32					
AMPA	19	37					
IgLON5	29	7					
GlyR	62	23–32					
GAD	163	>50					
GFAP	24	54					
	39	77					

Oligoklonal Band

- Hangi durumlarda pozitifleşebilir?
 - **Enfeksiyöz hastalıklar**
 - Nöroborelyozis (~ %80)
 - Nörosfiliz (%90-100)
 - HIV ensefaliti (%60)
 - Menenjit/meningoensefalit (%10-15)
 - **Nörodejeneratif hastalıklar**
 - Parkinson hastalığı (%15)
 - Spinal kanal stenozları (%4-5)

Willis MD, et al. Oligoclonal bands. Pract Neurol. 2024
Cabrera CM. Adv Clin Chem. 2022

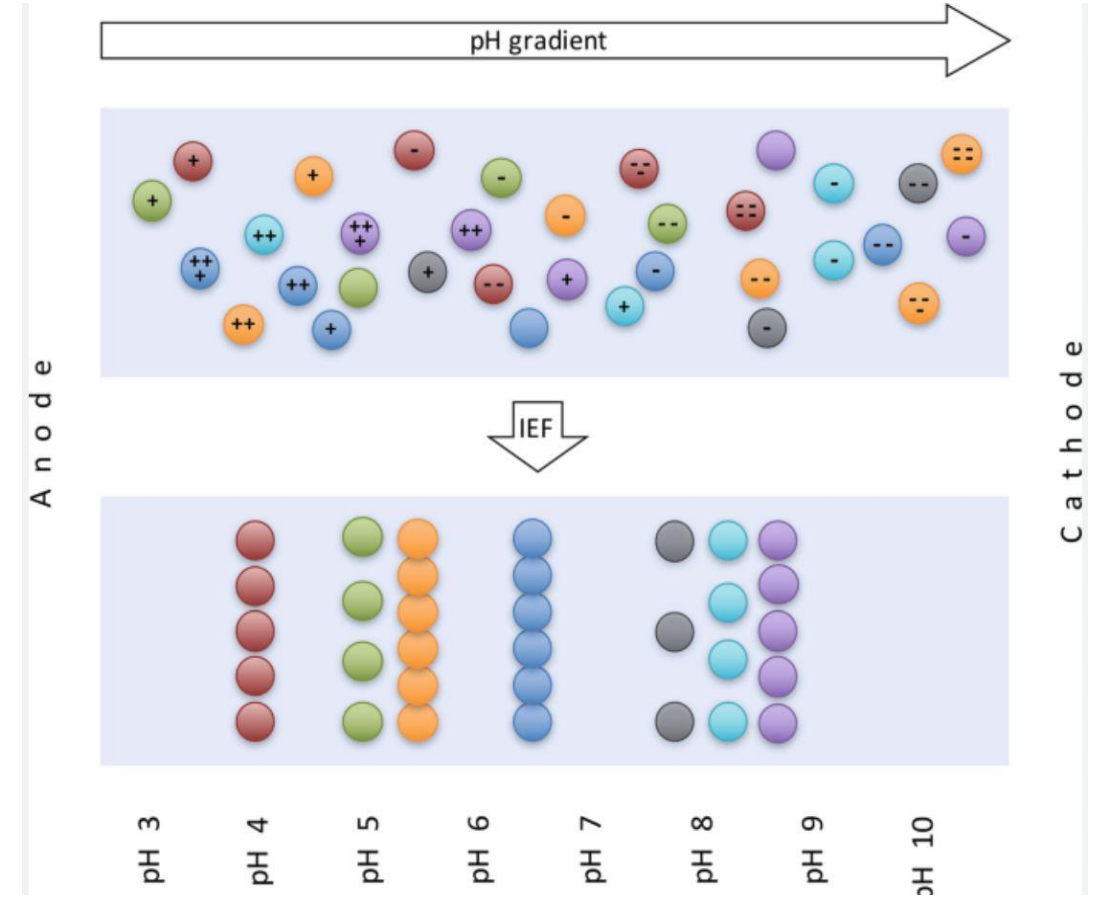
	n=	Positive OCBs (%)	Type 1 (%)	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5
		Type 2/3—unpaired	Normal	Unpaired		Paired	Monoclonal
Primary neuroinflammatory							
Multiple sclerosis	12 253	87.7					
	62	95					
	206	90.3	9.2	87.9	2.4	0.5	0
Clinically isolated syndrome	2685	68.6					
MOGAD	23	43.5					
	57	12.3					
	150	12.6	67.3	9.3	3.3	18.7	1.3
Neuromyelitis optica (AQP4 positive)	177	16.4	71.8	10.7	5.7	11.3	0.6
Systemic inflammatory with CNS involvement							
Neurosarcoidosis	41	40					
	11	27					
	61	3					
SLE with CNS involvement	19	42					
CNS vasculitis	17	23.5					
Parenchymal neuro-Behçet's syndrome	74	10.8	78.4	10.8	0	10.8	0
CVST Behçet's syndrome	22	0	86.4	0	0	13.6	0
Sjögren's syndrome with CNS involvement	8	25					
Autoimmune encephalitides							
NMDAR	82	35					
	196	>50					
	57	78.9					
LGI1	36	19					
	41	5					
CASPR2	38	23–32					
GABA-B	10	40					
	19	>50					
GABA-A	24	23–32					
AMPA	19	37					
IgLON5	29	7					
GlyR	62	23–32					
GAD	163	>50					
GFAP	24	54					
	39	77					

Oligoklonal Band

- **Metodoloji**

- **İzoelektrik Odaklama (IEF) + IgG immunoblot**

- Altın standart teknik
 - En yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip
 - BOS ve serum eş zamanlı pH'a göre **elektroforez** ile ayrıştırılır
 - **İzoelektrik odaklama**: Proteinleri pH yüklerine göre ayırır.
 - **İmmunoblot**: IgG bantlarını özgün olarak görselleştirir.
 - Teknik olarak **zordur**.



Oligoklonal Band

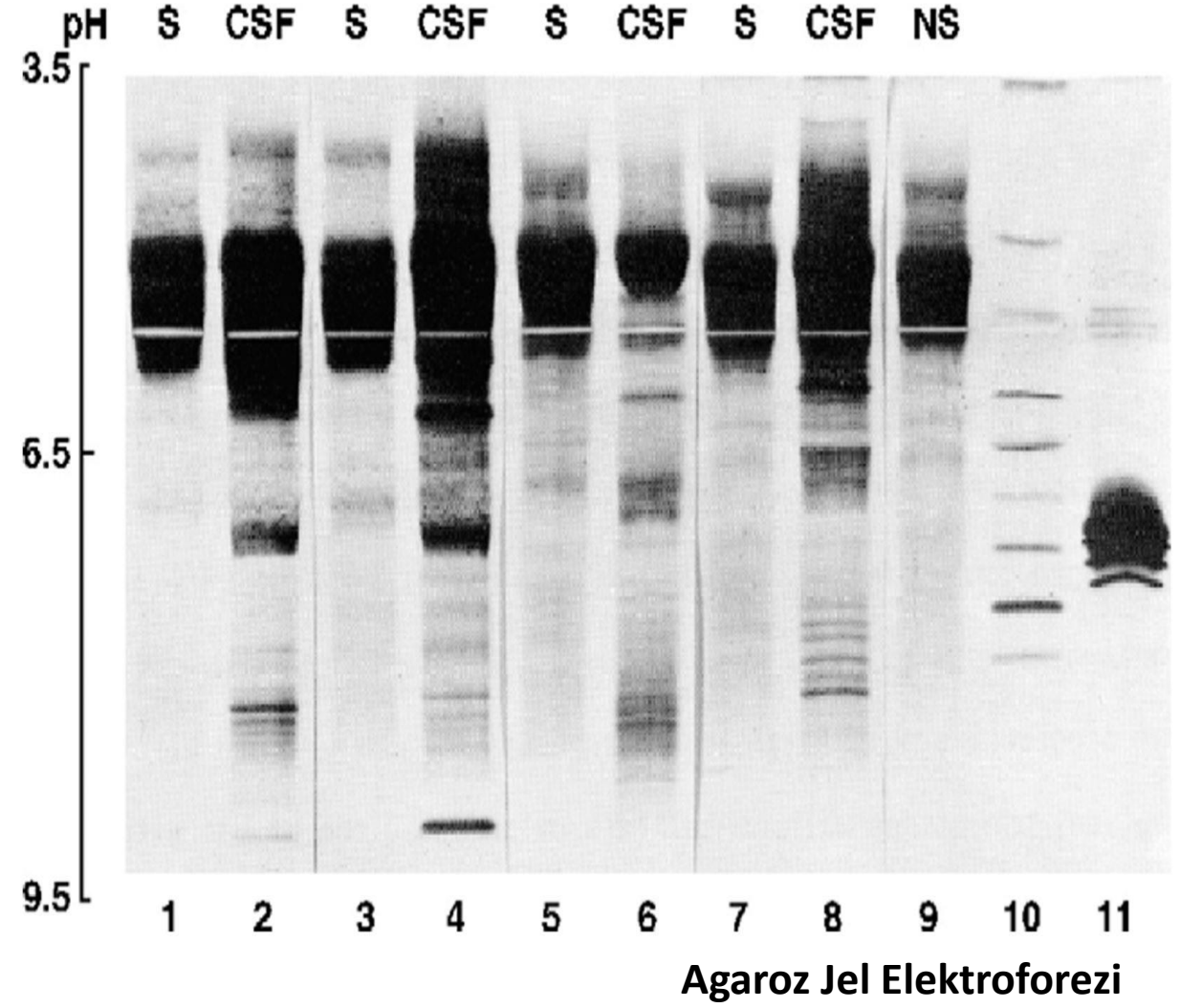
- **Metodoloji**

- **Agaroz Jel Elektroforezi**

- BOS ve serum örnekleri **agaroz jelde** elektroforeze tabi tutulur.
 - **Protein boyaları** kullanılarak bantlar görselleştirilir.
 - Daha kolay ve düşük maliyetli
 - Ancak **yanlış negatiflik sık**

- **Kapiler Elektroforez**

- **İnce kapiler tüplerde** yüksek voltaj ile proteinler ayrıştırılır.
 - Otomatize sistemler kullanılır
 - Hızlı sonuç verir.
 - Spesifitesi daha düşüktür.



Oligoklonal Band

- **Klinik Önemi**

- SSS'de nöroinflamasyon varlığını göstermede önemli bir belirteç
- Multipl sklerozda **OKB'nin sebat etmesi → Yüksek MR lezyon yükü** ve daha **kötü klinik seyirle** ilişkili olabileceği bildirilmiş.
- Klinik izole sendromlu ve radyolojik izole sendromlu hastalarda → OKB pozitifliği MS gelişme riskini ve daha erken relapsı öngörebilir.
- NMOSB, MOGAD ve KIDP'de OKB pozitifliğinin prognoz ile ilişkisi net değil
- Negatif OKB sonucu MS tanısını dışlamaz;
 - Eşlik eden diğer belirteçlerin varlığı (kappa serbest hafif zincir, serum nörofilament hafif zincir, glial fibriler asidik protein gibi) değerlendirilmelidir.

Dobson R, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013

Yılmaz D, et al. Mult Scler Relat Disord. 2023

Solmaz İ, et al. Turk J Med Sci. 2022

Comabella M, et al. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2025

IgG İndeksi

IgG indeksi

- Santral sinir sisteminde **intratekal IgG sentezini** kantitatif olarak ölçen bir biyokimyasal parametre

- Formül:

$$IgG \text{ index} = \frac{CSF \text{ IgG} \times serum \text{ Albumin}}{serum \text{ IgG} \times CSF \text{ Albumin}}$$

- Laboratuvara göre değişmekle birlikte **normal değer:** < 0.7
- Anlamli yükseklik: $\geq 0.7 \rightarrow$ SSS'de plazma hücrelerinde IgG üretiminin göstergesi
- **OKB ile birlikte kullanımı** tanısal değerini artırır
- Kan beyin bariyeri hasarlarında yalancı pozitiflik olabilir

IgG indeksi

- **Metodoloji**

- **IgG ve Albumin Ölçümü**

- Nefelometri/Türbidimetri

- **Altın standart** yöntemdir
 - Yüksek doğruluk, otomatize sistemlerde hızlı sonuç

- **ELISA**

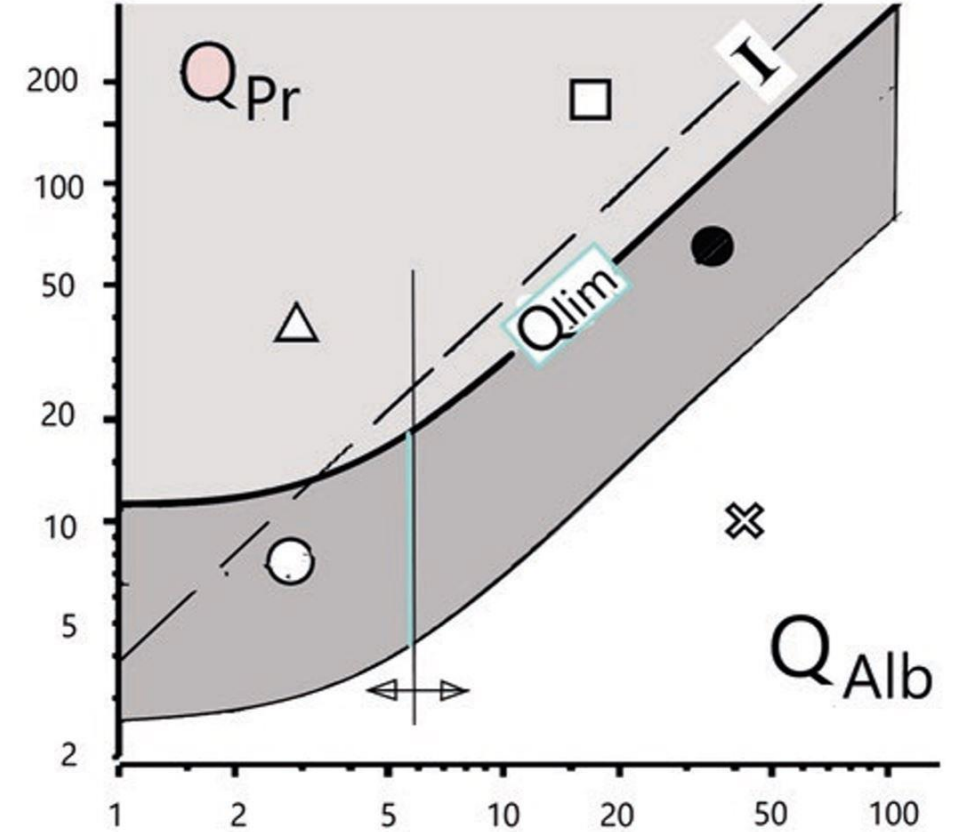
- Kolay uygulanabilir
 - Yüksek konsantrasyonlarda dilüsyon gerekir.

