



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZ HASTALIĞINDA SERUM İLE BEYİN OMURİLİK  
SIVISINDA SİTOKİN İLE KEMOKİN DÜZEYLERİ VE YÜKSEK  
HASTALIK AKTİVİTESİYLE İLİŞKİLİ OLABİLECEK OLASI  
BİYOBELİRTEÇLER**

**DR. EZGİ VURAL**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. KADRIYE AĞAN YILDIRIM**

**İSTANBUL-2021**





**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZ HASTALIĞINDA SERUM İLE BEYİN OMURİLİK  
SIVISINDA SİTOKİN İLE KEMOKİN DÜZEYLERİ VE YÜKSEK  
HASTALIK AKTİVİTESİYLE İLİŞKİLİ OLABİLECEK OLASI  
BİYOBELİRTEÇLER**

**DR. EZGİ VURAL**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. KADRIYE AĞAN YILDIRIM**

**İSTANBUL-2021**



## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dr. Ezgi Vural

## ÖNSÖZ

Bir insanı yaşatmanın tüm insanlığı yaşatmak demek olduğu prensibini hedef bilerek çıktığım yoldaki basamaklardan birini tamamlamanın eşiğinde bulunuyorum.

Asistanlık eğitimimde emeği geçen tüm öğretim üyelerimize, Prof. Dr. Dilek İnce Günal'a, Prof. Dr. Tülin Tanrıdağ'a, Prof. Dr. Emine Neşe Tuncer'e, Prof. Dr. Kayıhan Uluç'a, Prof. Dr. İpek Midi'ye, Prof. Dr. Barış İşak'a, Doç. Dr. Pınar Kahraman Koytak'a, Doç. Dr. Gülin Sünter'e, Uzm. Dr. Hatice Ömercikoğlu Özden'e minnetlerimi bildirmek isterim. Tez çalışmanın biyokimya bölümündeki ayağını yürüttüğümüz Prof. Dr. Goncagül Haklar ve Uzm. Dr. Ali Yaman'a teşekkür ederim. Bilhassa, sadece tezime değil tüm eğitimime danışmanlık yapan, heveslerimi ve fikirlerimi ortaya koymak için her zaman destekçim olan Prof. Dr. Kadriye Ağan Yıldırım'a şükranlarımı iletmek isterim.

Beraber çalıştığımız ve öğrendiğimiz, tüm zorlukları birlikte göğüslediğimiz, birlikte asistanlık yapmaktan keyif aldığım tüm arkadaşlarıma üzerimdeki emekleri için teşekkür ederim.

Hayatın ve eğitimin zorlu sınavlarında hep beraber olduğumuz, benim destekçim ve pusulam olan biricik annem Tülay Vural ve biricik babam Hidayet Vural'a minnetlerimi sunmak isterim.

Ezgi Vural

İstanbul, 2021

# İÇİNDEKİLER

|                                                                              |            |
|------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>                                        | <b>V</b>   |
| <b>1 ÖZET</b>                                                                | <b>vii</b> |
| <b>2 İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)</b>                                           | <b>ix</b>  |
| <b>3 GİRİŞ VE AMAÇ</b>                                                       | <b>11</b>  |
| <b>4 GENEL BİLGİLER</b>                                                      | <b>13</b>  |
| 4.1 MULTIPL SKLEREZ HASTALIĞININ TANIMI                                      | 13         |
| 4.2 MULTIPL SKLEREZ EPİDEMİYOLOJİSİ VE RİSK FAKTÖRLERİ                       | 13         |
| 4.2.1 Yaş ve cinsiyet                                                        | 13         |
| 4.2.2 Otoimmünite                                                            | 14         |
| 4.2.3 Genetik yatkınlık                                                      | 14         |
| 4.2.4 Çevresel risk faktörleri                                               | 15         |
| 4.3 MULTIPL SKLEREZ İMMUNOPATOGENEZİ                                         | 17         |
| 4.4 MULTIPL SKLEREZ KLİNİK BELİRTİ VE BULGULARI                              | 20         |
| 4.5 MULTIPL SKLEREZ KLİNİK ALT TİPLERİ                                       | 22         |
| 4.5.1 Klinik izole sendrom                                                   | 23         |
| 4.5.2 Radyolojik izole sendrom                                               | 23         |
| 4.5.3 Sekonder progresif multipl skleroz                                     | 24         |
| 4.5.4 Primer progresif multipl skleroz                                       | 24         |
| 4.6 MULTIPL SKLEREZ TANI KRİTERLERİ                                          | 26         |
| 4.7 MULTIPL SKLEREZDA ATAK TEDAVİSİ                                          | 28         |
| 4.8 MULTIPL SKLEREZDA İMMUNMODULATUVAR TEDAVİLER                             | 29         |
| 4.9 MULTIPL SKLEREZDA MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEME                          | 30         |
| 4.10 MULTIPL SKLEREZDA YARDIMCI TESTLER                                      | 31         |
| 4.10.1 BOS analizi, OKB ve IgG indeksi                                       | 32         |
| 4.10.2 Uyandırılmış potansiyelleri                                           | 33         |
| 4.10.3 Optik koherans tomografi                                              | 33         |
| 4.11 MULTIPL SKLEREZDA KÖTÜ PROGNOZ VERİLERİ VE BİYOMARKERLAR                | 34         |
| 4.11.1 Kötü prognoz verileri                                                 | 34         |
| 4.11.2 Biyomarkerlar                                                         | 35         |
| <b>5 METOT</b>                                                               | <b>39</b>  |
| 5.1 HASTA GRUBUNUN BELİRLENMESİ                                              | 39         |
| 5.1.1 Çalışmaya dahil edilme kriterleri                                      | 40         |
| 5.1.2 Çalışmadan dışlanma kriterleri                                         | 41         |
| 5.2 VERİ TOPLAMA ARAÇLARI                                                    | 41         |
| 5.2.1 Sosyodemografik veri formu                                             | 41         |
| 5.2.2 Manyetik rezonans görüntüleme incelemelerinin değerlendirilmesi        | 42         |
| 5.2.3 Lomber ponksiyon ile BOS elde edilmesi ve muhafazası                   | 42         |
| 5.3 BEYİN OMURİLİK SIVISI İLE SERUMDA DÜZEY TAYİNİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER | 44         |
| 5.3.1 ELISA yöntemi                                                          | 44         |
| 5.3.2 ELISA için kullanılan kitler                                           | 45         |
| 5.3.3 Serum ve BOS'ta albümin ölçümü                                         | 46         |

|          |                                                                                                 |            |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.4      | İSTATİSTİKSEL ANALİZ                                                                            | 47         |
| 5.5      | ETİK KURUL ONAYI VE BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ DESTEĞİ                                        | 48         |
| <b>6</b> | <b>BULGULAR</b>                                                                                 | <b>49</b>  |
| 6.1      | DEMOGRAFİK VERİLERİ                                                                             | 49         |
| 6.2      | KLİNİK ÖZELLİKLER                                                                               | 51         |
| 6.3      | GÖRÜNTÜLEME ÖZELLİKLERİ                                                                         | 52         |
| 6.4      | SERUM VE BEYİN OMURİLİK SIVISININ TEMEL BİYOKİMYASAL İNCELEMELERİ                               | 54         |
| 6.5      | MULTİPL SKLEROZ HASTALARI İLE KONTROL GRUBU İÇİN SERUM VE BOS SİTOKİN İLE KEMOKİN DÜZEYLERİ     | 55         |
| 6.6      | KONTROL, KPVO, KPVY GRUPLARI İÇİN SERUM VE BOS SİTOKİN İLE KEMOKİN DÜZEYLERİ                    | 59         |
| 6.7      | KÖTÜ PROGNOSTİK VERİLERE YÖNELİK SERUM VE BOS'TA SİTOKİN İLE KEMOKİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI | 63         |
| 6.8      | KORELASYON ANALİZLERİ                                                                           | 64         |
| 6.8.1    | <i>Demografik verilerle korelasyon analizleri</i>                                               | 64         |
| 6.8.2    | <i>Klinik bulgularla korelasyon analizleri</i>                                                  | 66         |
| 6.8.3    | <i>Kötü prognoz verilerine yönelik korelasyon analizleri</i>                                    | 67         |
| 6.8.4    | <i>Görüntüleme verilerine yönelik korelasyon analizleri</i>                                     | 68         |
| 6.8.5    | <i>OKB ve IgG indeksi için korelasyon analizleri</i>                                            | 70         |
| 6.9      | MULTİPL SKLEROZ HASTALARININ KLİNİK TAKİPLERİ                                                   | 71         |
| <b>7</b> | <b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b>                                                                        | <b>73</b>  |
| <b>8</b> | <b>KAYNAKLAR</b>                                                                                | <b>103</b> |
| <b>9</b> | <b>EKLER</b>                                                                                    | <b>125</b> |
| 9.1      | KATILIMCI BİLGİLENDİRME FORMU                                                                   | 125        |
| 9.2      | GÖNÜLLÜ ONAY FORMU                                                                              | 127        |
| 9.3      | HASTA GÖRÜŞME ANKETİ                                                                            | 128        |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|           |                                                                                  |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------|
| ACTH:     | Adrenokotikotropik Hormon                                                        |
| Anti-MBP: | Anti-Miyelin Basic Protein                                                       |
| Anti-MOG: | Anti-Miyelin Oligodendrosit Protein                                              |
| BOS:      | Beyin Omurilik Sıvısı                                                            |
| CHI3L1:   | <i>Protein Chitinase 3-Like 1</i>                                                |
| CV:       | <i>Coefficient Of Variation</i>                                                  |
| CXCL13:   | C-X-C Motif Ligand 13                                                            |
| DTPA:     | Gadolinium-Diethylenetriamine Penta-Acetic Acid                                  |
| EBNA-2:   | EBV Nükleer Antijen-2                                                            |
| EBV:      | Ebstein-Barr Virüsü                                                              |
| EDSS:     | Genişletilmiş Özürlülük Durum Ölçeği ( <i>Expanded Disability States Scale</i> ) |
| ELISA:    | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>                                         |
| FLAIR     | <i>Fluid-Attenuated Inversion Recovery</i>                                       |
| G:        | Gauge                                                                            |
| HMET:     | Hastalık Modifisye Edici Tedavi                                                  |
| HRP:      | <i>Streptavidin-Horseradish Peroxidase</i>                                       |
| IgG:      | İmmunglobulin G                                                                  |
| IL:       | İnterlökin                                                                       |
| Inter.:   | Kitler Arasında Tekrar Edilebilirlik                                             |
| Intra.:   | Kit İçinde Tekrar Edilebilirlik                                                  |
| JCV:      | John Cunningham Virüsü                                                           |
| KBB:      | Kan Beyin Bariyeri                                                               |
| KIS:      | Klinik İzole Sendrom                                                             |
| KPVO:     | Kötü Prognostik Verisi Olan                                                      |
| KPVY:     | Kötü Prognostik Verisi Yok                                                       |
| LP:       | Lomber Ponksiyon                                                                 |
| Maks.:    | Maksimum                                                                         |
| MHC:      | Major Histokompetabilite Kompleks (Major Histocompatibility Complex)             |

