

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANA BİLİM DALI

**AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ HASTALARININ DERİ
BİYOPSİLERİNDE EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (EGF) VE
KERATİNOZİT BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN (KGF)
EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Erdal KURT

UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2017

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANA BİLİM DALI

AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ HASTALARININ DERİ
BİYOPSİLERİNDE EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (EGF) VE
KERATİNOZİT BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN (KGF)
EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Erdal KURT
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI
Doç. Dr. Can Ebru KURT
Prof. Dr. Mehmet Ersin TAN

ANKARA
2017

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim boyunca, topluma faydalı iyi bir bilim insanı olmanın örneğini gösteren, hayata farklı açılardan nasıl bakılabileceğini bana öğreten, her sabahın seherinde gür sesiyle ihtiyacım olan enerjiyi bana veren, uzmanlık tez konumun seçiminde, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında benden ilgi, destek ve sabrını esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Mehmet Ersin Tan'a,

Tezimin yapılmasında bana her türlü desteği veren sayın hocam Prof. Dr. Sevim Erdem Özdamar'a,

Güleryüzünü benden esirgemeyen, her konuda desteğini gördüğüm, tezimin her aşamasında çok büyük emeği olan ve kıymetli zamanını her fırsatta bana ayıran sayın Doç. Dr. Can Ebru Kurt'a,

Asistanlığa başladığımdan bitirene kadar dostluğunu benden esirgemeyen, tezimin yapılmasında emeği geçen teknisyen Bülent Çakır'a,

İyi eğitilmiş birer nörolog olarak yetişmemizi sağlayan, nöroloji heyecanını ve sevgisini bize aşıl原因an, engin bilgi ve deneyimlerini bizden esirgemeyen, her fırsatta nörolojiyi bize öğreten, gece gündüz demeden eğitimimize destek veren sayın Prof.Dr. Mehmet Akif Topçuoğlu ve sayın Prof. Dr. Ethem Murat Arsava başta olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Hem tez çalışmamda, hem de asistanlık hayatım boyunca yanımda olan Dr. Mehmet Yasir Pektezel, Dr. Esra Özkan, Dr. Ferid Hasiyev ve Dr. Sahib Rovshanov kardeşlerim başta olmak üzere birlikte keyifle çalıştığım tüm asistan kardeşlerime,

Hayatım boyunca her zaman destek ve sevgilerini hissettiğim, beni bugünlere getiren, haklarını asla ödeyemeyeceğim biricik annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KURT E., Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının deri biyopsilerinde epidermal büyüme faktörü (EGF) ve keratinosit büyüme faktörünün (KGF) ekspresyonunun değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Uzmanlık Tezi. Ankara, 2017. Amiyotrofik lateral skleroz (ALS), progresif seyirli nörodejeneratif bir hastalık olup zaman içinde hastalar immobil hale gelmektedir. İmmobil hastalarda yatak yarası önemli bir sorun teşkil etmektedir. Ancak ALS hastalarında yatak yarasının diğer nörolojik hastalara göre daha az olduğu bilinmektedir. Bunun nedenini bulmak için çok sayıda araştırma yapılmış olup, ALS hastalarında epidermal büyüme faktörü (EGF) ve keratinosit büyüme faktörünün etkisine (KGF) daha önce araştırılmamıştır. Bu çalışmaya yatak yarası olmayan 10 ALS hastası ve 16 diğer nörolojik hastalığı olan hastalar dahil edildi. Her hastadan yatak yarasının sıklıkla görüldüğü bölge olan gluteus maksimus kası üzerinden (proksimal bölge) ve lateral malleolun 10 cm proksimalinden (distal bölge) deri biyopsileri alındı. Biyopsiler EGF ve KGF antikorlarıyla immünohistokimyasal yöntemlerle boyandı. Preparatlar yarı-sayısal yöntemlerle değerlendirildi. ALS hastalarında proksimal bölgeden alınan örneklerde EGF'nin kontrollere göre daha fazla eksprese edildiği gözlemlendi. KGF ekspresyonu açısından grup ve bölge farklılığı gözlenmedi. Bu çalışmada elde edilen bulgular, daha önce diğer büyüme faktörlerine benzer şekilde EGF'nin de ALS hastalarında yatak yarasının az görülmesinde etkili bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. Daha fazla hasta sayısı ile yatak yarası olan hastaların da inceleneceği yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Amiyotrofik lateral skleroz, epidermal büyüme faktörü (EGF), keratinosit büyüme faktörü (KGF) , yatak yarası, nörodejenerasyon

ABSTRACT

KURT E., The expression of epidermal growth factor (EGF) and keratinocyte growth factor (KGF) in skin biopsy of amyotrophic lateral sclerosis patients. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis of Neurology. Ankara, 2017. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease that causes immobility. Bed sores are an important problem in immobile patients. However, in ALS, it is known that bed sores are less common than other neurological diseases. A number of studies have been conducted to determine the cause of this, and in our knowledge the effect of epidermal growth factor (EGF) and keratinocyte growth factor (KGF) have not been studied in ALS patients. This study included 10 ALS patients without bed sores and 16 patients with other neurological diseases. Skin biopsies were taken from the skin on the gluteus maximus muscle (proximal region) and 10 cm proximal to the lateral malleolus (distal region). Biopsies were stained with EGF and KGF antibodies by immunohistochemical methods. The samples were evaluated semi-quantitatively. It was observed that EGF expression was higher in the proximal region in ALS patients than in control patients. There was no difference between groups in terms of KGF expression. These results suggest that EGF may be an effective factor in the low incidence of bed injury in ALS patients, similar to other growth factors previously. New studies with a greater number of patients including patients with bed sores are needed to verify our results.

Keywords: Amyotrophic lateral sclerosis, epidermal growth factor (EGF), keratinocyte growth factor (KGF), bed sores, neurodegeneration

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
RESİMLER, DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1-AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ (ALS)	1
1.1 GİRİŞ	1
1.2 TARİHÇE	1
1.3 EPİDEMİYOLOJİ	2
1.4 ETİYOLOJİ	3
1.4.1 Genetik Özellikler	3
1.4.2 Eksitotoksisite	5
1.4.3 Oksidatif Stres	5
1.4.4 Mitokondriyal Disfonksiyon	6
1.4.5 Bozulmuş Aksonal Transport	6
1.4.6 Nörofilament Agregasyonu	7
1.4.7 Protein Agregasyonu	7
1.4.8 İnflamatuvar Disfonksiyon ve Non-nöronal Hücrelerin Katkısı	7
1.4.9 Nörotrofik Faktör ve Sinyal Yolakları Defisiti	8
1.5 HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLER	8
1.6 KLİNİK ÖZELLİKLER	9
1.7 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZDA DUYUSAL SEMPTOMLAR	12
1.8 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ VARYANLARI VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ	13
1.9 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ LABORATUVAR BULGULARI	14

1.9.1 Elektronöromiyografi	14
1.9.2 Transkraniyal Magnetik Stimülasyon	15
1.9.3 Kraniyal Görüntüleme	16
1.10 TANI KRİTERLERİ	16
1.11 AYIRICI TANI	18
1.12 ALS TEDAVİSİ	20
1.12.1 Solunum Desteği	21
1.12.2 Beslenme Desteği	22
1.12.3 Diğer Destek Tedaviler	23
1.13 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ PROGNOZU	25
1.14 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ HASTALARINDA YATAK YARASI	26
2-YATAK YARASI OLUŞUMU	29
2.1 FİZYOPATOLOJİ	29
2.2 YATAK YARASI İYİLEŞMESİ	30
2.2.1 İnflamatuvar Evre	31
2.2.2 Proliferatif Evre	32
2.2.3 Remodeling Evresi	33
2.3 YARA İYİLEŞMESİNDE ÖNEMLİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ	34
2.3.1 Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	34
2.3.2 Keratinosit Büyüme Faktörü (KGF)	36
3-TEZİN AMACI	37
4-GEREÇ VE YÖNTEM	38
4.1 HASTA SEÇİMİ VE DERİ BİYOPSİSİ	38
4.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLER	38
4.3 İSTATİSTİK	42
5-VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	43
5.1 DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLER	43
5.2 KERATİNOSİT BÜYÜME FAKTÖRÜ EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	45
5.3 EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	46

5.4 İNTRAEPİDERMAL SİNİR LİFLERİ YOĞUNLUĞUNUN (IENFD) DEĞERLENDİRİLMESİ	48
6-TARTIŞMA	50
7-SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALS	: Amiyotrofik lateral skleroz
ALS-FTD	: ALS-Frontotemporal demans kompleksi
ALS-PK	: ALS-Parkinsonizm kompleksi
AMN	: Alt motor nöron
ANA	: Amerikan Nöroloji Akademisi
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CPAP	: Sürekli pozitif havayolu basıncı
DTG	: Difüzyon tensör görüntüleme
DWI	: Difüzyon ağırlıklı görüntüleme
EGF	: Epidermal growth faktör
EMG	: Elektromiyografi
FALS	: Familial ALS
FTLD	: Frontotemporal demans
FVC	: Zorlu vital kapasite
HGF	: Hepatosit growth faktör
İGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MUNE	: Motor ünite sayısı tahmini
NGT	: Nazogastrik tüp
NIP	: Nazal inspiratuvar basınç
NIV	: Noninvaziv ventilasyon
OR	: Odds ratio
PEG	: Perkütan endoskopik gastrostomi
PLS	: Primer lateral skleroz
PMA	: Progresif musküler atrofi
PRG	: Perkütan radyolojik gastrostomi
RR	: Rölatif risk
SALS	: Sporadik ALS

RESİMLER, DİZİNİ

- Resim 5.1.** ALS ve kontrol grubunda EGF immünohistokimyasal boyama örnekleri. 48
- Resim 5.2.** ALS hastası ve normal bireyde intraepidermal sinir liflerinin gösterimi 49

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1.** Yatak yarası oluşum evreleri 30
- Şekil 2.2.** Yara iyileşmesinde inflamatuvar evrenin şematik gösterimi 31
- Şekil 2.3.** Yara iyileşmesinde proliferatif evrenin şematik gösterimi 33
- Şekil 2.4.** Yara iyileşmesinde remodeling evresinin şematik gösterimi 34

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1.	Famİlyal ALS gen mutasyonları ve klinik özellikleri	4
Tablo 1.2.	Revize Edİlmiş El Escorial Kriterleri	17
Tablo 1.3.	ALS ile karışan hastalıklar ve ALS ile ayırıcı tanılar	19
Tablo 1.4.	Noninvaziv mekanik ventilasyona başlama kriterleri	22
Tablo 1.5.	ALS'de Semptomatik Tedaviler	25
Tablo 5.1.	Demografik özellikler-1	44
Tablo 5.2.	Demografik özellikler-2	44
Tablo 5.3.	Hasta ve kontrol gruplarının KGF değerleri	45
Tablo 5.4.	Hasta ve kontrol gruplarının EGF değerleri	47
Tablo 5.5.	ALS hastalarının IENFD değerleri	49

1-AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ (ALS)

1.1 GİRİŞ

Amiyotrofik lateral skleroz (ALS); ya da diğer adıyla Lou Gehrig hastalığı motor nöron hastalıklarından biridir. Amiyotrofi, kelime anlamı olarak motor nöronunu kaybeden çizgili kas hücrelerinin atrofisi demektir. Lateral skleroz ise, anterior ve lateral kortikospinal traktta bulunan aksonların dejenerasyonu ve yerini gliozise bırakması anlamına gelmektedir. Amiyotrofik lateral skleroz esas olarak serebral korteks, beyin sapı ve spinal korddaki motor nöronları etkileyen progresif seyirli nörodejeneratif bir hastalıktır. Motor nöronlarda harabiyete sekonder asimetrik kas güçsüzlüğü ve fasikülasyonlar ortaya çıkmaktadır.¹

1.2 TARİHÇE

Amiyotrofik lateral sklerozun klinikopatolojik özellikleri net bir şekilde ilk olarak 1874 yılında Jean Martin Charcot tarafından tanımlanmıştır. Bell (1824), Aran (1850), Duchenne (1851), Cruveilhier'in (1853) yaptığı gözlemler de hastalığın klinikopatolojik olarak tanımlamasında yol gösterici olmuştur.^{2, 3}

Bir zanaatkarın oğlu olarak 1825 yılında Paris'te doğan ve sadece dönemine değil günümüzün tıp dünyasına da nöroanatomi, klinik nöroloji, psikiyatri ve genel tıp dallarında sayısız eser bırakan Jean-Martin Charcot 1853 yılında tıp diplomasını almıştır. 1872 yılında patoloji profesörlüğü ve 1882 yılında sinir sistemi hastalıkları profesörlüğü ünvanına erişmiştir. Tıp hayatı boyunca genel tıp, beyin-spinal kord- periferik sinir ve hipnoz konuları ile ilgilenmiştir.⁴

Salpetriere hastanesinde takip ettiği hastalar arasında güçsüzlük ve kas erimesi olan hastalar dikkatini çekmiştir. Bu hastalar arasında sadece kuvvetsizlik ve kas erimesi olanları (yani epilepsi, diğer istemsiz hareket bozuklukları, duyuşal semptomu olmayanlar) sıkı bir şekilde takip etmiş ve klinik gidişatlarını kaydetmiştir.⁵ Bu hastalardan bazılarında otopsi yapılmış ve beyin, beyin sapı ve spinal korddan alınan doku örneklerini incelemiştir.

Motor kortekse uyan alanda ve buradan çıkan aksonların seyri boyunca, beyin sapında kraniyal sinirlerin motor nükleuslarında ve spinal kordda ön boynuzda ve lateral kolonda atrofi olduğunu görmüştür.⁵ Sonrasında hastalığı şu şekilde tanımlamıştır: “Genetik ve/veya çevresel nedenlerle oluşan motor nöron etkilenmekte ve buna sekonder olarak kaslarda zaafiyet ortaya çıkmaktadır”.⁵

1.3 EPİDEMİYOLOJİ

Amiyotrofik lateral skleroz üst ve alt motor nöronu etkileyen fatal bir hastalık olup erkeklerde kadınlara göre 1.5-1.8 kat daha fazla görülmektedir.⁶ Hormonal durumların bu farklılığa neden olduğu düşünülmektedir.^{7,8} Amiyotrofik lateral skleroz vakalarının çoğunluğu sporadik iken sadece %10'u ailesel ALS'dir.⁹ Ailesel ALS'lerde Mendelian kalıtım söz konusu olup çoğunlukla otozomal dominant geçişlidir. Nadir de olsa otozomal resesif geçişli ailesel ALS vakaları bildirilmiştir.^{10, 11} Sporadik ALS'nin başlangıç yaşı 55-65 arasında olup median 64'dür.^{12, 13} Sadece %5 vakada 30 yaşından önce başlamaktadır.¹² Juvenil sporadik vakalar (25 yaşından daha erken başlangıçlı) da tanımlanmıştır.¹⁴ 1990 yılında Avrupa ve Kuzey Amerika'da sporadik ALS insidansı 1.5-2.7/100.000/yıl (ortalama 1.89) olarak bildirilmiştir.¹⁵ İtalya'da yapılan bir çalışmada ALS insidansı 1960 yılında 0.8 iken, 1990 yılında 1.83'e yükseldiği gösterilmiştir.¹⁶ Aynı çalışmada kadın hastalardaki artış oranının erkek hastalardakine göre daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹⁶ 1990 yılında Batı Amerika'da sporadik ALS nokta prevalansı 2.7-7.4 (ortalama 5.2) olarak bildirilmiştir.¹⁵ 70 yaşında bir kişinin sporadik ALS'ye yakalanma olasılığı 1/1000'dir.^{17, 18} Ancak bu ihtimalin 1/400 olduğunu bildiren yayınlar da vardır.¹⁹ Amerika toplumunda ALS'nin mortalite oranı 1.54-2.55/100.000/yıl (ortalama 1.91) olarak bildirilmiştir.²⁰ Mortalite oranı erkeklerde 1.17 kat daha fazladır.²⁰ Hastaların ancak %10'u 8 yıldan fazla yaşayabilmektedir.²¹ 50-75 yaş arasında ALS pik yapmakta ve daha sonra sıklık azalmaktadır.²² Amiyotrofik lateral skleroz; Chamorro, Guam ve Mariana toplumlarında diğer toplumlara göre çok daha fazla görülmektedir. Bunun nedeni hala anlaşılamamıştır.²³ Yeni Gine toplumlarında ALS'ye

demans ve parkinsonizm de eşlik eder ve Lytico-Bodig Hastalığı olarak anılır.²⁴ %15'inde frontotemporal demans, %25'inde kognitif problemler görülür.²⁵

1.4 ETİYOLOJİ

Amiyotrofik lateral skleroz ve diğer motor nöron hastalıklarının etyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte bazı genetik nedenler üzerinde durulmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı çevresel faktörlerin de genetik faktörlerle kombine olarak motor nöron hastalığına neden olabileceği üzerinde durulmaktadır.²⁶ Amiyotrofik lateral skleroza neden olabilecek çevresel faktörleri araştıran bir vaka-kontrol çalışmasında sadece sigara kullanımı ile ALS gelişmesi arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir. (yaştan ve eğitim düzeyinden bağımsız olarak sigara kullanan ve kullanmayanlar arasındaki rölatif risk 0.8-1.67 ve odds ratio 1.6).^{27, 28} Amiyotrofik lateral sklerozda motor nöron dejenerasyonuna neden olan faktörler net olarak bilinmemekle birlikte olası mekanizmalardan söz edilecektir:

1.4.1 Genetik Özellikler

Amiyotrofik lateral skleroz vakalarının %10'u otozomal dominant familyal ALS olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu vakaların da %2'sinde süperoksid dismutaz (SOD, kofaktör olarak bakır ve çinko kullanır) gen mutasyonu bulunmaktadır.⁹ Bu enzim normalde antioksidan olarak işlev görmekte olup, mutasyonla birlikte antioksidan işlevini kaybetmektedir. Buna sekonder olarak nöronlarda oksidan yolakların etkisi ile dejenerasyon olmaktadır. Süperoksid dismutaz mutasyonu sonucunda aberran nörofilament birikimi, oksidan strese hassasiyet ve nöron ölümü olduğu gösterilmiştir.²⁹ Diğer genetik faktörler içerisinde alsin (ALS2), senataksin (ALS4), vezikül ilişkili membran protein (ALS8), angiogenin ve dinaktin (DCTN1) mutasyonları yer almaktadır.³⁰⁻³³ TAR-DNA binding protein TDP-43 (TARDBP) gen mutasyonunun sporadik ve familyal ALS'de etken olduğu gösterilmiştir.³⁴ Nörofilament ağır zincir (NEFH) geni mutasyonu, ApoE gen

mutasyonu, eksitatör aminoasit transporter 2 (EAAT2) protein ekspresyonunun azalması sporadik ALS vakalarında etken olarak bildirilmiştir.³⁵⁻³⁸ Nörofilament ağır zincir geninin, aktif kısmı olan C-terminal bölgesinde 43 adet lizin-serin-prolin (KSP) tekrarı bulunmaktadır.³⁵ NEFH mutasyonu taşıyan farelerde, nöron hücre gövdesi ve proksimal aksonlarda bulunan nörofilamentlerde şişme, aberran nörofilament birikimi, transport defektleri ve spinal kord motor nöron atrofi-disfonksiyonu olduğu gösterilmiştir.³⁹ ApoE gen mutasyonunun bulber başlangıçlı ALS'lerde (%42) ekstremiteler başlangıçlı olanlara (%22) göre daha fazla olduğu bildirilmiştir.³⁷ Bir otopsi çalışmasında ALS hastalarının motor korteks, somatosensöriyel korteks ve spinal kordlarında kontrollere göre sodyum bağımlı glutamat transportunda (EAAT2) azalma olduğu, görme korteksinde ise fark olmadığı gösterilmiştir.⁴⁰ Aynı çalışmada sodyum bağımlı fenilalanin ve GABA transportu açısından kontrollere göre anlamlı fark görülmemiştir.⁴⁰ Ailesel formun %2'sinde süperoksit dismutaz (SOD) gen defekti tespit edilmiştir.⁹ SOD gen mutasyonu olanlarda ekstremitelerden başlama bulber başlangıca göre daha fazladır.⁴¹ Genetik faktörler ve ilişkili oldukları ALS alt tipleri tablo 1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Familial ALS gen mutasyonları ve klinik özellikleri: ³⁰⁻³⁸

Familial ALS tipi	Gen Lokusu	Gen	Kalıtım Şekli	Klinik Paterni	Mutasyon Sayısı	Sporadik forma neden olma
ALS1	21q	SOD1	OD	Klasik	>120	Evet
ALS2	2q33	ALSIN	OR	Genç yaş başlangıç	10	Hayır
ALS3	18q21	Bilinmiyor	OD	Klasik	Bilinmiyor	Bilinmiyor
ALS4	9q34	SETX	OD	Genç yaş başlangıç ve yavaş ilerleme	3	Bilinmiyor
ALS5	15q15	Bilinmiyor	OR	Genç yaş başlangıç	Bilin-miyor	Bilinmiyor
ALS6	16q21	Bilinmiyor	OD	Klasik	Bilinmiyor	Bilinmiyor
ALS7	20ptelp13	Bilinmiyor	OD	Klasik	Bilinmiyor	Bilinmiyor
ALS8	20q13.3	VAPB	OD	Değişken	1	Hayır
ALS-FTD	9q21-q22	Bilinmiyor	OD	FTD ile birlikte	Bilinmiyor	Bilinmiyor
ALS-FTD	9p21.3	Bilinmiyor	OD	FTD ile birlikte	Bilinmiyor	Bilinmiyor
ALS	14q11.2	Angiogenin	OD	Klasik	6	Evet
FTD3	3p	CHMP2B	OD	FTD ön planda	2	Bilinmiyor

ALS	1q	TDP43	OD	Klasik	14	evet
LMND	2p13	DCTNI	OD	LMND	1	evet

CHMP2B: kromatin modifiye protein 2B, DCTNI: dinaktin, FTD: frontotemporal demans, LMND: alt motor nöron hastalığı, SETX: senataksin, VAPB: vezikül ilişkili membran protein

1.4.2 Eksitotoksosite

Aşırı glutamat salınımı, postsinaptik NMDA ve AMPA reseptörlerinin aşırı uyarılmasına neden olur. Bunun sonucunda hücre içinde kalsiyum artar ve hücrel toksisite meydana gelir.⁴² Bazı ALS vakalarında serebrospinal sıvıda glutamat seviyesinin kontrollere göre arttığı gösterilmiştir.⁴³ Aynı çalışmada ALS hastalarının servikal kordundan alınan otopsi örneklerinde ön boynuzda N-asetil glutamat ve N-asetil aspartat düzeylerinin kontrollere göre anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür.⁴³ Glial hücre eksitator aminoasit transporter (EAAT2) eksikliğinin glutamat artışının nedeni olabileceği düşünülmektedir.⁴⁴

1.4.3 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, intranöronal reaktif oksijen radikallerinin artışına yol açar ve nöronal ölüme neden olur. Özellikle SOD1 mutasyonu olan familial ALS'lilerde serbest oksijen radikallerine (peroksinitrit, süperoksit ve hidroksil radikalleri) bağlı nöronal ölüm daha fazla görülmektedir. Bu hipotez, ALS'li olgularda yapılan postmortem doku örneklemeleri ile serebrospinal sıvıda reaktif oksijen radikallerinin gösterilmesiyle doğrulanmıştır.^{45, 46} Oksidatif hasara bağlı olarak nörofilamentlerde çapraz bağlanmalar olur, sitoskeleton yapısı ve aksonal transport bozulur.⁴⁷ Yapılan bir çalışmada da ALS'li vakalardan alınan fibroblast örneklerinin kontrollere göre oksidatif hasara daha duyarlı olduğu gösterilmiştir.⁴⁸

Serbest oksijen radikalleri (süperoksit ve hidrojen peroksit) mitokondriyal solunum yapan hücrelerde yan ürün olarak ortaya çıkar. Glutamat santral sinir sisteminde en potent uyarıcı olup NMDA reseptörü aracılığıyla nitrik oksit üretimine yol açar.⁴⁹ Nitrik oksit (NO) ve süperoksit radikali arasında gerçekleşen reaksiyonla peroksinitrit anyonu açığa çıkar ve protein ürünlerinin nitrasyonuna ve NMDA reseptörünün anormal

defosforilasyonuna⁵⁰ neden olur. Bunun sonucunda sinir hücrelerine zararlı olan 3-nitrotirozin oluşur.⁴⁹ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının BOS analizlerinde 3-nitrotirozin (serbest radikal) düzeyleri kontrollere göre 7 kat arttığı gösterilmiştir.⁴⁹ Oksidatif ürünlerin üretimi ile mitokondriyal DNA'da hasar meydana gelmekte ve hücresel enerji üretimi bozulmaktadır.⁵¹