- **Kapiler Elektroforez**

- Protein elektroforezi ile birlikte albumin/IgG oranı hesaplanabilir.

- **Reiber Diyagramı ile Doğrulama**

- **Grafiksel Analiz:** IgG indeksi + **kan beyin bariyeri bozukluğu** aynı anda değerlendirilir.



Lo Sasso B, et al. Medicina. 2019
Reiber H. Berlin, Germany: Springer, 2024.

IgG indeksi

Yüksek IgG indeksi (≥ 0.7) ile ilişkili durumlar

- Multipl skleroz (**%60-80**)
- NMOSB (**%15-30**)
- MOGAD (**%10-30**)
- Nörosfiliz
- HIV ensefaliti/ensefalopatisi
- Tüberküloz menenjit
- HSV ensefaliti
- Otoimmün ensefalitler (**%20-50**)
 - Özellikle anti-NMDAR ensefaliti
- Nörosarkoidoz (%30-50)
- Nörobeçet sendromu (%20-40)
- Nörolupus (%10-30)

IgG İndeksi

- **Klinik Önemi**

- Yüksek IgG indeksi → SSS'de nöroinflamasyon varlığının göstergelerinden biri
- **Tanısal olarak önemli** ancak **tek başına prognozu belirlemez.**
- Multipl Sklerozda yüksek IgG indeksi;
 - Daha aktif hastalık ve kötü prognozla ilişkili olabileceği
 - Erken tedavi veya tedavi geçişlerine karar vermede yararlı olabileceği bildirilmiş.
- IgG indeksi ve OKB pozitifliği varlığında MS'te atak sıklığı daha yüksek olabilir.
- NMOSB ve MOGAD'da IgG indeksi yüksekliğinin prognoz ile ilişkisi net değil

Kappa Serbest Hafif Zincir
(Kappa Free Light Chains-KFLC)

Kappa Serbest Hafif Zincir

- İmmünoglobulin hafif zincirleri: kappa ve lambda olarak iki tip
- Serbest hafif zincirler: BOS'ta plazma hücreleri tarafından üretilir
- Kappa serbest hafif zincirler: SSS'de intratekal sentezin hassas belirteçlerindendir
- SSS'de inflamasyon varlığında: **BOS plazma hücrelerinde kappa serbest hafif zincir üretimi artar.**
- IgG indeksinden üstünlük → **Kan beyin bariyeri bozulmasından daha az etkilenir**
- **KFLC indeksi Formül:**

$$KFLC \text{ index} = \frac{CSF \text{ KFLC} \times serum \text{ Albumin}}{serum \text{ KFLC} \times CSF \text{ Albumin}}$$

- Laboratuvara göre değişmekle birlikte **normal değer:** < 6.1 (bazı kaynaklar 5.3; 7.25)
- **Anlamli yükseklik:** ≥ 6.1 (≥ 5.3; 7.25)
- MS ve diğer demyelinizan hastalıkların ayırımında eşik değer henüz net değil

Kappa Serbest Hafif Zincir

- **Metodoloji**

- **Nefelometri/Türbidimetri**

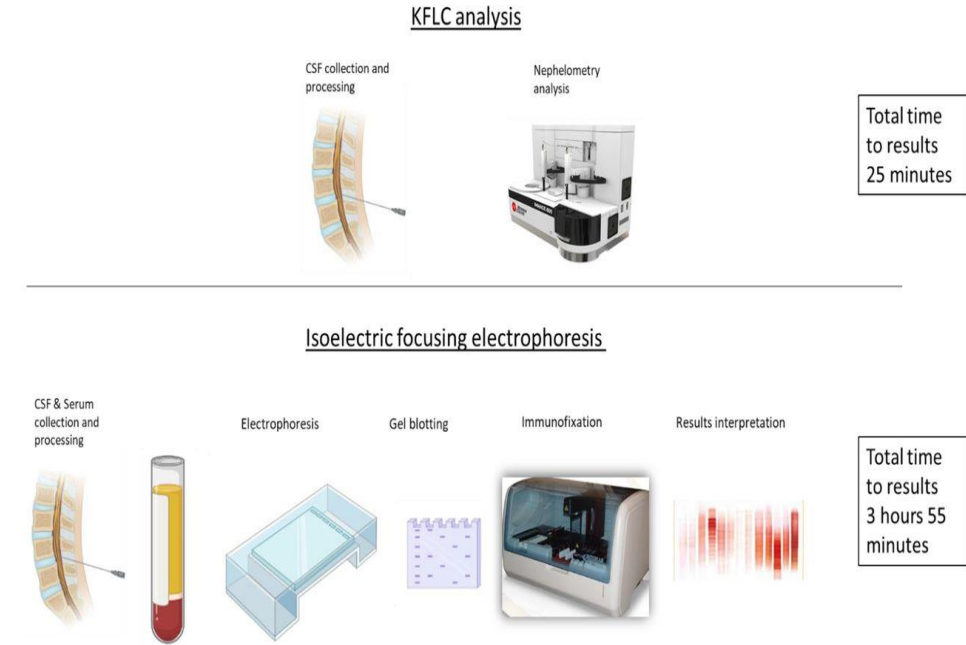
- **Altın standart** yöntemdir
 - **Yüksek spesifiteye** sahiptir, otomatize sistemlerle hızlı sonuç verir
 - Prozon etkisine dikkat: yüksek konsantrasyonlarda yalancı negatif sonuç verebilir

- **ELISA**

- Spesifitesi daha düşüktür
 - Düşük hacimli laboratuvarlar için uygun.

- **Kapiler Elektroforez**

- KFLC/ λ FLC oranı ile ek bilgi sağlar



Kappa Serbest Hafif Zincir

- **Klinik Önemi**

- BOS kappa serbest hafif zincir, eş zamanlı serum örneği bakmayı gerektirmez
 - KFLC indeksi bakılacaksa serum ve BOS eş zamanlı alınır
- Görsel değerlendirme gerektirmez nefelometri ile hızlı bir sonuç sağlar
- Hem KFLC düzeyi hem de KFLC indeks düzeyi multipl skleroz tanısında **oligoklonal bantlarla eş değer sensitivite ve spesifiteye** sahiptir (hem çocuk hem erişkin)
- Pediatrik başlangıçlı MS tanısında KFLC indeksi (>6.8 eşik değerinde): sensitivite %100 ve spesifite %92 olarak tespit edilmiş
- Kappa serbest hafif zincir pozitifliği OKB negatif olsa bile anlamlı olabilir.

Yang J, et al. Int J Mol Sci. 2022

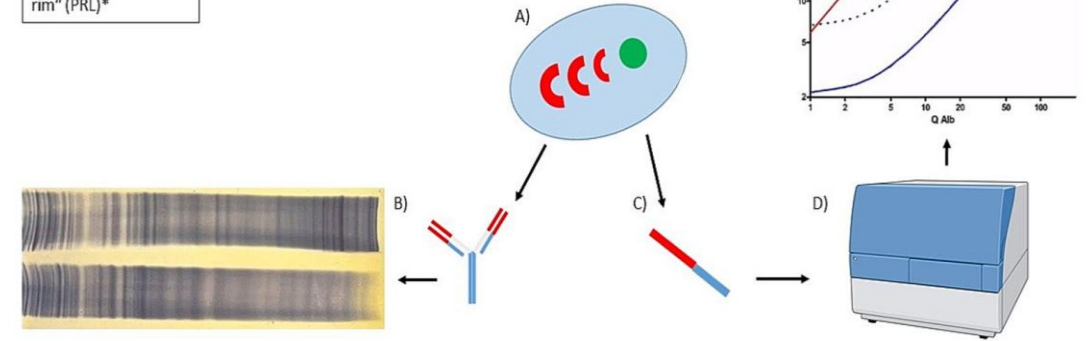
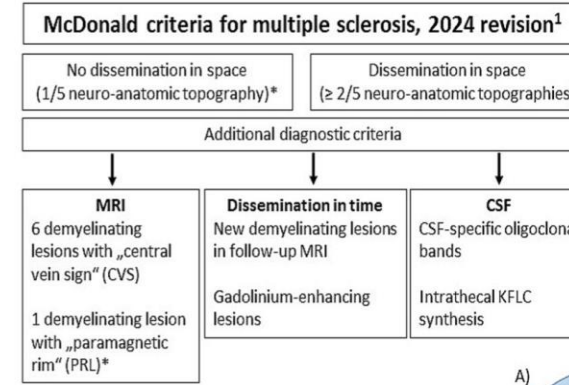
Levrant M, et al. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2022

Sarthou A, et al. Mult Scler. 2024

Kappa Serbest Hafif Zincir

• Klinik Önemi

- MS hastalarının %72-100'ünde intratekal KFLC sentez edildiği gösterilmiş
- MS'te yüksek BOS KFLC seviyeleri → hastalık ciddiyeti ve morbidite ile ilişkili bulunmuş.
- Klinik izole sendromda yüksek BOS KFLC seviyeleri → MS'e daha erken ilerleme ile ilişkili
- **Kappa serbest hafif zincir yüksekliği** saptanabilen diğer hastalıklar
 - NMOSB (%56)
 - MOGAD
 - Otoimmün ensefalitler (öz. NMDAR, LGI1)
 - Nörosjögren sendromu
 - SSS enfeksiyonları

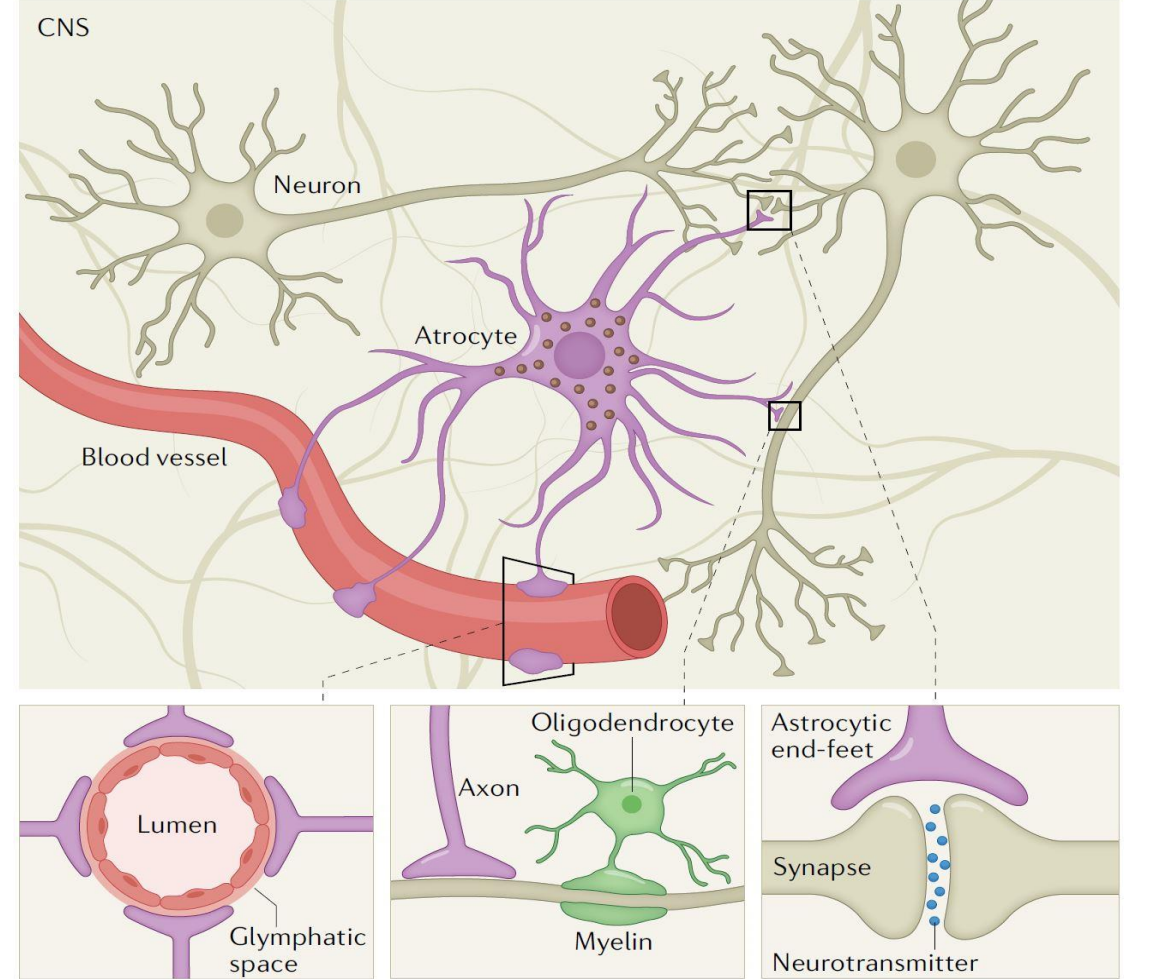


Altinier S, et al. Clin Chim Acta. 2019
Hegen H, et al. Mult Scler. 2023
Konen FF, et al. Autoimmun Rev. 2025