|        |                                                               |
|--------|---------------------------------------------------------------|
| Min.:  | Minimum                                                       |
| MRG:   | Manyetik Rezonans Görüntüleme                                 |
| MS:    | Multipl Skleroz                                               |
| MSS:   | Merkezi Sinir Sistemi                                         |
| NfHZ:  | Nörofilament Hafif Zincir                                     |
| NMO:   | Nöromiyelitis Optika                                          |
| OKB:   | Oligoklonal Bant                                              |
| OKT:   | Optik Koherans Tomografi                                      |
| PML:   | Progresif Multifokal Lökoensefalopati                         |
| PPMS:  | Primer Progresif Multipl Skleroz                              |
| RIS:   | Radyolojik İzole Sendrom                                      |
| RRMS:  | Relapsing-Remitting Multipl Skleroz                           |
| RSLT:  | Retinal Sinir Lifı Tabakası                                   |
| SIMOA: | <i>Single Molecule Array</i>                                  |
| SNP:   | <i>Single Nükleotid Polimorfizmi</i>                          |
| SPMS:  | Sekonder Progresif Multipl Skleroz                            |
| Th:    | T Helper                                                      |
| VDRE:  | Vitamin D Yanıt Elemanı ( <i>Vitamin D Response Element</i> ) |

## 1 ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Multipl Skleroz hastalarına yönelik klinik ve radyolojik prognoz verileri mevcuttur, ancak şu zamana kadarki bilgilerimiz MS hastası bir bireyin hastalığının geleceğiyle ilgili net bilgi verecek parametrelerden yoksundur. Çalışmamızın amacı, MS tanısı konulduğunda kötü prognostik verilere sahip olan hastalar ve olmayan naif hastaların serum ve BOS numunelerinden sitokin ile kemokin düzeyleri ölçmek ve hastalık aktivitesini yansıtacak bir biyobelirteç adayı belirlemektir.

**Metot:** Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Polikliniği'ne başvuran hastalardan 2017 McDonald kriterlerine göre Multipl Skleroz tanısı alan hastalar ile noninflamatuvar nörolojik hastalardan lomber ponksiyonun tanı ve tedavide endike olduğu bireyler çalışmamıza dahil edilmiştir. MS hastaları klinik ve radyolojik bulgularına göre kötü prognoz göstergelerine sahip olanlar ve olmayanlar olarak iki sınıfa ayrılmıştır. Her hastanın klinik ve radyolojik değerlendirmesinden sonra lomber ponksiyon işlemi yapılmıştır, eş zamanlı serum örnekleri alınmıştır. Beyin omurilik sıvısı ve serum örneklerinde ELISA yöntemiyle IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri ölçülmüştür.

**Bulgular:** Çalışmamızın kötü prognostik verileri olan MS hastası grubuna 21, kötü prognostik verisi olmayan hasta grubuna 8, noninflamatuvar nörolojik hastalar grubuna 27 hasta katılmıştır. Serum örneklerinin %97,4'ünde IL-8, %84,2'sinde IL-21, BOS örneklerinin %87,8'inde IL-12/IL-23p40 ölçülebilen minimum değerlerin altında sonuç vermiştir. MS hastalarında BOS CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Kötü prognoz verilerine göre gruplanmış MS hastalarının serum ya da BOS örneklerinde IL-8, IL-12/IL-23p40, CHI3L1 ya da CXCL13 düzeyleri için fark saptanmamıştır. MS hastalarında EDSS skoru ile serum CXCL13 düzeyi

arasında pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir. Yine serum CXCL13 seviyesiyle spinal korddaki lezyon sayısı arasında pozitif yönlü bir ilişki izlenmiştir.

**Tartışma ve Sonuç:** CHI3L1 ve CXCL13 BOS düzeyleri MS hastalarında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur, dolayısıyla MS hastalığı biyobelirteci olma potansiyeli bu iki molekül için yüksektir. Çalışmamızda incelenen hiçbir sitokin ya da kemokin için klinik ya da radyolojik kötü prognostik veriyle güçlü anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Bununla beraber, serum CXCL13 düzeyi ile klinik özürölülük skoru ve spinal kord lezyonu sayısı arasındaki bağlantı, serum örneklerini elde etmenin kolaylığı, söz konusu korelasyonun geniş sağlıklı birey ve hasta popölasyonunda değeriendirilmesini elzem kılmaktadır. Sitokin ve kemokinlerin günlük pratikte kullanımı sınırlı kalacağı sonucuna varılmıştır, çünkü protein yapıdaki bu moleküller hızlı degrade olmaktadır, bir saati çekmeyen sürede -80 santigrad altında muhafaza edilmeye başlanılmasının gerekmektedir, biyolojik numunelerde çok düşük düzeylerde mevcuttur ve ölçüm metotlarından kaynaklanan düşük tekrar edilebilirlik sorunları vardır. Uygun saklama koşullarının yaygınlaştırılması, *yüksek sensitiviteli immunassay* yöntemleri için gerekli teknolojilerin elde edilmesi ile kullanımının kolaylaşması söz konusu engellerin bir kısmını aşmayı sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Multipl Skleroz, Sitokin, Kemokin, ELISA, Prognoz, Biyobelirteç

## 2 İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

**Introduction and purpose:** Clinical and radiological prognosis data are available for MS patients. However, our knowledge lacks the parameters that give clear information about the future of the disease for an individual with MS. The aim of our study is to measure cytokine and chemokine levels from serum and CSF samples of treatment naïve patients with and without poor prognostic data when diagnosed with MS, and to identify a biomarker candidate that will reflect disease activity.

**Method:** Patients who applied to Marmara University Pendik Training and Research Hospital Neurology Outpatient Clinic and were either diagnosed with Multiple Sclerosis according to 2017 McDonald criteria or non-inflammatory neurological diseases for which lumbar puncture is indicated for diagnosis or treatment were included in our study. MS patients were divided into two classes according to their clinical and radiological findings as those with poor prognostic expectation and those without. After the clinical and radiological evaluation of each patient, lumbar puncture was performed, and serum samples were taken simultaneously. IL-8, IL-12 / IL-23p40, IL-21, CHI3L1 and CXCL13 levels were measured in cerebrospinal fluid and serum samples using ELISA method.

**Discussion and Conclusion:** CHI3L1 and CXCL13 CSF levels were found to be significantly higher in MS patients, so these two molecules have a high potential to be an MS biomarker. A strong relationship was not detected for clinical or radiological poor prognostic data and any cytokines or chemokines examined in our study. Considering the ease of obtaining serum samples, it is essential to evaluate the link between the serum CXCL13 level and the EDSS score and the number of spinal cord lesions in a large population. The use of cytokines and chemokines in daily practice will be limited due to the rapid degradation of

molecules, the need to be stored under -80 degrees Celsius under an hour's period, the very low levels in biological samples, and poor test reproducibility. Expanding appropriate storage conditions, obtaining the necessary technologies for high sensitivity immunoassay methods might help overcome some of these obstacles.

**Keywords:** Multiple Sclerosis, Cytokine, Chemokine, ELISA, Prognosis, Biomarker



### 3 GİRİŞ ve AMAÇ

Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin (MSS) en sık görülen immun aracılı, inflamatuvar demiyelinizan hastalığıdır. Hastalığın tanımlayıcı kliniği subakut, tekrarlayan ve pek çok nörolojik sisteme ait bulgu verebilen fokal nörolojik semptom ve bulgulardır. Merkezi sinir sistemi (MSS) hastalıkları arasında, travmalar hariç tutulursa genç erişkinler arasında en sık özürlülük sebebi olan hastalıktır. MS hastalığının genel insidansı kadın bireyler arasında her 100000 kişide 3,6, erkek bireyler arasındaysa her 100000 kişide 2,0'dır [1].

Multipl Skleroz hastalığının altta yatan sebebi net olarak bilinmemektedir [2]. Hastalığa otoreaktif lenfositlerin başlattığı immun aracılı inflamasyonun sebep olduğu düşünülmektedir [3][4]. İnflamasyon, demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon klinik bulguların altında yatan patolojik süreçlerdir [4]. Multipl skleroz immonopatogeneziyle ilgili son çalışmalar T-Helper (Th) 17 lenfositlerin periferik dokulardan MSS'ye giriş yaparak inflamasyon başlangıcında büyük rol aldığını göstermiştir[5]. Th17 lenfositlerden salgılanan IL-17 ve IL-22, kan beyin bariyerinin (KBB) geçirgenliğinin artmasına yol açar ve daha fazla Th17'nin KBB'yi geçmesini sağlayan kaskadı başlatır[6]. Sadece Th17 lenfositler değil, Th1,  $\gamma\delta$  T hücreler ve sitotoksik CD8<sup>+</sup> hücreler, B hücreler ve plazma hücreler de KBB'yi aşarak MSS'ye girerek lenfoid folikülleri oluştururlar.

MS hastaları için önerilegelmiş prognoz verileri mevcuttur, ancak şu zamana kadarki bilgilerimiz MS hastası bir bireyin hastalığının geleceğiyle ilgili net bilgi verecek parametrelerden yoksundur[7]. Relapsing-remitting hastalık formunun progresif formla kıyaslandığı zaman daha iyi gidişli olduğu bilinmektedir[8]. Duyusal yakınmalar veya optik nöritle başlangıcın görece optimal sonuçlar doğuracağı düşünülürken, piramidal sistemi, mesane ve bağırsak fonksiyonlarını ve serebellar sistemi etkileyen belirti ve bulguların kötü prognoza işaret ettiği bildirilmiştir[9]. MR Görüntülemeye kontrast madde tutulumu gösteren lezyon ve spinal kordda lezyonun olması uzun dönem takipte klinik kötüleşme ve sekonder progresyon için göstergelerdir[10]. T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens izlenen "kara

delik” alanlarının lezyon yüküne kıyasla klinik dizabilite ile daha iyi korale olduğu bilinmektedir.