1.4.4 Mitokondriyal Disfonksiyon

Diğer hücrelerde olduğu gibi motor nöronların da işlevlerini yerine getirmesinde mitokondriler vazgeçilmezdir. Mitokondriyal defisiti olan motor nöronlarda oksidatif yolla yeterli enerji elde edilemeyeceğinden hücre içi işlevler, aksonal transport gibi durumlar aksayacak ve nöron ölümü meydana gelecektir. Amiyotrofik lateral sklerozda mitokondriyal defisitinin patogeneze katkıda bulunduğu üzerinde durulmaktadır.⁵² Sporadik ALS vakalarından farelere uyarlanan deneylerde mitokondriyal morfolojik ve biyokimyasal anormallikler gösterilmiştir.^{53, 54} Amiyotrofik lateral sklerozlu olguların mitokondrilerinde kalsiyum seviyesinin yüksek olduğu, kompleks 1 ve 4'ün aktivitesinde azalma ve defektif enerji metabolizması olduğu gösterilmiştir.^{52, 55} Aynı zamanda ALS'li olgularda sitrat sentaz, sitokrom c oksidaz, süksinat-sitokrom c redüktaz ve nikotinamid adenin dinükleotit (NADH)-sitokrom c redüktaz gibi mitokondriyal enerji yollarında önemli rolleri olan enzimlerin miktarında kontrollere göre azalma olduğu görülmüştür.⁵² Familyal ve sporadik ALS olgularında mitokondrilerde yapısal değişiklikler (kısa, kalın dağınık ve dikenli görünüm) de oluşmaktadır.⁵⁶

1.4.5 Bozulmuş Aksonal Transport

İnsanlarda motor nöron akson uzunluğu 1 metreye kadar ulaşabilir ve etkili bir intrasellüler transport sisteminin olması gerekir. Bu sistemin anterograd (kinesin) ve retrograd (dinein-dinaktin kompleksi) olmak üzere iki yönlü taşıma fonksiyonu vardır.⁵⁷ Süperoksit dismutaz 1 (SOD1) transgenik farelerde yapılan deneylerde anterograd ve retrograd taşıma sisteminin normale göre daha yavaş çalıştığı gösterilmiştir.^{58, 59} Dinaktin kompleks

mutasyonu, alt motor nöron işlev bozukluğuna ve vokal kord paralizilerine neden olur.⁵⁹

1.4.6 Nörofilament Agregasyonu

Sporadik ve familial ALS dahil olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkta anormal nörofilament birikimi tespit edilmiştir.^{58, 60} Sporadik ALS vakalarının %1'inde nörofilament ağır zincir geninin (NEFH) tekrar bölgesinde KSP (C-terminal lizin-serin-prolin rezidüsü) mutasyonu tespit edilmiştir.⁶¹ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının motor nöronlarındaki aksonal inklüzyonlarda peripherin (intermediat filament protein) artışı gösterilmiştir.⁶² Bu proteinin toksik formunun (peripherin 61) ALS'li olgularda kontrollere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.⁶³

1.4.7 Protein Agregasyonu

Intrasitoplazmik inklüzyonlar hem sporadik hem de familial ALS'de önemli bir patolojik bulgudur. Bu inklüzyonların direkt olarak mı patolojiye katkısı olduğu net bilinmemekle birlikte, protein katlanma şeklinin önemli olabileceği üzerinde durulmaktadır.⁶⁴

1.4.8 İnflamatuvar Disfonksiyon ve Non-nöronal Hücrelerin

Katkısı

Amiyotrofik lateral skleroz primer bir otoimmün ve immün disregülasyon sendromu değildir. Ancak yapılan çalışmalarda ALS patogenezinde non-nöronal hücreler ve inflamatuvar yolların patogeneze katkısı olabileceği görülmüştür. Süperoksid dismutaz 1 transgenik farelerde mikrogliya ve dendritik hücre aktivasyonu izlenmiştir.^{65, 66} Bu hücreler, interlökinler, COX-2, TNF-alfa, MCP-1 gibi proinflamatuvar metabolitlerin üretimine neden olurlar. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında serebrospinal sıvıda bu metabolitlerin arttığı gösterilmiştir.^{67, 68} Ancak tüm bunlara rağmen immünmodülatör tedaviler ALS'de işe yaramamaktadır.⁶⁸

1.4.9 Nörotrofik Faktör ve Sinyal Yolakları Defisiti

Postmortem yapılan çalışmalarda ALS'li hastalarda spinal kord ve kortekste nörotrofik faktörlerin (BDNF, GDNF, IGF-1, CTNF) azaldığı görülmüştür.^{69, 70} Farelerde yapılan bir deneyde, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'de bulunan hipoksi-response element delesyonunun motor nöron hastalığına yol açtığı görülmüştür.⁷¹ Sporadik ALS'li olgularda VEGF'e ait 3 mutasyon tespit edilmiştir. Apoptoz mekanizmalarının (kaspaz ailesi proteolitik enzimleri) ALS'de rol oynayabileceği üzerinde durulmaktadır.⁷²

1.5 HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLER

Amiyotrofik lateral sklerozda primer patolojik özellik, motor nöronlarda dejenerasyon, astrositik gliosis ve intranöronal-intraglial inklüzyon birikimleridir. Üst motor nöron kaybı, Brodmann 4 alanında bulunan Betz'in dev nöronlarında, bu nöronların uzantıları ile oluşan kortikospinal traktusta ve komşu glialarda belirgin olarak gözlenir.^{73, 74} Alt motor nöron tutulumu ise beyin sapındaki motor nükleuslarda ve spinal kordun ön boynuzunda bulunan alfa motor nöronlarda ve bunlara komşu glialarda belirgindir. Etkilenen bölgelerde nöron sayında azalma %50'den fazladır.⁷⁵ Onuf nükleusu (S2-3-4 segmentinde) ve okülomotor sinirin motor nükleusunda göreceli olarak etkilenme daha azdır.⁷⁶

Bunina cisimcikleri küçük, eozinofilik, hyalin intrasitoplazmik cisimcikler önemli histopatolojik bulgular olup vakaların %70-100'ünde pozitif olarak görülür.⁷⁷ Bu bulgular özellikle Betz'in dev nöronlarında ve subtalamik nükleusta pozitif olarak saptanmakla birlikte diğer motor nöronlarda da tespit edilebilir.⁷⁸

Ubiquitinize inklüzyonların morfolojik olarak iki alt tipi vardır; yumak benzeri inklüzyonlar ve daha kompakt olan sferik cisimcikler. Sferik cisimcikler, Parkinson hastalığında bulunan Lewy cisimciklerine benzemektedir. Amiyotrofik lateral sklerozlu olgularda %95 oranında tespit edilebilir.⁷⁹ Yapılan bir araştırmada TAR DNA binding protein- 43'ün (TDP-43), ubiquitinize inklüzyonları oluşturan temel protein olduğu bulunmuştur.⁸⁰

Hyalin konglomerat (nörofilament) inklüzyonlar, çoğunlukla familial ALS'lilerde bulunmakla birlikte sporadik olgularda da bulunabilir. Bunlar argirofilik inklüzyonlar olup, spinal kord ön boynuz alfa motor nöronlarında, fosforile-defosforile şekillerde bulunabilirler.⁷² Ubikuitinize inklüzyonlar kadar spesifik olmayıp diğer nörodejeneratif hastalıklarda da görülebilirler.⁸¹ Daha önceden inanıldığığının aksine ALS sadece motor nöronları etkileyen bir hastalık olmayıp, frontotemporal korteks, hipokampus, talamus, substantia nigra, spinoserebellar yollar, dorsal kolumna sistemi ve periferik duyu sinirleri olmak üzere birçok nöronu etkilemektedir.^{82, 83} Amiyotrofik lateral skleroz varyantları olan, primer lateral skleroz, progresif kas atrofisi, flail arm-leg sendromu, ALS-demans kompleksi, ALS-demans-parkinsonizm kompleksi gibi hastalıklarda da ubikuitinize inklüzyonlar tespit edilmiştir.⁸⁴⁻⁸⁶

1.6 KLİNİK ÖZELLİKLER

Amiyotrofik lateral sklerozda klinik özellikler birinci ve ikinci motor nöronların tutulumuna bağlı olarak ekstremiteler, bulbar ve solunum kaslarının güçsüzlüğü şeklinde özetlenebilir. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının 2/3'ünde semptomlar spinal form şeklinde başlar (Klasik Charcot ALS). Bu vakalarda esas semptom üst-alt ekstremitelerde distal-proksimal, asimmetrik kas kuvvetsizliği şeklinde olur. Fokal kas atrofileri üst ekstremitelerde el, ön kol ve omuzda, alt ekstremitelerde ayak ve kalça kuşağı kaslarında belirgin olarak izlenir. Birden fazla kas grubunda fasikülasyon izlenir. Ayrıca spastisite belirtileri ile birlikte klonus ve hipertoni izlenir. Spastisite, çoğunlukla atrofik ve güçsüz olan ekstremitelerde gelişir ve el-ayaklarda hareket bozukluğunu artırır. Tendon refleksleri artmıştır. Üst ekstremitelerde parmak jerkleri, alt ekstremitelerde çapraz addüktör refleks görülür. Hoffmann belirtisi ve ekstensör plantar yanıtlar görülür. Bazı vakalarda kuvvetsizlik olmadan önce fokal kas atrofileri (örneğin; 1. dorsal interosseöz kasta) olur.⁸⁷ Fasikülasyon (istemli kas seğirmesi), kas krampları olur.⁸⁷

Bulbar başlangıç kadınlarda ve 70 yaş üstü vakalarda daha sıktır. 70 yaş üstünde bulbar başlangıç oranı %43 iken, 30 yaş altında %15'dir.^{88, 89} Bu hastalarda ekstremiteler tutulumları da bulbar semptomlardan kısa bir süre

sonra (1-2 yıl) ortaya çıkar. Üst motor nöron tutulumu ile bulber kaslarda spastisite, çene refleksinde artış ortaya çıkar. Bulber tutulumu olan ALS vakalarının %93'ünde dizartri, %86'sında disfaji ve %64'ünde dilde fasikülasyon olduğu bildirilmiştir.⁹⁰

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında yutma güçlüğü, trigeminal, fasiyal, glossofaringeal, vagal ve hipoglossal sinirlerle inerve olan kaslarda güçsüzlük ve/veya spastisiteye sekonder olarak ortaya çıkar.⁹¹ Gıdalar yeterli olarak çiğnenemez, ağızda tükürük ile karıştırılmaz ve bolus etkili bir şekilde yemek borusuna gönderilemez.⁹² Buna sekonder olarak farinks-larinks bileşkesinde (recessus priformis) gıda artıkları birikir, yutma esnasında epiglottis tam olarak kapanamadığından ve larinks öne-yukarı çekilemediğinden dolayı sık aspirasyonlar ve pnömoniler gelişir.⁹³ Alınan gıdaların etkili biçimde sindirim sistemine gönderilememesinden dolayı istem dışı kilo kayıpları ortaya çıkar.⁹³ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında, farinks bölgesindeki duyu sinirlerinin tutulumuna sekonder olarak yutma refleksinin bozulmuş olabileceği üzerinde durulmaktadır.⁹⁴

Dil dudak, yanak, damak, farinks ve larinks bölgesi kaslarının etkilenmesine bağlı olarak konuşmada da değişiklikler ortaya çıkar. Hastalığın erken döneminde hafif değişiklikler olmakla birlikte ilerleyen dönemlerde ses kaba, boğuk ve basınçlı/zor çıkmaya başlar. Konuşurken sık sık duraksama, konuşmanın ahenginde bozulma ortaya çıkar ve sesin şiddeti azalır.⁹⁵ Vokal kordlar solunum sırasında açıktır ve vokalizasyon esnasında orta hatta yaklaşarak geçen havanın titreştirilmesini ve ses üretimini sağlarlar.⁹⁶ Alt motor nöron tutulumuna bağlı olarak vokal kordları yöneten kaslarda flask paralizi ortaya çıkar ve ses yumuşak, güçsüz ve monoton çıkar.⁹⁶ Üst motor nöron tutulumunda ise basınçlı ve sert çıkar.⁹⁶ Hastalığın ilerleyen dönemlerinde üst ve alt motor nöron bulguları birbirine karışacağından sesin natürü de değişmektedir. Son dönemde ise anartri olur.

Respiratuvar ve diğer solunumsal problemler ALS'de mortalitenin ana nedenidir. Solunumla ilgili çizgili kaslar tamamen paralitik olduğu için trakeostomi ve mekanik ventilasyon desteğine ihtiyaç duyarlar. Son evrede

'locked-in' sendromuna benzer bir durum görülebilmektedir. Bu durumda göz hareketleri kısmen korunması dışında tüm çizgili kaslar paralitiktir.^{97, 98}

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında patolojik gülme-ağlama atakları ile giden psödobulber semptomlar görülebilmektedir. Çeşitli çalışmalarda psödobulber semptom prevalansı %2-49 olarak bildirilmiştir.⁹⁹ Gülme ve ağlama ile ilgili kraniyal sinir çekirdeklerine gelen supranükleer liflerde dejenerasyon olmakta, yüksek kortikal merkezler ve limbik sistemle olan bağlantı kopmakta ve kraniyal sinir nükleuslarında otonomi ortaya çıkmaktadır.^{100, 101} Supranükleer merkez olarak hipokampus, kaudat nükleus, kapsüla interna, amigdala ve orbitofrontal korteks önemli gözükmektedir.¹⁰⁰ Bunun sonucunda çevreyle uyumsuz olarak emosyonel tepkiler ortaya çıkmaktadır.

Ekstraoküler kaslar ve sfinkter kasları karakteristik olarak korunmuş olmakla birlikte hastalığın geç dönemlerinde nadiren de olsa tutulabilir.¹⁰² Yine son evrede urge inkontinans, demans, parkinsonizm ve duyuşsal semptomlar da gelişebilmektedir. Geç evrelerde nadiren de olsa supranükleer bakış paralizi ortaya çıkabilir.^{103, 104}

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında, çeşitli çalışmalarda değişmekle birlikte frontotemporal lob disfonksiyonu prevalansı %15-41 arasında değişmektedir.¹⁰⁵ Bu hastalarda kognitif ve davranışsal belirtiler ortaya çıkmaktadır¹⁰⁶, ALS-Frontotemporal Demans (ALS-FTD) kompleksi olarak tanımlanmaktadır.¹⁰⁷ Optinörin (OPTN), anjiogenin (ANG), fused in sarcoma (FUS), progranülin (PRGN), valosin içeren protein (VCP) ve c9orf72 mutasyonları ALS-FTD kompleksi oluşumunda rol oynamaktadır.^{108, 109} Amiyotrofik lateral skleroz-frontotemporal demans (ALS-FTD) olgularında TAR DNA bağlayıcı protein -43 (TDP-43) ve ubiquitimize inklüzyonların birikimi bilinmektedir.¹¹⁰ Bu birikimler özellikle neokortikal nöron nükleuslarında izlenmektedir. Bu hastalarda davranışsal varyant, semantik varyant ve progresif non-fluent afazi olmak üzere 3 farklı demans tipi görülebilmekle birlikte kombinasyonlar da olabilir.¹¹¹ En sık davranışsal varyant görülmekle birlikte,¹¹² bu varyantta sosyal geri çekilme, duygusal dalgalanmalar, iç görüde azalma, apati, uygunsuz davranışlar, disinhibisyon

ve iletişim bozuklukları olmaktadır. Progresif nonfluent afazi tipinde konuşmanın akıcılığı bozulur, parafaziler olur. Semantik varyantta ise konuşmanın akıcılığı normal ancak içeriği anlama bozuktur.¹¹¹ Hastalarda bu alt tiplere bakılmaksızın problem çözme, dikkat, yargılama, kelime öğrenme, bilgileri geri çağırma gibi alanlarda bozulmalar olmaktadır.

1.7 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZDA DUYUSAL SEMPTOMLAR

Amiyotrofik lateral skleroz, motor nöron hastalığı olmakla birlikte çeşitli çalışmalarda duyuşal sinir liflerinde de etkilenme olduğu gösterilmiştir.^{13, 113} Hastaların %1-10'unda subjektif olarak duyuşal yakınmalar olduğu bildirilmiştir.¹³ Sensöriyel nöron tutulumunun hastalığın geç evrelerinde olduğu düşünölmektedir.¹³ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarından yapılan sural sinir incelemesinde yavaş progresif aksonal atrofi, büyük çaplı aksonlarda belirgin atrofi ve demiyelinizasyon-remiyelinizasyon gösterilmiştir.^{13, 114}

Protein gene product 9.5 (PGP 9.5) ilk olarak postmortem insan beyinde gösterilmiştir.¹¹⁵ Moleküler ağırlığı 27000 Dalton olup, insan beyindeki solubl proteinlerin %1-2'sini oluşturmaktadır.¹¹⁵ Protein gene product 9,5 nöron gövdesi ve aksonda bulunan ana protein olup pan-nöronal belirteç olarak bilinmektedir. Nöronlardan başka tiroid parafoliküler tiroid hücreleri, melanositler, pankreatik ada hücreleri, anterior pitüiter ve adrenal medullada bulunur.¹¹⁵ Beyinde diğer organlara göre 50 kat daha fazla bulunmaktadır. Protein gene product 9.5 pan-nöronal belirteç olup, deri biyopsilerinde dermal ve epidermal ince sinir liflerini belirlemede kullanılmaktadır.¹¹⁵

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının deri biyopsilerinde PGP 9.5 ile yapılan küçük sinir lifleri incelemesinde kontrollere göre lif yoğunluğunda azalma olduğu gösterilmiştir.¹¹⁶ Amiyotrofik lateral sklerozda hastalığın bir döneminde ağrı yakınmalarının ortaya çıktığı bilinmektedir.¹¹⁷ Wallace ve ark.'nın yaptığı çalışmada ALS hastalarında ağrı yakınması olan hasta oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.¹¹⁷ Aynı çalışmada ALS hastalarının %25'inde ALS kliniği başlamadan önce ağrı

yakınmalarının başladığı ve ALS kliniği başlamasıyla birlikte ağrı şiddetinde artma olduğu belirtilmiştir. Ağrının lokalize olduğu bölgeler sıklık sırasına göre alt ekstremitte, üst ekstremitte, omuz, boyun ve sırt olarak bildirilmiştir.¹¹⁷ Ağrının şekli sıklık sırasıyla kramp, acıma, batıcı ve ezici olarak belirtilmiştir.¹¹⁷ Hastalık süresi, cinsiyet ve yaş ile ağrı şiddeti arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir.¹¹⁷

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında nöronal ölüm sonucunda kas erimesi ortaya çıkmakta ve immobilitte gelişmektedir. İmmobilitte sonucunda eklemlerde inflamatuvar kaskad tetiklenmekte ve hareketsiz bölgede basınç etkisi ortaya çıkmaktadır.¹¹⁸ Basınç etkisi ile o bölgedeki sinir liflerinin fizyolojisinde bozulma ve iletimlerinde patolojiler ortaya çıkmaktadır. Nöronal ölüm sonucunda kas lifleri var olan nöronlarla (aksonal filizlenme) idame edilmeye çalışılır.^{119, 120} Bunun sonucunda yeni motor son plaklar ortaya çıkar. Yeni oluşan plaklar senkronize olmadığı için kas lifinin mekanik ve elektriksel özellikleri arasında disosiasyon ortaya çıkar.^{119, 120} Kas lifleri ve kasın etkilediği kemik-tendon-eklemlerde anormal gerilim ve kronik dönemde mikrotravmalar ortaya çıkar. Mikrotravmalar inflamatuvar kaskadı tetikler ve ağrıya neden olur.^{119, 120} Basınç etkisi ile aynı zamanda basıya maruz kalan deride değişiklikler ve bası yaraları ortaya çıkmaktadır. Amiyotrofik lateral sklerozun erken dönemlerinde ortaya çıkan kramp ve fasikülasyonların ve geç dönemlerinde ortaya çıkan kontraktür ve spastisitenin de ağrıya katkıda bulunduğu düşünülmektedir.^{121, 122}

1.8 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ VARYANLARI VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Progresif müsküler atrofi, tüm motor nöron hastalıkları içerisinde %5-10 oranında yer kaplar. Saf alt motor nöron bulguları ile giden üst motor nöron bulgularının izlenmediği formdur. Genellikle ekstremitte bulguları ile başlamakla birlikte bazı olgularda çiğneme ve yutma güçlüğü ile başlayabilir.¹²³

'Flail arm-Flail leg' varyantında, alt motor nöron bulguları hakimdir. Flail arm alt tipi, Vulpian-Bernhardt sendromu, brakial amyotrofik dipleji

olarak da bilinir. Özellikle üst ekstremitte proksimalinde hakim güçsüzlük ve kaslarda erime olur.¹²⁴ Üst ekstremitelerde tendon refleksleri azalmış/kaybolmuştur. Alt ekstremiteler uzun zaman normal kalır, ama sonunda spastisite ve kaslarda erime oluşumu kaçınılmazdır. Bulber semptomlar ve diyafragmatik güç kaybı da ilerleyen zamanlarda meydana gelir.¹²⁵ Flail leg sendromu, ALS'nin psödopolinöritik formu olarak da bilinir. Özellikle alt ekstremitte distallerinde kuvvet kaybı ve kas erimesi ile başlar. Alt motor nöron bulguları hakimdir. Asimetrik başlangıçlı olgularda etkilenmeyen ekstremitede derin tendon refleksinde artma tespit edilebilir.¹²⁶ Bu iki varyant da ALS'ye göre daha yavaş ilerleme eğilimindedir.^{126, 127}

Primer lateral skleroz ise, progresif saf üst motor nöron belirtileri ile seyreder. Vakalarda alt motor nöron belirtileri ya yoktur ya da çok azdır. Genellikle bir dışlama tanısı olup alt motor nöron bulguları 3 yıldan daha fazla süreyle gözlenmiyorsa hastalar primer lateral skleroz tanısı almaktadır.¹²⁸ Bazı vakalarda nörolojik muayenede alt motor nöron bulguları yokken elektrofizyolojik olarak alt motor nöron bulguları tespit edilebilir, bu da üst motor nöron dominant ALS olarak adlandırılır.¹²⁹

1.9 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ LABORATUVAR BULGULARI

1.9.1 Elektronöromiyografi:

Periferik sinir, nöromüsküler kavşak hastalıkları, kas hastalıklarını dışlamak için sinir iletim çalışmaları yapılması gerekir. Amiyotrofik lateral sklerozda distal motor latans ve motor iletim hızları normaldir, asla normal sınırların %70'inden daha fazla değişme göstermez.¹³⁰ Motor sinir çalışmaları, tedavisi olan multifokal motor nöropati (MMN) tanısını koymak veya dışlamak açısından önemlidir. Multifokal motor nöropatide bölgesel iletim blokları tespit edilir. Proksimal birleşik kas aksiyon potansiyelinde (BKAP) elde edilen negatif alanın, distalde elde edilen BKAP negatif alanının %50'sinden daha küçük olması blok anlamına gelir. F dalga çalışmaları proksimalde olabilecek blokları tespit etmek açısından önemlidir. Blok olması

durumunda F dalga latansı uzamaktadır.¹³⁰ Duyusal sinir iletim çalışmaları, tuzak durumlarında ve periferik sinir hastalıklarında bozuktur.

Amiyotrofik lateral skleroz tanısında, alt motor nöron disfonksiyonlarını göstermesi açısından, konsantrik iğne EMG yöntemi çok önemlidir. (4 bölgeden (bulber/kranial, servikal, torakal, lumbosakral) en az 2'sinde denervasyon izlenmesi gerekir). Kranial bölge açısından, dil ve fasiyal kaslar veya çiğneme kasları incelenebilir. Torasik bölge açısından paraspinal kaslar, T6 distalinde abdominal kaslar incelenebilir. Servikal ve lumbosakral bölgeler açısından farklı kök ve sinirlerden innerve olan en az 2 kas değerlendirilmelidir.¹³¹ El-Escorial revize edilmiş kriterlerde ALS için pozitif bulgu olarak; aktif-devam eden denervasyon bulguları ve kronik nörojenik değişiklikler anlamlı olarak kabul edilmiştir.¹³¹ Fibrilasyon potansiyelleri ve pozitif keskin dalgalar aktif denervasyon bulguları olarak kabul edilmektedir. Awaji kriterlerinde bunlara fasikülasyon potansiyelleri de eklenmiştir.¹³¹ Kronik nörojenik değişiklikler olarak; yüksek amplitütlü-uzun süreli-polifazik BKAP, azalmış interferans paterni ve anstabil motor ünit potansiyelleri kabul edilmiştir.¹³¹ Fasikülasyon potansiyelleri ALS açısından çok anlamlı olmakla birlikte normal kaslarda da benign fasikülasyonlar görülebilir. Amiyotrofik lateral sklerozlu olgularda tüm kaslarda görülmeyebilir. Benign fasikülasyonda morfoloji normaldir, nörojenik değişiklikler içeriyorsa kompleks fasikülasyon olarak adlandırılır ve ALS açısından anlamlıdır.¹³² Amiyotrofik lateral sklerozdaki fasikülasyonun benign fasikülasyona göre amplitüdü yüksek ve süresi uzundur.¹³³

1.9.2 Transkraniyal Magnetik Stimülasyon

Transkraniyal manyetik stimülasyon non-invaziv bir metod olup kortikospinal traktusun incelenmesine olanak sağlar. Motor amplitüt, kortikal uyarılabilirlik eşiği, santral motor iletim zamanı ve sessiz periyod değerlendirilir. Amiyotrofik lateral sklerozlu olgularda santral motor iletim zamanının uzundur.¹³⁴ Üst motor nöronda etkilenme olduğunu göstermek için santral motor iletim zamanında %30 ve daha fazla uzama olması ve maksimum kasiya rağmen motor ünit potansiyellerinde azalmış ateşlemenin

kaydedilmesi gerekmektedir. Santral motor iletim zamanı uzaması, familial ALS (SOD1 mut.) ve flail arm, flail leg varyantlarında belirgindir.