Anti-Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)

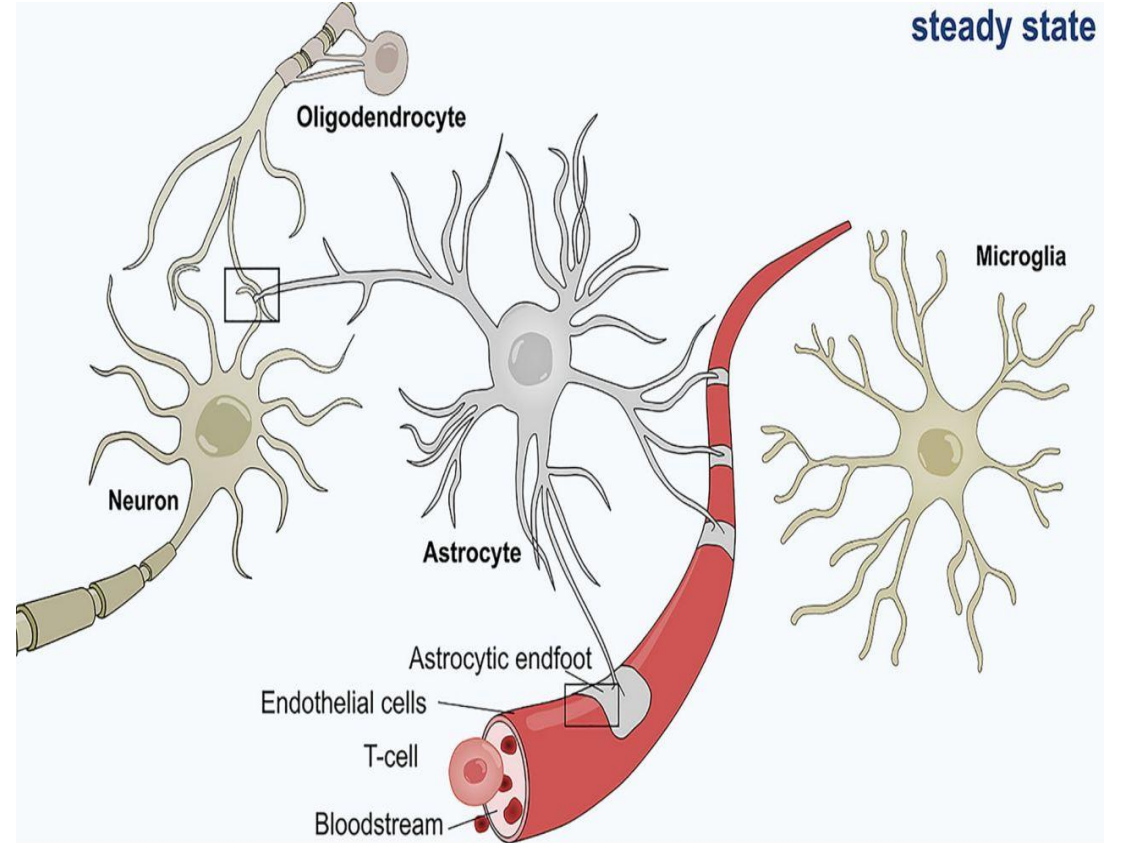
Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)

- Tip III ara filament protein ailesine ait bir proteindir ve özellikle **astrositlerde** eksprese edilir.
- SSS yapısal bütünlüğünün korunmasında rol oynar.
 - Astrositlerin mekanik stabilizasyonu
 - Nöronal homeostaz, sinyal iletimi ve yara iyileşmesi
 - Kan-beyin bariyerinin düzenlenmesi
- Astrosit hasarını gösteren bir biyobelirteçtir.



Anti-Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) Antikor

- **Başlıca Kullanım Alanları**
 - Travmatik beyin hasarı
 - Serebrovasküler olaylar
 - İskemik inme
 - **İnflamatuvar SSS hastalıkları**
 - Multipl skleroz
 - NMOSB
 - **GFAP astrositopatisi**
 - Nörodejeneratif hastalıklar
 - Alzheimer, Parkinson
 - Aleksandr hastalığı
 - SSS tümörleri
 - Glioblastom



Anti-Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) Antikor

- **Metodoloji**

- **Hücre Bazlı Assay**

- **En yüksek sensitivite ve spesifiteye** sahip yöntem

- **ELISA**

- En yaygın kullanılan yöntemlerden
 - Monoklonal/poliklonal antikorlar kullanılır.
 - Yüksek sensitiviteye sahiptir.
 - Nadir yalancı pozitiflik gözlenir.

- **Western Blot**

- Yarı kantitatif bir yöntem
 - Proteinler elektroforezle ayrılarak özgül antikorlarla tespit edilir.
 - Zaman alıcı ve ELISA kadar sensitif değil

- **Metodoloji**

- **İmmünohistokimya**

- Doku düzeyinde GFAP ekspresyonunu gösterir.
 - Gliom tanısında tercih edilir

- **Multiplex Immunoassayler**

- **Ölçüm için başlıca örnekler**

- **Beyin Omurilik Sıvısı: En yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip örnek**
 - **Plazma/Serum**
 - **Doku Örnekleri:** Biyopsi veya otopsi materyali kullanılabilir (immünohistokimya için)

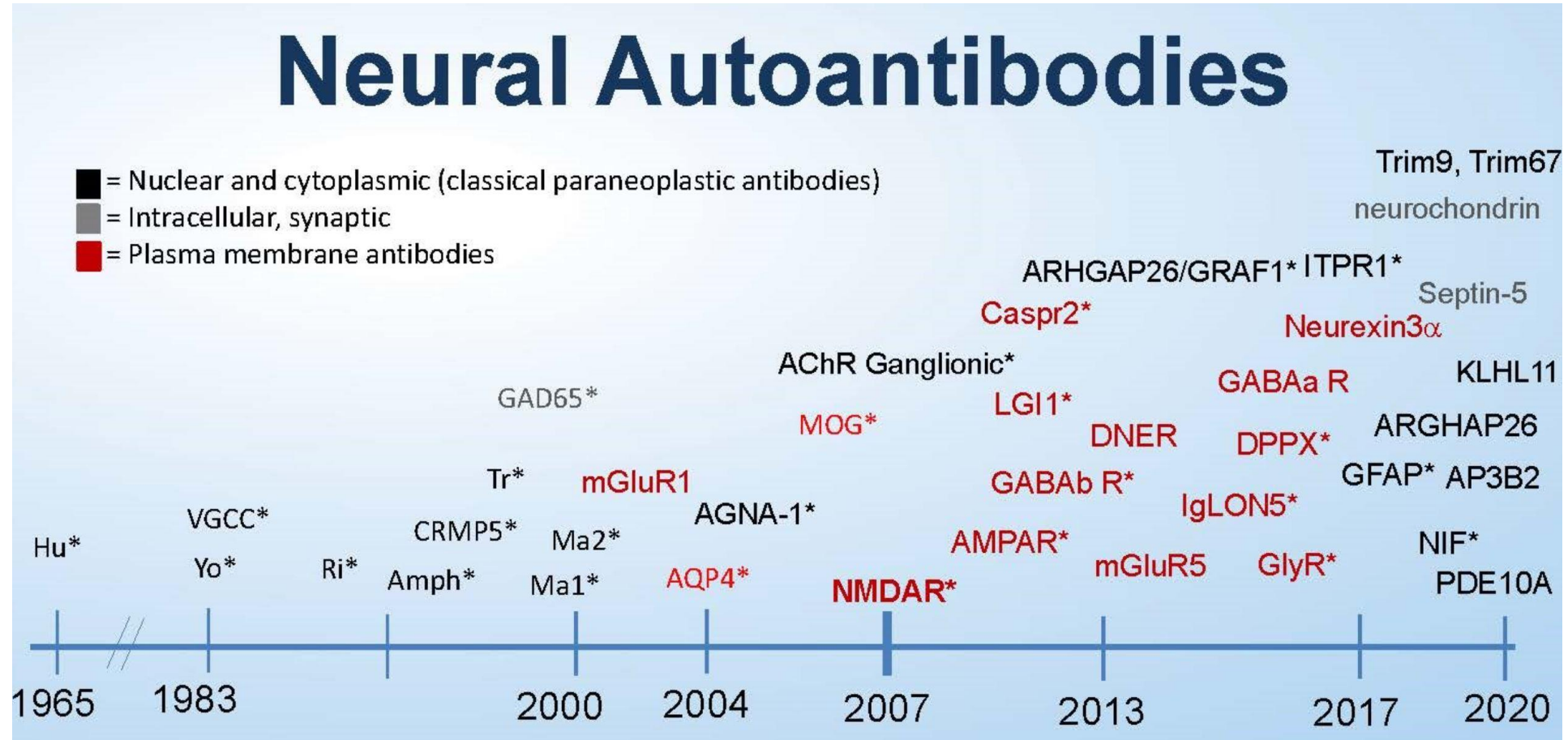
Anti-Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) Antikor

- **Klinik Önemi**

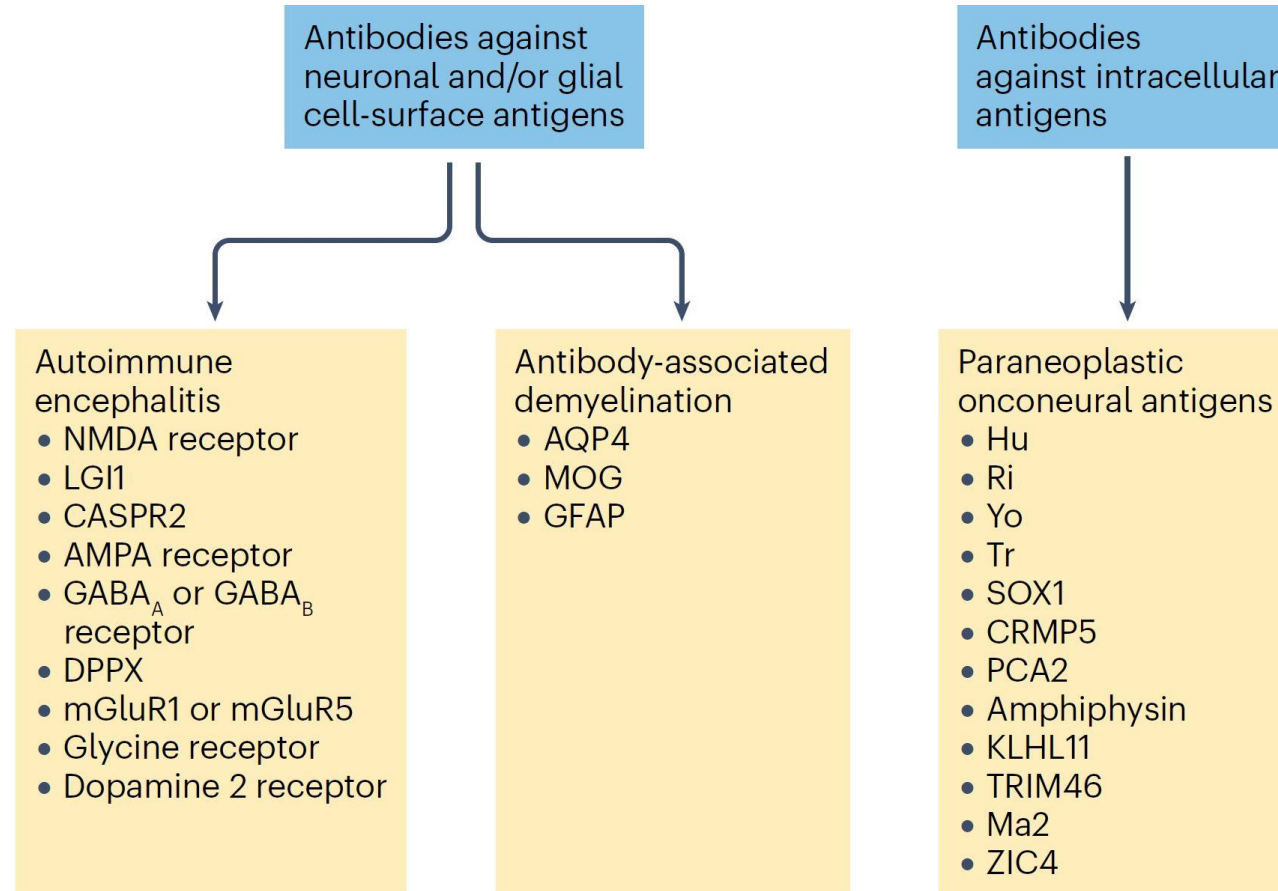
- Birçok nörolojik hastalığın **tanı, prognoz ve takibinde** kullanılan biyobelirteç
- Sekonder progresif MS'de, relapsing remiting MS'e göre daha yüksek titreler saptanır
- MS'te Anti-GFAP'ın daha yüksek BOS düzeyleri → Hastalık ciddiyeti ve nüksü ile ilişkili
- Ayrıca otoimmün meningoensefalomyelit tanısında kullanılır → **Otoimmün GFAP astrositopatisi**
 - Kesin tanı → BOS incelemesinde anti-GFAP IgG bakılır
- Anti GFAP-IgG pozitifliğinde → Malignansi taraması (over teratomu) önerilir.
- BOS düzeyleri immünoterapiye yanıtı öngörmede yardımcı