Beyin omurilik sıvısı (BOS) beyin ve sinir dokularıyla en yakın ilişki içinde olan ve bu dokulardaki değişimleri en iyi yansıtan dokudur. BOS’ta üretilen immunglobulin G ile oligoklonal bantlar rutin olarak MS tanısını desteklemekte kullanılmaktadır. Sitokinler enflamasyon bölgesinde aktif rol oynayan intrasellüler polipeptidlerdir[11]. Sitokin profiline göre inflamasyonda rol oynayan T-lenfositler hakkında fikir sahibi olunabilmektedir. Kemokinler ise küçük protein süper-ailesidir ve inflamasyon bölgesinde lenfositler dahil pek çok farklı hücrenin göçünde rol oynamaktadır[12]. T- ve B-lenfositler tarafından salgılanan sitokin ve kemokinler inflamatuvar süreçle ilgili vermesi açısından kıymetlidir.

MS tanısının konulmasıyla beraber hastalık aktivitesi hakkında bilgi sahibi olmak bireye özgü tedavi rejimlerinin özüllülük ortaya çıkmadan düzenlenmesine olanak sağlayabilecektir. Bu nedenle, çalışmamızda MS tanısı konulduğunda yukarıda bahsedilmiş olan kötü prognostik verilere sahip olan hastalar ve kötü prognostik verileri olmayan hastaların serum ve BOS numunelerinden sitokin ile kemokin düzeyleri değerlendirilerek hastalık aktivitesini yansıtacak bir biyobelirteç belirlemek hedefi güdülmüştür. Bu amaca yönelik hedef moleküller olarak oksidatif stres göstergesi ve başlıca proinflamatuvar sitokinlerden birisi olan IL-8, miyeloid kökenli hücreler için kemoatraktan olan IL-12/IL-23p40, CD4+ T lenfositler ve B-lenfositlerin aktivasyonu ile proliferasyonu ve hayatta kalmasını regüle eden IL-21, mikrogial aktivasyonu yansıtan CHI3L1 ve son olarak B hücrelerin MSS’ye toplanması sinyali veren en güçlü kemoatraktan moleküllerden birisi olan CXCL13 belirlenmiştir[13],[14],[15],[16],[17]. Böylelikle MS’in patofizyolojisinde bilinen tüm basamaklar kapsanmaya çalışılmıştır.

## **4 GENEL BİLGİLER**

### **4.1 Multipl Skleroz Hastalığının Tanımı**

Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin (MSS) en sık görülen immun aracılı, inflamatuvar demiyelinizan hastalığıdır. Oligodendrosit hasarı ve astroglial etkileneyle beraber multifokal demiyelinizan ataklar ortaya çıkar, hastalığın tanımlayıcı kliniği olan subakut, tekrarlayan ve pek çok nörolojik sisteme ait bulgu verebilen fokal nörolojik semptom ve bulgularla seyreder. İlk defa 1868 yılında Jean Martin Charcot tarafından “Plaklı Skleroz” olarak tanımlanmıştır.

### **4.2 Multipl Skleroz Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri**

#### **4.2.1 Yaş ve cinsiyet**

Multipl skleroz, merkezi sinir sistemi (MSS) hastalıkları arasında, travmalar hariç tutulursa genç erişkinler arasında en sık özürllülük sebebi olan hastalıktır. MS hastalığının genel insidansı kadın bireyler arasında her 100000 kişide 3,6, erkek bireyler arasındaysa her 100000 kişide 2,0’dır [1]. Klinik bulgular genellikle 15-45 yaş arasında başlasa da kadın hastalarda ortalama hastalık başlangıç yaşı erkek hastalara kıyasla birkaç yıl daha erkendir [2] [18]. Hastalığın relapsing-remitting (ataklı) formu ortalama 25-29 yaşları arasında başlarken, progresif (ilerleyici) formu 39-41 yaşları arasında başlamaktadır [2].

#### **4.2.2 Otoimmünite**

Aynı kişide MS ile başka otoimmün hastalıkların da olabileceği bilinmektedir. Sistemik derlemelerde, MS'e en sık eşlik eden iki hastalık olarak psöriazis (%7,74) ve tiroid hastalıkları (%6,44) gösterilmiştir [19]. Yine aynı çalışmada, MS'in inflamatuvar bağırsak hastalıkları, üveit ve pemfigus için olası riski arttığı ifade edilmiştir. Ek olarak, Danimarka nüfus temelli kohort çalışmasında, tip 1 diyabetes mellitus'u olan bireylerin MS geliştirme riskinin 3 kat daha fazla olduğu (rölatif risk 3,26) bildirilmiştir [20]. Bir diğer retrospektif kohort çalışmasında, inflamatuvar bağırsak hastalığı olan bireylerde MS, demiyelinizasyon ve optik nörit insidansının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [21].

#### **4.2.3 Genetik yatkınlık**

MS ile ilişkisi bulunan 200'den fazla gen polimorfizmi tanımlanmıştır[22]. MS geliştirme riski söz konusu olduğunda, Major Histokompatibilite Kompleks (Major Histocompatibility Complex – MHC) sınıf I ve sınıf II alellerinin dikkat çektiği görülmektedir; özellikle HLA-DRB1 lokusu önem arz etmektedir [23]. Ayrıca Interlökin (IL) – 7 genindeki polimorfizm de MS açısından bir miktar risk içermektedir [24].

Vitamin D Yanıt Elemanı'nın (Vitamin D Response Element - VDRE) pek çok HLA-DRB1 aleli promotor bölgesinde bulunması ve vitamin D'nin bölgesel fark göstermesi sebebiyle HLA-DRB1 aleliyle etkileşim göstererek MS riski üzerinde etkili olabileceğini düşünülmüştür [25]. Önceki bir çalışma, HLA-DRB1 alel tipi ve promotor bölgesi sekans varyasyonuna göre MS riskinin 10 kata kadar değişebileceği gösterilmiştir ve koruyucu aleller olarak HLA-DRB1\*04, \*07 ve \*09 belirtilmişken

risk taşıyan aleller olarak DRB1\*15, \*16 (DR51) ve \*08 (DR8) bildirilmiştir [26]. Bununla beraber, MS insidansının yüksek olduğu bir coğrafya olan İtalya'nın Sardunya Adası'nda gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise VDRE'nin mutant ve nonfonksiyone olduğu gösterilmiştir ki bu HLA-DRB1 ekspresyonunda D vitaminin düzenleyici etkisinin sınırlı olduğunu düşündürmüştür [27].

MS olma riski üzerine ikiz kardeşlerle yürütülen çalışmalar göstermiştir ki, dizigotik ikizlerde risk %3-5 arasındadır ve ikiz olmayan bir diğer kardeşin taşıdığı riske eş değerdir ve monozigotik ikizlerde risk en az %20 olarak bildirilmiştir, hatta %39'a dek yükselebilmektedir [28].

#### **4.2.4 Çevresel risk faktörleri**

Çevresel faktörler MS riski açısından büyük öneme sahiptir. Bilhassa viral enfeksiyonlar, coğrafi faktörler, güneş ışığı maruziyeti ve Vitamin D düzeyi önemli çevresel risk faktörleri arasındadır.

##### **4.2.4.1 Viral enfeksiyonlar**

Viral enfeksiyonlara karşı immun sistemin oluşturduğu yanıtı binaen bazı viral antijenlerin otoreaktif T-hücrelerini aktive etmesi sonrasında MS'in ortaya çıktığına dair görüşler mevcuttur [29]. Pek çok viral etkenle MS arasında ilişki kurulmaya çalışılmış olmakla beraber Enfeksiyöz Mononükleoz etkeni olan Epstein-Barr Virüsü'nün (EBV) etiolojideki rolü üzerinde durulmuştur [30].

Klinik izole sendrom ve relapsing-remitting MS hastalarını inceleyen bir çalışmada hastaların %100'ünde EBV seropozitifliği gösterilmiştir[31]. Önceki bir prospektif vaka kontrol çalışması göstermiştir ki, MS başlangıcında EBV nükleer antijen-2 (EBNA-2)'ye karşı oluşturulan antikor titreleri anlamlı düzeyde yükselmektedir [32]. Bir diğer çalışma ise, EBNA kompleksi ve EBV viral kapsid antijenine karşı yüksek antikor titrelerinin MS için yüksek risk teşkil ettiğini

göstermiştir [33]. EBV enfeksiyonuna verilen yanıtın MS'in sebebi değil sonucu olabileceği, EBV enfeksiyonu ile yüksek antikor titreleri ve MS arasındaki korelasyonun kesin bir sebep sonuç ilişkisini yansıtmayabileceği tartışılabilir. MS popülasyonundaki genel topluma kıyasla çok daha yüksek oranda EBV seropozitifliği ileri çalışmaların gerekliliğini göstermektedir [34].

#### 4.2.4.2 Coğrafi faktörler

Coğrafi bölgeler arasında MS prevalansı farklılık göstermektedir. MS prevalansı her 100000 kişide görülme sıklığına göre hesaplandığında en yüksek prevalans gösteren bölgeleri Kuzey Amerika (164,6), Batı Avrupa (127), Avustralasya (91,1) oluştururken, en düşük prevalansı gösteren bölgeleri doğu Sahra-altı Afrika (3,3), orta Sahra-altı Afrika (3,1), Okyanusya (2,1) oluşturmaktadır [35].

MS prevalansı enlem ile değişiklik göstermektedir. Bilinmektedir ki, sıfırıncı enlemden kutuplara doğru gidildikçe MS prevalansı artış göstermektedir [36]. Yüksek riskli coğrafi bölgelerden düşük riskli bölgelere göçler göstermiştir ki puberte sonrasındaki yer değişikliği durumunda kişi geldiği bölgenin risk skalasına tabi olurken, puberte öncesindeki yer değişikliğiyle beraber göç edilen bölgenin riski kişi için söz konusu olmaktadır [37]. Danimarka kaynaklı nüfus bazlı bir kohort çalışması, düşük riskli coğrafi bölgelerden 15 yaş altında göç etmiş olanların kendi geldikleri coğrafyaya kıyasla yüksek, Danimarka popülasyonuna kıyasla düşük risk gösterdiklerini ve 15 yaş üstünde göç edenlerin ise geldikleri coğrafyanın riskine daha yakın bir risk gösterdiklerini tespit etmiştir [38].