1.9.3 Kraniyal Görüntüleme

Tedavisi olan ve görüntüleme yöntemleriyle tanısı konabilecek olan, alt/üst motor nöron bulgularına yol açabilen lezyonların tespit edilmesi için görüntüleme gerekir. Özellikle kortikospinal traktustaki lezyonları göstermek için manyetik rezonans görüntüleme (MRG) önemli bir seçenektir.¹³⁵

Buna ek olarak ALS hastalarında da bazı nörogörüntüleme bulguları izlenebilmektedir. Beyin MRG'de T2 ve FLAIR sekanslarda, özellikle beyin ve beyinsapı düzeylerinde, kortikospinal traktusda bilateral hiperintensite ALS hastalarında saptanabilir.¹³⁶ Ayrıca T2 sekansında, presantral girusun özellikle arka kesiminde hipointensite görülebilir, ancak ALS için spesifik değildir.¹³⁷

Manyetik rezonans spektroskopisi, difüzyon ağırlıklı görüntüleme, difüzyon tensör görüntüleme, fonksiyonel MRG ve SPECT gibi görüntüleme yöntemleri rutin klinik pratikte sık kullanılamamakla birlikte hastalığın patofizyolojisinin anlaşılması önemli katkı sağlamaktadır.¹³⁸⁻¹⁴⁰

1.10 TANI KRİTERLERİ

Amiyotrofik lateral skleroz tanısı klinik ve elektrofizyolojik olarak konulur. Buna rağmen %5-10 vakada yanlış tanı ihtimali vardır.^{141, 142} Klinik olarak progresyon gösteren alt motor nöron (tonus azalması, tendon reflekslerinde azalma/kaybolma, kas atrofisi, fasikülasyon) ve üst motor nöron bulguları (tonus artışı, klonus, Babinski işareti, derin tendon reflekslerinde artma) olmalıdır.^{143, 144} Bu bulguların başka hastalıklara ait olmadığı elektrofizyolojik, kranial ve spinal görüntüleme, serebrospinal sıvı incelemeleri ile gösterilmiş olması gerekmektedir. The World Federation of Neurology (WFN) Research Group on Motor Neuron Diseases' un yayınlamış olduğu "1994 El Escorial" tanı kriterleri ALS tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁴³ Bu kriterler 2000 yılında güncellenmiştir.¹⁴⁴

1994 yılı kriterlerinde, saf alt motor nöron bulguları olan hastalar, klinik şüpheli ALS şeklinde sınıflandırılıyordu. 2000 yılında revize edilen kriterlerde

bu tanım sınıflandırmadan kaldırıldı. Yeni sınıflama ile, saf alt motor nöron şeklinde başlayan ve hiçbir şekilde üst motor nöron belirtileri göstermeyen ALS hastaları daha erken dönemde tanınır olmuştur.¹⁴⁴ Bu güncellemeyle şu şekilde sınıflandırma yapılmıştır: Klinik kesin ALS, klinik olası ALS, laboratuvar desteğiyle klinik olası ALS, klinik mümkün ALS. Revize Edilmiş El Escorial ALS tanı kriterleri Tablo 1.2'de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Revize Edilmiş El Escorial Kriterleri¹⁴⁴

ALS tanısı için gerekli olanlar:

- Klinik, elektrofizyolojik ve nöropatolojik değerlendirme ile alt motor nöron dejenerasyon bulgularının gösterilmesi
- Klinik değerlendirme ile üst motor nöron dejenerasyonunun gösterilmesi
- Öykü ve muayene ile klinik bulguların bir bölgeden diğer bölgelere yayıldığının gösterilmesi
(Elektrofizyolojik incelemeler açısından vücutta 4 bölge tanımlanmıştır; beyin sapı, servikal, torakal ve lumbosakral bölge)

ALS tanısı için şunların olmadığı gösterilmelidir:

- Elektrofizyolojik ve patolojik olarak başka bir hastalığa ait patolojinin olmaması
- Görüntüleme yöntemleri ile başka bir hastalığa ait bulguların olmaması gerekir.

Klinik Kesin ALS

- Üst ve alt motor nöron belirtilerinin 3 farklı bölgede olması

Klinik Olası ALS

- Üst ve alt motor nöron bulgularının 2 farklı bölgede olması

Olası ALS- Laboratuvar Destekli

- Üst motor nöron belirtilerinin 1 bölgede olması ve alt motor nöron belirtilerinin EMG ile 2 ve daha fazla bölgede tespit edilmesi

Mümkün ALS

- Üst ve alt motor nöron belirtilerinin 1 bölgede olması

Üst motor nöron belirtileri: Klonus, Babinski işareti, abdominal deri refleksi kaybı, hipertoniye. Alt motor nöron belirtileri: atrofi, güçsüzlük, fasikülasyon, EMG de aktif denervasyon bulguları. Bölge dağılımı. Bulber, servikal, torakal ve lumbosakral

1.11 AYIRICI TANI

Amiyotrofik lateral sklerozun, ALS benzeri hastalıklardan ayırt edilmesi gerekir. Tablo 1.3'de ALS ayırıcı tanısı yapılması gereken hastalıklar verilmiştir.

Tablo 1.3. ALS ile karışan hastalıklar ve ALS ile ayırıcı tanıları^{142, 145}

Hastalık	Klinik Özellikler	Ayırıcı Tanı için Yapılacaklar
Serebral Lezyonlar	Fokal motor korteks lezyonları oldukça düşük bir oranda ALS ile benzerlik gösterir. Oysa frontal lezyon ile servikal, lumbosakral kök lezyonlarının birlikteliği oldukça kafa karıştırıcı olabilir.	Kranial MRG, BT yapılabilir. EMG de yaygın denervasyon bulgularının olmamasıyla ALS den ayırt edilir.
Kafa Tabanı Lezyonları	Alt kranial sinir bulguları (bulber semptomlar, dil kaslarında erime.)	MRG ve BT de kemik pencere de inceleme yapılır.
Servikal Spondilolitik Miyelopati	Progresif ekstremitte güçsüzlüğü, asimetrik başlangıç, spastik paraparezi, üst-alt motor nöron belirtileri birlikteliği olur.	Tutulan kökün dağılımında ağrı olur. Klinik belirtiler belli bir süre progrese olduktan sonra stabilize olur. Bulber tutulum olmaz. EMG de kronik parsiyel denervasyon bulguları görülmez.
Foramen magnum lezyonları İntrinsik ve ekstrinsik tümörler Siringomiyeli	Progresif güçsüzlük, üst servikal kök lezyonları, duyu defisiti ve alt motor nöron belirtileri olur.	Kraniyal ve spinal kord MRG
Konus lezyonu ve lumbosakral radikülopati	Progresif üst ve alt motor nöron birlikteliği, mesane tutulumu	Spinal kord MRG ve EMG
İnklüzyon cisimcikli miyozit	Progresif güçsüzlük, bulber semptomlar, solunum kaslarında güçsüzlük	Ön kol ve kuadriseps femoris kasında erime, EMG de miyopati bulguları, biyopside vakuoller görülür.
Kramp-fasikülasyon-miyokimi sendromu	Kramplar, fasikülasyonlar olur. Kaslarda sertlik olur.	EMG de miyokimik deşarjlar izlenir. %30 vakada voltaj kapılı K kanallarına karşı antikor tespit edilir. %20 vakada timoma ve akciğer kanseri olur.
Multifokal motor nöropati	Fokal asimetrik başlangıç, sıklıkla üst ekstremitte tutulumu ve alt motor nöron belirtileri olur.	EMG de sinir iletim bloğu görülür. İntravenöz immünglobülin ile %70 iyileşme görülür.
Kennedy Hastalığı	Erkeklerde semptomatik olur, yavaş progresif bulber ve ekstremitte kuvvetsizliği olur.	Fasiyal kaslarda fasikülasyon olur. Jinekomasti, simetrik proksimal kuvvetsizlik , sensöriyal nöropati olur. Androjen reseptör geninde CAG tekrarında artma olur.

1.12 ALS TEDAVİSİ

Birçok nörodejeneratif hastalıkta olduğu gibi ALS'de de tedavi edici ajanlar mevcut değildir. Hastalığı en azından yavaşlatabilen tedavilerin bulunması için çok sayıda çalışma yapılmakla beraber günümüzde hastalarda yüz güldürücü sonuçlar sağlayacak tedaviler hala söz konusu değildir. Amiyotrofik lateral skleroz ve diğer motor nöron hastalıkları tedavisinde multidisipliner yaklaşım önemlidir. Amiyotrofik lateral skleroz, progresif ve nörodejeneratif bir hastalık olduğundan destek tedavileri sağkalım ve özürüllüğün azaltılmasında hala önemli rol oynamaktadır.¹⁴⁶

Yapılan birçok çalışmaya rağmen hastalığın kesin tedavisi yoktur. Riluzol, 12 aralık 1995'de ALS tedavisi için onay almış olup, 2017 yılına kadar minimal etkisi kanıtlanan tek tedavi olarak hastalarda reçete edilmekteydi. Riluzol etkisini N-metil dietil aspartat (NMDA) reseptörleri üzerinden göstermektedir. Buna ek olarak sodyum kanallarını stabilize etmek, presinaptik glutamat salınımını engellemek, ekstraselüler glutamat re-uptake'ini arttırmak gibi etkileri de olduğu bilinmektedir.¹⁴⁷ Yapılan bir çalışmada, 75 yaşından küçük, zorlu vital kapasitesi (FVC) %60'ın üzerinde, semptom süresi 5 yıldan kısa olan hastalarda riluzolün 18 ay süreyle günde 100 mg kullanımı median yaşam süresini 2-3 ay arttırdığı gösterilmiştir.¹⁴⁸ Riluzol'ün en önemli yan etkileri asteni, bulantı, karaciğer fonksiyon testlerinde (KCFT) yükselmedir. Bu nedenle aralıklı olarak KCFT bakılmalıdır.

Hastalık patogenezinde bir diğer önemli mekanizma oksidatif strestir. Bu nedenle serbest radikal (özellikle peroksinitrit ve nitrik oksit) yakalayıcısı olarak görev yapan Edaravon'un, daha önce yapılan Alzheimer ve Parkinson hastalığı deneysel modellerinde nöroprotektif olduğu gösterilmiştir.^{149, 150} Süperoksit dismutaz 1 (SOD1) transgenik fare ALS modellerinde edaravon intraperitoneal olarak uygulanmış ve motor gerilemenin yavaşladığı ve spinal kord motor nöronların korunduğu görülmüştür.¹⁵¹ Aynı zamanda tedavi verilen grupta tirozin nitrasyon ürünlerinin azaldığı izlenmiştir.¹⁵¹ Amiyotrofik lateral skleroz hastaları (19 hasta) ile yapılan bir çalışmada 5 hastaya 30 mg/g, 14 hastaya 60 mg/g dozunda edaravon uygulanmış. (İlk siklusta 2 hafta süreyle her gün uygulanıp, 2 hafta ara verilmiş. Sonraki 5 siklusta 2

haftada 10 gün uygulanıp, 2 hafta ara verilmiş.) Altı ay sonunda 60 mg alan grupta revize edilmiş ALS fonksiyonel derecelendirme skoru (ALSFRS-R) üzerinde anlamlı etkisinin olduğu izlenmiştir.¹⁵² Amiyotrofik lateral skleroz hastaları (206 hasta) ile yapılan edaravon çalışmasında (104 hasta plasebo grubu, 102 hasta edaravon grubu) istatistiksel olarak anlamlı bir etkinlik gösterilememiştir.¹⁵³ Bunun üzerine 5 Mayıs 2017'de edaravon ALS tedavisinde riluzol'den sonra FDA onayı alan ilk ilaç oldu.

Bu iki ilaç dışında birçok ajan ALS tedavisinde kullanılmak için hayvan modelleri ve insanlar üzerinde denenmiştir. Ancak olumlu yanıt hiçbirisinde elde edilememiştir. Bu ilaçlardan örnekler verilecek olursa; talampanel ile 59 ALS hastasında yapılan çift kör randomize kontrollü çalışmada (40 hasta talampanel 50 mg/g, 19 hasta plasebo) talampanelin plaseboya üstünlüğü gösterilememiştir.¹⁵⁴ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında (366 hasta) glatiramer asetat (GA) ile yapılan 52 haftalık çalışmada (184 hasta GA 40 mg/g, 182 hasta plasebo) plaseboya üstünlüğü görülmemiştir.¹⁵⁵ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında (107 hasta) kreatin monohidrat (KM) ile yapılan 9 aylık çalışmada (53 KM 10 g/g, 54 plasebo) faydası görülmemiştir.¹⁵⁶ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında (160 hasta) vitamin E ile yapılan çalışmada (83 hasta vitamin E 5000 mg/g, 77 hasta plasebo) aralarında fark görülmemiştir.¹⁵⁷ Selekoksisib ve seftriakson ile yapılan çalışmalarda da etkinlik gözlenmemiştir.^{158, 159}

Gen tedavisi ile nörotrofik faktörlerin nöronlara verilmesi hedeflenmektedir. Adeno-ilişkili virüs ile SOD1 mutant farelere yapılan gen tedavilerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir.¹⁶⁰ Ancak insanlarda yapılan bir çalışma yoktur. Otolog kök hücre transplantasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar da hayal kırıklığına yol açmıştır.¹⁶¹

1.12.1 Solunum Desteği

Amiyotrofik lateral sklerozlu olgularda solunum yetmezliği sık görülür ve mortalitenin en önemli nedenidir. Solunum kasları güçsüzlüğüne sekonder olarak, dispne, ortopne, uyku apnesi, hijyensiz uyku ortaya çıkar. Amiyotrofik lateral sklerozlu olgularda solunum mekaniğini değerlendirmek için zorlu vital

kapasite (FVC) ve istirahat vital kapasitesi (SVC) değerlendirilir. Zorlu vital kapasite normal değerlerin % 50'sinin altına indiği zaman noninvaziv mekanik ventilasyon önerilmektedir.¹⁶² Oksimetre ile nokturnal hipoventilasyon periyodları tespit edilebilir. Arteriyal kan gazı ile solunumsal asidoz olup olmadığı ortaya konulup gerekli solunumsal destek sunulmalıdır.

Respiratuvar destek noninvaziv veya trakeotomi yoluyla invaziv olarak yapılabilir. Bi-level pozitif basınçlı solunum cihazı (BİPAP) ile noninvaziv olarak solunumsal destek sağlanır. Sürekli pozitif basınçlı ventilasyon (CPAP) ALS'li olgularda önerilmemektedir.¹⁶³ Noninvaziv mekanik ventilasyona ne zaman başlanması gerektiği ile ilgili olarak önerilen metod Tablo 1.4'de gösterilmiştir:

Tablo 1.4. Noninvaziv mekanik ventilasyona başlama kriterleri:

<p>Solunum kasları güçsüzlüğüne bağlı gelişen semptomlar (en az 1 tanesi)</p> <ul style="list-style-type: none"> -Dispne -Ortopne -Uyku problemleri -Sabah baş ağrısı -Azalmış konsantrasyon -Anoreksi -Gün içinde aşırı uykululuk hali anketinden (ESS) 9 ve üzeri puan alması <p>Ve Solunum kasları güçsüzlüğü bulguları (FVC<%80 veya SNP<40 cm H₂O)</p> <p>Ve Nokturnal desatürasyon, arteriyal kan gazında CO₂>65 mm Hg</p>
ESS; Epworth sleepiness scale

1.12.2 Beslenme Desteği

Disfaji ALS'lilerde sık olarak gözlenir. Aspirasyon, malnütrisyon, kilo kaybı ve dehidratasyon gibi ciddi problemlere yol açar.¹⁶⁴ Tek yaşayan olgularda özellikle üst ekstremitte kuvvetsizliği varsa, hem öğün hazırlama problemine hem de yemekte geçirilen vaktin artmasına yol açar. Amiyotrofik lateral sklerozun kendisi hipermetabolik bir sürece yol açar ve bu nedenle hastalar çok kalori almak zorunda kalırlar.¹⁶⁴

Oral alım problemi olan olgularda dikkatli olunmalıdır, özellikle sıvı gıdalar aspirasyona sıkça neden olduğundan gerekli durumlarda

kıvamlaştırıcı kullanılmalıdır. Hastalara yutma egzersizleri verilmeli, çok ileri olgularda (vücut ağırlığında normalin %10'undan fazla azalma olan, yutma disfonksiyonu dokümente edilmiş olgular) gastrostomi açılarak mama ile beslenme sağlanmalıdır. Gastrostomi yöntemi olarak 2 farklı yol vardır: perkütan endoskopik gastrostomi (PEG) ve perkütan radyolojik gastrostomi (PRG).

Perkutan endoskopik gastrostomi (PEG) en sık kullanılan yöntemdir. Hafif sedasyon verilerek gerçekleştirilir. Radyolojik yöntemle gastrostomi açılması işlemi (RİG) ise lokal anestezi altında yapılabilir.¹⁶⁵ Nazogastrik tüp takılması, noninvaziv bir yöntem olup kısa süreli (10-14 gün) kullanılabilir.¹⁶⁴,¹⁶⁵ Daha uzun zaman kullanıldığında yerinden oynama, tıkanma ve özefagusta nekroz gibi yan etkileri vardır. Perkütan endoskopik gastrostomi (PEG) ve perkütan radyolojik gastrostomi (PRG) takılmayan vakalarda düşünülmelidir.¹⁶⁴ Bir çalışmada 30 ALS hastasına PEG, 20 ALS hastasına PRG uygulanmış. Perkütan radyolojik gastrostomi (PRG) uygulananlarda (%65) PEG uygulananlara (%19.2) göre daha fazla aspirasyon olduğu görülmüştür.¹⁶⁶ Aynı çalışmada ağrı oranı PRG uygulananlarda daha fazla iken, mekanik tüp tıkanıklığı ve tüp yer değiştirmesi PEG uygulananlarda daha fazla bulunmuştur.¹⁶⁶ Her iki grupta da vücut kitle indeksinde, triseps deri kalınlığında artma tespit edilmiş ancak gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir.¹⁶⁶

1.12.3 Diğer Destek Tedaviler

Hastalarda oluşabilecek siyalore, depresyon, anksiyete, aspirasyon-solunum problemleri, beslenme problemleri, hareket azlığı gibi durumların erkenden fark edilip gerekli destek tedavisinin verilmesi çok önemlidir.¹⁶⁷ Siyalore tedavisinde kullanılan oral ajanların (atropin, glikopirolat, amitriptilin) %70 oranında etki ettiği bilinmektedir.¹⁶⁸ Oral tedavilere yanıtız olgularda bilateral parotis ve gerekli durumlarda bilateral submandibüler bezlere botulinum toksini uygulanmakta ve olumlu sonuçlar alınmaktadır.¹⁶⁹ Radyasyon terapisi, medikal tedaviye ve botulinum toksin tedavisine dirençli olgularda başarıyla kullanılmaktadır ancak boğaz ağrısı, eritem ve bulantı gibi

yan etkileri mevcuttur.¹⁷⁰ Bilateral 7-7.5 Gy doz ile tatmin edici sonuçlar alınmaktadır.¹⁷¹ Psödobulber afekt, istemsiz gülme/ağlama atakları ile karakterize olup tedaviye dirençlidir.¹⁷² Ancak dekstrometofan 30 mg ve kinidin 30 mg kombine kullanımı ile psödobulber semptomların azaldığı gösterilmiştir ve bu ilaçların tek başlarına kullanımlarına göre daha etkin olduğu gösterilmiştir.¹⁷³ Yan etki olarak baş dönmesi, sersemlik hissi, bulantı bildirilmiştir.¹⁷³

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında görülen yorgunluk hissi, depresyona, immobiliteye, anormal kas aktivasyonuna ve kötü uyku hijyenine bağlı olabilir. Yorgunluk aynı zamanda riluzolün yan etkisi olarak da görülmektedir.¹⁷⁴ Hastanın ortalama yaşam süresi ve yorgunluk hissini şiddeti göz önünde bulundurularak riluzol tedavisi kesilebilir.¹⁷⁴ Amiyotrofik lateral sklerozda kognitif bozukluk %10-75 oranında bildirilmiştir.^{175, 176} Davranışsal bozukluklar (sosyal disinhibisyon ve irritabilite) %39 olarak tespit edilmiştir.¹⁷⁷ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında yapılan semptomatik tedaviler Tablo 1.5'de gösterilmiştir.

Tablo 1.5. ALS'de Semptomatik Tedaviler:

Semptom	Ana Tedavi	Diğer Tedavi Seçenekleri
Kramplar	Karbamazepin Fenitoin Kinin	Fizyoterapi Masaj Hidroterapi
Spastisite	Baklofen Tizanidin Dantrolen Botulinum toksini	Fizyoterapi Hidroterapi Kriyoterapi
Aşırı salya	Atropin Hiyosin bromür Glikopironyum Amitriptilin	Parotise botulinum toksini yapılması Nebülizasyon Tükrük bezine radyoterapi
Aşırı bronşiyal sekresyon	Karbosistein Propranolol Metoprolol	Rehidrasyon Kafein ve alkol alımının azaltılması
Laringospazm	Lorazepam	
Ağrı	Basit analjezikler NSAİİ Opioidler	
Emosyonel Labilite	Trisiklik antidepresanlar Selektif serotonin gerilim inhibitörleri Levodopa Dekstrometorfan+Kinidin	
İletişim Zorluğu	Konuşma tekniklerinin öğretilmesi Ses yükseltici	
Kabızlık	Laktuloz Senna	Hidrasyon Fiberli gıda alımının artırılması
Depresyon	Sitalopram Amitriptilin	Psikolojik destek verilmesi
İnsomni	Amitriptilin Zolpidem	
Anksiyete	Lorazepam	Psikolojik destek
Yorgunluk	Modafinil	

1.13 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ PROGNOZU

Yapılan çalışmalarda bulber başlangıçlı ALS'de median yaşam süresi 2-3 yıl, ekstremitte başlangıçlı vakalarda ise 3-5 yıldır.¹⁷⁸ Kohort çalışmalarında median yaşam süresi 3-5 yıl olan vakalar tüm vakaların %24-48'idir. Vakaların %4'ünde median yaşam süresi 10 yıldan daha uzundur.¹⁷⁹ Multidisipliner ALS kliniklerinde yaşam süresinin arttığına dair gözlemler mevcuttur.¹⁸⁰ Multidisipliner yaklaşım, yaşam süresi için bağımsız prediktör faktör olup, 5 yıllık izlemde ölüm oranını %47 azalttığı görülmüştür.¹⁸⁰

1.14 AMİYOTROFİK LATERAL SKLEROZ HASTALARINDA YATAK YARASI

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında yatak yarası diğer nörolojik hastalara göre daha az görülmektedir.¹⁸¹ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında yatak yarası oluşumunda kilo kaybı, kas atrofisi ve kemik dokunun deriye uyguladığı basıncın artması gibi faktörler rol oynamaktadır. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında yatak yarası oluşumu %4.8 oranında bildirilmiştir.¹⁸² Başka bir çalışmada 277 ALS hastasının 2'sinde (%0.72) diğer nörolojik hastalığı olan 298 hastanın 26'sında (%8.72) olarak bildirilmiş ve ALS hastalarında yatak yarası anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.001$).¹⁸¹ Yapılan bir çalışmada ALS hastalarında kontrollere göre dermisteki kollajen liflerinin daha küçük çapta olduğu ve amorf madde ile kollajen liflerinin birbirinden ayrıldığı ve fragmente olduğu izlenmiştir.¹⁸³ Tip 4 kollajen, bazal membranda bulunan amorf yapıda bir kollajen olup derinin yapısal stabilitesini sağlar. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında deride ve serumda tip 4 kollajen miktarının azaldığı ve hastalık süresi ile negatif korele olduğu görülmüştür.¹⁸⁴ Aynı zamanda dermiste kollajen lifleri arasında amorf granüler materyal ve mukopolisakkarit birikiminin kontrollere göre fazla olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada kollajen lifleri ile ilişkili aminoasitlerin (hidroksiprolin, hidroksilizin ve glisin) kontrollere göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir.¹⁸³ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında hidroksiprolin düzeyi ve kollajen lif çapı ile hastalık süresi arasında negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir.¹⁸³

Matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9), kollajenin maturasyonunda ve şekillenmesinde rol oynayan bir faktördür. En önemli etki ettiği kollajenler tip 1 ve 4 kollajenlerdir. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının deri biyopsilerinde, BOS ve serumlarında matriks metalloproteinaz 9'un (MMP-9) kontrollere göre arttığı gösterilmiştir.^{185, 186} Amiyotrofik lateral skleroz hastalarındaki kollajenin fragmente ve ince fibrilli olmasının nedenlerinden biri MMP-9 miktarındaki artış olabilir.