Otoimmün Ensefalit Panelleri

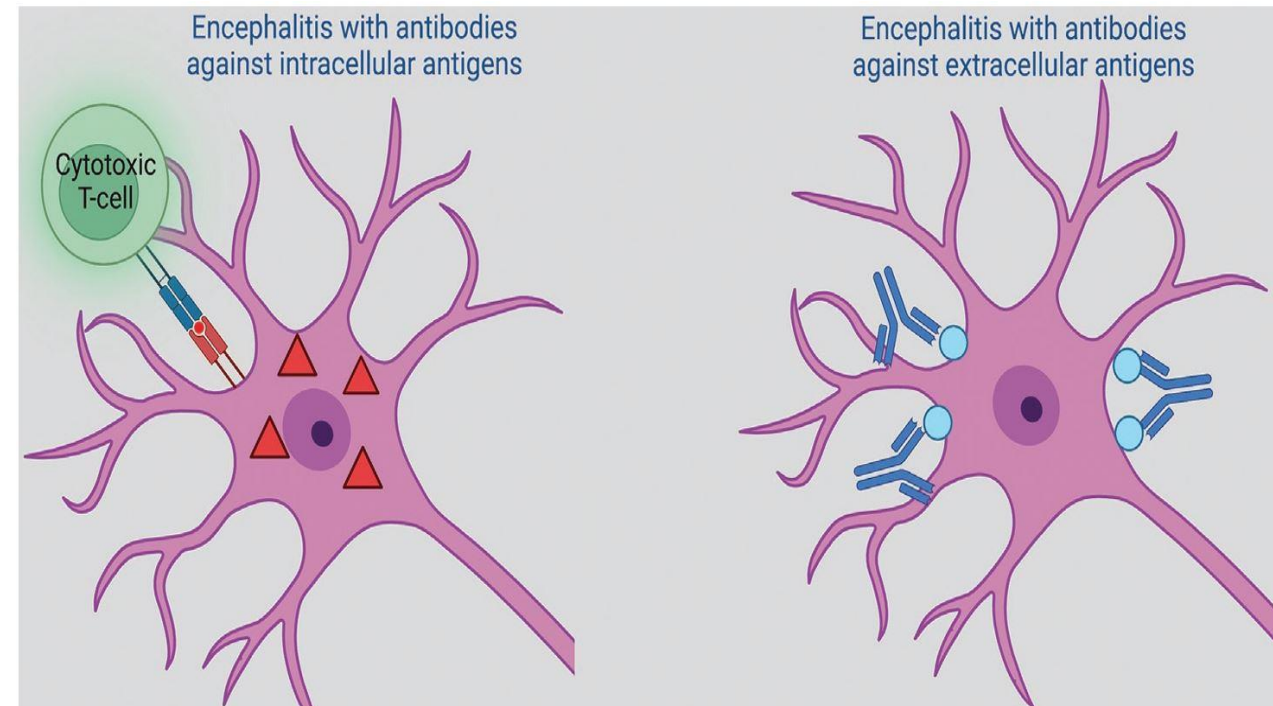
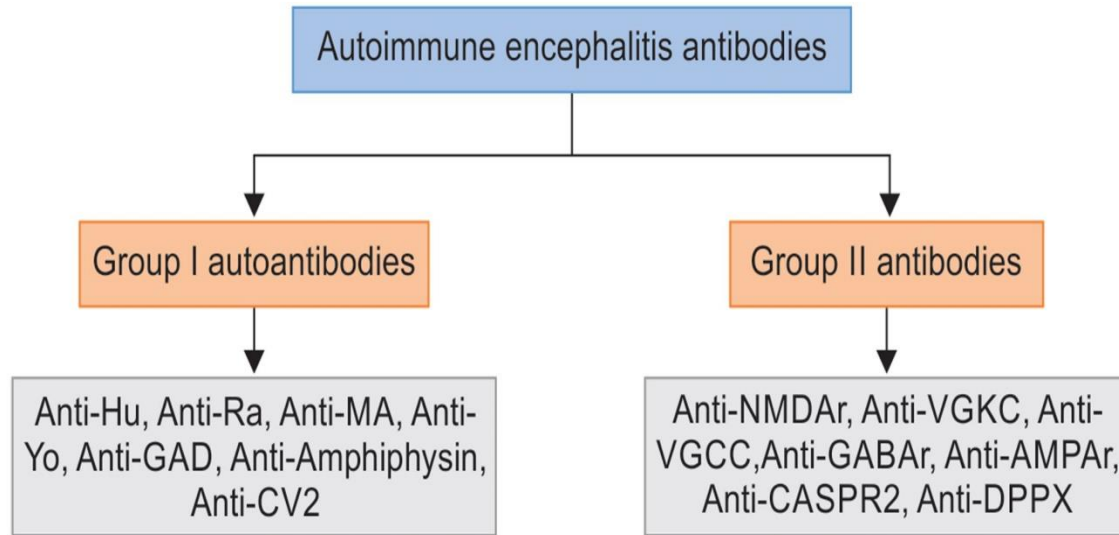
Otoimmün Ensefalit ilişkili Antikorlar



Otoimmün Ensefalit ilişkili Antikorlar



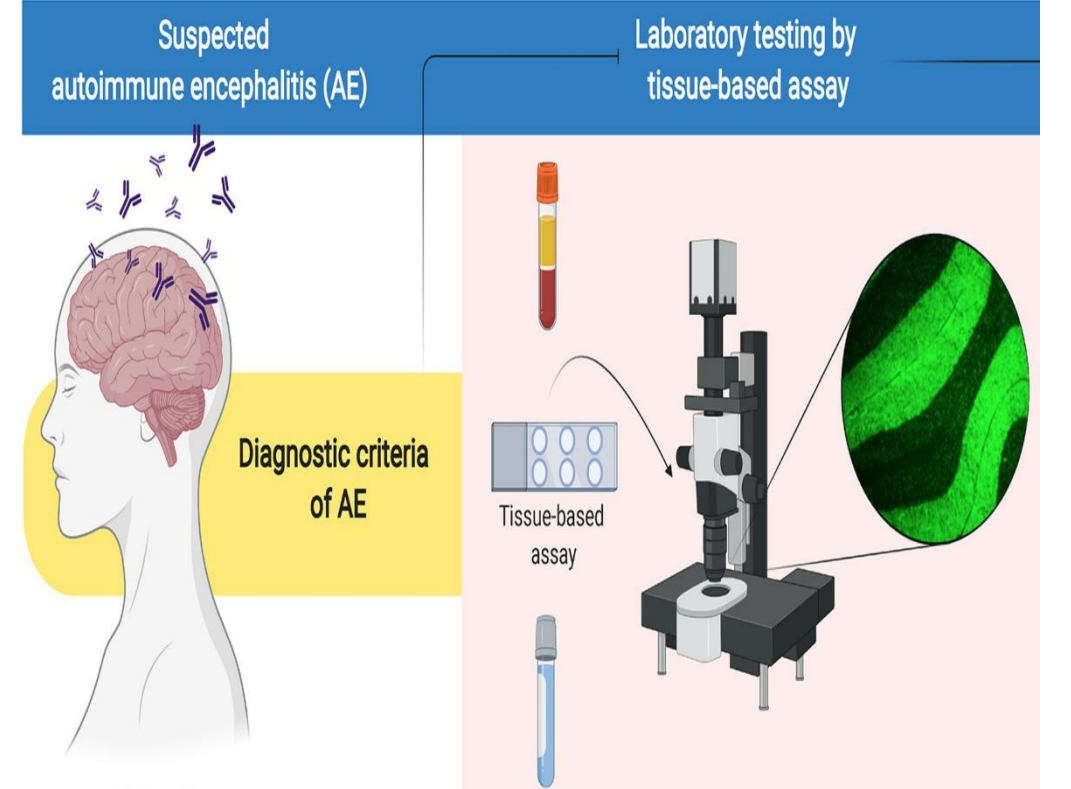
Otoimmün Ensefalit ilişkili Antikorlar



Mehndiratta MM, et al. J Assoc Physicians India. 2024
Wagner B, et al. Handb Clin Neurol. 2024

Otoimmün Ensefalit İlişkili Antikorlar

- Uygun örnek ve uygun test seçimi önemli
- Otoimmün ensefalit şüphesi olan hastalarda ideal şartlarda **hem BOS hem de serumun** birlikte test edilmesi önerilir.
- ELISA tetkiklerinin hücre bazlı assaylere kıyasla sensitivitesi düşüktür.



Otoimmün Ensefalit İlişkili Antikorlar

- Otoimmün ensefalit şüphesi olan hastalarda **geniş kapsamlı antikor panellerinin** kullanılması önerilir.
- Test panellerinin yeni antijenler keşfedildikçe **revize** edilmesi gereklidir
- İzole antikor testleri → tanısal gecikmelere ve tanı atlamaya neden olabilir.
- **Anti-NMDAR ve GFAP** ensefalitlerinde **BOS** incelemeleri değerli
 - Serum testi daha düşük sensitif ve nadiren yanlış pozitiflik (+)
- **Anti-LGI1** ensefalitinde ise **serum** daha sensitif
- **GABA-A/B reseptör** antikorları ilişkili otoimmün ensefalitte → **BOS** daha sensitif

Otoimmün Ensefalit İlişkili Antikorlar

- Otoimmün ensefalitlerde (ve SSS'nin demyelinizan hastalıklarında) **seri antikor titre ölçümü** çoğu zaman yararlı değildir.
 - Tek istisna → Anti-NMDAR ensefaliti
 - Hastalar tanıdan sonra uzun yıllar seropozitif kalabilir ancak bu dönemde remisyonda olabilirler.
- Anti-NMDAR ensefalitinde **BOS'ta seri antikor ölçümleriyle titre artışı** hastalığın nüks riskiyle ilişkili olabilir.
- Anti-NMDAR ensefalitinde **yüksek serum veya BOS titreleri → Kötü prognozla** ve altta yatan bir malignansi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir.
- Kansere ilişkisi bakımından yüksek riskli nöral antikoru olan hastalarda hastalık tanısı sonrası 2 yıl boyunca her 4-6 ayda bir kanser taraması önerilmektedir.
 - AMPAR, CASPR2, GABA-A, GABA-B, mGluR2, mGluR5, NMDAR, VGCC, DNER

Örnek ve Tanısal Test Seçimi

Antibody (alternative name)	Preferred Specimen Type	Recommended Diagnostic Assays	Antibody (alternative name)	Preferred Specimen Type	Recommended Diagnostic Assay
AMPA-R	Serum/CSF	TIFA, CBA	Adaptor protein 3B2	Serum/CSF	TIFA, CBA
Aquaporin 4	Serum	Live cell FACS, CBA	AGNA-1 (SOX1)	Serum/CSF	TIFA*, Line blot
CASPR2	Serum	TIFA, CBA	Adenylate Kinase-5	Serum/CSF	TIFA, CBA
DPPX	Serum/CSF	TIFA, CBA	Amphiphysin	Serum/CSF	TIFA, Line blot
GABA _A	CSF	TIFA, CBA	ANNA-1 (Hu)	Serum/CSF	TIFA, Line blot
GABA _B	Serum/CSF	TIFA, CBA	ANNA-2 (Ri)	Serum/CSF	TIFA, Line blot
Glycine-R	Serum/CSF	Live CBA	ANNA-3 (DACH1)	Serum/CSF	TIFA, CBA
LGII	Serum	TIFA, CBA	ARHGAP26 (GRAF1)	Serum/CSF	TIFA, CBA
mGluR1	Serum/CSF	TIFA, CBA	CRMP5 (CV2)	Serum/CSF	TIFA, Western Blot, ELISA
mGluR2	Serum/CSF	TIFA, CBA	GFAP	CSF	TIFA, CBA
mGluR5	Serum/CSF	TIFA, CBA	GAD-65	Serum/CSF	TIFA*, RIPA, ELISA
MOG	Serum (CSF in rare instances)	Live cell FACS, CBA	IgLON-5	Serum/CSF	TIFA, CBA
Neurexin3a	Serum/CSF	TIFA, CBA	ITPR1	Serum/CSF	TIFA, CBA
Neurochondrin	Serum/CSF	TIFA, CBA	KLHL-11	Serum/CSF	TIFA, CBA
NMDAR	CSF	TIFA, CBA	PCA-1 (Yo)	Serum/CSF	TIFA, Line blot
PCA-Tr (DNER)	Serum/CSF	TIFA, CBA	MAP1B (PCA-2)	Serum/CSF	TIFA, Line blot
P/Q VGCC	Serum	RIPA	Ma2	Serum/CSF	TIFA*, ELISA, CBA
SEZ6L2	Serum/CSF	TIFA, CBA	NF-L	Serum/CSF	TIFA, CBA
Septin 5	Serum/CSF	TIFA, CBA	PDE10A	Serum/CSF	TIFA, CBA
Septin 7	Serum/CSF	TIFA, CBA	RGS8	Serum/CSF	TIFA, Line blot
			TRIM 46	Serum/CSF	TIFA, CBA
			TRIM 9/67	Serum/CSF	TIFA, CBA