#### 4.2.4.3 Güneş ışığı maruziyeti ve vitamin D düzeyi

MS ile enlem arasındaki bağlantıyı ultraviolet maruziyeti ve yüksek Vitamin D düzeyleri sağlaması nedeniyle güneş ışığının koruyucu etkisine bağlayan görüşler mevcuttur [39]. 450 klinik izole sendrom hastasıyla yapılmış prospektif bir çalışma göstermiştir ki takip eden 4 yıl içinde relapsing-remitting MS'e dönüşüm, manyetik rezonans görüntülemelerde (MRG) yeni demiyelinizan lezyon geliştirme ve MS kliniğinde progresyon ihtimalleri D vitamini düzeyiyle ters orantılıdır [40]. 469 MS

hastasıyla yapılan bir diğer 5 yıllık kohort çalışmasında hastaların kraniyal görüntüleri 3-Tesla MRG ile takip edilmiş, yüksek Vitamin D düzeyine sahip olan hastaların T2 ağırlıklı görüntülemelerde yeni demiyelinizan lezyon ve T1 ağırlıklı Gadolinium kontrastlı kesitlerde kontrast madde tutulumu gösteren lezyon riskinin istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azaldığı gösterilmiştir [41].

### 4.3 Multipl Skleroz İmmunopatogenezi

Multipl Skleroz hastalığının altta yatan sebebi net olarak bilinmemektedir [2]. Hastalığa otoreaktif lenfositlerin başlattığı immün aracılı inflamasyonun sebep olduğu düşünülmektedir [3][4]. İnflamasyon, demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon klinik bulguların altında yatan patolojik süreçlerdir [4].

Multipl skleroz immünopatogenezi tetikleyen hücrelerin T-lenfositler olduğu düşünülmekteydi ve özellikle T-Helper1 (Th1) hücrelerin inflamasyondan sorumlu olduğu görüşü hakimdi. Hayvan çalışmaları CD4<sup>+</sup> Th1 hücrelerinin İnterferon Gama, Tümör nekroz faktör alfa, İnterlökin (IL) -2 gibi proinflamatuvar sitokinleri salgılayarak inflamasyona yatkın ortam hazırladığını göstermiştir[42]. Son çalışmalar ise Th17 lenfositlerin periferik dokulardan MSS'ye giriş yaparak inflamasyon başlangıcında büyük rol aldığını göstermiştir[5]. Th17 lenfositlerden salgılanan IL-17 ve IL-22, KBB'nin geçirgenliğinin artmasına yol açar ve daha fazla Th17'nin KBB'yi geçmesini sağlayan kaskadı başlatır[6]. Sadece Th17 lenfositler değil, Th1,  $\gamma\delta$  T hücreler ve sitotoksik CD8<sup>+</sup> hücreler, B hücreler ve plazma hücreler de KBB'yi aşarak MSS'ye girerek lenfoid folikülleri oluştururlar. CD4<sup>+</sup> Th2 hücreleri ise ortama IL-4, IL-5 ve IL-10 salgılayarak proinflamatuvar Th1 yanıtını kontrol etmeye çalışır[43]. CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin MS immünopatogeneziindeki rolünün MHC-I ile antijen sunan nöronlar, oligodendrositler gibi hücreleri sitotoksikite ile direk hasarlaması ve aksonal patolojiyi tetiklemesi olduğu tespit edilmiştir[44]. Diğer inflamatuvar ve enfeksiyöz süreçlerde olduğu gibi MS'te de kazanılmış immünitenin başlıca hücresel elemanı MHC-I pozitif CD8<sup>+</sup> T hücrelerdir ve MSS'de

yeni inflamatuvar bir durum ya da MS'deki gibi aktif nörodejenerasyon bölgesi ortaya çıktığında bu alanda nadiren CD4<sup>+</sup> T lenfositler görülmektedir[45]. MHC-II haplotiplerine göre MS yatkınlığı göz önünde bulundurulduğunda CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin inflamasyon başlangıcında rol aldığı, ancak devam eden inflamasyon, demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon süreçlerinde etkin olmadığı düşünülmektedir[24].

MS hastalarının BOS'unda yüksek miktarda İmmunglobulin G (IgG) bulunması, oligoklonal bant saptanması ve Rituksimab, Okrelizumab gibi CD-20 monoklonal antikorların tedavide etkili olması Multipl Skleroz immunopatogenezinde B hücrelerin rolü olduğunu düşündürmüştür[46],[47],[48]. Plaklardaki B-lenfositlerin otoantijen sunarak T-hücre aracılı inflamasyonu tetiklediği düşünülmekle beraber yine MS plaklarında tespit edilen plazma hücrelerinin IL-10 salgılayarak inflamasyonu kontrol edici rolü üstlendiği öngörülmektedir[49]. Bununla beraber, inflamatuvar yanıtın önemli bir bölümü geniş periventriküler aralıklar olan Virchow-Robin aralıklarında ve meningeal alanda toplanır ve bu bölgelerdeki birikimler üçüncül lenfoid folikülleri andırır[50]. Ayrıca patoloji çalışmalarında sekonder progresif MS hastalarında meningeal sekonder lenfoid foliküller tespit edilmiştir[50]. Sekonder lenfoid folikül benzer yapılarda yüksek düzeyde proliferen olan B lenfositler ile plazma hücreleri, T-lenfositler ve dendritik hücreler bulunmuştur. Lenfoid folikül oluşumu ve bu yapıların hastalık boyunca süreklilik arz etmesi, sürekli inflamasyon ve humoral yanıtın devamını sağlayan bir antijenin varlığını düşündürmektedir, ancak bu antijenin ne olduğu henüz bilinmemektedir[3]. MSS ve BOS'taki B hücre popülasyonlarının birbiriyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir[51]. BOS'taki IgG ve Oligoklonal Bant (OKB) sentezinden B lenfositler sorumlu olup B-lenfosit deplesyonu yapan tedavilerden sonra dahi OKB'nin pozitifliğinin devam etmesi olgunlaşmış B hücrelerin bu tedavilerden etkilenmediğini düşündürmüştür[52].

Beyaz cevherde subkortikal ya da periventriküler bölgede, beyin sapında, spinal kordda, optik sinirde yer alan, sınırları belirli, primer demiyelinizasyon ve astrosit hasarıyla karakterize plak formasyonu MS patolojisindeki klasik bulgudur[53],[45]. Plak formasyonu sadece beyaz cevherde sınırlı değildir, aynı zamanda gri cevherde ve derin yapılardaki nükleuslarda da izlenmektedir[54].

Sadece demiyelinizasyon değil beyaz ile gri cevherde nöron kaybı ve aksonal hasardan bahsedilir ki bu fonksiyonel olarak kompanse edilebilir limiti aştığı zaman hastada geri dönüşümsüz özürlülük olarak kendisini gösterir[55]. Fokal demiyelinizan hasar kısmen ya da tamamen remiyelinizasyonla tamir edilebilir, ancak remiyelinizasyon potansiyeli kişiler arasında farklılıklar göstermektedir[56]. Bahsedilmiş olan fokal değişikliklere ek olarak normal görünen gri ve beyaz cevherde devam eden nörodejeneratif süreç mevcuttur ve bu süreç sebebiyle beyin ve/veya etkilenen ilgili alanlar ile spinal kordda atrofi ortaya çıkmaktadır[45].

Fokal inflamatuvar demiyelinizan plaklar incelendiğinde perivasküler alanda ağırlıklı olarak klonal artış gösteren CD8<sup>+</sup> T hücreleri tespit edilirken daha az sıklıkla CD4<sup>+</sup> T lenfositler,  $\gamma\delta$  T lenfositler, monositler ve nadiren B-lenfositler ile plazma hücreleri izlenmektedir[57],[58]. Aktif lezyon bölgelerinde miyelin debrislerini fagosite etmiş makrofajlar tespit edilir[59]. Ortamda kompleman elemanları ve immunglobulin birikintileri gözlenir[59]. Erken evre relapsing-remitting MS (RRMS) hastalarındaki patolojik plak görüntüsü MRG’de kontrast tutulumu ile kendini gösterirken progresif faza geçildiğinde plakların MRG’de kontrast tutulumu gösterme oranının düştüğü izlenmiştir[60]. Progresif fazdaki hastalarda son yıl içinde klinik ya da radyolojik olarak hastalık aktivitesi tespit edilebiliyorsa MSS’de inflamasyonun diğer enfeksiyöz veya inflamatuvar hastalıklar düzeyinde olacak şekilde devam ettiği, şayet son yıl içindeki kontrollerde hastalık aktivitesine dair bulgu yoksa o zaman MSS’deki inflamasyonun bireyin kendi yaş gurubuyla eşdeğerde olduğu tespit edilmiştir[61]. RRMS hastalarında kazanılmış immünitenin etkisiyle aktif demiyelinizasyon ve nörodejenerasyonun sürdüğü plak alanlarında aktive mikrogliya ve dokuya penetre olmuş makrofajlar izlenmekteyken progresif tip hastalıkta bu sürecin difüz olarak normal görünümlü gri ve beyaz cevheri de etkilediği tespit edilmiştir[45]. Hastalığın progresif tipinde plak karakteristikleri değişmektedir: Plaklarda kademeli genişleme gözlenir ki myelin debrislerini fagosite etmiş makrofajların bu genişleyen lezyonların periferinde sıkıştığı izlenmektedir, normal görünümdeki beyaz cevherde difüz inflamasyon söz konusudur, yaygın aksonal hasar görülür[3]. Ayrıca, nöronal kaybın ve spinal aksonal kaybın meningeal inflamasyonla ilintili olduğu gözlenmiştir[3]. Yüzü aşkın MS hastasının dahil edildiği nöropatoloji çalışması, otopsi sonuçlarında sekonder progresif tip ve primer

progresif tip MS arasında beyaz cevherdeki plakların yayılımı ve aktif, kronik aktif (yavaşça genişleme gösteren) ve inaktif plakların beyaz cevherde görülme sıklığı açısından bir fark tespit edememiştir[62].