Bu çalışmalar sonucunda ALS hastalarında dermisteki kollajen turnover'inin daha hızlı olduğu, derinin yapısının kontrollere göre değişme

gösterdiği ve buna sekonder olarak yatak yarasının daha az olduğu kanaatine varılmıştır. Kollajen çapı ve dansitesinin ALS hastalarında kontrollere göre arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur.¹⁸⁷ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında kontrollere göre bazal membran ve dermisteki laminin-1 düzeyinde anlamlı artma olduğu ve bu artmanın hastalık süresi ile pozitif korele olduğu gösterilmiştir.¹⁸⁸ Laminin, bazal membranda bulunur ve tip 4 kollajen, fibronektin ile birlikte bazal membran dayanıklılığını artırır.¹⁸⁸

İnterlökin-6 (IL-6), konak savunmasında rol oynayan önemli bir sitokindir. Aynı zamanda yara iyileşmesinde de anahtar görevi görür.¹⁸⁹ Epiderminin stratum korneum tabakasının kalınlığını artırarak mikroorganizmalara karşı dayanıklılığını artırır.¹⁸⁹ Yapılan bir çalışmada ALS hastalarında kontrollere göre epidermis ve dermis kan damarlarında IL-6'nın daha fazla olduğu gösterilmiş ve aynı zamanda hastalık süresi ile pozitif korele olduğu görülmüştür.¹⁹⁰ Bu da ALS hastalarında yatak yarasının neden daha az görüldüğünü gösteren kanıtlardan birisidir. Hyaluronik asit, dermisteki kollajen lifleri arasında yer alan bir glikozaminoglikandır. Su tutucu özelliği vardır ve bu özelliği ile dermisin yapısal özelliğini devam ettirmesinde rol oynar. İlerleyen yaşla birlikte dermisteki miktarı azalır ve bu nedenle deri dış etkenlere karşı daha hassas hale gelir. Yapılan bir çalışmada ALS hastalarında deri ve idrarda hyaluronik asit miktarının kontrollere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir.¹⁹¹ Aynı zamanda ALS hastalık süresi 2 yıldan fazla olan hastalarda hyaluronik asitteki artışın hastalık süresi ile pozitif korele olduğu da görülmüştür.¹⁹¹ Bu da yatak yarası oluşumunu engelleyen faktörlerden biri gibi görünmektedir. Çeşitli çalışmalarda ALS hastalarının deri biyopsilerinde büyüme faktörlerinin kontrollere göre daha fazla eksprese edildiği ve hastalık süresi ile pozitif korele olduğu görülmüştür.¹⁹²⁻¹⁹⁵ Ono ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada (10 ALS hastası ve 10 diğer nörodejeneratif hastalığı olan) siliyer nörotrofik faktörün (CTNF) ALS hastalarının deri biyopsilerinde kontrollere göre daha fazla eksprese edildiği görülmüştür.¹⁹² Başka bir çalışmada ALS hastalarının epidermis, dermal kan damarları ve salgı bezlerinde insülin benzeri büyüme faktörü 1'in (İGF-1) kontrol hastalarına göre daha fazla eksprese edildiği bulunmuştur. Aynı zamanda bu

ekspresyonun ALS hastalık süresi ile korele olduğu izlenmiştir.¹⁹⁴ Diğer çalışmalarda ALS hastalarının deri biyopsilerinde hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) kontrollere göre daha fazla eksprese edildiği izlenmiş ve ALS hastalık süresi ile korele olduğu görülmüştür.^{193, 196} Büyüme faktörlerinin yatak yarasına karşı koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir.

2-YATAK YARASI OLUŞUMU

2.1 FİZYOPATOLOJİ

Yatak yarası, immobilize hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Yatak yarası oluşumunda çeşitli faktörler rol almakla birlikte 4 tanesi çok önemlidir; basınç, makaslama kuvveti, sürtünme ve nem.

Deneysel çalışmalarda deri kapillerlerinde ortalama basıncın 20 mmHg, arteriollerde 32 mmHg ve venüllerde 12 mmHg olduğu gösterilmiştir.¹⁹⁷ 70 kilogramlık bir kişinin tüm vücut alanı 1.8 m² olarak kabul edilirse, supin pozisyonda iken vücut ağırlığının tüm alanlara eşit basınç yaptığı (5,7 mmHg) görülür (kemik çıkıntılarının olduğu yerler hariç). Herhangi bir deri bölgesine dışardan etkileyen basınç, derinin venül basıncını (12 mmHg) geçecek olursa, o bölgede mikropiller basınç artar ve doku dışına sıvı kaçıışı olmaya başlar.¹⁹⁸ Artan basınçla birlikte o bölgenin mikrolenfatik dolaşımı da bozulur ve sıvı kaçışına katkıda bulunur. Sıvı kaçıışı ile birlikte ödem, anaerobik ürünlerin birikimi, otoliz ve doku nekrozu ortaya çıkar.¹⁹⁸ Bir çalışmada 2 saat süreyle 70 mmHg'lik basınç uygulanmasıyla o bölgede geri dönüşümsüz değişikliklerin ortaya çıktığı gösterilmiştir.¹⁹⁹

Yatan hastalarda yatış pozisyonu ve yatağın durumuna göre makaslama kuvvetine maruz kalan vücut bölgesi değişmektedir. Yatağın başı kaldırıldığı zaman sakral bölge derisine etki eden basınç ve makaslama kuvveti artar. Bunun sonucu olarak o bölgenin dermisinde bulunan mikropillerlerde angülasyon ve mikrotrombüsler ortaya çıkar.²⁰⁰

Derinin stratum korneum tabakası, deri bütünlüğünde önemli rol oynamaktadır. Hastanın yatak üzerinde hareket ettirilmesi ile birlikte bu tabakada aşınmalar ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla hastanın yatak üzerinde sık hareket ettirilmesi ile birlikte derinin direnci azalmaktadır.²⁰⁰

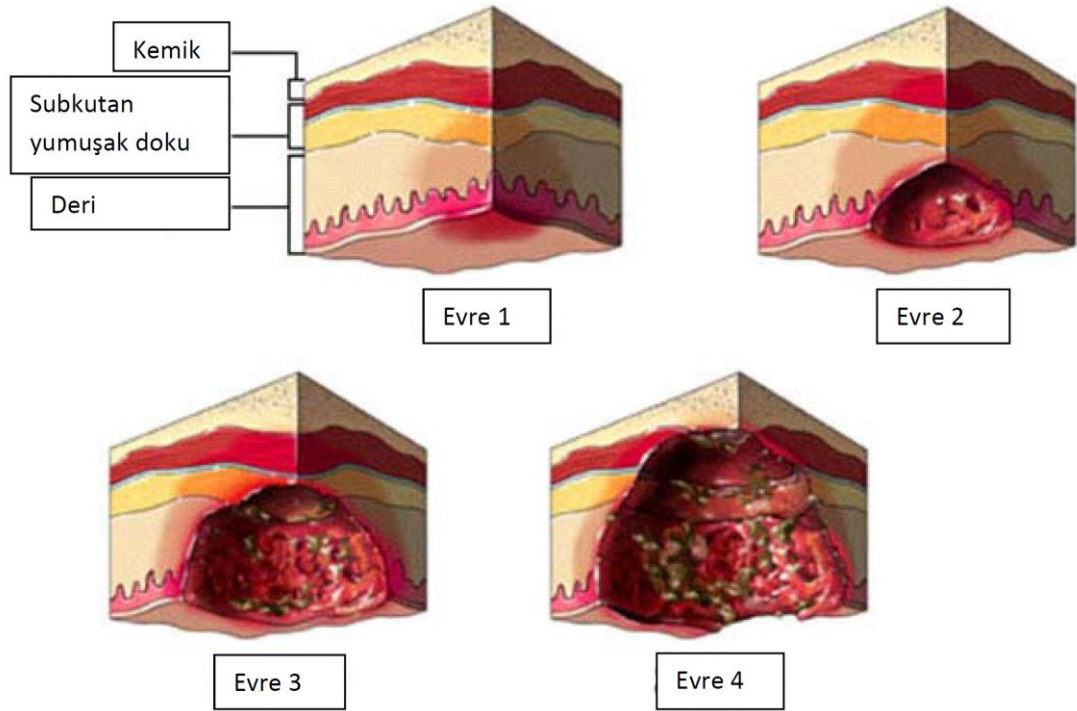
Yatak yarasının %96'sı alt vücut yarısında ortaya çıkmaktadır. En sık lokalizasyonlar sakral-koksigeal bölge, büyük trokanter, iskiyal tuberositas'dır.²⁰¹ Diğer sık görülen alanlar lateral malleolus, fibula başı ve topuk bölgesidir. Yatak yarası 4 evrede incelenir:(Bkz. Şekil 2.1)^{202, 203}

Evre 1; akut inflamatuvar yanıt, yumuşak doku ödemi, indurasyon ve ısı artışı olur, epidermise sınırlıdır. Basmakla solmayan kızarıklıklar olur. İyi bakım yapılırsa hasar geri dönüşümlü olup iyileşme çoğunlukla tamdır.

Evre 2; ülserasyon olur, inflamatuvar ve fibroblastik değişiklikler dermise sınırlıdır. Cerrahi dışı tedavilerle iyileşme sağlanabilir.

Evre 3; subkutan yağ dokusuna kadar uzanır. Deride tam kat doku ölümü vardır. Hasar deri altı dokuya inmiştir. Kemik, tendon ve kaslar etkilenmemiştir. İkincil enfeksiyon eklenirse yaranın tedavisi daha da zorlaşır. Geniş lezyonlarda cerrahi girişim gerekir.

Evre 4; Hasar kemik dokusunu da içine almış, kemik çıkıntıya kadar inmiştir. Tedavi cerrahidir.



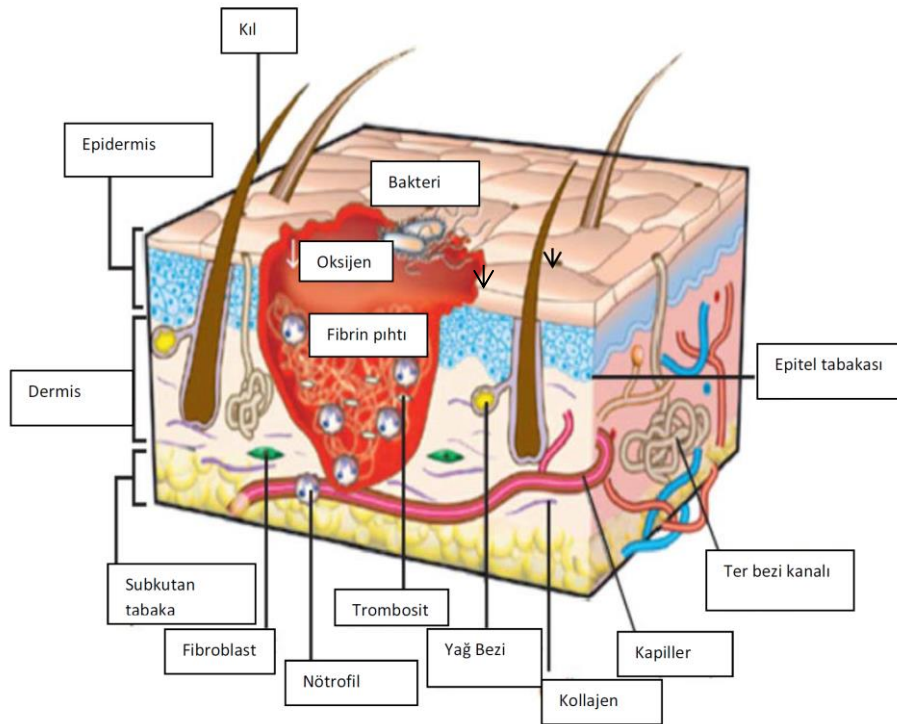
Şekil 2.1. Yatak yarası oluşum evreleri^{202, 203}

2.2 YATAK YARASI İYİLEŞMESİ

Yatak yarası, diyabetik yara, arteriyal-venöz yetmezlik yaraları gibi kronik yaralar grubunda yer almaktadır. Bu yara çeşitlerinin oluşumunda mikropiller yetmezlik önemli rol oynamaktadır.²⁰⁴ Yatak yarası iyileşmesi 3 evrede incelenir:

2.2.1 İnflamatuvar Evre

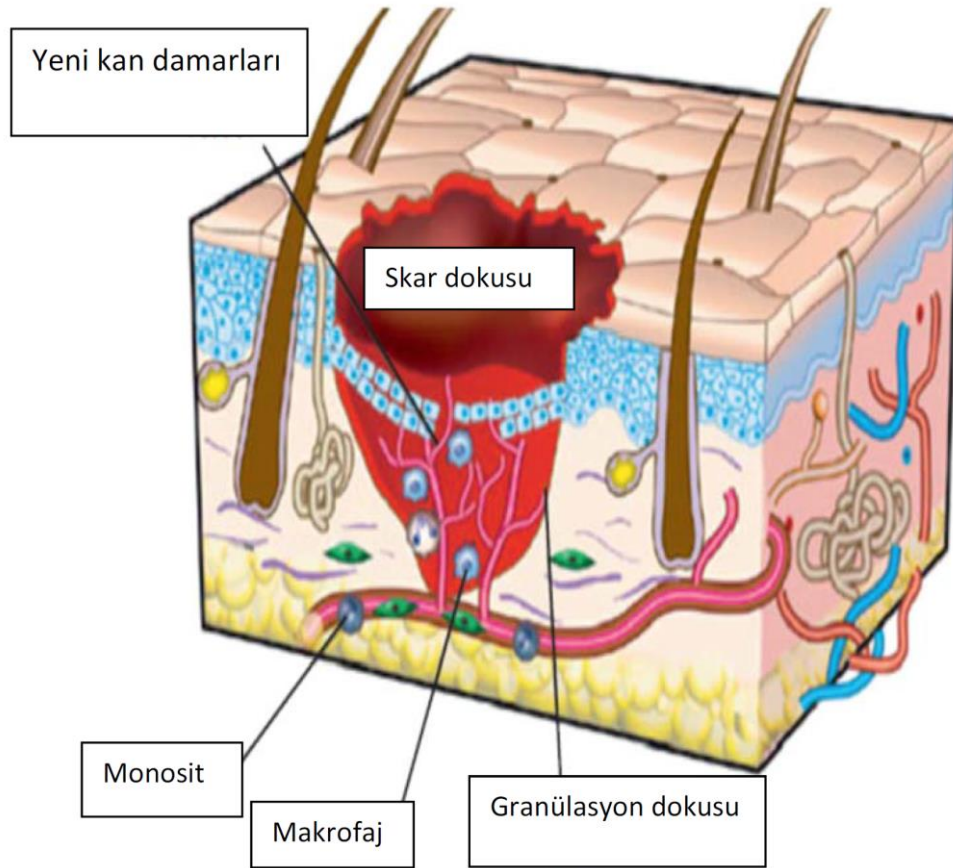
Lezyon bölgesinde vazokonstrüksiyon ve koagülabilite artışı olur. Trombosit agregasyonu ve ardından fibrin oluşumu gözlenir. Kan akımı yavaşlar.²⁰⁵ Fibrin pıhtı o bölgede bariyer görevi görür ve mikroorganizma invazyonunu engeller. Lökositler ekstravaze olur ve yara alanına göç ederler. Yara alanında ödem ve kızarıklık oluşur. Lökosit yanıtı 2. günün sonuna kadar devam eder. Lökositlerle birlikte langerhans hücreleri ve mastositlerden salınan kemokinler ve sitokinler de inflamatuvar yanıtta katkıda bulunurlar.²⁰⁶ İnflamatuvar hücrelerin lizozomlarından salınan litik enzimler yara alanındaki hücre debrislerini temizler.²⁰⁷ Yara oluşumundan birkaç saat sonra nötrofiller o bölgede damar dışına çıkar ve yara bölgesine gelirler. Nötrofillerin Sonrasında integrin ailesinden CD11a/CD18(LFA-1), CD11b/CD18(MAC1), CD11c/CD18 (gp150, 95), CD11d/CD18 yardımıyla damar duvarına tutunurlar.²⁰⁸ 48. saatten sonra monositler olay yerine gelmeye başlar, ardından makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar hem salgıladıkları litik enzimlerle debrisleri temizler hem de anjiogenez ve fibrozise katkıda bulunurlar.²⁰⁹ (Bkz. Şekil 2.2)²¹⁰



Şekil 2.2. Yara iyileşmesinde inflamatuvar evrenin şematik gösterimi^{202, 203}

2.2.2 Proliferatif Evre

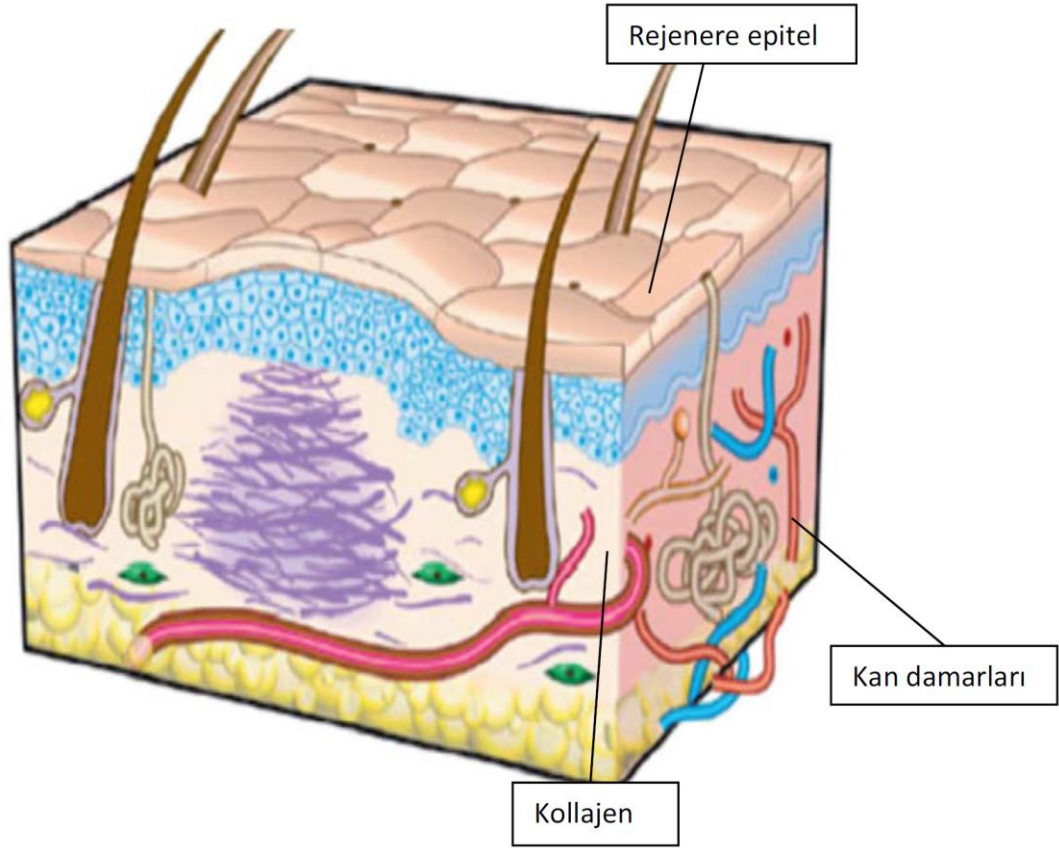
Bu aşamada fibroplazi, anjiyogenez, kontraksiyon ve keratinositler tarafından epitelyal bariyer oluşumu gözlenir.²¹¹ 2. günden başlayarak 14. güne kadar devam eder. Granülasyon dokusu 4. günde oluşmaya başlar. Bu aşamada fibroblast proliferasyonu, kollajen-elastin sentezi, kemotaktik faktör sentezi gerçekleşir. Fibroblastlar dermiste yer alır ve granülasyon aşamasında tip 3 kollajen üretirler. Fibroblastların aktivasyonunda Th1, Th2,Th17, sitotoksik T lenfositler ve B lenfositler rol alırlar.²¹² Fibroblastlar ve endotelial hücrelerde integrin sentezi ve koagülasyon aktivasyonu gerçekleşir.²¹¹ Fibroblastlar yaranın sınır zonunda miyofibroblastlara dönüşerek kontraksiyonu gerçekleştirirler. Yara bölgesinde makrofaj ve fibroblastlardan salınan fibroblast growth faktör (FGF) ve vasküler endotelial growth faktör (VEGF) aracılığıyla ekstraselüler matrikste anjiyogenezis başlatılır.²¹³ Yeni damar oluşumu ile birlikte o bölgeye yeterli oksijen ve besin kaynağı iletilir. Re-epitelizasyon aşamasında keratinositler önemli rol oynar.²¹⁴ Yara bölgesine yakın kıl foliküllerindeki epidermal germ hücreler aracılığıyla keratinositler harekete geçer. Keratinositler tonofilament ve aktin filamentleri aracılığıyla birbirleriyle iletişim kurarak yara bölgesine göç ederler ve gerekli epitelizasyonu sağlarlar.²¹⁴ (Bkz. Şekil 2.3)²¹⁰



Şekil 2.3. Yara iyileşmesinde proliferatif evrenin şematik gösterimi^{202, 203}

2.2.3 Remodeling Evresi

Yara oluşumundan 2-3 hafta sonra başlar ve en az 1 yıl sürer. Bu evrede yeniden sentez-yıkım ve reorganizasyonla, iyileşmekte olan doku maksimum dayanıklılığa ulaştırılmaya çalışılır. Granülasyon dokusundaki tip 3 kollajenin yerine tip 1 kollajen gelir, skar dokusunun formasyonu düzenlenir, sellülarite, inflamasyon ve vaskülarite azalır.²¹⁵ Tip 1 kollajenler birbirine paralel olarak dizilir ve maksimum gerim kuvveti oluştururlar. Kollajen sentezinde transforming büyüme faktörü beta (TGF-beta) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) rol oynar. Yara hattı üzerinde tek tabaka halinde keratinositler dizilir ve stratifiye epidermis oluşturulur. Matriks metalloproteinazlar aracılığıyla hyalüronik asid, fibronektinler ve tip 3 kollajenler yıkılır.²¹⁶ (Bkz. Şekil 2.4)²¹⁰



Şekil 2.4. Yara iyileşmesinde remodeling evresinin şematik gösterimi^{202, 203}

2.3 YARA İYİLEŞMESİNDE ÖNEMLİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Çalışmamızda değerlendirilen epidermal büyüme faktörü (EGF) ve keratinosit büyüme faktöründen (KGF) bahsedilecektir.

2.3.1 Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Peptid yapıda büyüme faktörleri çeşitli sinyal yollarını modüle ederek hücre çoğalması ya da hücre ölümünü kontrol ederler. Epidermal büyüme faktörü de bunlardan biri olup, içinde transforming büyüme faktörü alfa (TGF-alfa), amfiregülin ve betaselülin bulunan geniş bir ailenin üyesidir. EGF, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir reseptöre (EGFR) bağlanarak etkisini gösterir. Bu reseptörün 4 önemli subtipi vardır; EGFR (ErbB-1), HER-2/neu (ErbB-2), HER-3 (ErbB-3) ve HER-4 (ErbB-4). Epidermiste bu reseptörlerden ilk üçü eksprese olmaktadır. Bu reseptörler inaktif monomerler

halinde bulunurlar ve ligand bağlandıktan sonra aktif dimer haline dönüşürler. Reseptörün intraselüler kısmında tirozin kinaz aracılığıyla otofosforilasyon olur ve ardından intraselüler olaylar kaskadı başlar.²¹⁷ Otofosforilasyondan sonra RAS, RAF, MEK, MAPK (mitojen aktive protein kinaz) aktivasyonu olur ve bunlar da nükleusta yer alan ve hücre bölünmesini aktive eden çeşitli proteinleri aktive ederler.²¹⁸

Epidermal büyüme faktörü, epidermis homeostazında önemli rol oynar. Keratinosit proliferasyonunu arttırarak epidermis hücresel döngüsüne katkıda bulunur.²¹⁹ Epidermal büyüme faktörü reseptörleri (ErbB-1, ErbB-2 ve ErbB-3) erişkinlerde epidermiste bazal tabaka hücrelerinde eksprese edilirken fetal dönemde epiderminin tüm katmanlarında eksprese edilmektedir.²²⁰ Keratinositler EGF reseptörü eksprese etmekle birlikte, EGF ailesinden olan TGF-alfa, amfiregülin gibi maddeleri de sentezlemektedir. Böylece otokrin ve parakrin etkiyle keratinosit hücre çoğalması gerçekleşmektedir.²²¹ Anti-EGF reseptör nötralizan antikolar ile keratinosit apoptozisinin hızlandığı, fibroblast ve melanositlerin ise etkilenmediği gösterilmiştir.²²² Epidermal büyüme faktörü reseptörü, antiapoptotik olan Bcl-xL'yi arttırarak keratinosit yaşamını devam ettirmektedir.²²³ Epidermal büyüme faktörü reseptör sinyali kesildiği zaman bu madde azalmakta ve keratinosit apoptozu hızlanmaktadır.²²³ Epidermal büyüme faktörü, keratinositlerin yara bölgesine migrasyonunda da önemli rol alır.²²⁴ Ekzojen EGF uygulanması ile keratinosit ve fibroblast hücre çoğalması, kollajen üretiminde artış, reepitelizasyonda hızlanma olduğu deneylerle gösterilmiştir.²²⁵ Cieslak ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 5 ALS hastası ile 7 kontrol hastasından beyin omurilik sıvısı (BOS) alınarak EGF düzeyleri incelenmiştir. ALS hastalarında EGF düzeyi ortalama 662.4 ± 207 pg/ml, kontrol grubunda ise 1013 ± 182.8 pg/ml olarak tespit edilmiştir.²²⁶ ALS hastalarının BOS'unda EGF düzeyinin neden azaldığı bilinmemektedir. EGF'ye aynı anda serum ve deride bakılmamıştır.