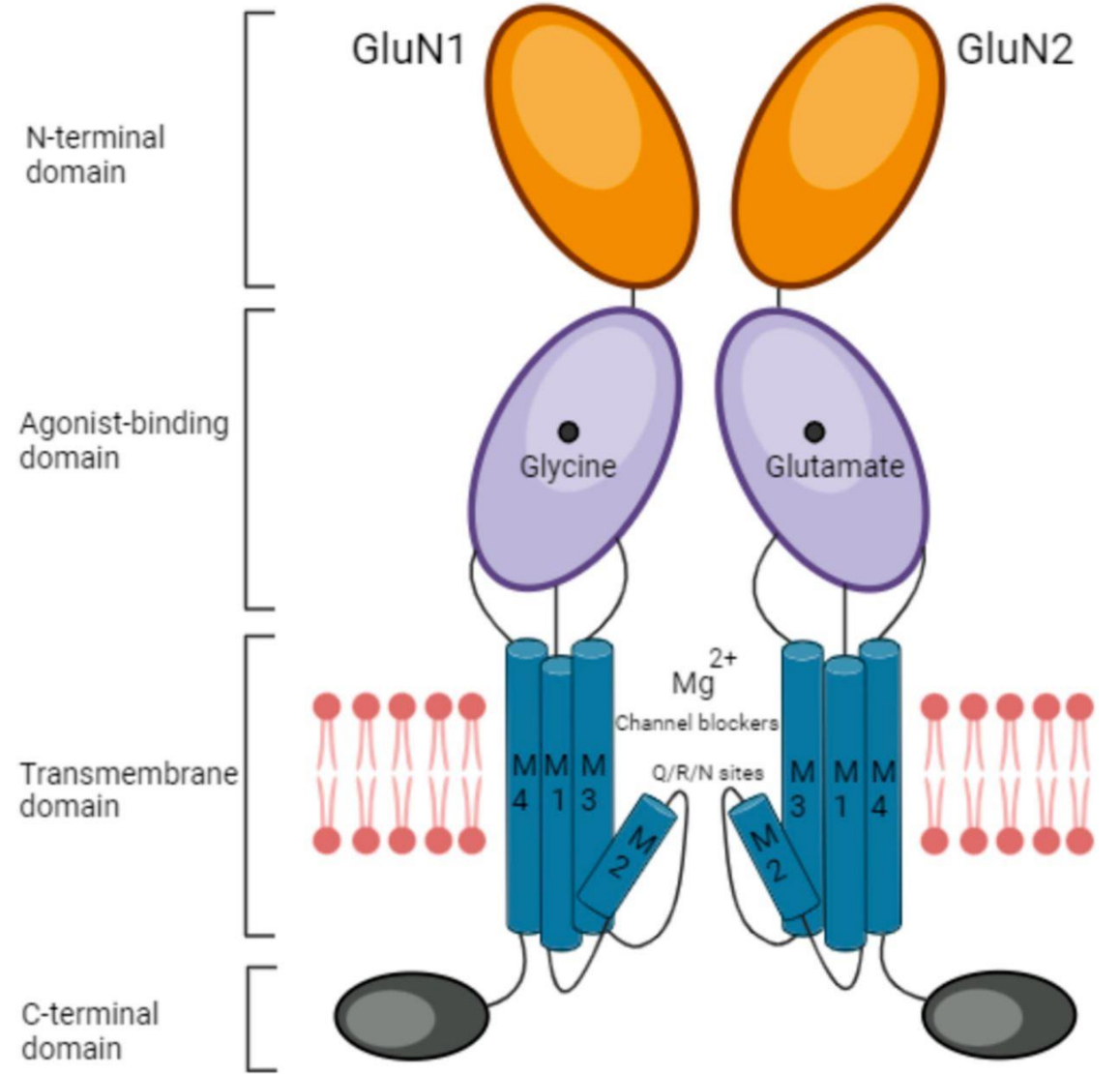
CBA: Hücre bazlı assay

TIFA: Doku bazlı indirekt immünfloresan assay

FACS: Floresan ile aktive edilen hücre ayırıştırma assay

Anti-NMDAR Antikor

- En sık otoimmün antikor ilişkili ensefalit nedeni: Anti NMDAR ensefaliti (Anti-MOG ensefaliti?)
- NMDA reseptörünün **NR1 subunitine (GluN1)** karşı gelişen antikorlarla ilişkili
- İmmünglobulin G1 alt sınıfına ait antikorlar
- Antikorlar lenf nodlarında plazma hücreleri tarafından salınıp SSS'e ulaşır.
- Hücre bazlı assaylerin kullanılması ve hem serum hem de BOS analizlerinin birlikte yapılması önerilir.

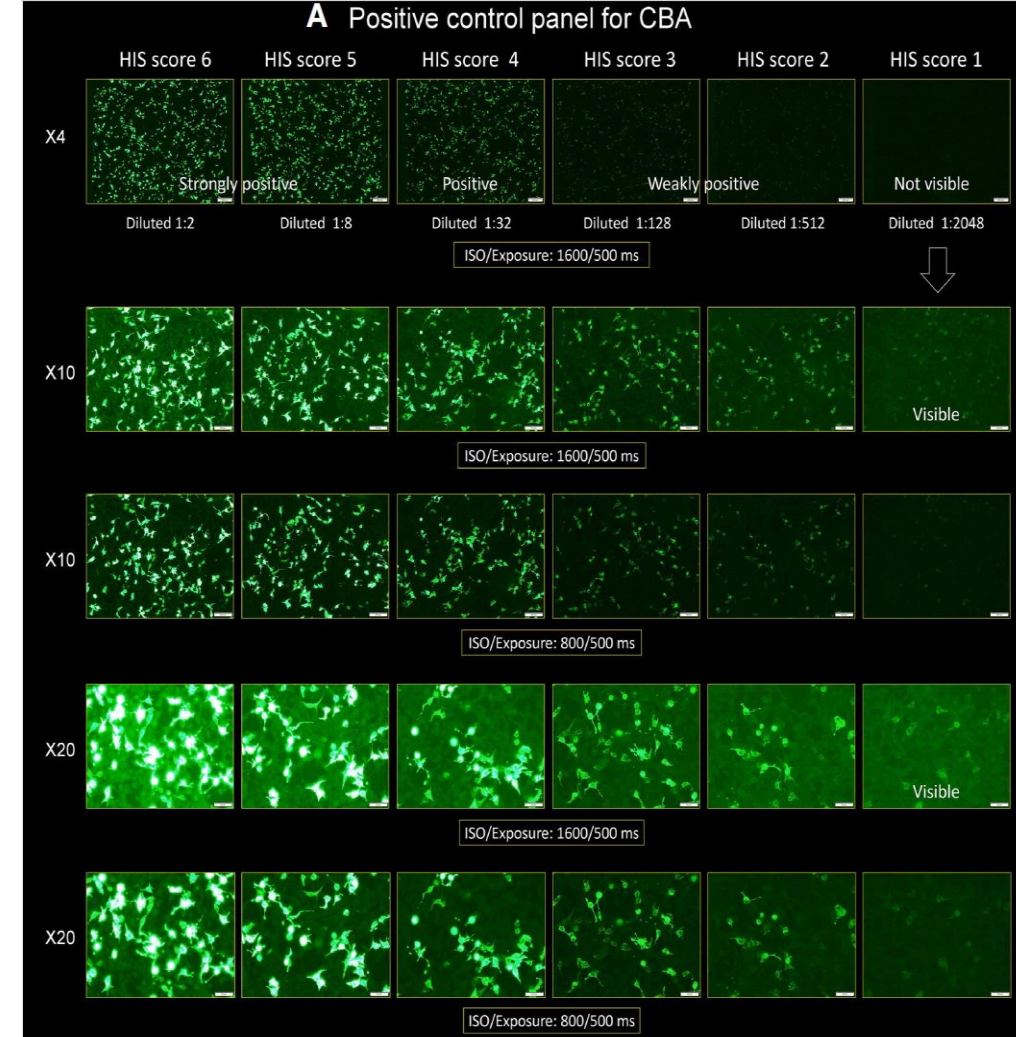


Anti-NMDAR Antikor

- **Metodoloji**

- **Hücre Bazlı Assay (CBA)**

- **Altın standart yöntem**
 - HEK293 hücrelerine insan NR1/NR2B NMDA reseptör subunitleri transfekte edilir.
 - Hasta serumu/BOS örnekleri bu hücrelerle inkübe edilir.
 - Floresan mikroskop veya flow sitometri ile değerlendirme yapılır
 - **Sensitivite: BOS: %95-98; Serum: %85-90**
 - **Spesifite: %99**
 - **BOS: $\geq 1:10$; Serum: $\geq 1:100$ → Anlamlı yüksek**



Anti-NMDAR Antikor

Metodoloji

- **Doku İmmünfloresans Testi (IFA)**

- Sıçan hipokampus/serebellumu substrat olarak kullanılır.
- Nöropil bölgesinde granüler boyanma paterni
- Sensitivite: %70-75
- Spesifite: %85-90
- Hücre bazlı assaylerden **daha hızlı** sonuç (4-6 saat)
- **Subjektif yorumlara** yol açabilir.

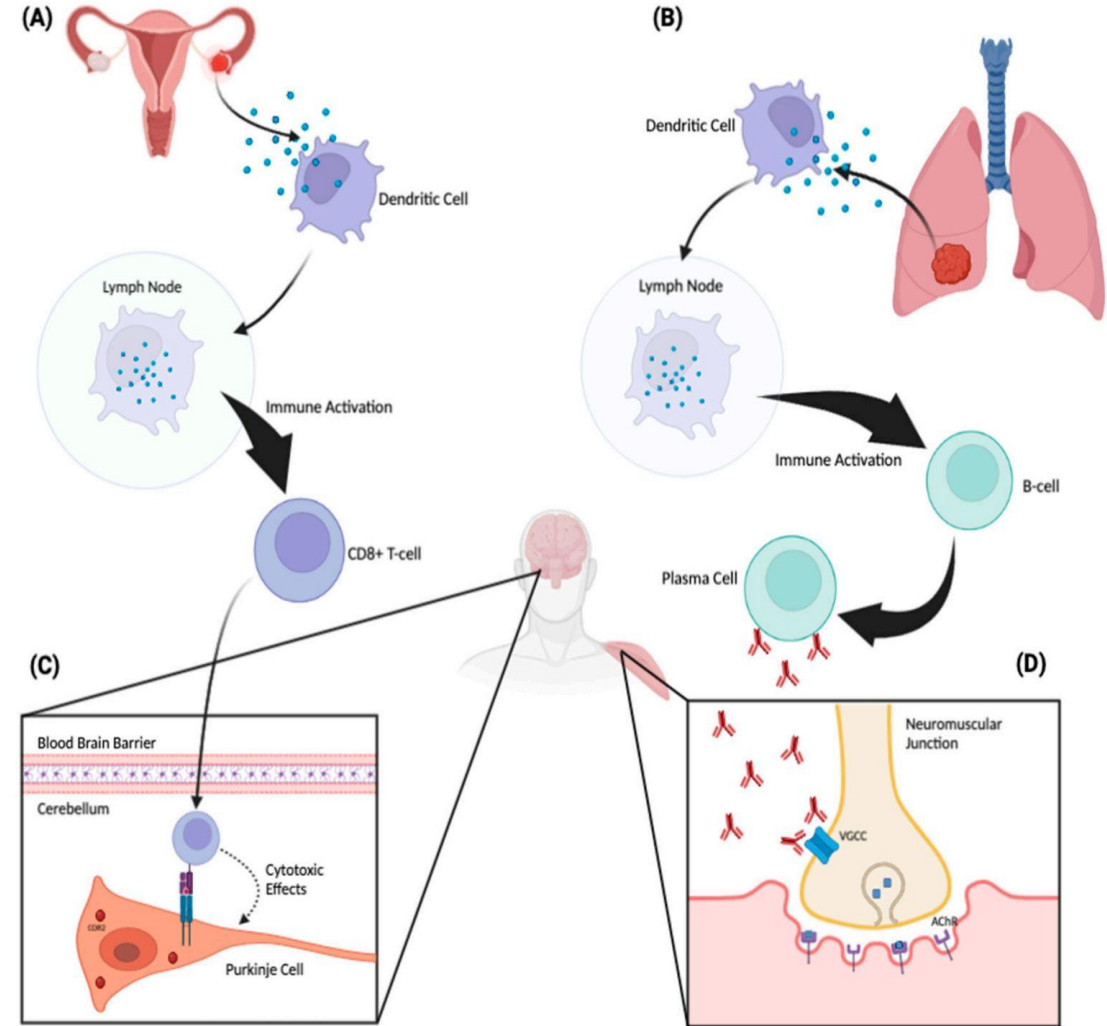
- **ELISA Yöntemi**

- Plakalara sabitlenen rekombinant NR1 proteini kullanılır
- HRP-konjuge sekonder antikor kullanımı ile görünür hale gelir
- Sensitivite: %60-70
- Spesifite: %90-95
- **Çapraz reaksiyon** verebilir
 - Anti-Hu ve anti-Yo ile