Hastalığın inflamatuvar ve dejeneratif süreçlerinden farklı mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmüştür[63]. Dejeneratif süreçlerden sorumlu mekanizmaların demiyelinizasyona sekonder Wallerian dejenerasyon, aksonal hasar, reaktif oksijen radikalleri ile nitrit oksitin yarattığı hasar olduğu düşünülmektedir[64],[65]. Bununla beraber, dejeneratif sürecin kan-beyin bariyeri arkasında periferik regülasyondan bağımsız olarak gerçekleşen inflamatuvar sürecin sonucu olarak gerçekleştiğine dair alternatif bir başka teori daha vardır. RRMS'te MSS'ye periferden geçiş yapan T hücrelerin ve edinilmiş bağışıklık sisteminin baskın olması; sekonder progresif evrede aktive monositlerin, astrosit ve oligodendrosit hasarına yol açtığı doğal bağışıklık sisteminin baskın olması mümkün olabilir[3].

MS'te immunopatolojik 4 patern tanımlanmıştır: Patern 1'de T hücreler ve makrofajlar baskındır, Patern 2'de ek olarak immunglobulin ve kompleman birikimi vardır, Patern 3'te apoptotik oligodendrosit ölümü izlenirken Patern 4 en nadir form olmakla beraber non-apoptotik oligodendrosit ölümü izlenmiştir[63]. Gözlenen bu sınıflamanın belirli bir hastalık alt grubuna değil, hastalığın bireydeki evresine göre farklılaştığı düşünülmüştür[66].

#### **4.4 Multipl Skleroz Klinik Belirti ve Bulguları**

Multipl Skleroz'a ait belirti ve bulguların akut veya subakut süreçte ortaya çıkan ataklar şeklinde olması ya da zaman içinde ilerleyici olarak seyrederek progresif olması beklenmektedir [67]. MS'e özgün bir klinik bulgu olmamakla beraber MSS'nin bir bölümünün etkilenmesine bağlı fokal ya da birden çok bölgenin etkilenmesine bağlı multifokal belirti ve bulgularla karşılaşılabilir [67]. Kortikal etkilenime sekonder ortaya çıkan afazi, apraksi, görme alanı defekti gibi yüksek kortikal disfonksiyonlarla karşılaşılması MS için atipiktir.

MS için tipik bulgular arasında kendiliğinden gerileyen bulgularla giden ataklı seyir, 15 ile 50 yaş arasında başlangıç, optik nörit, boyun fleksiyonuyla ortaya çıkan ve omurga boyunca yayılan elektriklenme hissi olarak tanımlanan Lhermitte fenomeni, internükleer oftalmopleji, artan vücut sıcaklığıyla beraber varolan nörolojik bulguların kötüleşmesi ya da belirginleşmesi olarak tanımlanan Uhthoff fenomeni sayılabilir. Bununla beraber, 10 yaşından genç ve 50 yaşından geç başlangıç, afazi, apraksi ya da aleksi gibi yüksek kortikal fonksiyonların kaybı, rijidite, distoni, nöbet, dakikalar içinde gelişen nörolojik disfonksiyon gibi durumlar MS'i kesin olarak dışlamamakla beraber atipik bulgular arasında sayılabilir.

Richards ve arkadaşlarının çalışmasına göre en sık tespit edilen klinik bulgular olan ekstremitelerde duyu kaybı kliniğiyle karşılaşma sıklığı %31, görme kaybıyla karşılaşma sıklığı %16, multifokal bulgularla karşılaşma sıklığı %14, subakut motor kayıpla karşılaşma sıklığı %9, diplopiyle karşılaşma sıklığı %7'dir [68].

Ataklar, MSS'nin bir bölümünü etkileyerek fokal ya da birden çok bölgeyi tutan multifokal, iyileşme gösterebilen ya da göstermeyen bulgu ve belirtilere yol açabilir[69]. Akut veya subakut süreçte ortaya çıkan belirtilere enfeksiyon bulguları ya da ateş eşlik etmiyorsa ve hastanın sübjektif yakınmaları ya da objektif muayene bulguları 24 saatten uzun sürüyorsa atak olarak kabul edilir[69]. Şayet kişinin MS tanısı yoksa ve yukarıda tarif edildiği şekilde ilk klinik atağı geçiriyorsa bu monofazik klinik epizoda Klinik İzole Sendrom (KIS) denilmektedir ve KIS için tipik klinik bulgular, unilateral optik nörit, fokal supratentoriyel sendrom, fokal beyin sapı ya da serebellar sendrom, parsiyel miyelopati [69]. Atipik klinik bulgular arasında bilateral optik nörit, tam oftalmopleji, tam seviye miyelopati, ensefalopati, baş ağrısı, meningeal irritasyon bulguları, bilinç durumunda bozulma sayılabilir [70].

Ateş, egzersiz, ısıya maruziyet gibi vücut sıcaklığını arttıran hallerde, enfeksiyonlarda, metabolik bozukluklar ve diğer tıbbi hastalıklarda MS hastalarında var olan belirtilerin kötüleşmesi söz konusu olabilir. Bu durumlara yalancı atak denilmektedir. Ayrıca atağı geçici paroksizmal semptomlar olan Lhermitte fenomeni, tonik spazm, trigeminal nevraljiden ayırt etmek gerekir. Yalancı atak ve geçici paroksizmal semptomların 24 saatten uzun sürmediği ve gün içinde değişkenlik gösterdiğine dikkat edilmelidir. Ek olarak, multifokal seyirli, dalgalı ve kademeli

kötüleşmeyle giden klinik tablolarda bir atakla mı yoksa peşi sıra gelişen farklı ataklarla mı karşı karşıya kalındığını ayırt etmek güç olabilmektedir[71]. Dolayısıyla, McDonald kriterlerinin 2017 revizyonunda iki farklı ataktan bahsetmek için 30 günlük stabil bir seyir ya da iyileşme periyodunun aşılmış olması gerektiğinden bahsedilmiştir[69].

#### **4.5 Multipl Skleroz Klinik Alt Tipleri**

MS'in klinik fenotiplerinin doğru tanımlanması hekimler arasındaki iletişimi kolaylaştıracak, doğru tedavi kararının oluşturulması ve klinik çalışmaların doğru tasarlanmasını sağlayacaktır. Bu amaçla 1996 senesinde ABD Ulusal Multipl Skleroz Derneği Multipl Sklerozda Klinik Araştırmalar Danışma Komitesi MS'in fenotiplerini 4 alt gruba ayırmıştır: Relapsing-Relmitting MS (RRMS), Sekonder Progresif MS (SPMS), Primer Progresif MS (PPMS) ve Progresif Relapsing MS (PRMS) [72].

2014 yılında Lublin ve arkadaşları MRG verileri ve biyolojik marker da göz önünde bulunduran yeni bir alt tiplere önermiş ve bugüne dek gerek klinisyenler gerek araştırmacılar tarafından yaygınca kullanılır olmuştur[73]. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, alt tipler hastanın anamnezi ve klinik duruma göre progresif (ilerleyici) veya relapsing (ataklı) olarak gruplanabilse de bu tanımlamalar hastalığın gidişatına ilgili bilgi sunmadığı için hastalık aktivitesi ve progresyonuyla ilgili tanımlamaların yapılmasının hastalığın anlık durumuyla ilgili daha sağlam bilgiler vereceği öne sürülmüştür. Dolayısıyla hastalık tanımlamasına “aktif”/”aktif değil” ve “progresif”/”progresif değil” alt başlıkları da eklenmiştir.

Hastalığın aktivitesinden bahsedildiği zaman klinik atak varlığı, T1 ağırlıklı kontrastlı MRG kesitlerinde kontrast tutulumu gösteren lezyon olması ya da T2 ağırlıklı MRG kesitlerinde yeni veya genişleyen lezyon saptanması durumları kastedilmiştir. Progresif MS hastalarında hastalık progresyonundan bahsedilmesi önerilmiş olup progresyon durumu ataklardan bağımsız olarak belirli bir süre

zarfında hastalığın progresyonuna ait klinik verilerin bulunması olarak tanımlanmıştır.

2020 yılında Lublin ve arkadaşları tarafından bir güncelleme yazısı yayınlanmış olup hastalık aktivitesi, progresyon ve kötüleşme kavramları tekrar vurgulanmıştır[74]. Bu yazıdaki öneri, progresyon kavramının progresif faz MS söz konusu olduğunda (SPMS ya da PPMS) ataklardan bağımsız olarak engelliliğin tahakkuk edilmesi için kullanılması şeklindedir. Ayrıca ister geçirilmiş veya geçirilmekte olan bir atağa bağlı ister progresif hastalık halinde olsun tespit edilmiş engellilik durumundaki artışın kötüleşme tabiriyle ifadesi önerilmiştir.

2014 yılında yapılmış MS alt tipleri sınıflamasında Primer Progresif MS (PPMS) ve Sekonder Progresif MS (SPMS) tanımlamaları yapılırken eş zamanlı yeni bir alt tip olarak Klinik İzole Sendrom ifade edilmiştir; ek olarak, MS alt tipi olarak kabul edilmese de Radyolojik İzole Sendrom (RIS) tanımlaması yapılmıştır[73].

#### **4.5.1 Klinik izole sendrom**

Klinik İzole Sendrom (KIS), inflamatuvar demiyelinizasyon karakterini taşıyan, fakat tanı kriterlerindeki mekanda yayılım kriterini karşılamayan ilk klinik atak olarak tanımlanmıştır[73]. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, MRG'deki lezyon yükü göz önünde bulundurulduğunda KIS'in klinik olarak kesin MS'e dönüşme riski artmaktadır[75]. Ayrıca KIS hastalarına erken dönemde birinci basamak hastalık modifiye edici tedavilerin başlanması ile klinik olarak kesin MS'e dönüşmede gecikme elde edildiğinin görülmesi ile bu tanımlamanın MS hastalığının bir alt tipi olduğu gösterilmiştir[76].