2.3.2 Keratinosit Büyüme Faktörü (KGF)

Keratinosit büyüme faktörü, monomerik, 28 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesinin bir üyesidir. Diğer adıyla FGF-7 olarak da bilinir.²²⁷ Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesinin bağlandığı toplam 4 reseptörü vardır (FGFR1-4) ve bu reseptörler tirozin kinaz aktivitesi gösterirler.²²⁷ Keratinosit büyüme faktörü (KGF) bunlardan FGFR2'ye bağlanmaktadır. Keratinosit büyüme faktörünün bağlandığı FGFR2-IIIb epitelyal hücrelerde, keratinositlerde ve kıl foliküllerinde yoğun olarak eksprese edilmektedir.²²⁸ Böylelikle KGF parakrin etkiyle yara iyileşmesine katkıda bulunmaktadır. Bazal tabaka keratinositlerinde KGF ekspresyonu olmayan farelerde yara iyileşmesinin normallere göre geciktiği deneylerle kanıtlanmıştır.²²⁹ Keratinosit büyüme faktörü akciğerler ve deride FGF-10 ile birlikte üretilmekte olup (birbirinin homoloğu) aynı reseptöre eşit afinite ile bağlanmaktadır.²³⁰ Yara iyileşmesinde FGF-10 da KGF gibi davranmaktadır.²³⁰ Yara bölgesinde KGF ile birlikte FGF-10'un da ekspresyonunda artma olduğu gösterilmiştir.²³¹ Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 2 (FGFR2) mutasyonu olan farelerde epidermin atrofik ve hücrelerin disorganize olduğu görülmüştür.²²⁹ Keratinosit büyüme faktörü kıl folikül gelişimi ve perifoliküler kök hücre gelişiminde de rol oynamaktadır.²³² Yara bölgesine yakın olan kıl foliküllerinin çevresinde bulunan keratinositler, KGF aracılığıyla yara bölgesine göç etmekte ve reepitelizasyonu sağlamaktadırlar.²³³ Yara bölgesine gelen nötrofil ve makrofajlar tarafından üretilen interlökin-1, KGF üretimi için potent bir stimülatördür.

3-TEZİN AMACI

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında yatak yarasının diğer nörolojik hastalara göre daha az görüldüğü bilinmektedir.¹⁸¹ Bunun sebebini bulmak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır.^{183, 187-194} Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ALS hastaları ve kontrollerin deri biyopsilerinde tip 1 ve 4 kollajen miktarı, kollajen yapısı, hyalüronik asit, matriks metalloproteinaz 2 ve 9, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) gibi faktörler incelenmiş ve her biri ALS hastalarında kontrollere göre farklı olarak bulunmuştur. Bu farklılıkların ALS'de yatak yarasının daha az olmasına neden olduğu düşünülmüştür. Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve keratinosit büyüme faktörü (KGF) bugüne kadar ALS hastalarının deri biyopsilerinde çalışılmamıştır.

Bu çalışma, ALS hastalarında yatak yarasının az görülmesinde yara iyileşmesinde görevli büyüme faktörlerinden KGF ve EGF'nin rolünü araştırmayı amaçlamıştır. Bu amaçla, yatak yarasının sıklıkla görüldüğü deri bölgesi olan gluteus maksimus kası üzerindeki deriden ve distal alt ekstremiteden alınan "punch" biyopsilerinde EGF ve KGF ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

4-GEREÇ VE YÖNTEM

4.1 HASTA SEÇİMİ VE DERİ BİYOPSİSİ

Etik kurul onayı (GO 15/283-14) alındıktan sonra 15.04.2015 tarihinde hasta ve kontrol seçimine başlandı. Çalışmaya 10 ALS hastası ve 16 ALS dışı nörolojik hastalığı (multipl skleroz, demiyelinizan, epilepsi, parkinson, demans vs) olan hastalar dahil edildi. Kanama diyatezi olanlar, herhangi bir antiagregan-antikoagülan kullananlar ve biyopsi yapılacak bölgede enfeksiyonu olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastaların nörolojik muayeneleri Dr. Erdal Kurt tarafından yapıldı ve hastaların onamı kendilerinden ve/veya yakınlarından alındıktan sonra lateral malleolün 10 cm proksimalinden ve yatak yarasının en sık görüldüğü bölge olan gluteus maksimus kası üzerindeki deriden 4 mm "deri punch biyopsisi" lokal anestezi ile steril koşullar altında 'Nöromusküler Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

4.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLER

Epidermal büyüme faktörü ve keratinosit büyüme faktörüne yönelik antikörlerin ilgili firmadan satın alınması için Hacettepe Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden bütçe desteği alındı. Gluteus maksimus kası üzerinden alınan deri biyopsileri 'proksimal', lateral malleol proksimalinden alınan biyopsiler 'distal' olarak adlandırıldı. Antikörün adı ve alınan bölgenin adı kullanılarak her bir örneğe isimler verildi. Örneğin; gluteus maksimustan alınan ve EGF ile boyanan spesimen, EGF proksimal olarak adlandırıldı. Lateral malleolun 10 cm proksimalinden alınan ve KGF ile boyanan preparat, KGF distal olarak adlandırıldı. Tüm biyopsi materyalleri 2 saat süreyle %4 paraformaldehitte fikse edilip sonrasında 1 gece %10 sükrözde -4 °C'ta bekletildi. Ardından soğuk nitrojenle dondurularak -80 °C'ta muhafaza edildi. Tüm hasta ve kontrol grubundan biyopsi işlemleri bitirildikten sonra kriyostat ile 40 mikrometre kesitler alınarak EGF, KGF ve PGP 9,5'a karşı antikörlerle aşağıda sıralanan immünhistokimyasal yöntemlerle boyandı.

EGF ve KGF antikor boyaması için yapılan işlemler aşağıda özetlenmiştir:

1. gün:

- a. Alınan kesitler ilk olarak 30 dakika açık havada bekletildi.
- b. Kesitlerin etrafı Pap Pen ile sınırlandırıldıktan sonra nemli bir kaba yerleştirildi.
- c. Dokular 30 dk oda sıcaklığında %10'luk bovine serum albumin ve fosfat buffer solüsyonu (BSA/PBS) ile bloke edildi.
- d. Primer antikolar hazırlandı: %1'lik BSA/PBS ile dilüe edildi. KGF (LOT:GR30135-2) : 1/1000 oranında dilüe edildi. EGF (LOT:GR34916-16): 1/100 oranında dilüe edildi.
- e. Blok solüsyonu döküldü.
- f. Primer antikolar (40mcL) kesitlere uygulandı.
- g. 1 gece 4°C' de bekletildi.

2. gün

- a. Sekonder antikolar hazırlandı: biotinile edilmiş anti-fare IgG (vector) 20 mcL + insan serum 20 mcL ile 37°C' de 1 saat inkübe edildi.
- b. PBS ile 3 kez yıkandı.
- c. 200 mL metanol+3.5 ml 30% hidrojen peroksit içeren küvette 20 dk bekletildi.
- d. PBS ile 3 kez yıkandı.
- e. Vector-kit A+B+C 1/1 (40 mcL+ 40 mcL) (LOT:1675406A) hazırlanarak 30 dk RT' de inkübe edildi.
- f. Kesitlere vektör A+B+C uygulandı ve oda sıcaklığında 30 dk bekletildi.
- g. PBS ile 3 defa yıkandı.
- h. Diaminobenzidin (DAB) solüsyonu hazırlandı.
- i. DAB-buffer (40 mcL) kesitlere uygulandı.
- j. Karanlık ortamda 10 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübe edildi.
- k. Kesitler H₂O ile 2 defa yıkandı.
- l. Nükleus boyaması için 45 saniye hematoksilende bekletildi.
- m. 10 dk musluk suyunda bekletildi.

- n. Etanol seriden geçirildi:
 - 2x%70 1 dk
 - 1x%90 1 dk
 - 3x%96 1 dk
 - 3x%100 1 dk
- o. Xylol'de 4 kez 10 dk bekletildi.
- p. Tissue tech yardımıyla lamel ile kapatıldı.

Benzer şekilde ALS hastalarının proksimal ve distal deri biyopsisi örnekleri protein gen product 9.5 (PGP 9.5)'e karşı geliştirilen antikorlarla aşağıda immünohistokimyasal yöntemler uygulanarak boyandı:

- a. Alınan kesitler ilk olarak 30 dakika açık havada bekletildi.
- b. Kesitlerin etrafı Pap Pen ile sınırlandırıldıktan sonra nemli bir kaba yerleştirildi.
- c. Kesitler %10'luk BSA solüsyonunda 30 dakika bekletildi.
- d. PBS (fosfat buffer solüsyon) ile yıkandı.
- e. %1'lik BSA ile PGP 9.5 1/600 (Diagnostic biosystems, LOT:G126) dilüe edilerek hazırlandı ve kesitler bu solüsyonda 1 gece bekletildi.
- f. Ertesi sabah PBS ile yıkandı.
- g. %1'lik BSA ve 1/100 dilüe edilmiş cy3 (Invitrogen, LOT:1799260) solüsyonu kesitlere uygulanarak 2 saat bekletildi ve PBS ile tekrar yıkanarak kesitler incelemeye hazır hale getirildi.

Elde edilen preparatlar hastanın tanısı hakkında bilgi sahibi olmayan (kör olarak) 2 araştırmacı tarafından semi-kuantitatif (yarı sayısal) yöntemlerle BAB (BAB System, Ankara Türkiye) ışık mikroskopunda değerlendirildi. Araştırmacılar arasında ve her bir araştırmacının kendi içinde tutarlılığını değerlendirmek için preparatalara 24 saat sonra tekrar bakılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Boyanma yoğunluğuna göre KGF spesimenlerine 1 ile 4 arasında, EGF spesimenlerine 1 ile 3 arasında puanlar verildi ve kaydedildi. Protein gen product 9.5 (PGP 9.5) boyamasında değerlendirmeler yine aynı mikroskopun floresan ışığı altında European Federation of

Neurology Society (EFNS) önerilerine göre yapıldı.²³⁴ Dermo-epidermal bileşkeyi geçen ana lifler sayıldı, bu liflerin epidermis içindeki dalları sayım dışı bırakıldı. Liflerin sayıldığı epidermis uzunluğu ölçüldü. Sonrasında lif sayısı uzunluğa bölünüp 1000 ile çarpılarak lif yoğunluğu (dansitesi) hesaplandı ve kaydedildi. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının hastalık başlangıcından biyopsi alınana kadar geçen süreler de kaydedildi.

4.3 İSTATİSTİK

Veriler SPSS 21.0 programına kaydedildi ve iki grup arasındaki ekspresyon paternindeki farklılıklar Mann-Withney-U testi ile değerlendirildi ve $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

5-VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

5.1 DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLER

Çalışmaya hasta grubu olarak 10 ekstremitte başlangıçlı ALS hastası kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet olarak hasta grubu ile uyumlu 2 epilepsi, 2 parkinson, 2 miyastenia gravis, 1 distoni, 1 paraneoplastik serebellar dejenerasyon, 1 demans, 1 nöromiyelitis optika, 1 optik nörit, 2 demiyelinizan hastalık, 1 limbik ensefalit, 1 polinöropati, 1 normal basınçlı hidrosefali hastası dahil edildi. (Tablo 5.2)

Hasta grubunun yaş ortalaması 52.9 ± 13.527 (31-72)'du. Kontrol grubunun yaş ortalaması 51.81 ± 12.807 (29-73) idi. Hasta grubu ve kontrol grubunun yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Hasta grubunda kadın sayısı 7 (%70) ve erkek sayısı 3 (%30) idi. Kontrol grubunda kadın sayısı 6 (%37.5) ve erkek sayısı 10 (%62.5) idi. Cinsiyet açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Grup farkı gözetmeksizin bakıldığında toplam kadın sayısı (13), toplam erkek sayısına (13) eşitti. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının semptom başlangıcından biyopsi yapılana kadar geçen süre ortalama 28.2 ± 17.223 (5-48) ay idi. Çalışmaya alınan ALS hastalarının ikisi yatağa, biri tekerlekli sandalyeye bağımlıydı. Kontrol grubunda ise bir hasta yatağa bağımlı idi. Kontrol grubunda ise 1 hasta (demiyelinizan hastalık) yatağa bağımlı idi. Yatağa ve tekerlekli sandalyeye bağımlı hatalarda ciddi oral alım bozukluğu ve kilo kaybı vardı. ALS grubunda albümin düzeyi ortalaması 3.90 g/dL olup, kontrol grubunda 3.95 g/dL idi ve gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. Bkz. Tablo 5.1 ve Tablo 5.2).

Tablo 5.1. Demografik özellikler-1

Cinsiyet	ALS (n=10)	Kontrol (n=16)	P değeri
Kadın	7 (%70)	6 (%37,5)	>0.05
Erkek	3 (%30)	10 (%62,5)	
Toplam	10 (%100)	16 (%100)	
Yaş			
Ortalama	52,9	51,81	>0.05
Yaş aralığı	31-72	29,73	

Tablo 5.2. Demografik özellikler-2

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Tanı	H.süresi (ay)	Ek Hast.	Alb.	ALSFRS-F
1.	K	66	ALS	24	HT, KTS	3,1	13
2.	K	72	ALS	48	HT,DM,HL	3,6	16
3.	K	60	ALS	7	HT,DM,aritm	3,8	32
4.	K	43	ALS	36	sigara	4,5	43
5.	E	64	ALS	12	DM,KAH,katarakt	4,2	45
6.	E	40	ALS	48	-	3,0	11
7.	K	62	ALS	48	DM,HT,TAH	4,3	45
8.	E	31	ALS	5	-	4,4	46
9.	K	45	ALS	18	-	4,0	26
10.	K	46	ALS	36	-	4,1	39
11.	E	42	Distoni	24	-	4,4	
12.	K	54	NMO	420	HT	4,3	
13.	K	41	PSD	24	HT,gastrit	3,6	
14.	E	29	ON	1	-	3,5	
15.	E	50	Epilepsi	84	-	4,0	
16.	E	52	MG	36	Renal kist	4,0	
17.	K	41	MS	120	Kolesistektomi	3,6	
18.	K	39	Demans	24	-	4,1	
19.	E	40	Epilepsi	60	sigara	4,0	
20.	E	62	MS	60	Lomber disk herni	4,3	
21.	E	53	LE	2	-	4,0	
22.	E	51	PH	336	-	4,1	
23.	E	71	PNP	120	DM,HT,depresyon	3,5	
24.	K	65	PH	540	Menisküs	4,2	
25.	K	73	NBH	12	HT,kolesistektomi	3,6	
26.	E	66	MG	36	HT, katarakt opere	4,0	

E: Erkek, K: Kadın, H.Süresi: Hastalık süresi, Ek Hast: Ek hastalık, Alb: Albumin düzeyi (gram/dL), ALS: Amiyotrofik lateral skleroz, NMO: Nöromiyelitis optika, HT: Hipertansiyon, DM: Diyabetes mellitus, HL: Hiperlipidemi, KTS: Karpal tünel sendromu, ON: Optik nörit, PSD: Paraneoplastik serebellar dejenerasyon, MG: Miyastenia gravis, MS: Multipl skleroz, TAH: Total abdominal histerektomi, NBH: Normal basınçlı hidrosefali, PH: Parkinson

hastalığı, PNP: Polinöropati, LE: Limbik ensefalit, ALSFRS-R: Revize edilmiş ALS fonksiyonel rating skoru.

5.2 KERATİNOSİT BÜYÜME FAKTÖRÜ EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Epiderminin, ter bezleri ve kıl kökündeki epidermal kökenli hücrelerin KGF ile boyanma yoğunluğuna göre 1 ile 4 arasında puan verildi. KGF proksimal değerleri ALS hastalarında 1 ile 4 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 2 idi. Kontrol grubunda KGF proksimal değerleri 1 ile 3 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 2 idi. Hasta ve kontrol grupları arasında KGF proksimal değerleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). (Bkz. Tablo 5.3)

KGF distal değerleri ALS hastalarında 1 ile 2 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 1 idi. Kontrol grubunda ise 1 ile 4 arasında değişiyor ve ortanca değeri 2 idi. Hasta ve kontrol grupları arasında KGF distal değerleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). (Bkz. Tablo 5.3)

Grup ayrımı yapılmaksızın bakıldığında KGF proksimal ve distal değerleri arasında anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.05$).

KGF proksimal ve distal değerleri ile ALS hastalık süresi arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi. ($p>0.05$)

Tablo 5.3. Hasta ve kontrol gruplarının KGF değerleri

Hasta No	Proksimal	Distal
1.	3	2
2.	2	1
3.	3	1
4.	2	1
5.	1	1
6.	2	2
7.	4	2
8.	1	1
9.	1	1
10.	3	1
Ortanca (min-max)	2 (1-4)	1 (1-2)
Kontrol grubu	Proksimal	Distal
1.	3	2
2.	3	1
3.	2	1
4.	2	1
5.	2	2
6.	1	3
7.	3	2
8.	1	2
9.	3	4
10.	2	4
11.	1	1

12.	1	2
13.	2	2
14.	2	1
15.	1	2
16.	1	2
Ortanca(min-max)	2 (1-3)	2 (1-4)

5.3 EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Epiderminin, ter bezleri ve kıl kökündeki epidermal kökenli hücrelerin EGF ile boyanma yoğunluğuna göre 1 ile 3 arasında puan verildi. EGF proksimal değerleri ALS hastalarında 1 ile 3 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 2 idi. Kontrol grubunda EGF proksimal değerleri 1 ile 2 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 1 idi. Gruplar arasında EGF proksimal değerleri açısından ALS lehine anlamlı farklılık izlendi ($p:0.047$). (Bkz. Tablo 5.4 ve Resim 5.1)

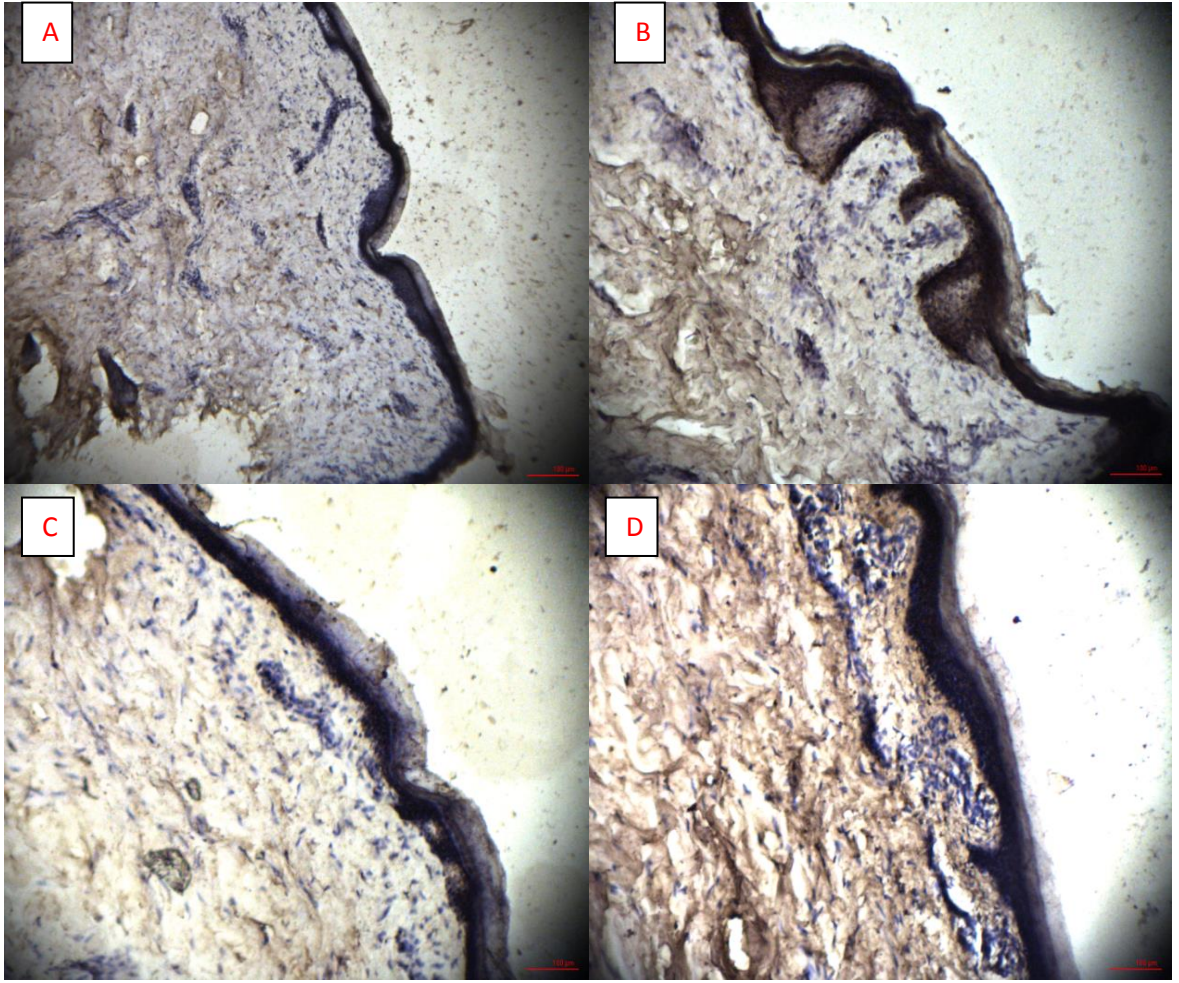
EGF distal değerleri ALS hastalarında 1 ile 3 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 1,5 idi. Kontrol grubunda EGF distal değerleri 1 ile 3 arasında değişiyordu ve ortanca değeri 1 idi. EGF distal değerleri açısından ALS ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.05$). (Bkz. Tablo 5.4 ve Resim 5.1) EGF proksimal ve distal değerleri ile ALS hastalık süresi arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi ($p>0.05$).

Grup ayrımı yapılmaksızın bakıldığında EGF proksimal ve distal değerleri arasında proksimal lehine anlamlı farklılık izlendi ($p:0.02$).

KGF proksimal ile EGF proksimal arasında ve KGF distal ile EGF distal arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi ($p>0.05$). EGF ve KGF proksimal-distal değerleri ile hasta yaşları arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi ($p>0.05$).

Tablo 5.4. Hasta ve kontrol gruplarının EGF değerleri

Hasta No	Proksimal	Distal
1.	3	3
2.	1	1
3.	3	2
4.	3	2
5.	1	1
6.	2	1
7.	1	1
8.	2	3
9.	2	2
10.	1	1
Ortanca (min-max)	2 (1-3)	1.5 (1-3)
Kontrol grubu	Proksimal	Distal
1.	1	1
2.	1	1
3.	1	1
4.	1	2
5.	1	2
6.	1	2
7.	2	1
8.	1	1
9.	1	1
10.	1	1
11.	1	2
12.	1	1
13.	1	1
14.	1	1
15.	2	3
16.	2	2
Ortanca (min-max)	1 (1-2)	1 (1-3)



Resim 5.1. ALS ve kontrol grubunda EGF immünohistokimyasal boyama örnekleri.

A: 2 nolu ALS hastanın distal bölgesinden alınan biyopside EGF boyanması (boyanma: 1 puan); **B:** 6 nolu ALS hastanın proksimal bölgesinden alınan biyopside EGF boyanması (boyanma: 2 puan) **C:** 8 nolu kontrol hastanın proksimal bölgesinden alınan biyopside EGF boyanması (boyanma: 1 puan); **D:** 4 nolu ALS hastanın proksimal bölgesinden alınan biyopside EGF boyanması (boyanma: 3 puan), (Tüm resimler x20'lik büyütmede çekilmiştir.)