Paraneoplastik Antikor Testleri

Paraneoplastik Antikor Testleri

- Klinik şüpheli hastalarda ideal şartlarda hem **kanda** hem de **BOS**'ta paraneoplastik antikor panel testleri önerilir.
- **Hücre içi** proteinlere karşı antikorlar → Sıklıkla **serumda** tespit edilir, BOS'ta nadir
- **Sinaptik** veya **hücre zarı** proteinlerine karşı antikorlar → **BOS**'ta tespit edilir ancak serumda nadir
- Pozitiflik durumunda; **nöroblastom, lenfoma ve germ hücreli tümörlerin** dışlanması gerekir.
- Tümör taraması olarak → BT/PET/MRG yapılabilir



Paraneoplastik Antikor Testleri

- **Anti-Hu (ANNA-1)** → *Limbik ensefalit*, myelit → Küçük hücreli akciğer kanseri, nöroblastom, lenfoma → **İndirekt immünofloresan (IFA), Western Blot**
- **Anti-Yo (PCA-1)** → Serebellar dejenerasyon → Over ve meme kanseri → IFA, Western Blot
- **Anti-Ri (ANNA-2)** → Serebellar ataksi, opsoklonus-myoklonus sendromu → Meme kanseri → IFA, Western Blot
- **Anti-Ma2** → *Limbik ensefalit*, beyin sapı ensefaliti → Testis kanseri → IFA, Western Blot

Paraneoplastik Antikor Testleri

- **Anti-CV2/CRMP5** → *Limbik ensefalit*, myelit → Küçük hücreli akciğer kanseri, non-Hodgkin lenfoma, timoma → IFA, Western Blot
 - **Anti-Amfifizin** → *Limbik ensefalit*, Stiff-person sendromu → Küçük hücreli akciğer kanseri, meme kanseri → IFA, Western Blot
 - **Anti-Zic4** → Serebellar ataksi, paraneoplastik serebellar dejenerasyon → Küçük hücreli akciğer kanseri → IFA, hücre bazlı assay
 - **Anti-SOX1** → Lambert-Eaton miyastenik sendrom → Küçük hücreli akciğer kanseri → IFA, Western Blot
- Antikor titreleri ile hastalık şiddeti arasında ilişki gösterilememiştir
 - Antikor titreleri tedavi kararlarının birincil belirleyicisi olmamalıdır
 - Klinik takipte antikor titre takibi önerilmemektedir.

Paraneoplastik Antikor Testleri

- **Metodoloji**

- **İndirekt İmmünfloresan (IIF):**

- Klasik antikorlar (Anti-Hu, Yo, Ri) için **altın standart**
 - Substrat olarak sıçan serebrum/serebellum dokusu kullanılır.

- **ELISA ve Western Blot:**

- Spesifik antijenlere karşı kantitatif ölçüm sağlar (Anti-GAD65 gibi).

- **Hücre Tabanlı Assay (CBA):**

- Konformasyonel antijenler için **yüksek sensitiviteye** sahip
 - HEK293 hücrelerine insan antijenleri transfekte edilir.

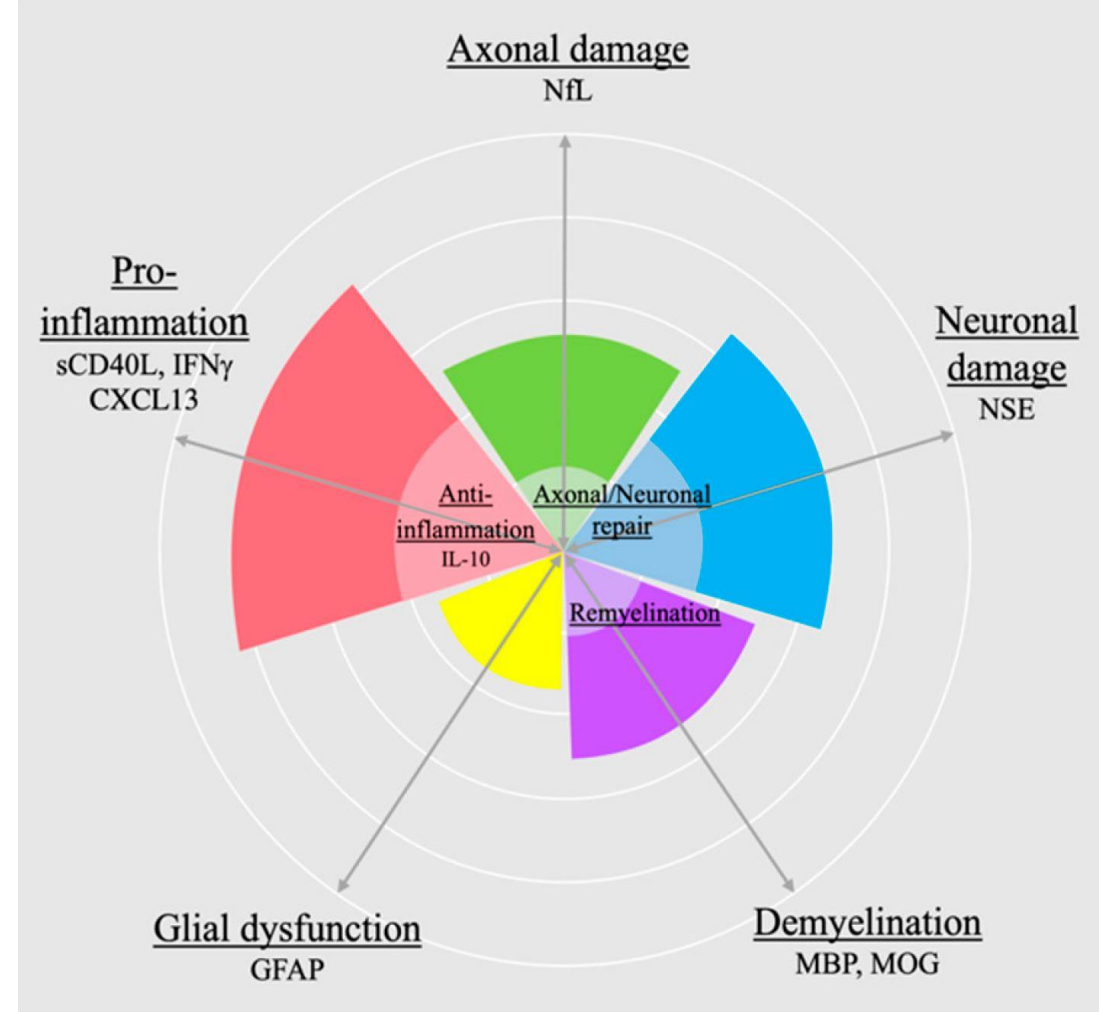
- **Likit Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS):**

- Nadir antikorların tanımlanmasında kullanılır.

İmmün Biyobelirteçler ve Sitokinler

İmmün Biyobelirteçler ve Sitokinler

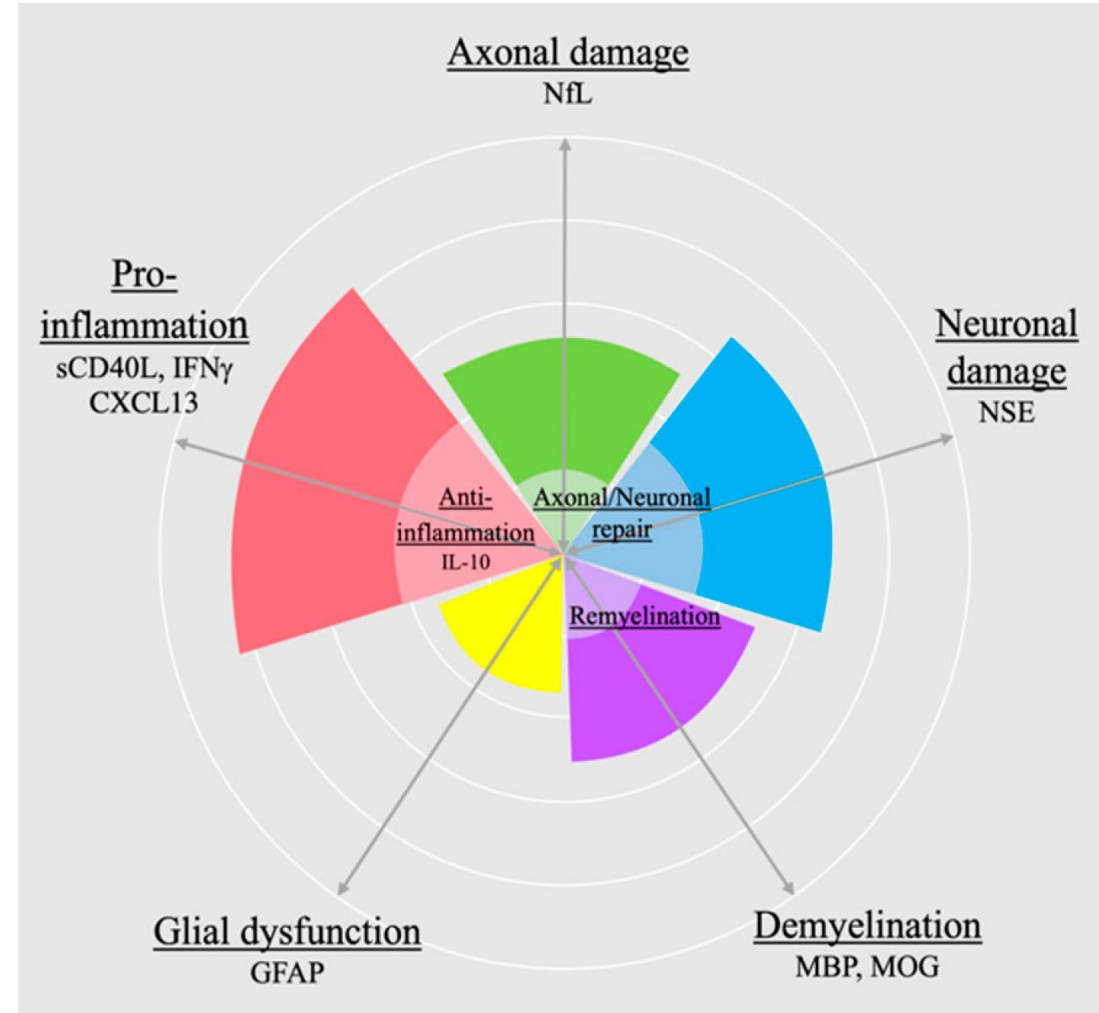
- **Aksonal Hasar İlişkili Belirteçler**
 - Nörofilament hafif zincir (NfL);
 - Amiloid prekürsör protein (APP);
 - Tubulin beta (TUBb);
 - Tau protein
- **Nöronal Hasar İlişkili Belirteçler**
 - 14-3-3;
 - Nöron spesifik enolaz (NSE)
- **Glial Disfonksiyon İlişkili Belirteçler**
 - Glial fibriler asidik protein (GFAP);
 - Anti-aquaporin 4 (AQP4);
 - Nitrik oksit (NO);
 - S100 β
- **Demiyelinizasyon İlişkili Belirteçler**
 - Miyelin basic protein (MBP);
 - Miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG)



İmmün Biyobelirteçler ve Sitokinler

• İmmünmodülasyon ve İnflamasyon Biyobelirteçleri

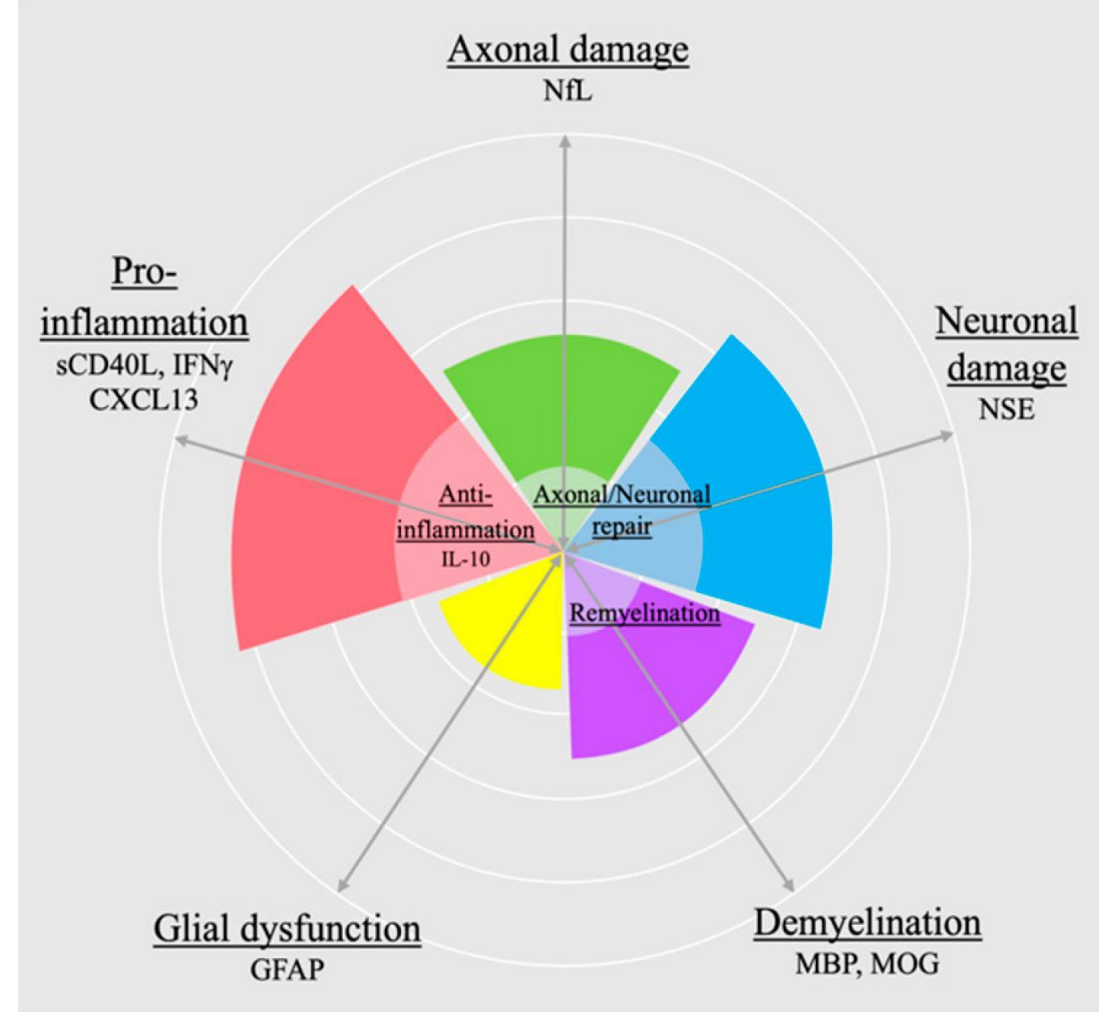
- Sitokinler
 - IFN- β , IFN- γ , IL10, IL6, IL17, TNF α , TGF- β , CXCL13, CCL11, CCL20, CXCL9
- sCD40L
- CHI3L1
- Heat shock protein (HSP)
- Kappa serbest hafif zincir
- Human endogenous retrovirusler (HERVs)