#### **4.5.2 Radyolojik izole sendrom**

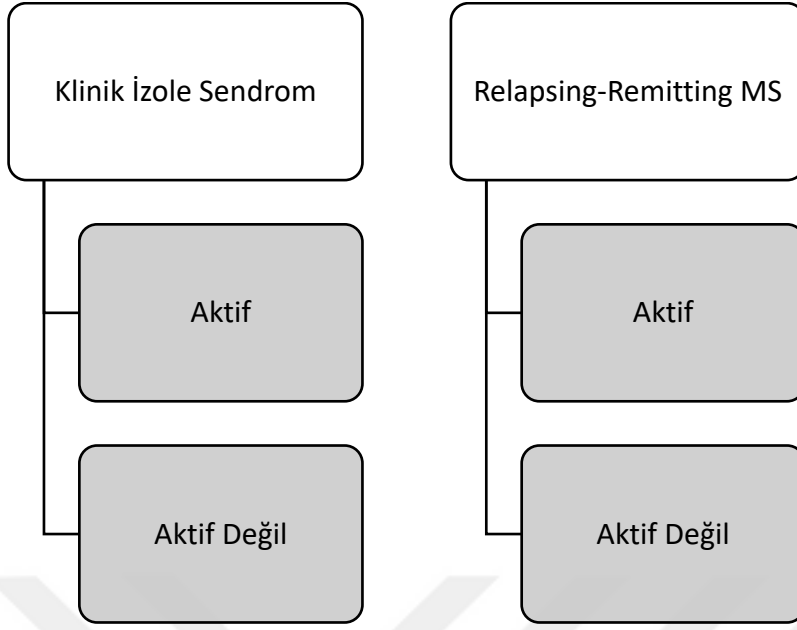
MRG’de tesadüfen inflamatuvar demiyelinizasyonu gösteren lezyonlarla karşılaşılması, ancak öykü ya da muayenede bunları açıklayacak belirti ya da bulguların olmaması durumudur[73]. RIS, MS’in alt tipi olarak kabul edilmemiştir, çünkü tanı sadece MRG’ye dayanarak konulmamaktadır ve bu durumda MS tanı kriterleri doldurulamamaktadır. Beyin MRG’de görülen demiyelinizan karakterdeki lezyonlar, MS’e dönüşüm riskini yükseltmektedir[77]. Bununla beraber, bilinmektedir ki T1 ağırlıklı MRG kesitlerinde kontrast tutulumu gösteren lezyon, pozitif BOS bulguları, asemptomatik spinal kord lezyonları hastanın sonunda MS tanısı alma olasılığını iyiden iyiye arttırmaktadır[78], [79].

#### **4.5.3 Sekonder progresif multipl skleroz**

Sekonder progresif MS, relapsing-remitting MS seyri sırasında klinik olarak progresyonun görüldüğü, tanının retrospektif olarak konulabildiği ilerleyici hastalık fazıdır ve bu MS alt tipine akut kötüleşme periyotları eşlik edebileceği gibi etmeyebilir de[73]. RRMS’ten SPMS’e geçiş kademeli olarak gerçekleşmektedir ve henüz bu geçişi öngörebilen klinik, immünolojik, patolojik, görüntülemeye dayalı kriterler söz konusu değildir[73].

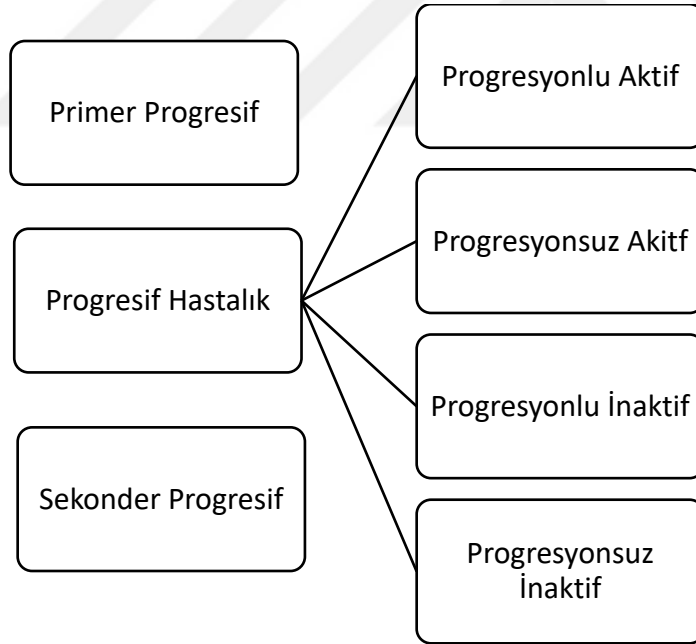
#### **4.5.4 Primer progresif multipl skleroz**

MS’in bir alt tipi olarak kabul edilen PPMS’te progresif hastalık fazından önce ataklarla ve tam ya da kısmi düzelmelerle giden periyot izlenmemektedir[73]. RRMS ile kıyaslandığında inflamasyonun daha kısıtlı potansiyelle ilerlediği ve kan-beyin bariyerinin ardında gerçekleştiği öne sürülmüştür[80].



Şekil 1. Relapsing-Remitting (Ataklı) MS Alt Tipleri

Aktif = Klinik atak, T1 ağırlıklı kontrastlı kesitlerde kontrast tutan lezyon ya da T2 ağırlıklı kesitlerde yeni veya büyüyen lezyon



Şekil 2. Progresif MS Alt Tipleri

Aktif = Klinik atak, T1 ağırlıklı kontrastlı kesitlerde kontrast tutan lezyon veya T2 ağırlıklı kesitlerde yeni veya büyüyen lezyon

Progresyon = Yıllık klinik değerlendirmeye göre özürlülük durumunda ya da klinikte ilerleme

#### 4.6 Multipl Skleroz Tanı Kriterleri

Multipl Skleroz tanısı klinik bir tanıdır. Tanıda en önemli veriler hasta kişinin öyküsü ve muayenesinden elde edilirken tanı başlıca bu iki sorgulamadan elde edilen veriler üzerine kurulur. Gerek klinik uygulamalarda gerekse klinik araştırmalarda tanı için 2017 yılında revize edilen McDonald kriterleri kullanılmaktadır. Bu kriterler ayırıcı tanı yapılması için geliştirilmemiş olup demiyelinizan hastalık düşündüren atak bulgularıyla başvuran klinik izole sendrom halinde ya da ilerleyici özürllülükle giden primer progresif MS düşünülen hasta bireylere uygulanabilir[69]. Ayrıca bu kriterlerin uygulanabilir olması için hastanın klinik durumunu açıklayacak daha iyi bir senaryonun söz konusu olmadığı unutulmaması gerekir.

McDonal kriterlerinin 2017 revizyonunda MS açısından değerlendirilmekte olan tüm hastalara beyin MRG'si çektilmesi önerilmiştir ve hastanın öyküsü, klinik bulguları, görüntüleme ve laboratuvar verilerinin tümünün değerlendirilmeye alınmasıyla beraber doğru ve güvenilir tanıya gidilmesi önerilmiştir[69]. Ayrıca tanı kriterlerinden bahsetmeden önce kriterlerde aranan birkaç tanımı netleştirmek gerekmektedir. Mekanda yayılım, MSS'nin 4 farklı bölgesi olan periventriküler, kortikal ya da jukstakortikal, infratentoriyel ve spinal alanlardan en az 2'sinde bir ya da daha fazla T2 ağırlıklı MRG kesitlerinde hiperintens lezyon varlığını; zamanda yayılım, MR görüntülemelerde T2 ağırlıklı MRG kesitlerinde bazal görüntülemeye kıyasla yeni lezyon oluşumunu ve/veya eş zamanlı T1 ağırlıklı kontrastlı MRG kesitlerinde kontrast madde tutan ve tutmayan lezyonların varlığını; objektif klinik bulgu, klinik atağa sebep olan lezyona ait muayene, görüntüleme ya da elektrofizyolojik bulgusu olmasını ifade etmektedir[69].

Multipl Skleroz Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2018'de yer alan Türkçe diline uyarlanmış 2017 revize edilmiş McDonald Tanı kriterleri şu şekildedir[81]:

Tablo 1. 2017 Revize Edilmiş McDonald Tanı Kriterleri [81]

| Klinik Atak      | Objektif Klinik Bulgusu Olan Lezyon Sayısı                                        | Tanı İçin Gereken Ek Veri                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ≥2 atak          | ≥2                                                                                | Yok <sup>1</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ≥2 atak          | 1 ve anamnezde başka bölge lezyonuna ait atak <sup>2</sup>                        | Yok <sup>1</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ≥2 atak          | 1                                                                                 | MSS'nin farklı alanındaki lezyona ait yeni atak ya da MRG <sup>3</sup> 'de mekanda yayılımın tespiti                                                                                                                                                                                             |
| 1 atak           | ≥2                                                                                | Ek klinik atak ya da MRG <sup>4</sup> 'de zamanda yayılımın olması veya BOS-spesifik OKB <sup>5</sup> mevcudiyeti                                                                                                                                                                                |
| 1 atak           | 1 lezyonun objektif klinik bulgusu                                                | MSS'nin farklı alanındaki lezyona ait yeni klinik atak ya da MRG <sup>3</sup> 'de mekanda yayılımın olması ile ek klinik atak veya MRG <sup>4</sup> 'de zamanda yayılımın olması ya da BOS-spesifik OKB <sup>5</sup> mevcudiyeti                                                                 |
| Sinsi progresyon | 1 yıllık klinik progresyon (ataktan bağımsız olarak retrospektif veya prospektif) | Aşağıdakilerin ikisi;<br><ul style="list-style-type: none"> <li>• MS için tipik (periventriküler, kortikal ya da jukstakortikal veya infratentoryal) alanlarda bir ya da daha fazla lezyon</li> <li>• Spinal kordda 2 ya da daha fazla lezyon</li> <li>• BOS-spesifik OKB mevcudiyeti</li> </ul> |

<sup>1</sup> Mekanda ve zamanda yayılım için ek bir test gerekmemekle birlikte beyin MRG tüm hastalar için mevcut olmalıdır. Tanı için yeterli klinik ve MRG verisi olmayanlarda, tipik klinik izole sendrom vasıfları taşımayanlarda, atipik özellikleri olanlarda ek olarak spinal kord MRG ve BOS tetkiki önerilmektedir. Bu tetkikler söz konusu değilse veya negatifse MS tanısı konulmadan hasta tekrar değerlendirilerek alternatif tanımlar gözden geçirilmelidir.

<sup>2</sup> Klinik atak için objektif nörolojik bulgulara dayanan klinik tanı en güveniliridir. Anamnezdeki atak için objektif nörolojik bulgular yoksa, anamnez inflamatuvar demiyelinizan olay için tipik semptom ile klinik gelişim özelliklerini göstermelidir. Fakat en az bir atak objektif nörolojik bulgularla desteklenmelidir. Objektif kanıtlar mevcut değilse tanıda dikkatli olunması önerilir.