5.4 İNTRAEPİDERMAL SİNİR LİFLERİ YOĞUNLUĞUNUN (IENFD) DEĞERLENDİRİLMESİ

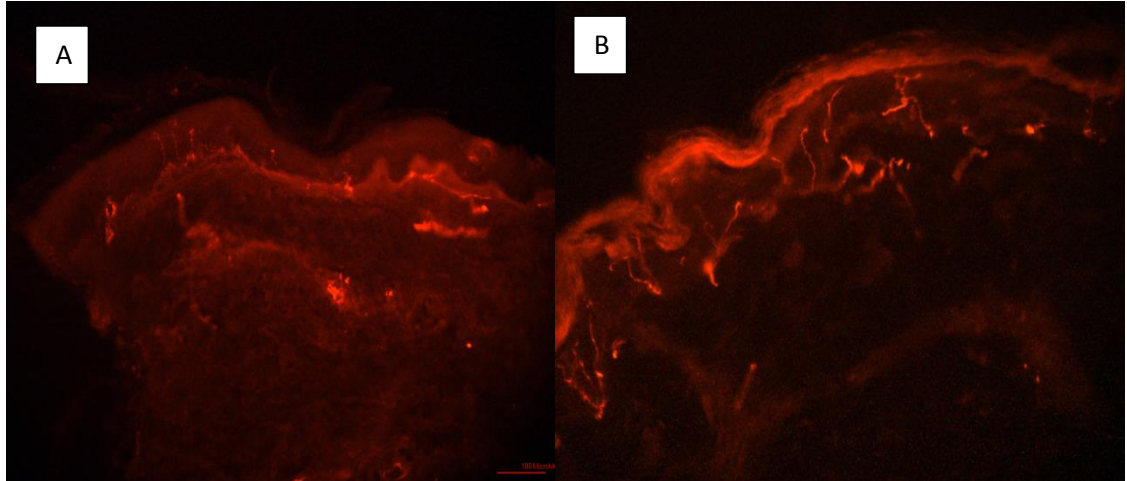
Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında ince lif kaybının varlığı daha önce tanımlanmıştır.¹¹⁶ Biz de çalışmamızda ALS'li hastaların deri biyopsilerinde PGP 9.5'a karşı geliştirilmiş antikora intraepidermal sinir lifi yoğunluğunu (IENFD) değerlendirdik (yöntem için bkz. sayfa 39).

IENFD proksimal değerleri ALS hastalarında 1.6 lif/mm ile 8.6 lif/mm arasında değişiyordu ve ortanca değeri 4.7 idi. (Bkz. Tablo 5.5) IENFD distal

değerleri ALS hastalarında 0.7 lif/mm ile 4.6 lif/mm arasında değişiyordu ve ortanca değeri 3 idi. (Bkz. Tablo 5.5) Bu bulgular, ALS hastalarında yaş ve cinsiyetlerine göre tanımlanmış normal değerlere göre²³⁵ ince lif sayısında azalma olduğunu göstermiştir. (Bkz. Resim 5.2)

Tablo 5.5. ALS hastalarının IENFD değerleri

Hasta No	Proksimal	Distal
1.	1.6	0.7
2.	4.2	1.8
3.	5.9	3.7
4.	3.4	3.0
5.	8.6	4.6
6.	5.3	3.2
7.	6.2	3.8
8.	4.7	1.7
9.	4.7	3.0
10.	3.4	1.6
Ortanca (min-max)	4.7 (1.6-8.6)	3 (0.7-4.6)



Resim 5.2. ALS hastası ve normal bireyde intraepidermal sinir liflerinin gösterimi

A: ALS hastası, **B:** normal birey (ALS hastasında intraepidermal sinir liflerinin azaldığına dikkat ediniz.)

6-TARTIŞMA

Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) beyin ve spinal kordun üst ve alt motor nöronlarında dejenerasyonuna bağlı gelişen ve kas güçsüzlüğü ile karakterize ilerleyici bir hastalıktır. Üst motor nöron tutuluşu sonucu (ekstremitelerde katılık, hiperrefleksi, emosyonel labilite) ve alt motor nöron tutuluşu sonucu (kol ve bacaklarda asimetrik güçsüzlük, kaslarda erime, kramplar, kaslarda seyirme, yorulma, konuşma ve yutma güçlüğü) oluşan bulguların çeşitli birleşimleri klinik tabloyu belirlemektedir. Hastalığın % 90'ı sporadik, % 10'u familyal olarak ortaya çıkar. Klinik bulgular genellikle 50-60 yaşlarında başlar. Ailesel olgularda hastalık başlangıç yaşı daha erkendir. Erkek/kadın oranı 1.5-1.8'dir. İnsidans 1.5-2.7/100.000/yıl, prevalans ise 2.7-7.4/100000/yıl olarak bilinmektedir. ALS ve diğer motor nöron hastalıklarının etiyojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte bazı genetik nedenler üzerinde durulmaktadır. SOD, alsin, senataksin, dinaktin, TDP-43 mutasyonları bilinmekle beraber bunlar içerisinde en önemlisi SOD mutasyonudur. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı çevresel faktörlerin de genetik faktörlerle kombine olarak motor nöron hastalığına neden olabileceği üzerinde durulmaktadır. Ek olarak glutamat eksitotoksitesisi, viral enfeksiyonlar, otoimmün olaylar, kurşun, civa ve alüminyum gibi ağır metal intoksikasyonlarının rol oynadığı da düşünülmektedir.

Yatağa ya da tekerlekli sandalyeye bağımlı kişilerde, vücut ağırlığının oluşturduğu basınç nedeniyle yumuşak dokulara baskı olur. Dışardan etkiyen basınç, derinin venül basıncını (12 mmHg) geçecek olursa, o bölgede mikropiller basınç artar ve doku dışına sıvı kaçıışı olmaya başlar.¹⁹⁸ Artan basınçla birlikte o bölgenin mikrolenfatik dolaşımı da bozulur ve sıvı kaçışına katkıda bulunur. Sıvı kaçıışı ile birlikte ödem, anaerobik ürünlerin birikimi, otoliz ve doku hasarı ortaya çıkar. ¹⁹⁸ Bu hasar belli bir seviyeye ulaştığında yatak yarası oluşur. Yatak yaralarının oluşmasında ileri yaş, yetersiz beslenme, yetersiz sıvı alımı, obezite, yüksek tansiyon, diyabetik duyu kaybı, idrar inkontinansı gibi faktörler de rol oynamaktadır. Sürtünmenin fazla olup

cildin gergin kalması, vücut sıcaklığının yüksek olması ve cildin ıslak bırakılması yaraların oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Yatak yarası, immobil hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Sırt üstü yatan hastalarda yer ile en sık temas eden bölgeler oksipital bölge, skapula-omuz bölgesi, sakrokoksigeal-gluteal bölge ve topuktur. Oturma ve yan yatma pozisyonlarında da gluteal bölge yer ile temas halindedir. Yatak yarasının %96'sı alt vücut yarısında ortaya çıkmaktadır. En sık lokalizasyonlar sakral-koksigeal-gluteal bölge, büyük trokanter, iskial tuberositas'dır.²⁰¹ Diğer sık görülen alanlar lateral malleol, fibula başı ve topuk bölgesidir. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında da benzer şekilde yatağa bağımlı hale gelmektedir. Fakat ALS immobiliteye neden olan en sık nörodejeneratif hastalıklardan biri olmasına rağmen yatak yarası bu hastalarda sık görülmemektedir.¹⁸¹ Nedeni ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış olmakla birlikte hala araştırmaya açık bir konudur. Bu durumun hastalık patogenezi ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin de önemli rol oynadığı bilinmektedir. Epidermal büyüme faktörü 53 aminoasitten oluşur ve ilk defa 1962 yılında fare submaksiller bezinden elde edilmiştir.²³⁶ Keratinositlerde, dermal fibroblastlarda EGF'nin reseptörleri bulunmaktadır ve EGF'ye yanıt olarak keratinosit çoğalması-migrasyonu, fibroblast çoğalması, fibroblast motilite artışı, neovaskülarizasyon ve kollajen sentezinde artış izlenmektedir.²³⁷ Epidermal büyüme faktörü (EGF), prolil hidroksilaz aktivitesini arttırarak kollajen sentezinin artmasına katkıda bulunmaktadır.²³⁸ Keratinosit büyüme faktörü, monomerik, 28 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Diğer adıyla FGF-7 olarak da bilinir.²²⁷ Keratinosit büyüme faktörünün bağlandığı FGFR2-IIIb epitelyal hücrelerde, keratinositlerde ve kıl foliküllerinde yoğun olarak eksprese edilmektedir.²²⁸ Yara oluşması durumunda bu hücrelerde KGF ekspresyonu artmakta ve keratinositlerin yara bölgesine migrasyonu hızlanmaktadır.²³³ Keratinosit büyüme faktörü mitojenik, anjiyojenik ve kemotaktik özellikler içermektedir.²³⁹ Yara bölgesine gelen nötrofil ve makrofajlar tarafından üretilen interlökin-1, KGF üretimi için potent bir stimülatördür.²⁴⁰ Keratinosit büyüme faktörü, keratinositlerde

integrin sentezini artırır ve ekstraselüler matrikse tutunmalarını kolaylaştırır.²⁴¹

Bu çalışmada, ALS hastalarında yatak yarasının oluşması veya önlenmesinde epidermal büyüme faktörü (EGF) ve keratinosit büyüme faktörünün (KGF) rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla ALS ve kontrol grubundan proksimal (gluteus maksimus kasının üzeri) ve distalden (lateral malleolün 10 cm proksimali) deri biyopsileri yaptık. Proksimal bölgeyi (gluteus maksimus kası üzerinden) bası yarasının sık görüldüğü bölge olması nedeni ile seçtik.

Daha önce ALS'deki yatak yarası ile ilgili yapılan çalışmalarda gluteal bölgeden deri biyopsisi yapılmamış olup, ilk defa bizim çalışmamızda bu bölge örneklenmiştir. Çalışmamızda ALS grubu ve kontrol grubu arasında ve bölgeler arasında KGF ekspresyonu açısından anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). ALS hastalarında EGF ekspresyonunun proksimal deri bölgelerinde kontrol grubuna göre artmış olduğu gözlendi ($p<0.05$). Buna ek olarak grup ayrımı yapılmaksızın bakıldığında EGF proksimal değerleri EGF distal değerlerine göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.05$). Buna karşın EGF distal değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Proksimal ile distal derideki bu ekspresyon farkını açıklayacak bilgi henüz mevcut olmamakla birlikte, derinin yapısal açıdan bölgesel farklılık göstermesi, travmalara ve dış etkenlere maruziyetin bölgesel olarak farklı olması buna sebep olabilir. Ayrıca epidermal büyüme faktörü birkaç mekanizma ile yatak yarası gelişimini önleyebilir: Bunlardan ilki matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9), kollajenin maturasyonunda ve şekillenmesinde rol oynayan bir faktördür. En önemli etki ettiği kollajenler tip 1 ve 4 kollajenlerdir. Matriks metalloproteinaz 9'un ekspresyonunun artmasında çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri rol oynamakla birlikte IL-1 ile TNF- α 'nın en önemli etmenler olduğu ifade edilmektedir.²⁴² Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında mikroglyal aktivasyon olduğu ve bu aktivasyonda IL-1 ile TNF- α 'nın rol aldığı bilinmektedir.²⁴³ Santral sinir sisteminde artan bu sitokinlerin dolaylı olarak deride de artış göstereceği ve ALS hastalarının derilerinde MMP-9 seviyesini arttıracacağı ifade edilmektedir.²⁴³ Amiyotrofik lateral skleroz

hastalarının deri biyopsilerinde, BOS ve serumlarında matriks metalloproteinaz 9'un (MMP-9) kontrollere göre arttığı gösterilmiştir.^{185, 186} Amiyotrofik lateral skleroz hastalarındaki kollajenin fragmente ve ince fibrilli olmasının nedenlerinden biri MMP-9 miktarındaki artış olabilir. Epidermal büyüme faktörünün MMP-9 seviyesini arttırdığı ve EGFR inhibitörleri ile MMP-9 düzeyinin azaldığı bilinmektedir.²⁴⁴ Dolayısıyla ALS hastalarının deri biyopsisindeki MMP-9 artışı ile bizim çalışmamızdaki EGF artışı birbirini destekler niteliktedir. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında serum ve derideki MMP-9 artışının orijini bilinmemekle birlikte, periferik sinir ve/veya denerve kasların buna neden olabileceği de teoriler arasındadır.²⁴⁵ Aynı şekilde EGF'deki artışın sebeplerinden biri periferik sinir ve/veya kaslardaki değişiklikler olabilir. Fakat bu teoriyi destekler veya çürütür herhangi bir çalışma mevcut değildir.

Epidermal büyüme faktörünün bir diğer etkisi de IL-6 sentezini arttırmasıdır.²⁴⁶ IL-6, konak savunmasında rol oynayan önemli bir sitokindir. Aynı zamanda yara iyileşmesinde de anahtar görevi görür.¹⁸⁹ Epiderminin stratum korneum tabakasının kalınlığını arttırarak mikroorganizmalara karşı dayanıklılığını arttırır, yara iyileşmesinde düzeyi artar.¹⁸⁹ Yapılan bir çalışmada ALS hastalarında kontrollere göre epidermis ve dermis kan damarlarında IL-6'nın daha fazla olduğu gösterilmiş ve aynı zamanda hastalık süresi ile pozitif korele olduğu görülmüştür.¹⁹⁰ Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının deri biyopsilerindeki EGF artışı, IL-6 artışına yol açan nedenlerden biri olabilir.

Epidermal büyüme faktörü, kemik iliğinde, osteoblast prekürsörlerinde, inflamasyon alanında vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), platelet derive büyüme faktörü (PDGF), IL-1, IL-6, IL-8 sentezinin artışına neden olur.²⁴⁶ Epidermal büyüme faktörü, derinin immün sisteminin fizyolojik görevlerini yerine getirmesinde önemli olup, yara iyileşmesinde inflamatuvar kaskadın aktivasyonuna yol açmaktadır.

Suzuki ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada¹⁹⁶, 15 ALS hastası (yaş ortalaması 59.7 ± 9.2 yıl) ve 15 kontrol hastasının (yaş ortalaması 59.3 ± 9.2 yıl) sol biceps kası üzerinden alınan deri biyopsisi örnekleri VEGF'e karşı

antikorla boyanarak dansitometrik analizleri yapılmıştır. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının epidermisinde dansitometrik değerlerin (3.30 ± 0.94) kontrol hastalarına göre (1.37 ± 0.23) anlamlı yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.001$). Aynı zamanda ALS hastalarında hastalık süresi ile epidermis dansitometrik değerleri arasında korelasyon görülmüştür. Vasküler endotelial büyüme faktörünün ALS hastalarının deri biyopsilerinde anlamlı şekilde artış göstermesi, bizim çalışmamızdaki EGF-ALS ilişkisi ile uyumludur. Nitekim EGF'nin VEGF düzeyini arttırdığı bilinmektedir.²⁴⁶

Hepatosit büyüme faktörü (HGF), ALS modeli rodentlerde motor nöron dejenerasyonunu azalttığı ve motor nöron yaşam süresini uzattığı görülmüştür.²⁴⁷ Nomura ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada¹⁹³ 19 ALS hastası (yaş ortalaması 60.8 ± 8.5) ve 16 kontrol (yaş ortalaması 59.3 ± 9.2) hastasından sol biceps kası üzerinden alınan deri biyopsileri HGF'ye karşı antikorla boyanmıştır. Hepatosit büyüme faktörünün çeşitli alanlardaki (epidermis hücre nükleusları, sitoplazmaları) dansitometrik analizleri yapılmıştır. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının epidermis hücre nükleus ve sitoplazmalarındaki HGF immünoreaktivite değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının deri biyopsilerindeki HGF ekspresyonunun artışının bir nedeni de EGF ekspresyonunun kontrollere göre daha fazla olması olabilir.

Epidermal büyüme faktörü deri dışında beyin, spinal kord, endokrin hücreler ve gastrointestinal sistemde de eksprese edilmektedir.²⁴⁸ Nöron apoptozunu önlediği, glutamat eksitotoksitesine karşı koruyucu olduğu ve sıçanlarda astrosit çoğalmasını indüklediği bilinmektedir.^{249, 250} Aynı zamanda remiyelinizasyonu da aktive etmektedir. Ratlarda yapılan çalışmalarda EGF'nin dopaminerjik nöron yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir.²⁵¹

Epidermal büyüme faktörü (EGF), kollajen dansitesini ve fibril kalınlığını arttıran bir faktördür. Bu nedenle ALS hastalarında EGF miktarının kontrol grubuna göre farklı olmasının nedeni kollajendeki değişikliklere sekonder EGF miktarındaki artış olabilir. ALS hastalarında kollajen dansitesi ve fibril kalınlığı azalmaktadır. ALS hastalarında kollajendeki bu değişiklikler kontrollere göre daha fazladır.¹⁸³ Bunun ALS patogenezi ile ilişkisi tam olarak

bilinmemektedir. Bir çalışmada ALS hastalarında kontrollere göre dermisteki kollajen liflerinin daha küçük çapta olduğu ve amorf madde ile kollajen liflerinin birbirinden ayrıldığı ve fragmente olduğu izlenmiştir.¹⁸³ Aynı zamanda dermiste kollajen lifleri arasında amorf granüler materyal ve mukopolisakkarit birikiminin kontrollere göre fazla olduğu görülmüştür.¹⁸³ Yine aynı çalışmada kollajen lifleri ile ilişkili aminoasitlerin (hidroksiprolin, hidroksilizin ve glisin) ve birim doku başına düşen kollajen miktarının kontrollere göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir.¹⁸³ ALS hastalarında hidroksiprolin düzeyi ve kollajen lif çapı ile hastalık süresi arasında negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir.¹⁸³ ALS hastalarındaki kollajende meydana gelen bu değişiklikler ile motor nöron fonksiyonları arasında bağlantı olabileceği düşünülmüştür.¹⁸³ Tip 4 kollajen, bazal membranda bulunan amorf yapıda bir kollajen olup derinin yapısal stabilitesini sağlar. ALS hastalarında deride ve serumda tip 4 kollajen miktarının azaldığı ve hastalık süresi ile negatif korele olduğu görülmüştür.¹⁸⁴

Yaşa bağlı makula dejenerasyonunda oksidatif stresin rolü üzerinde durulmaktadır. Epidermal büyüme faktörü uygulanması ile retinal hücrelerin diferansiyasyonunda ve çoğalmasında artma, oksidatif strese bağlı hücre ölümünde azalma olduğu görülmüştür. Amiyotrofik lateral skleroz patogenezinde de oksidatif stresin rolü olduğu bilinmektedir. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının BOS'unda EGF düzeyinin kontrollere göre azaldığı bir çalışmada gösterilmiştir.²²⁶ Epidermal büyüme faktörü, henüz bilinmeyen bir nedenle ALS hastalarının BOS'unda azalıyor ve buna sekonder olarak oksidatif streste artma ve nöron ölümünde hızlanma tetikleniyor olabilir. Bizim çalışmamızda ise deri biyopsisinde EGF miktarının ALS hastalarında kontrollere göre daha fazla olduğu görüldü. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında EGF düzeyinin BOS'da azalırken deride artmasının sebebi bilinmemektedir. Bu çalışma ile bizim çalışmamız birlikte düşünüldüğünde, ALS hastalarında EGF üretim/yıkım oranının periferde santrale göre arttığı sonucu çıkarılabilir. Bu da hastalığın patogenezinde önemli bir faktör olabilir. Amiyotrofik lateral skleroz hastaları ve kontrollerden

BOS-serum ile deri biyopsilerinde EGF'nin aynı anda incelenmesi ile daha değerli bilgiler elde edileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir diğer büyüme faktörü olan keratinosit büyüme faktörüdür (KGF). Amiyotrofik lateral skleroz hastalarının beyin omurilik sıvısında, serumda ve deri biyopsilerinde KGF ile ilgili çalışma yapılmamıştır. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında bası yarasının az olmasına KGF'nin katkısı olabilir. Çalışmamızda ALS hastaları ve kontrol grubu arasında ve bölgeler arasında KGF ekspresyonu açısından anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, KGF uygulanması ile radyoterapi ve kemoterapiye sekonder gastrointestinal sistem hasarının azaldığı, siklofosfamid tedavisi öncesi mesaneye KGF uygulanması ile hemorajik sistit oranının azaldığı ve deneysel modellerde akciğer hasarının önlendiği gösterilmiştir.²⁵² Buradan hareketle KGF'nin epitelyal bölgelerde koruyucu olduğu söylenebilir. Keratinosit büyüme faktörü, keratinositlerde oksidan ürünleri parçalayan enzimleri (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz) indükleyerek antioksidan etki göstermektedir.²⁵³ Aynı zamanda DNA onarım enzimlerini de aktive ederek çevresel faktörlerin genetik yolaklar üzerindeki zararlı etkisini azaltmaktadır.²⁵³ Amiyotrofik lateral skleroz patogenezinde serbest oksijen radikallerinin beyin omurilik sıvısında artması ve glutamat eksitotoksitesinin rolü üzerinde durulmaktadır.^{42, 45} Kontrol grubunda KGF açısından en yüksek puanı alanlar multipl skleroz (MS) ve miyastenia gravis (MG) hastaları idi. Bu hastalıklar bilindiği üzere otoimmün hastalıklar olup serumlarında otoantikorlar ve immün sistem elemanları normale göre daha fazla bulunmaktadır. KGF'nin Th2, Treg, Foxp3, IL-13 gibi antiinflamatuvar elemanları arttırdığı ve CD8'i azalttığı bilinmektedir.²⁵⁴ Aynı zamanda farelerde yapılan deneylerde kemik iliği transplantasyonu öncesinde KGF uygulanması ile graft versus host hastalığı (GVHH) oluşumunu da azalttığı gösterilmiştir.²⁵⁵ Multipl skleroz ve miyastenia gravis hastalarında kompensatuvar olarak serumda KGF artacağı ve buna sekonder olarak da deride artış gösterebileceği ihtimaller arasındadır. Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında da inflamatuvar sistemin aktive olduğuna dair çalışmalar mevcut olup, BOS'da COX-2, TNF-alfa, monosit

kemotaktik proteinin (MCP-1) arttığı gösterilmiştir.^{67, 68} Aynı zamanda ALS hastalarının serumlarında İL-8, MCP-1, eotaksin gibi proinflamatuvar maddelerin de arttığı gösterilmiştir.²⁵⁶ Çalışmamızda ALS grubu ile kontrol grubu arasında KGF ekspresyonu açısından anlamlı farklılık görülmemesinin nedeni, hasta-kontrol sayısının az olması, otoimmün prosesi olan hastaların kontrol grubunda yer alması olarak söylenebilir.

Başarılı yara iyileşmesinde sadece yukarıda bahsi geçen moleküllerin değil aynı zamanda hastanın başta diabetes mellitus olmak üzere komorbid hastalıklarının ve nütrisyonel durumunun da rolü büyüktür. Çalışmamızda hasta grubunda 4 hastada ve kontrol grubunda 1 hastada diyabetes mellitus vardı. Bu hastalarda EGF ve KGF boyanma derecesi açısından farklılık gözlenmedi. Hasta ve kontrol grubunda 1'er hastada sigara kullanımı mevcuttu ve boyanma derecesi açısından farklılık izlenmedi. Diyabetes mellitusu olan ve sigara kullanan hasta/kontrol sayısı yetersiz olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılamadı.

Proteinler, karbonhidratlar, vitaminler ve mineraller tarafından sağlanan yeterli nütrisyonel depoların varlığı yara iyileşmesini olumlu etkilerken malnütrisyon yara iyileşmesini geciktirmektedir. Protein eksikliğinde yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı uzar, fibroplazi ve remodeling evresi olumsuz etkilenir.²⁵⁷ Karbonhidratlar ve yağlar hücrenin enerji kaynağı olarak yara iyileşmesinde rol alırlar. Ayrıca hücre sentezinde özellikle hücre membranı sentezinde yağların rolü büyüktür. Yağların ve yağda çözünen vitaminlerin kanda taşınmasında ise proteinler gereklidir.²⁵⁷ Yara iyileşmesinde fosfor, çinko, bakır ve magnezyum da gereklidir. Eksikliklerinde kollajen sentezi olumsuz etkilenir. Vitamin A, B, C, D ve E yara iyileşmesinde önemlidir.²⁵⁸ A, D, E vitaminlerinin, çinko ve bakırın kanda taşınmasında da albümin rol oynar. Albumin eksikliğinde doğrudan ve dolaylı olarak yara iyileşmesi olumsuz etkilenmektedir. Malnütrisyonun erken döneminde en iyi gösterge transtiretin olmakla birlikte özellikle 20. günden itibaren albümin de azalmaktadır.²⁵⁹ Her ne kadar ALS hastalarında oral alım bozukluğu görülse de bizim çalışmamızda ALS ve kontrol grupları arasında albümin değerleri açısından anlamlı farklılık izlenmedi.