İmmün Biyobelirteçler ve Sitokinler

• Kullanım Alanları

- Tanısal destek ve ayırıcı tanı
- Hastalık alevlenmelerini belirleme
- Hastalık şiddetini belirleme
- Prognozu tahmin etme
- Tedavi yanıtını ön görme
- Nüks riskini ön görme



İmmün Biyobelirteçler ve Sitokinler

- **Hastalık-İlişkili Sitokin**

- **MOGAD/NMOSB:**

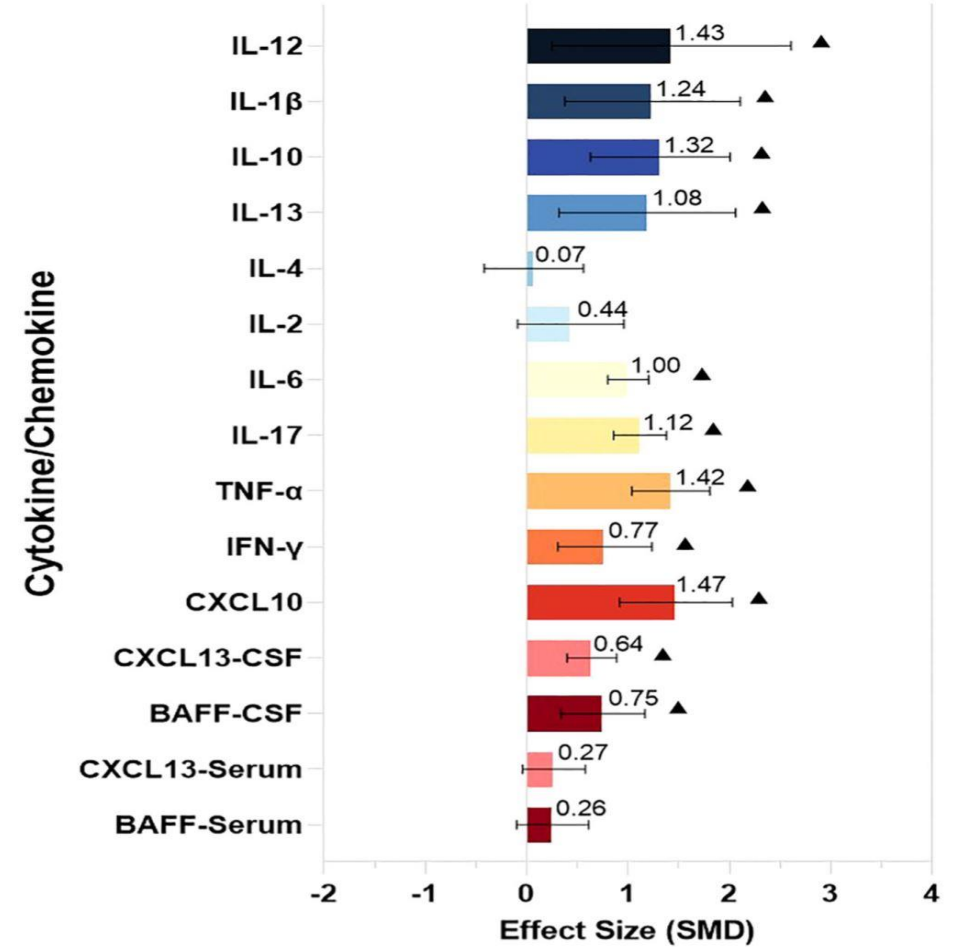
- IL-6, IL-17, IFN- γ

- **MS:**

- IL-17, TNF- α , IFN- γ , CXCL13

- **Anti-NMDAR Ensefalit:**

- IL-6, CXCL13, TNF- α
 - Düzeylerinin BOS'ta yüksek düzeyde bulunması tanıda destekleyici
 - Düzeyleri hastalık aktivitesi ve şiddetiyle korelasyon gösterebilir.
 - Tedavi yanıtını değerlendirmede kullanılabilir.

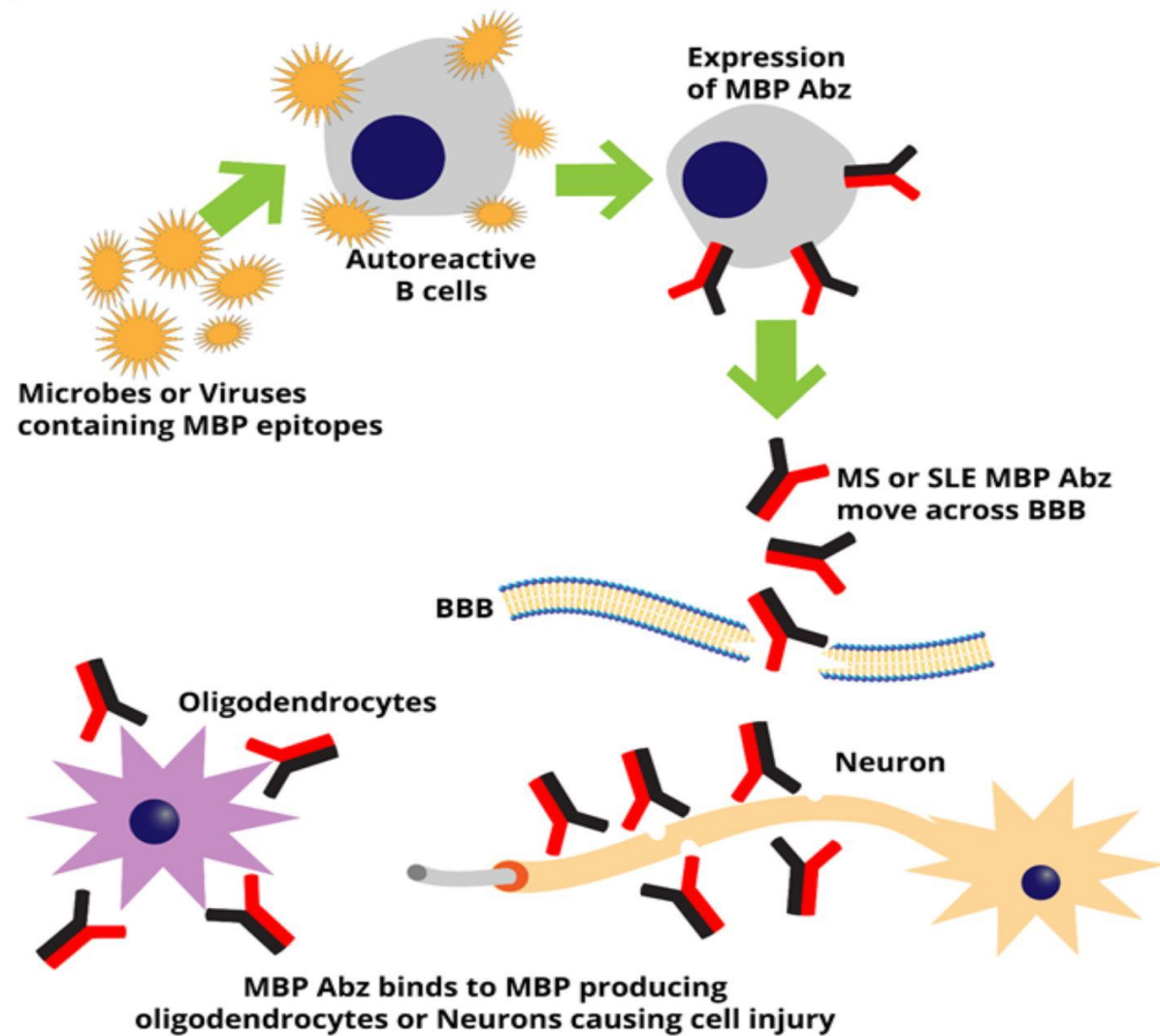


Yang J, et al. Int J Mol Sci. 2022
Ma Y, et al. Front Immunol. 2023

Miyelin Basic Protein

Miyelin Basic Protein

- Santral sinir sisteminde miyelin kılıfının önemli bir yapısal bileşeni
- SSS'de oligodendrositler ve periferik sinir sisteminde Schwann hücrelerinde (az miktarda) sentezlenir.
- Miyelin stabilizasyonunda kritik rol oynar.
- **Miyelin hasarının** erken bir belirtecidir.



Gonzalez-Gronow, M, et al. Journal of Neurology&Neuromed. 2018

Weil MT, et al. Cell Rep. 2016

Miyelin Basic Protein

- **İlişkili Olduğu Hastalıklar**

- **Multipl Skleroz**

- BOS'ta MBP artışı **aktif demiyelinizasyonun** göstergesi
 - Akut ataklarda yüksek, remisyonda düşük seviyeler görülür.

- **Akut Dissemine Ensefalomiyelit (ADEM)**

- Guillain-Barré Sendromu (GBS) (daha düşük seviyelerde)

- **Travmatik Beyin Hasarı** ve Spinal Kord Yaralanmaları

- Serum ve BOS'ta yüksek seviyeler ciddi aksonal hasar ile korele

- Diğer Nörolojik Hastalıklar

- **Lökoensefalopatiler** (Progresif multifokal lökoensefalopati gibi)
 - **Hipoksik-iskemik ensefalopati**
 - Nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer hastalığı, ALS)

Miyelin Basic Protein

- **Metodoloji**

- **ELISA**

- En sık kullanılan yöntem

- **Western Blot**

- **En spesifik** ancak zaman alıcı

- **Radyoimmünoassay (RIA)**

- Eski yöntem, nadir kullanım

- **Örnek tipi seçimi**

- **BOS: daha spesifik ve güvenilir** sonuçlar

- **Serum/Plazma:** daha az spesifik, kontaminasyon riski var.

- **Normal Değerler:**

- **BOS:** < 4 ng/mL, **serum:** < 2.5 ng/mL

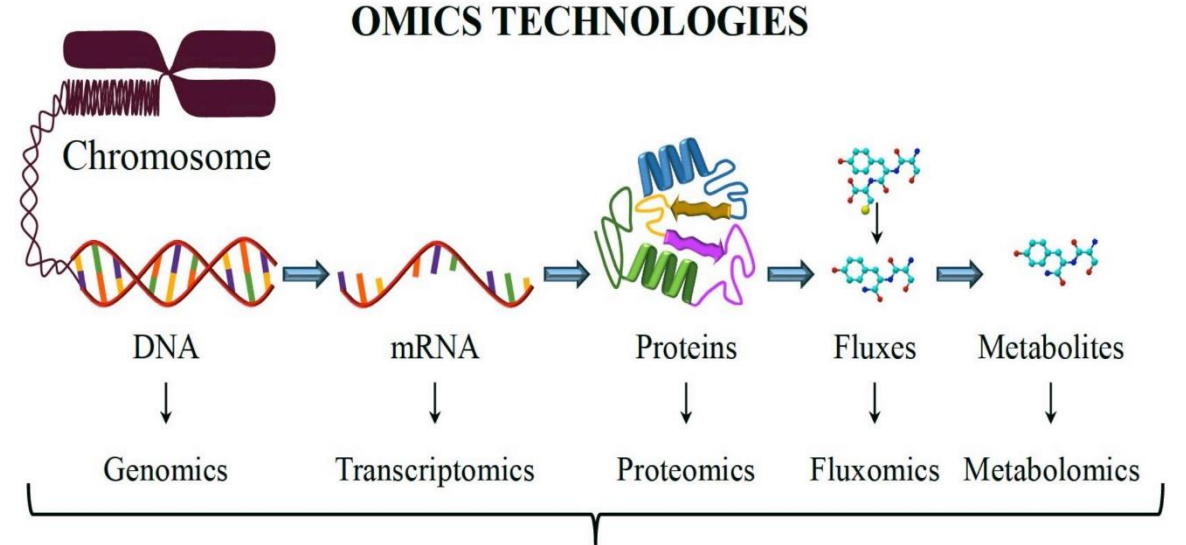
- **Patolojik Yükseklik:**

- **BOS: 4-9 ng/mL:** Hafif-orta demiyelinizasyon, **> 9 ng/mL:** Şiddetli miyelin hasarı (MS atak, ADEM)

Proteomikler, Metabolomikler ve
miRNA'lar

Proteomikler ve Metabolomikler

- Nöroimmünolojik hastalıkların;
 - **Patogenezi**ni anlama (immünolojik ve inflamatuvar mekanizmaları)
 - **Biyobelirteç belirleme** (tanı, prognoz ve tedaviye yanıt göstergeleri)
 - **Posttranslasyonel modifikasyonların** belirlenmesi
 - **Terapötik hedeflerin** oluşturulmasında önemli hale gelmekte
- Özellikle **multipl skleroz, Guillain-Barré sendromu ve kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropatide** araştırılmaktadır.