<sup>3</sup> MRG'de mekanda yayılım, MS için tipik bölgeler olan periventriküler, kortikal ya da jukstakortikal, infratentoryal ve spinal kord alanların iki ya da daha fazlasında bir veya daha fazla lezyon olması olarak tanımlanmıştır.

<sup>4</sup> MRG'de zamanda yayılım, herhangi bir zamana ait MRG'de kontrast tutan ve tutmayan lezyonların eş zamanlı mevcudiyeti veya takip MRG'de referans MRG'ye göre yeni bir T2 lezyonun veya kontrast tutan lezyonun bulunması durumudur.

<sup>5</sup> BOS-spesifik OKB varlığı zamanda yayılımı göstermemekte olup tanıda zamanda yayılım yerine geçmek üzere kullanılabilir.

MS: Multipl Skleroz, MSS: Merkezsinir sistemi, MRG: Manyetik rezonans görüntüleme, BOS: Beyin omurilik sıvısı, OKB: Oligoklonal band

Ayırıcı tanı yapılırken kırmızı bayraklar olarak ifade edilebilecek klinik belirti ve bulgulara dikkat edilmesi önerilmektedir, kırmızı bayraklar aşağıda belirtilmiştir. Atipik klinik bulguların varlığı MS tanısını dışlamazken diğer alternatif tanıların gözden geçirilmesini gerekli kılabilir[70].

- Hiperakut başlangıç,
- Birkaç dakika ya da saniyeyle sınırlı semptomlar,
- Ensefalopati,
- Leptomeningeal irritasyon bulguları,
- Nonspesifik nörolojik semptomlar veya bulgular,
- Ensefalopati,
- Ağır seyirli, iyileşme pek göstermeyen optik nörit,
- Kortikal disfonksiyon bulguları,
- Eş zamanlı bilateral optik nörit,
- Çoklu kraniyel nöropatiler,
- Tam oftalmopleji,
- Tam seviye transvers miyelit,
- Spinal MRG’de longitudinal yaygın transvers miyelit,
- Bir anatomik bölgeye lokalize belirti ve bulgular,
- Hızlı progresyon,
- Remisyon gözlenmemesi,
- Ateş, kilo kaybı, gece terlemesinin eşlikçi bulgular olması.

#### **4.7 Multipl Sklerozda Atak Tedavisi**

Kişinin fonksiyonelliğini etkileyen güçsüzlük, diplopi, görme kaybı, dengesizlik gibi yakınmalarla beraber bu şikayetleri destekler nitelikte objektif muayene bulgularının olması akut atak tedavisini gerektirmektedir. Bununla beraber, hafif duyuşsal ataklar gibi fonksiyonellik üzerine etkisi bulunmayan ataklarda akut atak tedavisine gereksinim olmayabileceği gibi kişiye verdiği rahatsızlık arttığı hallerde atak tedavisi

gerekli olabilir. Atak tedavisinin esas hedefi atak kliniğinde hızlıca toparlanmayı sağlamaktır. Atak tedavisinin uzun dönem özürllülük ve hastalık progresyonu üzerine etkisi olmadığı bilinmektedir[82].

MS atak tedavisinde en çok önerilen kısa süreli yüksek doz intravenöz metilprednizolon uygulamasıdır. Hastanın klinik durumuna göre günlük 500-1000 mg metilprednizolonun 3 ile 10 gün arasında uygulanması önerilmektedir[83]. Glikokortikoid tedavisi öncesinde olası enfeksiyonlar sorgulanmalı ve enfeksiyon tespit edilirse tedavisi uygulanmalıdır, çünkü yüksek doz glikokortikoidla beraber enfeksiyonun kötüleşmesi ihtimali söz konusu olabilir. Yüksek doz glikokortikoid tedavisini tolare edemeyen hastalar için adrenokotikotropik hormon (ACTH) uygulanması bir başka seçenek olabilmektedir.

Ağır klinikle seyreden, ileri özürllülük bırakma ihtimali söz konusu olan, yüksek doz metilprednizolon tedavisine yanıt vermeyen MS ataklarında plazmaferez uygulanması akut atak tedavisinde önerilmektedir[84].

Her atak özürllülük bırakma potansiyeli gösterdiği için gerek klinik gerek radyolojik hastalık aktivitesiyle karşı karşıya olunduğunda immunmodulator tedavilere başvurmak gerekir[85].

#### **4.8 Multipl Sklerozda İmmunmodulator Tedaviler**

Hastalık modifiye edici tedaviler (HMET) kullanımının amacı, MS ataklarının önüne geçmek, zamanla artabilecek özürllülüğü düşürmek ya da düşük seviyede tutmak ve MSS'deki inflamasyon ve nörodejenerasyonu azaltmaktır[86]. HMET'lerin RRMS hastalarında yakın gelecek için özürllülük progresyonunu azalttığı bilinmektedir[87].

HMET'ler kullanım şekillerine göre 3 gruba ayrılabilirler:

1. Enjeksiyon tedavileri: Rekombinant Interferon Beta1A, Rekombinant Interferon Beta1B, Glatiramer Asetat, Ofatumumab bu gruptadır. Interferon'lar ve Glatiramer Asetat en uzun süredir MS'te kullanılan ilaçlar olmaktadır ve genel olarak birinci basamak tedaviler olarak kabul

edilmektedir. Ofatumumab ise bir CD20 monoklonal antikorudur ve selektif B hücre deplesyonuna sebep olur.

2. Oral tedaviler: Dimetil fumarat, Fingolimod, Teriflunomid, Siponimod, Ozanimod, Kladribin oral kullanılan tedavilerdir. Enjeksiyon ve infüzyon tedavilerine göre kullanımı kolay olduğu için tedaviye uyumu düşük olan hastalarda tercih edilebilir.
3. İnfüzyon tedavileri: Natalizumab, Okrelizumab, Rituksimab, Alemtuzumab infüzyon tedavileridir. Bu gruptaki tedaviler yüksek hastalık aktivitesi gösteren hastalar için tercih edilebilmektedir.

RRMS hastasına ilk tedaviye karar verirken uzmanların tercih edebildiği iki farklı yol vardır; bunlardan birisi düşük riskli tedavilerle başlamak, ikinci ise hızlı eskalasyon tedavisidir. Hızlı eskalasyon tedavisi ile yüksek etkinlikli Natalizumab, Fingolimod, Okrelizumab gibi tedaviler hastaya uygulanarak hastalığın en başında inflamasyon, klinik atak ve radyolojik progresyonun kontrol edilmesi amaçlanmaktadır, çünkü bu süreçlerin hastalığın ilk safhasında yoğun olduğu düşünülmektedir[88]. Hızlı eskalasyon tedavisi genellikle kötü prognostik faktörleri olan, geçirdiği atakları özürzlülük bırakan, MRG’de lezyon yükü fazla olan hastalara önerilmektedir[89]. Bir diğer strateji ile RRMS hastaları İnterferon grubu ya da Glatiramer Asetat gibi enjeksiyon tedavileri veya birinci basamakta olan Teriflunomid gibi düşük riskli tedavilerle izlenir, ancak bu tedavileri yeterli süre almış olmasına rağmen klinik atakları olan ya da radyolojik olarak yeni veya kontrast tutan lezyon geliştiren hastalar daha efektif tedavilere geçirilirler[90].

#### **4.9 Multipl Sklerozda Manyetik Rezonans Görüntüleme**

Multipl Skleroz klinik bir tanı olmakla beraber, kliniği destekler başlıca teknik Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)’dir ve MS tanı kriterleri olan McDonald kriterlerinde zamanda ve mekanda yayılım göstergesi olarak tanımlanmış MRG

özellikleri söz konusudur[91],[92]. Mekanda yayılımın değerlendirilmesi için incelendiğinde MRG'nin tanısal duyarlılığı %87, özgüllüğü ise %73'tür[93].

MRG'deki MS lezyonları ya da diğer adıyla plakların özellikleri şu şekildedir[94]: Beyinde periventriküler, jukstakortikal, infratentoriyel yerleşimli olabildiği gibi spinal korda da beyaz cevherde plaklar izlenebilir. Plaklar ovoid biçimdedir ve periventriküler yerleşimli olanlar korpus kallozuma dik seyreder, bunlara "Dawson parmakları" ismi verilmektedir. Spinal kord lezyonları, kordda şişme etkisi yaratacak kadar ödemli olmadıkları gibi, iki vertebra seviyesini aşmaz, fokal olurken kordun dorsoperiferine yerleşirler. T2 ağırlıklı görüntülerde FLAIR kesitlerinde hiperintens görünürken, daha eski lezyonları T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens olduğu ve "kara delik" adını aldığı bilinmektedir. Kara deliklerin, ileri demiyelinizasyon ve aksonal kayıp için marker olduğu düşünülmektedir[95]. 7-Tesla MRG ile sadece beyaz cevherde değil, gri cevherde de plaklar tespit edilmeye başlanmıştır[96]. Gadolinium-diethylenetriamine penta-acetic acid (DTPA) kan-beyin-bariyeri (KBB) disfonksiyone olduğu zaman beyin dokusuna geçebilen bir maddedir. Aktif lezyonlarda KBB bozulduğu için Gadolinium'un intravenöz yolla verilmesi sonrasında alınan T1-ağırlıklı görüntülemelerde lezyonun kontrast madde tuttuğu gösterilmiştir ve radyolojik olarak aktif lezyon böylelikle tespit edilebilir[97].

#### **4.10 Multipl Sklerozda Yardımcı Testler**

Beyin-omurilik sıvısı (BOS) analizi ile Oligoklonal Bant (OKB) tespiti ve İmmunglobulin G (IgG) indeksi hesaplanması, uyandırılmış potansiyellerin kayıtlaması ile optik koherans tomografi çekimi klinik bulgular ve MRG yanı sıra MS tanısını koymak için kullanılacak yardımcı yöntemlerdir[69].

#### 4.10.1 BOS analizi, OKB ve IgG indeksi

MS hastalarının BOS'u berrak, saydam, kısacası normal bir görüntüde olur. Protein ve glikoz seviyesinin normal aralıkta olması beklenmektedir. BOS'ta hücre görülmesi beklenmezken çok aktif vakaların 1/3'ünde BOS'ta mikrolitrede 15 kadar hücre bulunabilmektedir ve bunlar lenfosit ağırlıklı hücreler olmaktadır[98].