İntraepidermal sinir lifi yoğunluğu incelemesinde, kontrol grubu sonuçlarının farklı hastalıkların içinde olması ve bu grupların bir kısmında da Parkinson gibi daha önce ince lif kaybının gösterilmiş olması²⁶⁰ nedeniyle kontrol grubunda intraepidermal sinir lifi yoğunluğu (IENFD) bakılmamıştır. Buna ek olarak European Federation of Neurological Societies (EFNS) klavuzunda normal değerler verilmiş olduğu için ALS hastalarının IENFD değerlerini bu değerlerle karşılaştırdık. ALS hastalarında proksimal ve distal bölgelerden alınan örneklerde IENFD değerlerinde azalma saptadık. Weis ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ALS hastalarında intraepidermal ince sinir liflerinin kontrollere göre azaldığı gösterilmiştir.¹¹⁶ Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da bunu destekler niteliktedir.

Çalışmamızın kısıtlılıklarını kısaca özetlersek;

- Deri biyopsisi invazif bir işlem olduğu için çalışmayı kabul eden hasta ve kontrol sayısının az olması ve yatak yarası olan hastalardan biyopsi alınamaması en önemli sorun olarak ifade edilebilir.

- Yara iyileşmesinde etkili olan IL-1, IL-6, matriks metalloproteinaz, büyüme faktörleri gibi diğer faktörlerin çalışılmaması nedeni ile verilere karşılaştırmalı olarak bakılamamıştır.

- Teknik nedenlerden dolayı, epidermal büyüme faktörü ve keratinosit büyüme faktörünün epidermal ve dermal ekspresyonlarının optik dansitometrilere bakılamamıştır.

7-SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda ALS hastalarının gluteal maksimus kası üzerinden alınan deri (proksimal) biyopsilerde EGF ekspresyonunun kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görüldü. Her iki grupta da proksimalden alınan örneklerde EGF ekspresyonunun distalden alınan örneklerle göre daha fazla olduğu görüldü. Bu çalışmada bulgular, daha önce diğer büyüme faktörlerine benzer şekilde EGF'nin de ALS hastalarında yatak yarasının az görülmesinde etkili bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. Daha fazla hasta sayısı ile yatak yarası olan hastaların da inceleneği yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
2. Çalışmamızda KGF ekspresyonu açısından ALS ve hasta grubu arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Bunun da daha büyük hasta ve kontrol grubu ile teyit edilmesi gerekmektedir.
3. ALS hastalarında yaş ve cinsiyetlerine göre tanımlanmış normal değerlere göre ince lif sayısında azalma olduğunu göstermiştir.
4. Aynı anda BOS, serum ve deri gibi farklı dokularda EGF ve KGF ekspresyonlarının çalışılarak karşılaştırılması daha faydalı bilgiler verecektir.
5. Epidermal büyüme faktörü knock-out yapılmış fare modelleri gibi fonksiyonel çalışmaların yapılması ile EGF'nin yatak yarasının önlenmesinde bir tedavi seçeneği olup olamayacağı hakkında fikir verecektir.

KAYNAKLAR

1. Rosen AD. Amyotrophic lateral sclerosis. Clinical features and prognosis. *Arch Neurol.* 1978;35:638-642
2. Giess R, Beck M, Goetz R, Nitsch RM, Toyka KV, Sendtner M. Potential role of lif as a modifier gene in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 2000;54:1003-1005
3. Rowland LP. How amyotrophic lateral sclerosis got its name: The clinical-pathologic genius of jean-martin charcot. *Arch Neurol.* 2001;58:512-515
4. Goetz CG, Bonduelle M. Charcot as therapeutic interventionist and treating neurologist. *Neurology.* 1995;45:2102-2106
5. Goetz CG. Charcot at the salpetriere: Ambulatory automatism. *Neurology.* 1987;37:1084-1088
6. Yoshida S, Mulder DW, Kurland LT, Chu CP, Okazaki H. Follow-up study on amyotrophic lateral sclerosis in rochester, minn., 1925 through 1984. *Neuroepidemiology.* 1986;5:61-70
7. Nelson LM, Matkin C, Longstreth WT, Jr., McGuire V. Population-based case-control study of amyotrophic lateral sclerosis in western washington state. ii. Diet. *Am J Epidemiol.* 2000;151:164-173
8. Armon C. An evidence-based medicine approach to the evaluation of the role of exogenous risk factors in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology.* 2003;22:217-228
9. Bowling AC, Schulz JB, Brown RH, Jr., Beal MF. Superoxide dismutase activity, oxidative damage, and mitochondrial energy metabolism in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem.* 1993;61:2322-2325
10. Mulder DW, Kurland LT, Offord KP, Beard CM. Familial adult motor neuron disease: Amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 1986;36:511-517
11. Gros-Louis F, Gaspar C, Rouleau GA. Genetics of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1762:956-972
12. Haverkamp LJ, Appel V, Appel SH. Natural history of amyotrophic lateral sclerosis in a database population. Validation of a scoring system and a model for survival prediction. *Brain.* 1995;118 (Pt 3):707-719

13. Isaacs JD, Dean AF, Shaw CE, Al-Chalabi A, Mills KR, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis with sensory neuropathy: Part of a multisystem disorder? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007;78:750-753
14. Gouveia LO, de Carvalho M. Young-onset sporadic amyotrophic lateral sclerosis: A distinct nosological entity? *Amyotroph Lateral Scler*. 2007;8:323-327
15. Worms PM. The epidemiology of motor neuron diseases: A review of recent studies. *J Neurol Sci*. 2001;191:3-9
16. Guidetti D, Bondavalli M, Sabadini R, Marcello N, Vinceti M, Cavalletti S, et al. Epidemiological survey of amyotrophic lateral sclerosis in the province of reggio emilia, italy: Influence of environmental exposure to lead. *Neuroepidemiology*. 1996;15:301-312
17. Traynor BJ, Codd MB, Corr B, Forde C, Frost E, Hardiman O. Incidence and prevalence of als in ireland, 1995-1997: A population-based study. *Neurology*. 1999;52:504-509
18. Chancellor AM, Hendry A, Caird FI, Warlow CP, Weir AI. Motor neuron disease: A disease of old age. *Scott Med J*. 1993;38:178-182
19. Johnston CA, Stanton BR, Turner MR, Gray R, Blunt AH, Butt D, et al. Amyotrophic lateral sclerosis in an urban setting: A population based study of inner city london. *J Neurol*. 2006;253:1642-1643
20. Sejvar JJ, Holman RC, Bresee JS, Kochanek KD, Schonberger LB. Amyotrophic lateral sclerosis mortality in the united states, 1979-2001. *Neuroepidemiology*. 2005;25:144-152
21. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 2011;377:942-955
22. Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, Chio A, Mitchell D, Swingler RJ, et al. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in europe. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81:385-390
23. Steele JC, McGeer PL. The als/pdc syndrome of guam and the cycad hypothesis. *Neurology*. 2008;70:1984-1990
24. De Vos KJ, Chapman AL, Tennant ME, Manser C, Tudor EL, Lau KF, et al. Familial amyotrophic lateral sclerosis-linked sod1 mutants perturb fast axonal transport to reduce axonal mitochondria content. *Hum Mol Genet*. 2007;16:2720-2728
25. Kuzuhara S. [muro disease: Amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex in kii peninsula of japan]. *Brain Nerve*. 2011;63:119-129

26. Shaw PJ. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76:1046-1057
27. Sutedja NA, Veldink JH, Fischer K, Kromhout H, Wokke JH, Huisman MH, et al. Lifetime occupation, education, smoking, and risk of als. *Neurology*. 2007;69:1508-1514
28. Fang F, Bellocco R, Hernan MA, Ye W. Smoking, snuff dipping and the risk of amyotrophic lateral sclerosis--a prospective cohort study. *Neuroepidemiology*. 2006;27:217-221
29. Cookson MR, Thatcher NM, Ince PG, Shaw PJ. Selective loss of neurofilament proteins after exposure of differentiated human imr-32 neuroblastoma cells to oxidative stress. *Brain Res*. 1996;738:162-166
30. Chen YZ, Bennett CL, Huynh HM, Blair IP, Puls I, Irobi J, et al. DNA/rna helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (als4). *Am J Hum Genet*. 2004;74:1128-1135
31. Greenway MJ, Andersen PM, Russ C, Ennis S, Cashman S, Donaghy C, et al. Ang mutations segregate with familial and 'sporadic' amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet*. 2006;38:411-413
32. Yang Y, Hentati A, Deng HX, Dabbagh O, Sasaki T, Hirano M, et al. The gene encoding alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet*. 2001;29:160-165
33. Puls I, Jonnakuty C, LaMonte BH, Holzbaur EL, Tokito M, Mann E, et al. Mutant dynactin in motor neuron disease. *Nat Genet*. 2003;33:455-456
34. Yokoseki A, Shiga A, Tan CF, Tagawa A, Kaneko H, Koyama A, et al. Tdp-43 mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 2008;63:538-542
35. Figlewicz DA, Krizus A, Martinoli MG, Meininger V, Dib M, Rouleau GA, et al. Variants of the heavy neurofilament subunit are associated with the development of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet*. 1994;3:1757-1761
36. Tomkins J, Usher P, Slade JY, Ince PG, Curtis A, Bushby K, et al. Novel insertion in the ksp region of the neurofilament heavy gene in amyotrophic lateral sclerosis (als). *Neuroreport*. 1998;9:3967-3970
37. al-Chalabi A, Enayat ZE, Bakker MC, Sham PC, Ball DM, Shaw CE, et al. Association of apolipoprotein e epsilon 4 allele with bulbar-onset motor neuron disease. *Lancet*. 1996;347:159-160

38. Meyer T, Fromm A, Munch C, Schwalenstocker B, Fray AE, Ince PG, et al. The rna of the glutamate transporter eaat2 is variably spliced in amyotrophic lateral sclerosis and normal individuals. *J Neurol Sci.* 1999;170:45-50
39. Cote F, Collard JF, Julien JP. Progressive neuronopathy in transgenic mice expressing the human neurofilament heavy gene: A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Cell.* 1993;73:35-46
40. Rothstein JD, Martin LJ, Kuncl RW. Decreased glutamate transport by the brain and spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med.* 1992;326:1464-1468
41. Camu W, Khoris J, Moulard B, Salachas F, Briolotti V, Rouleau GA, et al. Genetics of familial als and consequences for diagnosis. French als research group. *J Neurol Sci.* 1999;165 Suppl 1:S21-26
42. Pasinelli P, Brown RH. Molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis: Insights from genetics. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7:710-723
43. Rothstein JD, Tsai G, Kuncl RW, Clawson L, Cornblath DR, Drachman DB, et al. Abnormal excitatory amino acid metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1990;28:18-25
44. Rothstein JD, Van Kammen M, Levey AI, Martin LJ, Kuncl RW. Selective loss of glial glutamate transporter glt-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1995;38:73-84
45. Ferrante RJ, Browne SE, Shinobu LA, Bowling AC, Baik MJ, MacGarvey U, et al. Evidence of increased oxidative damage in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem.* 1997;69:2064-2074
46. Smith RG, Henry YK, Mattson MP, Appel SH. Presence of 4-hydroxynonenal in cerebrospinal fluid of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1998;44:696-699
47. Sasaki S, Iwata M. Impairment of fast axonal transport in the proximal axons of anterior horn neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 1996;47:535-540
48. Aguirre T, Van Den Bosch L, Goetschalckx K, Tilkin P, Mathijs G, Cassiman JJ, et al. Increased sensitivity of fibroblasts from amyotrophic lateral sclerosis patients to oxidative stress. *Ann Neurol.* 1998;43:452-457
49. Tohgi H, Abe T, Yamazaki K, Murata T, Ishizaki E, Isobe C. Remarkable increase in cerebrospinal fluid 3-nitrotyrosine in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1999;46:129-131

50. Wagey R, Krieger C, Shaw CA. Abnormal dephosphorylation effect on nmda receptor regulation in als spinal cord. *Neurobiol Dis.* 1997;4:350-355
51. Richter C, Park JW, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85:6465-6467
52. Wiedemann FR, Winkler K, Kuznetsov AV, Bartels C, Vielhaber S, Feistner H, et al. Impairment of mitochondrial function in skeletal muscle of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1998;156:65-72
53. Atsumi T. The ultrastructure of intramuscular nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol.* 1981;55:193-198
54. Afifi AK, Aleu FP, Goodgold J, MacKay B. Ultrastructure of atrophic muscle in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 1966;16:475-481
55. Siklos L, Engelhardt J, Harati Y, Smith RG, Joo F, Appel SH. Ultrastructural evidence for altered calcium in motor nerve terminals in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1996;39:203-216
56. Kusaka H, Hirano A. Fine structure of anterior horns in patients without amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1985;44:430-438
57. Williamson TL, Cleveland DW. Slowing of axonal transport is a very early event in the toxicity of als-linked sod1 mutants to motor neurons. *Nat Neurosci.* 1999;2:50-56
58. Hirano A, Donnerfeld H, Sasaki S, Nakano I. Fine structural observations of neurofilamentous changes in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1984;43:461-470
59. Hirano A, Nakano I, Kurland LT, Mulder DW, Holley PW, Saccomanno G. Fine structural study of neurofibrillary changes in a family with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1984;43:471-480
60. Carpenter S. Proximal axonal enlargement in motor neuron disease. *Neurology.* 1968;18:841-851
61. Al-Chalabi A, Andersen PM, Nilsson P, Chioza B, Andersson JL, Russ C, et al. Deletions of the heavy neurofilament subunit tail in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet.* 1999;8:157-164
62. Corbo M, Hays AP. Peripherin and neurofilament protein coexist in spinal spheroids of motor neuron disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1992;51:531-537

63. Robertson J, Doroudchi MM, Nguyen MD, Durham HD, Strong MJ, Shaw G, et al. A neurotoxic peripherin splice variant in a mouse model of als. *J Cell Biol.* 2003;160:939-949
64. Julien JP. Amyotrophic lateral sclerosis. Unfolding the toxicity of the misfolded. *Cell.* 2001;104:581-591
65. Troost D, Louwerse ES, de Jong JM, van Leersum GS, van Raalte JA. Aberrant myelinated neurites in the anterior horns of a patient with amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neuropathol.* 1989;8:152-155
66. Troost D, van den Oord JJ, de Jong JM, Swaab DF. Lymphocytic infiltration in the spinal cord of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neuropathol.* 1989;8:289-294
67. Robertson J, Beaulieu JM, Doroudchi MM, Durham HD, Julien JP, Mushynski WE. Apoptotic death of neurons exhibiting peripherin aggregates is mediated by the proinflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha. *J Cell Biol.* 2001;155:217-226
68. Almer G, Guegan C, Teismann P, Naini A, Rosoklija G, Hays AP, et al. Increased expression of the pro-inflammatory enzyme cyclooxygenase-2 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 2001;49:176-185
69. Anand P, Parrett A, Martin J, Zeman S, Foley P, Swash M, et al. Regional changes of ciliary neurotrophic factor and nerve growth factor levels in post mortem spinal cord and cerebral cortex from patients with motor disease. *Nat Med.* 1995;1:168-172
70. Elliott JL, Snider WD. Motor neuron growth factors. *Neurology.* 1996;47:S47-53
71. Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, Beck H, Nuyens D, Brusselmans K, et al. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet.* 2001;28:131-138
72. Sathasivam S, Ince PG, Shaw PJ. Apoptosis in amyotrophic lateral sclerosis: A review of the evidence. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2001;27:257-274
73. Ince PG, Wharton SB. Chapter 5 cytopathology of the motor neuron. *Handb Clin Neurol.* 2007;82:89-119
74. Wharton SB, McDermott CJ, Grierson AJ, Wood JD, Gelsthorpe C, Ince PG, et al. The cellular and molecular pathology of the motor system in hereditary spastic paraparesis due to mutation of the spastin gene. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003;62:1166-1177

75. Iwata M, Hirano A. Sparing of the onufrowicz nucleus in sacral anterior horn lesions. *Ann Neurol.* 1978;4:245-249
76. Phul RK, Smith ME, Shaw PJ, Ince PG. Expression of nitric oxide synthase in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1998;160 Suppl 1:S87-91
77. Bunina TL. [on intracellular inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis]. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1962;62:1293-1299
78. Piao YS, Wakabayashi K, Kakita A, Yamada M, Hayashi S, Morita T, et al. Neuropathology with clinical correlations of sporadic amyotrophic lateral sclerosis: 102 autopsy cases examined between 1962 and 2000. *Brain Pathol.* 2003;13:10-22
79. Leigh PN, Whitwell H, Garofalo O, Buller J, Swash M, Martin JE, et al. Ubiquitin-immunoreactive intraneuronal inclusions in amyotrophic lateral sclerosis. Morphology, distribution, and specificity. *Brain.* 1991;114 (Pt 2):775-788
80. Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ikeda K, Nonaka T, Mori H, et al. Tdp-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;351:602-611
81. Leigh PN, Dodson A, Swash M, Brion JP, Anderton BH. Cytoskeletal abnormalities in motor neuron disease. An immunocytochemical study. *Brain.* 1989;112 (Pt 2):521-535
82. Dyck PJ, Stevens JC, Mulder DW, Espinosa RE. Frequency of nerve fiber degeneration of peripheral motor and sensory neurons in amyotrophic lateral sclerosis. Morphometry of deep and superficial peroneal nerves. *Neurology.* 1975;25:781-785
83. Lawyer T, Jr., Netsky MG. Amyotrophic lateral sclerosis. *AMA Arch Neurol Psychiatry.* 1953;69:171-192
84. Konagaya M, Sakai M, Matsuoka Y, Konagaya Y, Hashizume Y. Upper motor neuron predominant degeneration with frontal and temporal lobe atrophy. *Acta Neuropathol.* 1998;96:532-536
85. Matsumoto S, Hirano A, Goto S. Ubiquitin-immunoreactive filamentous inclusions in anterior horn cells of guamanian and non-guamanian amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol.* 1990;80:233-238
86. Sasaki S, Iwata M. Atypical form of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999;66:581-585

87. de Carvalho M, Matias T, Coelho F, Evangelista T, Pinto A, Luis ML. Motor neuron disease presenting with respiratory failure. *J Neurol Sci.* 1996;139 Suppl:117-122
88. Beghi E, Mennini T, Italian Network for the Study of Motor Neuron D. Basic and clinical research on amyotrophic lateral sclerosis and other motor neuron disorders in Italy: Recent findings and achievements from a network of laboratories. *Neurol Sci.* 2004;25 Suppl 2:S41-60
89. Forbes RB, Colville S, Swingler RJ, Scottish ALSMNDR. The epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS/MND) in people aged 80 or over. *Age Ageing.* 2004;33:131-134
90. Carpenter RJ, 3rd, McDonald TJ, Howard FM, Jr. The otolaryngologic presentation of amyotrophic lateral sclerosis. *Otolaryngology.* 1978;86:ORL479-484
91. Hillel AD, Miller R. Bulbar amyotrophic lateral sclerosis: Patterns of progression and clinical management. *Head Neck.* 1989;11:51-59
92. Kawai S, Tsukuda M, Mochimatsu I, Enomoto H, Kagesato Y, Hirose H, et al. A study of the early stage of dysphagia in amyotrophic lateral sclerosis. *Dysphagia.* 2003;18:1-8
93. Higo R, Tayama N, Nito T. Longitudinal analysis of progression of dysphagia in amyotrophic lateral sclerosis. *Auris Nasus Larynx.* 2004;31:247-254
94. Amin MR, Harris D, Cassel SG, Grimes E, Heiman-Patterson T. Sensory testing in the assessment of laryngeal sensation in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2006;115:528-534
95. McGuirt WF, Blalock D. The otolaryngologist's role in the diagnosis and treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Laryngoscope.* 1980;90:1496-1501
96. Watts CR, Vanryckeghem M. Laryngeal dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis: A review and case report. *BMC Ear Nose Throat Disord.* 2001;1:1
97. Sasaki S, Tsutsumi Y, Yamane K, Sakuma H, Maruyama S. Sporadic amyotrophic lateral sclerosis with extensive neurological involvement. *Acta Neuropathol.* 1992;84:211-215
98. Hayashi H, Kato S. Total manifestations of amyotrophic lateral sclerosis. ALS in the totally locked-in state. *J Neurol Sci.* 1989;93:19-35
99. Caroscio JT, Mulvihill MN, Sterling R, Abrams B. Amyotrophic lateral sclerosis. Its natural history. *Neurol Clin.* 1987;5:1-8

100. Lieberman A, Benson DF. Control of emotional expression in pseudobulbar palsy. A personal experience. *Arch Neurol.* 1977;34:717-719
101. Feinstein A, Feinstein K, Gray T, O'Connor P. Prevalence and neurobehavioral correlates of pathological laughing and crying in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 1997;54:1116-1121
102. Eisen A, Kim S, Pant B. Amyotrophic lateral sclerosis (als): A phylogenetic disease of the corticomotoneuron? *Muscle Nerve.* 1992;15:219-224
103. Kobayashi M, Ikeda K, Kinoshita M, Iwasaki Y. Amyotrophic lateral sclerosis with supranuclear ophthalmoplegia and rigidity. *Neurol Res.* 1999;21:661-664
104. Okuda B, Yamamoto T, Yamasaki M, Maya K, Imai T. Motor neuron disease with slow eye movements and vertical gaze palsy. *Acta Neurol Scand.* 1992;85:71-76
105. Ringholz GM, Appel SH, Bradshaw M, Cooke NA, Mosnik DM, Schulz PE. Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic als. *Neurology.* 2005;65:586-590
106. Hudson AJ. Amyotrophic lateral sclerosis and its association with dementia, parkinsonism and other neurological disorders: A review. *Brain.* 1981;104:217-247
107. Roberson ED, Hesse JH, Rose KD, Slama H, Johnson JK, Yaffe K, et al. Frontotemporal dementia progresses to death faster than alzheimer disease. *Neurology.* 2005;65:719-725
108. Achi EY, Rudnicki SA. Als and frontotemporal dysfunction: A review. *Neurol Res Int.* 2012;2012:806306
109. Chen S, Sayana P, Zhang X, Le W. Genetics of amyotrophic lateral sclerosis: An update. *Mol Neurodegener.* 2013;8:28
110. Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, et al. Ubiquitinated tdp-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science.* 2006;314:130-133
111. Rascovsky K, Hodges JR, Kipps CM, Johnson JK, Seeley WW, Mendez MF, et al. Diagnostic criteria for the behavioral variant of frontotemporal dementia (bvftd): Current limitations and future directions. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2007;21:S14-18
112. Warren JD, Rohrer JD, Rossor MN. Clinical review. Frontotemporal dementia. *BMJ.* 2013;347:f4827

113. Mondelli M, Rossi A, Passero S, Guazzi GC. Involvement of peripheral sensory fibers in amyotrophic lateral sclerosis: Electrophysiological study of 64 cases. *Muscle Nerve*. 1993;16:166-172
114. Heads T, Pollock M, Robertson A, Sutherland WH, Allpress S. Sensory nerve pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol*. 1991;82:316-320
115. Doran JF, Jackson P, Kynoch PA, Thompson RJ. Isolation of ppg 9.5, a new human neurone-specific protein detected by high-resolution two-dimensional electrophoresis. *J Neurochem*. 1983;40:1542-1547
116. Weis J, Katona I, Muller-Newen G, Sommer C, Necula G, Hendrich C, et al. Small-fiber neuropathy in patients with als. *Neurology*. 2011;76:2024-2029
117. Wallace VC, Ellis CM, Burman R, Knights C, Shaw CE, Al-Chalabi A. The evaluation of pain in amyotrophic lateral sclerosis: A case controlled observational study. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2014;15:520-527
118. Handy CR, Krudy C, Boulis N, Federici T. Pain in amyotrophic lateral sclerosis: A neglected aspect of disease. *Neurol Res Int*. 2011;2011:403808
119. Panjabi MM. A hypothesis of chronic back pain: Ligament subfailure injuries lead to muscle control dysfunction. *Eur Spine J*. 2006;15:668-676
120. Degens H, Alway SE. Control of muscle size during disuse, disease, and aging. *Int J Sports Med*. 2006;27:94-99
121. Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009;4:3
122. Neudert C, Oliver D, Wasner M, Borasio GD. The course of the terminal phase in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 2001;248:612-616
123. Norris F, Shepherd R, Denys E, U K, Mukai E, Elias L, et al. Onset, natural history and outcome in idiopathic adult motor neuron disease. *J Neurol Sci*. 1993;118:48-55
124. Katz JS, Wolfe GI, Andersson PB, Saperstein DS, Elliott JL, Nations SP, et al. Brachial amyotrophic diplegia: A slowly progressive motor neuron disorder. *Neurology*. 1999;53:1071-1076
125. Hu MT, Ellis CM, Al-Chalabi A, Leigh PN, Shaw CE. Flail arm syndrome: A distinctive variant of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998;65:950-951