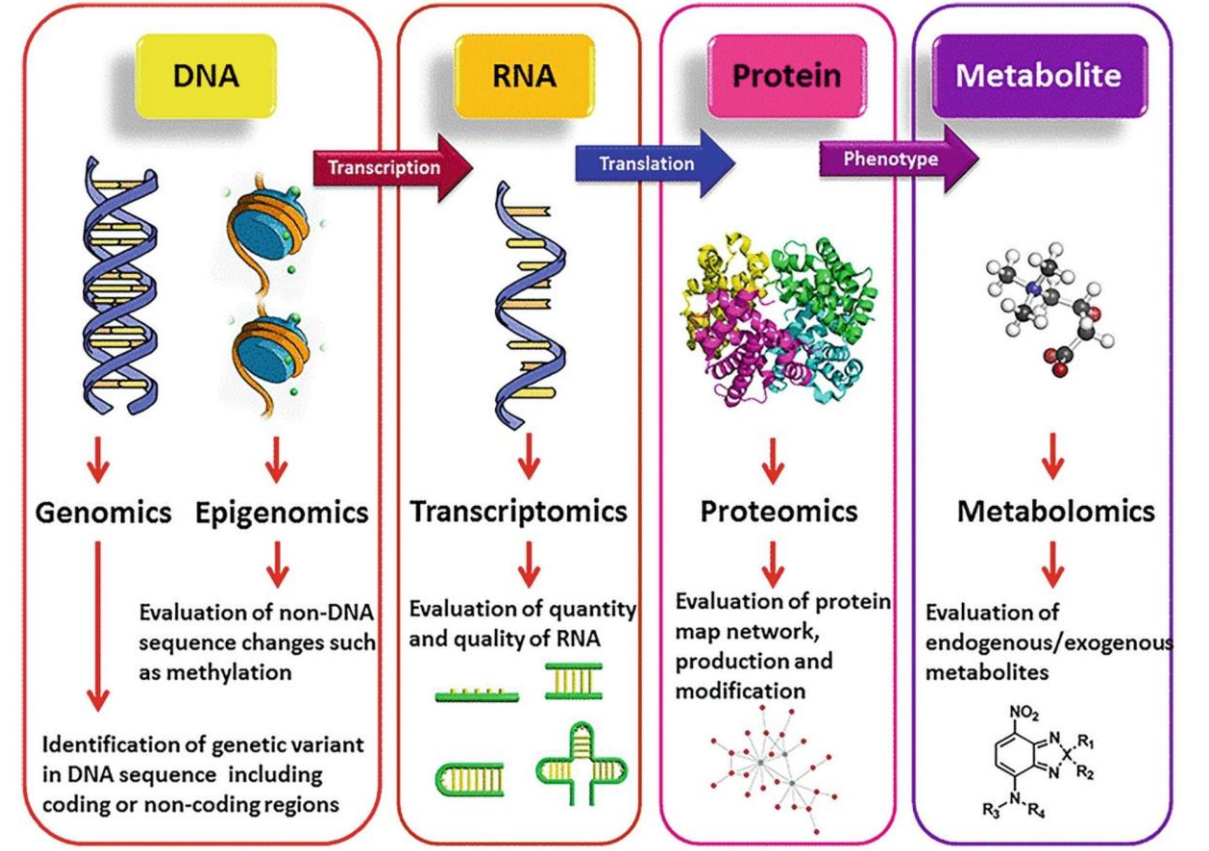


Probert F, et al. Brain Commun. 2021

Marcos-Rabal P, et al. Curr Pharm Des. 2021

Proteomikler ve Metabolomikler

- Serum, BOS ve doku örneklerinde çalışılabilmekteler
- Metabolomikler, biyolojik sistemlerdeki küçük moleküllü metabolitlerin (≤ 1500 Da) sistematik incelenmesini içerir.
 - **Enerji metabolizması** (glizoliz, TCA döngüsü, oksidatif fosforilasyon)
 - **Lipid metabolizması** (sfingolipidler, fosfolipidler, kolesterol)
 - **Amino asit metabolizması**
 - **Oksidatif stres ve antioksidan sistemleri** değerlendirir.



Proteomikler ve Metabolomikler

- **Metodoloji**

- **Kütle Spektrometresi Temelli Yaklaşımlar**

- Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi → **Altın standart**
 - MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight)
 - Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

- İki boyutlu elektroforez ve differans jel elektroforezi

- Protein mikroarrayleri

- Yüksek Çözünürlüklü Proteomik Platformlar

- Rölatif ve mutlak kantitasyon için izobarik etiketler

- Yüksek Çözünürlüklü Metabolomik Platformlar

- HPLC-MS, CE-MS Kapiler Elektroforez-Kütle Spektrometresi
 - Metabolik akış analizleri

- Manyetik Rezonans Spektroskopisi

Proteomikler ve Metabolomikler

• Başlıca Proteomikler

- Neurofilament Light Chain (NfL)
- Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)
- Chitinase 3-like 1 (CHI3L1/YKL-40)
- CXCL13 (B-hücre kemotaktik sitokin)
- Myelin Basic Protein (MBP)
- Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG)
- Tau Protein
- Aquaporin-4 (AQP4) Antikorları
- Kompleman C3 ve C9
- IL-6, IL-17, TNF- α ve IL-1 β
- S100B
- DNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor)

• Başlıca Metabolomikler

- Süksinat ve fumarat
- Laktat
- Sitrat, Kolin
- 3-hidroksi bütirat
- Omega-3/Omega-6 oranı
- Sfingomyelin ve seramid
- 24-Hidroksikolesterol
- Kinürenin yolak metabolitleri
- Glutamat
- İndoleamin 2,3-dioksijenaz aktivasyonu
- Lipit peroksidasyon ürünleri
- Hipoksantin ve ksantin
- Lösin ve izolösin
- Dokosaheksaenoik asit

Probert F, et al. Brain Commun. 2021

Sandi D, et al. Int J Mol Sci. 2022

Jafari A, et al. Biomark Insights. 2021

MikroRNA'lar

- **MikroRNA (miRNA)'lar;**
 - yaklaşık 18–25 nükleotid uzunluğunda,
 - protein kodlamayan,
 - posttranskripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunu düzenleyen,
 - küçük RNA molekülleridir.
- miRNA'ların ekspresyon değişiklikleri;
 - **miyelin hasarı,**
 - **nöroinflamasyon,**
 - **aksonal dejenerasyon,**
 - **remiyelinizasyon** süreçlerinde düzenleyici rol alır.

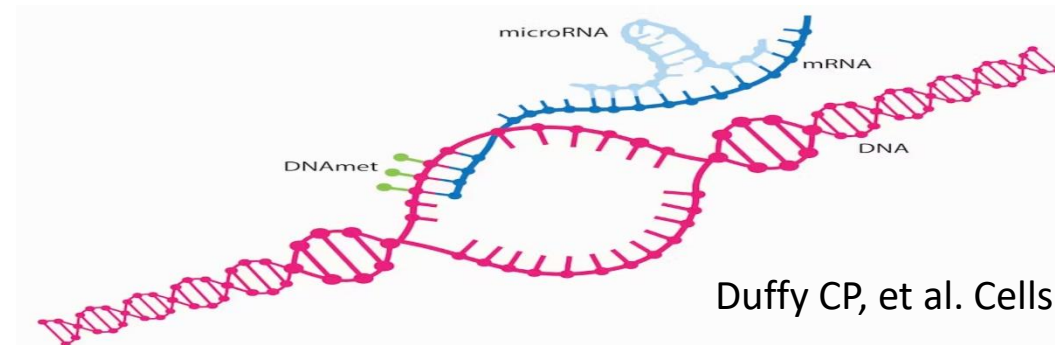
- **Fonksiyonları**

- Patogenezin belirlenmesinde rol oynarlar
- Biyobelirteç olarak kullanılabilirler
- Yeni tedavi stratejileri için hedef oluştururlar

- **Metodoloji**

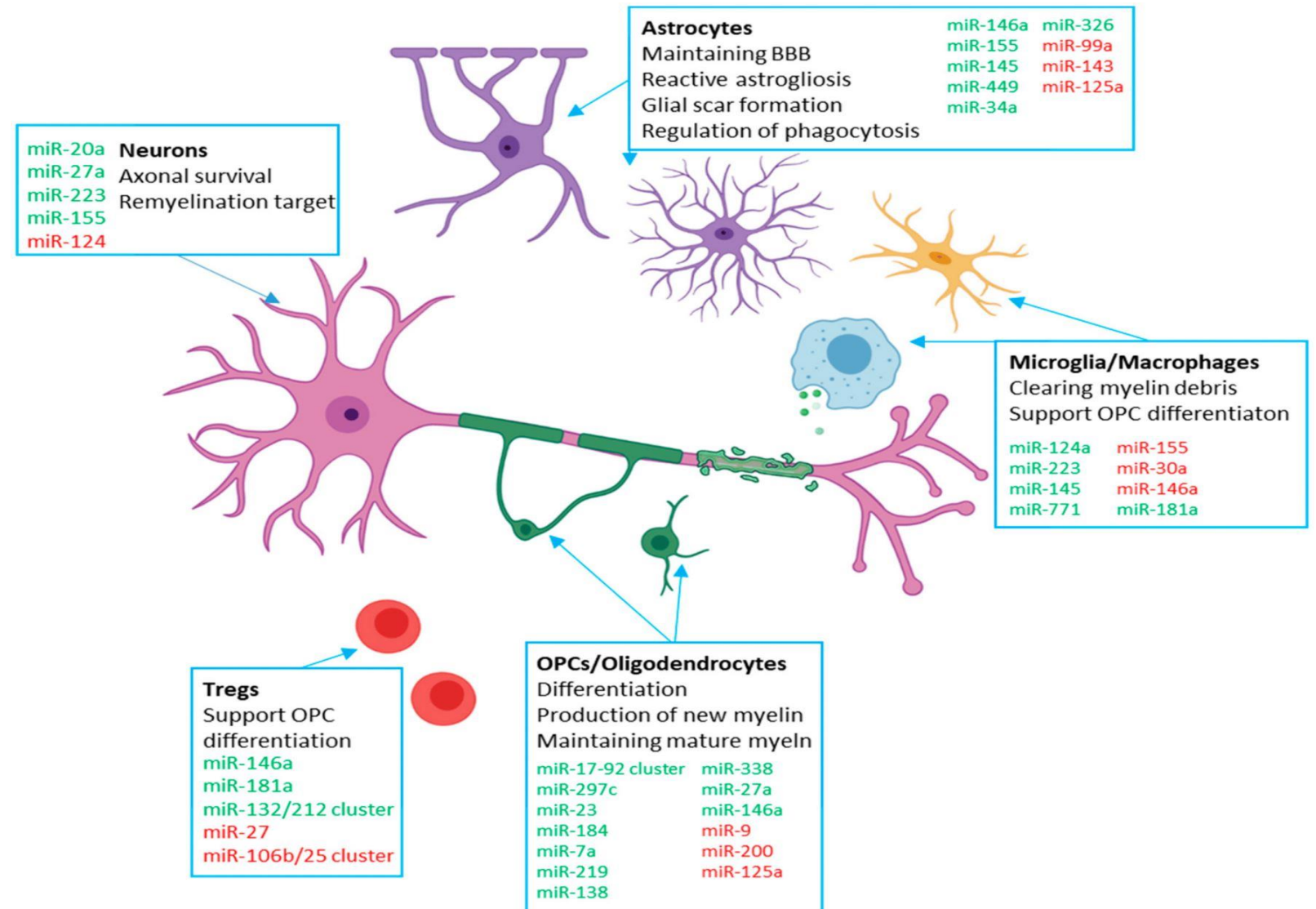
- **miRNA Profilleme**

- **RT-qPCR** → Tekli miRNA analizi
- **Microarray** → Geniş tarama
- **Yeni Nesil Sekanslama (NGS)** → Eksozomal miRNA tespiti



Duffy CP, et al. Cells. 2020

MikroRNA'lar



Sonuç

- Doğru hastalıkta, doğru testin, doğru teknik ile doğru örnekte gönderilmesi tanısal açıdan kritik
- Hücre içi antijenleri hedef alan antikorların tespiti → Western blot
- Hücre dışı veya hücre zarı proteinlerini hedefleyen antikorların tespiti → Hücre bazlı assayler
- Hücre içi proteinlere karşı antikorlar → Sıklıkla serumda tespit edilir, BOS'ta nadir
- Hücre dışı veya hücre zarı proteinlerine karşı antikorlar → BOS'ta tespit edilir, serumda nadir

Teşekkürler...