126. Alema G, Brusa A, Pastorino P, Sacco G. [on 3 cases of the pseudopolyneuritic form of amyotrophic lateral sclerosis. Anatomic and electromyographic study]. *J Neurol Sci.* 1967;4:241-257
127. Salemi G, Fierro B, Arcara A, Cassata M, Castiglione MG, Savettieri G. Amyotrophic lateral sclerosis in palermo, italy: An epidemiological study. *Ital J Neurol Sci.* 1989;10:505-509
128. Pringle CE, Hudson AJ, Munoz DG, Kiernan JA, Brown WF, Ebers GC. Primary lateral sclerosis. Clinical features, neuropathology and diagnostic criteria. *Brain.* 1992;115 (Pt 2):495-520
129. Gordon PH, Cheng B, Katz IB, Pinto M, Hays AP, Mitsumoto H, et al. The natural history of primary lateral sclerosis. *Neurology.* 2006;66:647-653
130. de Carvalho M, Swash M. Nerve conduction studies in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve.* 2000;23:344-352
131. Costa J, Swash M, de Carvalho M. Awaji criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis:A systematic review. *Arch Neurol.* 2012;69:1410-1416
132. Janko M, Trontelj JV, Gersak K. Fasciculations in motor neuron disease: Discharge rate reflects extent and recency of collateral sprouting. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1989;52:1375-1381
133. Carvalho MD, Swash M. Awaji diagnostic algorithm increases sensitivity of el escorial criteria for als diagnosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2009;10:53-57
134. Eisen AA, Shtybel W. Aaem minimonograph #35: Clinical experience with transcranial magnetic stimulation. *Muscle Nerve.* 1990;13:995-1011
135. Wang S, Melhem ER, Poptani H, Woo JH. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotherapeutics.* 2011;8:63-71
136. Goodin DS, Rowley HA, Olney RK. Magnetic resonance imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1988;23:418-420
137. Oba H, Araki T, Ohtomo K, Monzawa S, Uchiyama G, Koizumi K, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: T2 shortening in motor cortex at mr imaging. *Radiology.* 1993;189:843-846
138. Turner MR, Leigh PN. Positron emission tomography (pet)--its potential to provide surrogate markers in als. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.* 2000;1 Suppl 2:S17-22

139. Ellis CM, Simmons A, Andrews C, Dawson JM, Williams SC, Leigh PN. A proton magnetic resonance spectroscopic study in als: Correlation with clinical findings. *Neurology*. 1998;51:1104-1109
140. Ellis CM, Simmons A, Jones DK, Bland J, Dawson JM, Horsfield MA, et al. Diffusion tensor mri assesses corticospinal tract damage in als. *Neurology*. 1999;53:1051-1058
141. Davenport RJ, Swingler RJ, Chancellor AM, Warlow CP. Avoiding false positive diagnoses of motor neuron disease: Lessons from the scottish motor neuron disease register. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996;60:147-151
142. Traynor BJ, Codd MB, Corr B, Forde C, Frost E, Hardiman O. Amyotrophic lateral sclerosis mimic syndromes: A population-based study. *Arch Neurol*. 2000;57:109-113
143. Brooks BR. El escorial world federation of neurology criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. Subcommittee on motor neuron diseases/amyotrophic lateral sclerosis of the world federation of neurology research group on neuromuscular diseases and the el escorial "clinical limits of amyotrophic lateral sclerosis" workshop contributors. *J Neurol Sci*. 1994;124 Suppl:96-107
144. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL, World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron D. El escorial revisited: Revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2000;1:293-299
145. Strauss M, Koehler K, Krumbholz M, Huebner A, Zierz S, Deschauer M. Triple a syndrome mimicking als. *Amyotroph Lateral Scler*. 2008;9:315-317
146. Averill AJ, Kasarskis EJ, Segerstrom SC. Psychological health in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler*. 2007;8:243-254
147. Distad BJ, Meekins GD, Liou LL, Weiss MD, Carter GT, Miller RG. Drug therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2008;19:633-651, xi-xii
148. Miller RG, Mitchell JD, Lyon M, Moore DH. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (als)/motor neuron disease (mnd). *Cochrane Database Syst Rev*. 2007:CD001447
149. Zhang GL, Zhang WG, Du Y, Yao L, Sun H, Zhang R, et al. Edaravone ameliorates oxidative damage associated with abeta25-35 treatment in pc12 cells. *J Mol Neurosci*. 2013;50:494-503

150. Takayasu Y, Nakaki J, Kawasaki T, Koda K, Ago Y, Baba A, et al. Edaravone, a radical scavenger, inhibits mitochondrial permeability transition pore in rat brain. *J Pharmacol Sci.* 2007;103:434-437
151. Ito H, Wate R, Zhang J, Ohnishi S, Kaneko S, Ito H, et al. Treatment with edaravone, initiated at symptom onset, slows motor decline and decreases sod1 deposition in als mice. *Exp Neurol.* 2008;213:448-455
152. Yoshino H, Kimura A. Investigation of the therapeutic effects of edaravone, a free radical scavenger, on amyotrophic lateral sclerosis (phase ii study). *Amyotroph Lateral Scler.* 2006;7:241-245
153. Abe K, Itoyama Y, Sobue G, Tsuji S, Aoki M, Doyu M, et al. Confirmatory double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of efficacy and safety of edaravone (mci-186) in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2014;15:610-617
154. Pascuzzi RM, Shefner J, Chappell AS, Bjerke JS, Tamura R, Chaudhry V, et al. A phase ii trial of talampanel in subjects with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2010;11:266-271
155. Meininger V, Drory VE, Leigh PN, Ludolph A, Robberecht W, Silani V. Glatiramer acetate has no impact on disease progression in als at 40 mg/day: A double- blind, randomized, multicentre, placebo-controlled trial. *Amyotroph Lateral Scler.* 2009;10:378-383
156. Rosenfeld J, King RM, Jackson CE, Bedlack RS, Barohn RJ, Dick A, et al. Creatine monohydrate in als: Effects on strength, fatigue, respiratory status and alsfrs. *Amyotroph Lateral Scler.* 2008;9:266-272
157. Graf M, Ecker D, Horowski R, Kramer B, Riederer P, Gerlach M, et al. High dose vitamin e therapy in amyotrophic lateral sclerosis as add-on therapy to riluzole: Results of a placebo-controlled double-blind study. *J Neural Transm (Vienna).* 2005;112:649-660
158. Cudkowicz ME, Shefner JM, Schoenfeld DA, Zhang H, Andreasson KI, Rothstein JD, et al. Trial of celecoxib in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 2006;60:22-31
159. Cudkowicz ME, Titus S, Kearney M, Yu H, Sherman A, Schoenfeld D, et al. Safety and efficacy of ceftriaxone for amyotrophic lateral sclerosis: A multi-stage, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2014;13:1083-1091
160. Kaspar BK, Llado J, Sherkat N, Rothstein JD, Gage FH. Retrograde viral delivery of igf-1 prolongs survival in a mouse als model. *Science.* 2003;301:839-842

161. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Nasuelli N, et al. Stem cell treatment in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2008;265:78-83
162. Miller RG, Rosenberg JA, Gelinas DF, Mitsumoto H, Newman D, Sufit R, et al. Practice parameter: The care of the patient with amyotrophic lateral sclerosis (an evidence-based review). *Muscle Nerve.* 1999;22:1104-1118
163. Radunovic A, Mitsumoto H, Leigh PN. Clinical care of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol.* 2007;6:913-925
164. Kasarskis EJ, Berryman S, Vanderleest JG, Schneider AR, McClain CJ. Nutritional status of patients with amyotrophic lateral sclerosis: Relation to the proximity of death. *Am J Clin Nutr.* 1996;63:130-137
165. Wollman B, D'Agostino HB. Percutaneous radiologic and endoscopic gastrostomy: A 3-year institutional analysis of procedure performance. *AJR Am J Roentgenol.* 1997;169:1551-1553
166. Desport JC, Mabrouk T, Bouillet P, Perna A, Preux PM, Couratier P. Complications and survival following radiologically and endoscopically-guided gastrostomy in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.* 2005;6:88-93
167. Wicks P, Abrahams S, Masi D, Hejda-Forde S, Leigh PN, Goldstein LH. Prevalence of depression in a 12-month consecutive sample of patients with als. *Eur J Neurol.* 2007;14:993-1001
168. Bradley WG, Anderson F, Bromberg M, Gutmann L, Harati Y, Ross M, et al. Current management of als: Comparison of the als care database and the aan practice parameter. The american academy of neurology. *Neurology.* 2001;57:500-504
169. Molloy L. Treatment of sialorrhoea in patients with parkinson's disease: Best current evidence. *Curr Opin Neurol.* 2007;20:493-498
170. Harriman M, Morrison M, Hay J, Revonta M, Eisen A, Lentle B. Use of radiotherapy for control of sialorrhoea in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Otolaryngol.* 2001;30:242-245
171. Andersen PM, Gronberg H, Franzen L, Funegard U. External radiation of the parotid glands significantly reduces drooling in patients with motor neurone disease with bulbar paresis. *J Neurol Sci.* 2001;191:111-114
172. McCullagh S, Moore M, Gawel M, Feinstein A. Pathological laughing and crying in amyotrophic lateral sclerosis: An association with prefrontal cognitive dysfunction. *J Neurol Sci.* 1999;169:43-48

173. Brooks BR, Thisted RA, Appel SH, Bradley WG, Olney RK, Berg JE, et al. Treatment of pseudobulbar affect in als with dextromethorphan/quinidine: A randomized trial. *Neurology*. 2004;63:1364-1370
174. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. Als/riluzole study group. *N Engl J Med*. 1994;330:585-591
175. Poloni M, Capitani E, Mazzini L, Ceroni M. Neuropsychological measures in amyotrophic lateral sclerosis and their relationship with ct scan-assessed cerebral atrophy. *Acta Neurol Scand*. 1986;74:257-260
176. Frank B, Haas J, Heinze HJ, Stark E, Munte TF. Relation of neuropsychological and magnetic resonance findings in amyotrophic lateral sclerosis: Evidence for subgroups. *Clin Neurol Neurosurg*. 1997;99:79-86
177. Murphy JM, Henry RG, Langmore S, Kramer JH, Miller BL, Lomen-Hoerth C. Continuum of frontal lobe impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*. 2007;64:530-534
178. Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, Chio A, Couratier P, Mitchell JD, et al. Descriptive epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: New evidence and unsolved issues. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79:6-11
179. Testa D, Lovati R, Ferrarini M, Salmoiraghi F, Filippini G. Survival of 793 patients with amyotrophic lateral sclerosis diagnosed over a 28-year period. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2004;5:208-212
180. Traynor BJ, Alexander M, Corr B, Frost E, Hardiman O. Effect of a multidisciplinary amyotrophic lateral sclerosis (als) clinic on als survival: A population based study, 1996-2000. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74:1258-1261
181. Yabuki S, Ikeda H. Amyotrophic lateral sclerosis: A study of systemic complications in autopsy cases in japan. *Folia Psychiatr Neurol Jpn*. 1980;34:127-133
182. Hayashi T, Narita Y, Okugawa N, Hamaguchi E, Shibahara M, Kuzuhara S. Pressure ulcers in als patients on admission at a university hospital in japan. *Amyotroph Lateral Scler*. 2007;8:310-313
183. Ono S, Mechanic GL, Yamauchi M. Amyotrophic lateral sclerosis: Unusually low content of collagen in skin. *J Neurol Sci*. 1990;100:234-237

184. Ono S, Imai T, Takahashi K, Jinnai K, Yamano T, Nagao K, et al. Decreased type iv collagen of skin and serum in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. 1998;51:114-120
185. Fang L, Huber-Abel F, Teuchert M, Hendrich C, Dorst J, Schattauer D, et al. Linking neuron and skin: Matrix metalloproteinases in amyotrophic lateral sclerosis (als). *J Neurol Sci*. 2009;285:62-66
186. Beuche W, Yushchenko M, Mader M, Maliszewska M, Felgenhauer K, Weber F. Matrix metalloproteinase-9 is elevated in serum of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroreport*. 2000;11:3419-3422
187. Provinciali L, Cangiotti A, Tulli D, Carboni V, Cinti S. Skin abnormalities and autonomic involvement in the early stage of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 1994;126:54-61
188. Ono S, Imai T, Shimizu N, Nagao K. Increased expression of laminin 1 in the skin of amyotrophic lateral sclerosis. *Eur Neurol*. 2000;43:215-220
189. Turksen K, Kupper T, Degenstein L, Williams I, Fuchs E. Interleukin 6: Insights to its function in skin by overexpression in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89:5068-5072
190. Ono S, Hu J, Shimizu N, Imai T, Nakagawa H. Increased interleukin-6 of skin and serum in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 2001;187:27-34
191. Ono S, Imai T, Yamauchi M, Nagao K. Hyaluronic acid is increased in the skin and urine in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 1996;243:693-699
192. Ono S, Imai T, Shimizu N, Nakagawa H, Hu J. Ciliary neurotropic factor in skin biopsies of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 1998;352:958-959
193. Nomura M, Oketa Y, Yasui K, Ishikawa H, Ono S. Expression of hepatocyte growth factor in the skin of amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2012;125:389-397
194. Ono S, Hu J, Imai T, Shimizu N, Tsumura M, Nakagawa H. Increased expression of insulin-like growth factor i in skin in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000;69:199-203
195. Phul RK, Shaw PJ, Ince PG, Smith ME. Expression of nitric oxide synthase isoforms in spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2000;1:259-267
196. Suzuki M, Watanabe T, Mikami H, Nomura M, Yamazaki T, Irie T, et al. Immunohistochemical studies of vascular endothelial growth factor

- in skin of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2009;285:125-129
197. Kosiak M, Kubicek WG, Olson M, Danz JN, Kottke FJ. Evaluation of pressure as a factor in the production of ischial ulcers. *Arch Phys Med Rehabil.* 1958;39:623-629
 198. Krouskop TA, Reddy NP, Spencer WA, Secor JW. Mechanisms of decubitus ulcer formation--an hypothesis. *Med Hypotheses.* 1978;4:37-39
 199. Dinsdale SM. Decubitus ulcers: Role of pressure and friction in causation. *Arch Phys Med Rehabil.* 1974;55:147-152
 200. Reichel SM. Shearing force as a factor in decubitus ulcers in paraplegics. *J Am Med Assoc.* 1958;166:762-763
 201. Vasconez LO, Schneider WJ, Jurkiewicz MJ. Pressure sores. *Curr Probl Surg.* 1977;14:1-62
 202. Shea JD. Pressure sores: Classification and management. *Clin Orthop Relat Res.* 1975:89-100
 203. Maklebust J, Margolis D. Pressure ulcers: Definition and assessment parameters. *Adv Wound Care.* 1995;8:suppl 6-7
 204. Nunan R, Harding KG, Martin P. Clinical challenges of chronic wounds: Searching for an optimal animal model to recapitulate their complexity. *Dis Model Mech.* 2014;7:1205-1213
 205. Martin P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science.* 1997;276:75-81
 206. Shaw TJ, Martin P. Wound repair at a glance. *J Cell Sci.* 2009;122:3209-3213
 207. Medrado AR, Pugliese LS, Reis SR, Andrade ZA. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2003;32:239-244
 208. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol.* 2007;127:514-525
 209. Rodero MP, Khosrotehrani K. Skin wound healing modulation by macrophages. *Int J Clin Exp Pathol.* 2010;3:643-653
 210. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature.* 2008;453:314-321

211. Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2000;5:40-46
212. Eming SA, Werner S, Bugnon P, Wickenhauser C, Siewe L, Utermohlen O, et al. Accelerated wound closure in mice deficient for interleukin-10. *Am J Pathol.* 2007;170:188-202
213. Ruiter DJ, Schlingemann RO, Westphal JR, Denijn M, Rietveld FJ, De Waal RM. Angiogenesis in wound healing and tumor metastasis. *Behring Inst Mitt.* 1993:258-272
214. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* 2007;25:9-18
215. Eming SA, Brachvogel B, Odorisio T, Koch M. Regulation of angiogenesis: Wound healing as a model. *Prog Histochem Cytochem.* 2007;42:115-170
216. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999;341:738-746
217. Perry JE, Grossmann ME, Tindall DJ. Epidermal growth factor induces cyclin d1 in a human prostate cancer cell line. *Prostate.* 1998;35:117-124
218. Noonberg SB, Benz CC. Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily: Role as anticancer agents. *Drugs.* 2000;59:753-767
219. Yates RA, Nanney LB, Gates RE, King LE, Jr. Epidermal growth factor and related growth factors. *Int J Dermatol.* 1991;30:687-694
220. Nanney LB, Stoscheck CM, King LE, Jr., Underwood RA, Holbrook KA. Immunolocalization of epidermal growth factor receptors in normal developing human skin. *J Invest Dermatol.* 1990;94:742-748
221. Hashimoto K, Higashiyama S, Asada H, Hashimura E, Kobayashi T, Sudo K, et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor is an autocrine growth factor for human keratinocytes. *J Biol Chem.* 1994;269:20060-20066
222. Rodeck U, Jost M, DuHadaway J, Kari C, Jensen PJ, Risse B, et al. Regulation of bcl-xl expression in human keratinocytes by cell-substratum adhesion and the epidermal growth factor receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:5067-5072
223. Rodeck U, Jost M, Kari C, Shih DT, Lavker RM, Ewert DL, et al. Egf-r dependent regulation of keratinocyte survival. *J Cell Sci.* 1997;110 (Pt 2):113-121

224. Barrandon Y, Green H. Cell migration is essential for sustained growth of keratinocyte colonies: The roles of transforming growth factor- α and epidermal growth factor. *Cell*. 1987;50:1131-1137
225. Nanney LB. Epidermal and dermal effects of epidermal growth factor during wound repair. *J Invest Dermatol*. 1990;94:624-629
226. Cieslak D, Szulc-Kuberska J, Stepień H, Klimek A. Epidermal growth factor in human cerebrospinal fluid: Reduced levels in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 1986;233:376-377
227. Johnson DE, Williams LT. Structural and functional diversity in the fgf receptor multigene family. *Adv Cancer Res*. 1993;60:1-41
228. Aaronson SA, Bottaro DP, Miki T, Ron D, Finch PW, Fleming TP, et al. Keratinocyte growth factor. A fibroblast growth factor family member with unusual target cell specificity. *Ann N Y Acad Sci*. 1991;638:62-77
229. Werner S, Smola H, Liao X, Longaker MT, Krieg T, Hofschneider PH, et al. The function of kgf in morphogenesis of epithelium and reepithelialization of wounds. *Science*. 1994;266:819-822
230. Yamasaki M, Miyake A, Tagashira S, Itoh N. Structure and expression of the rat mRNA encoding a novel member of the fibroblast growth factor family. *J Biol Chem*. 1996;271:15918-15921
231. Beer HD, Florence C, Dammeier J, McGuire L, Werner S, Duan DR. Mouse fibroblast growth factor 10: Cdna cloning, protein characterization, and regulation of mRNA expression. *Oncogene*. 1997;15:2211-2218
232. Danilenko DM, Ring BD, Yanagihara D, Benson W, Wiemann B, Starnes CO, et al. Keratinocyte growth factor is an important endogenous mediator of hair follicle growth, development, and differentiation. Normalization of the nu/nu follicular differentiation defect and amelioration of chemotherapy-induced alopecia. *Am J Pathol*. 1995;147:145-154
233. Clark RA. Growth factors and wound repair. *J Cell Biochem*. 1991;46:1-2
234. Lauria G, Hsieh ST, Johansson O, Kennedy WR, Leger JM, Mellgren SI, et al. European federation of neurological societies/peripheral nerve society guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the european federation of neurological societies and the peripheral nerve society. *Eur J Neurol*. 2010;17:903-912, e944-909

235. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW. Epidermal nerve fiber density: Normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol*. 1998;55:1513-1520
236. Hardwicke J, Schmaljohann D, Boyce D, Thomas D. Epidermal growth factor therapy and wound healing--past, present and future perspectives. *Surgeon*. 2008;6:172-177
237. Carpenter G, Cohen S. Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblasts. *J Cell Physiol*. 1976;88:227-237
238. Hiramatsu M, Kumegawa M, Hatakeyama K, Yajima T, Minami N, Kodama H. Effect of epidermal growth factor on collagen synthesis in osteoblastic cells derived from newborn mouse calvaria. *Endocrinology*. 1982;111:1810-1816
239. Werner S, Peters KG, Longaker MT, Fuller-Pace F, Banda MJ, Williams LT. Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89:6896-6900
240. Brauchle M, Angermeyer K, Hubner G, Werner S. Large induction of keratinocyte growth factor expression by serum growth factors and pro-inflammatory cytokines in cultured fibroblasts. *Oncogene*. 1994;9:3199-3204
241. Putnins EE, Firth JD, Lohachitranont A, Uitto VJ, Larjava H. Keratinocyte growth factor (kgf) promotes keratinocyte cell attachment and migration on collagen and fibronectin. *Cell Adhes Commun*. 1999;7:211-221
242. Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Signal transduction and cell-type specific regulation of matrix metalloproteinase gene expression: Can mmps be good for you? *J Cell Physiol*. 2007;213:355-364
243. Weydt P, Yuen EC, Ransom BR, Moller T. Increased cytotoxic potential of microglia from als-transgenic mice. *Glia*. 2004;48:179-182
244. Kim S, Choi JH, Lim HI, Lee SK, Kim WW, Cho S, et al. Egf-induced mmp-9 expression is mediated by the jak3/erk pathway, but not by the jak3/stat-3 pathway in a skbr3 breast cancer cell line. *Cell Signal*. 2009;21:892-898
245. Kherif S, Lafuma C, Dehaupas M, Lachkar S, Fournier JG, Verdiere-Sahuque M, et al. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in regenerating skeletal muscle: A study in experimentally injured and mdx muscles. *Dev Biol*. 1999;205:158-170
246. Eccles SA. The epidermal growth factor receptor/erb-b/her family in normal and malignant breast biology. *Int J Dev Biol*. 2011;55:685-696

247. Kadoyama K, Funakoshi H, Ohya W, Nakamura T. Hepatocyte growth factor (hgf) attenuates gliosis and motoneuronal degeneration in the brainstem motor nuclei of a transgenic mouse model of als. *Neurosci Res.* 2007;59:446-456
248. Fallon JH, Seroogy KB, Loughlin SE, Morrison RS, Bradshaw RA, Knaver DJ, et al. Epidermal growth factor immunoreactive material in the central nervous system: Location and development. *Science.* 1984;224:1107-1109
249. Peng H, Wen TC, Tanaka J, Maeda N, Matsuda S, Desaki J, et al. Epidermal growth factor protects neuronal cells in vivo and in vitro against transient forebrain ischemia- and free radical-induced injuries. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998;18:349-360
250. Casper D, Blum M. Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor protect dopaminergic neurons from glutamate toxicity in culture. *J Neurochem.* 1995;65:1016-1026
251. Knusel B, Michel PP, Schwaber JS, Hefti F. Selective and nonselective stimulation of central cholinergic and dopaminergic development in vitro by nerve growth factor, basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin and the insulin-like growth factors i and ii. *J Neurosci.* 1990;10:558-570
252. Werner S. Keratinocyte growth factor: A unique player in epithelial repair processes. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1998;9:153-165
253. Beer HD, Gassmann MG, Munz B, Steiling H, Engelhardt F, Bleuel K, et al. Expression and function of keratinocyte growth factor and activin in skin morphogenesis and cutaneous wound repair. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2000;5:34-39
254. Yakimchuk K, Nandakumar KS, Chen L, Holmdahl R, Okret S, Jondal M. Keratinocyte growth factor (kgf) delays the onset of collagen-induced arthritis. *Autoimmunity.* 2012;45:510-515
255. Panoskaltsis-Mortari A, Lacey DL, Vallera DA, Blazar BR. Keratinocyte growth factor administered before conditioning ameliorates graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation in mice. *Blood.* 1998;92:3960-3967
256. Kuhle J, Lindberg RL, Regeniter A, Mehling M, Steck AJ, Kappos L, et al. Increased levels of inflammatory chemokines in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol.* 2009;16:771-774
257. Barbul A, Lazarou SA, Efron DT, Wasserkrug HL, Efron G. Arginine enhances wound healing and lymphocyte immune responses in humans. *Surgery.* 1990;108:331-336; discussion 336-337

258. Greenwald DP, Sharzer LA, Padawer J, Levenson SM, Seifter E. Zone ii flexor tendon repair: Effects of vitamins a, e, beta-carotene. *J Surg Res.* 1990;49:98-102
259. Liimbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A, Piccoli P, Rossettias G, Italian Society of Transfusion M, et al. Recommendations for the use of albumin and immunoglobulins. *Blood Transfus.* 2009;7:216-234
260. Podgorny PJ, Suchowersky O, Romanchuk KG, Feasby TE. Evidence for small fiber neuropathy in early parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2016;28:94-99