İmmunglobulin G oligoklonal bant, BOS'a özgü, yani serumda karşılık gelen IgG olmayan immunglobulin G'yi temsil etmektedir. Eş zamanlı alınan BOS ve serum örneğinde izoelektrik fokuslama ile IgG miktarı ölçülebilmekte ve kıyaslanabilmektedir. MS hastalarının %87,7'sinde KIS hastalarının %68,6'sında OKB pozitifliği saptanmaktadır[46]. Başlıca 5 tip OKB mevcuttur[46]:

- Tip 1: Serumda ve BOS'ta bant yok.
- Tip2: BOS'ta bant mevcut, serumda yok.
- Tip3: Serum ve BOS'ta eş bantlarla beraber BOS'ta ek bantlar var.
- Tip4: Serum ve BOS'ta eş bantlar var.
- Tip 5: Serum ve BOS'ta monoklonal IgG bantları var.

Serum ve BOS albümin ile IgG düzeylerinin ölçülmesi ile IgG indeksi hesaplanabilmektedir ve böylelikle intratekal IgG senteziyle ilgili bilgi sahibi olunabilmektedir. IgG indeksi hesaplaması için kullanılan formül şu şekildedir:

$$\text{IgG indeksi} = (\text{IgG BOS} / \text{IgG Serum}) / (\text{Albümin BOS} / \text{Albümin Serum})$$

Normal IgG indeksi değeri 0,6'nın altındaki değerler olarak kabul edilmektedir.

MSS'de albümin sentezi yapılmamaktadır, dolayısıyla BOS ile serum albümin düzeylerinin kıyaslanması KBB sağlamlığı hakkında bilgi vermektedir. Şu formülle hesaplanmaktadır:

$$\text{Albümin oranı} = (\text{BOS Albümin} / \text{Serum Albümin}) \cdot 10^{-3}$$

Albümin düzeyi yaşla korelasyon gösterdiği için referans albümin oranı değeri ise her birey için şu formüle göre hesaplanmaktadır[99]:

$$\text{Referans albümin oranı} = (\text{Yaş} / 25) + 8$$

#### **4.10.2 Uyandırılmış potansiyelleri**

Uyandırılmış potansiyeller, periferden verilen zararsız, noninvazif elektriksel stimülasyona MSS’de oluşan yanıtın kayıtlamasıdır ve vizüel, somatosensori, beyinsapı işitsel uyandırılmış potansiyeller mevcuttur. Klinik olarak sessiz lezyonların tespit edilmesinde, MS tanısının konulmasında yardımcı tetkik olarak kullanılmaktadır[100]. 2017 McDonald kriterlerinde uyandırılmış potansiyellerin tekrar destekleyici testler arasına girdiği dikkati çekmektedir[92].

#### **4.10.3 Optik koherans tomografi**

Optik koherans tomografi (OKT), biyolojik dokulara infrared dalgaların verilmesiyle yapılan, farklı dokulardan alınan farklı yansımalar sonucunda dokuya ait görüntülerin elde edildiği noninvazif bir yöntemdir. OKT sayesinde noninvazif bir şekilde retinaya ait görüntüler elde edilebilmektedir. MS tanısında özellikle retinal sinir lifi tabakasının (RSLT) ölçümü önem arz etmektedir, çünkü optik nörit geçmişi olan bireyde retrograd dejenerasyon ile RSLT tabakasında incelme tespit edilebilir[101],[102]. RSLT’deki incelme optik nöriti takip eden 3 ay içerisinde ortaya çıkmaktadır[101].

## 4.11 Multipl Sklerozda Kötü Prognoz Verileri ve Biyomarkerlar

### 4.11.1 Kötü prognoz verileri

MS hastaları için önerile gelmiş prognoz verileri mevcuttur, ancak şu zamana kadarki bilgilerimiz MS hastası bir bireyin hastalığının geleceğiyle ilgili net bilgi verecek parametrelerden yoksundur[7].

Relapsing-remitting hastalık formunun progresif formla kıyaslandığı zaman daha iyi gidişli olduğu bilinmektedir[103]. Geri dönüşümsüz özürlülük haline ulaşmak için geçen hastalık süresi progresif hastalarda daha kısayken, relapsing-remitting MS'li hastalarda bu süre görece daha uzundur; fakat geri dönüşsüz özürlülük için belirlenmiş EDSS skoru 4'ten sonra progresyonun benzer hızda gittiği tespit edilmiştir[104]. Relapsing-remitting MS hastalarının da önünde sonunda progresif faza gireceği bilinmektedir ki prognostik veri açısından elle tutulur en kötü prognoz göstergesi progresif sürece girmiş olmaktır. Geçmiş veriler, relapsing-remitting döneminde geçirilen ataklardan bağımsız olarak sekonder progresif faza girildiğini düşündürmüştür[105].

Hastalığın klinik tipi kadar başlangıç semptomlarının da kayda değer olduğu gösterilmiştir. Duyusal yakınmalar veya optik nöritle başlangıcın görece optimal sonuçlar doğuracağı düşünülürken, piramidal sistemi, mesane ve bağırsak fonksiyonlarını ve serebellar sistemi etkileyen belirti ve bulguların kötü prognoza işaret ettiği bildirilmiştir[9]. Ayrıca uzun vadede progresif faza ulaşmak açısından monosemptomatik başlangıcın polisemptomatik hastalık başlangıcına göre daha iyi bir gösterge olduğu tespit edilmiştir[105].

Klinik izole sendrom hastalarının uzun dönem takiplerinde gösterilmiştir ki MR Görüntülemeye kontrast madde tutulumu gösteren lezyon ve spinal kordda lezyonun olması uzun dönem takipte klinik kötüleşme ve sekonder progresyon için göstergelerdir[10]. Hastalık aktivitesi ve patolojisini yansıtan görüntüleme verileri lezyon yükü ve beyin atrofisidir[106]. Lezyon yükü T2 ağırlıklı kesitler ile FLAIR

(Fluid-Attenuated Inversion Recovery) kesitlerinde MS plaklarının hiperintens görüntülenmesiyle tespit edilir, seri MRG takiplerinde T2 lezyonlarının sayısında artış ve lezyonların genişlemesi takip edilmektedir. Beyinde hem gri cevherde hem de beyaz cevherde atrofi görülmektedir. T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens izlenen “kara delik” alanlarının lezyon yüküne kıyasla klinik dizabilite ile daha iyi korele olduğu bilinmektedir. Ek olarak, beyindeki lezyon yüküyle klinik özürölülük hali korelasyon göstermeyebilir, çünkü MRG’de spinaldeki ve infratentoriyeldeki lezyonlar atlanabilir, spinal korddaki lezyonlar klinik tabloyu belirgin olarak kötüleştirebilir ve kraniyelde fonksiyonel olarak anlamlı alanları tutan lezyonlar klinik olarak tespit edilebilir[107].

Cinsiyet ve hastalık progresyonu konusunda birbiriyle çatışan veriler vardır. Longitudinal bir çalışmada erkek cinsiyet ile hastalık progresyonu arasında bağlantı tespit edememişken, bir başka çalışmada erkek hastaların sekonder progresif evreye daha erken ulaştığı gösterilmiştir[103],[108]. Bir diğer demografik özellik olan hastalık başlangıç yaşı değerlendirildiği zaman, 30-35 bandından geç yaşta MS başlangıcının klinik özürölülükte görece daha hızlı artışa yol açtığı bildirilmiş ve denilmiştir ki her ne kadar hastalık başlangıç yaşı keskin bir sınır tanımlamasa da hastaları klinik olarak gruplama konusunda yardımcı veri olabilecektir[109].

#### **4.11.2 Biyobelirteçler**

Normal biyolojik süreci, patolojik bir süreci ya da tedavi yanıtını objektif olarak ölçebilen ve değerlendirmeyi sağlayan karakteristik belirtiye biyomarker denilmektedir[110]. MS hastalığı için hali hazırda kullanımda olan biyomarkerlar oligoklonal bant, MRG verileri ve John Cunningham virüsü (JCV) antikor titresidir. Ayrıca araştırma sürecinin devam ettiği Nörofilament hafif zincir, Osteopontin, Protein chitinase 3-like1 ve C-X-C Motif Ligand 13 molekülleri mevcuttur.

Multipl skleroz hastalarının BOS’unda artmış immunglobulin sentezi hastalığın belirtici olarak kabul edilmiş ve tanıda kullanılmaktadır. Oligoklonal bant, BOS’a özgü, yani serumda karşılığı olmayan IgG’yi temsil etmektedir. Eş zamanlı

alınan BOS ve serum örneğinde izoelektrik fokuslama ile IgG miktarı ölçülebilmekte ve kıyaslanabilmektedir. MS'e özgü bir sonuç vermemesine, çalışmalarda dahil edilen grubun özelliklerine göre değişmekle beraber tanısal özgüllüğü %61 ile %93 arasında tespit edilmiştir[111]. MS hastalarının %87,7'sinde KIS hastalarının %68,6'sında OKB pozitifliği saptanmaktadır[46]. OKB'nin sadece tanısal değil, aynı zamanda prognostik değeri de vardır. OKB pozitifliğin halinde KIS hastalarında RRMS'e dönüşme risk oranı 2,18 (%95 güven aralığı; 1,71 - 2,77) olarak hesaplanmıştır[112].

MRG'deki lezyon özellikleri sadece tanıda değil, aynı zamanda prognostik olarak da veri sağlamaktadır. MR görüntülemenin tanısal değerine bakıldığı zaman mekanda yayılımın değerlendirmedeki duyarlılığı %87, özgüllüğü ise %73 olarak tespit edilmiştir[93]. T1 ağırlıklı kontrastlı kesitlerde kontrast madde tutulumu gösteren lezyonların sayısı, T2 ağırlıklı görüntülerdeki yeni ya da büyüyen lezyon varlığı klinik atağı tanıma, klinik progresyonu öngörme yetisini sağlamaktadır[113]. T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens görülen kara deliklerin, ileri demiyelinizasyon ve aksonal kayıp için marker olduğu düşünülmektedir[95].

Natalizumab, MS tedavisinde kullanılan potent bir immunmodülatuvar tedavidir,  $\alpha 4$  integrini hedefleyen bir antikor olup T-lenfositlerin MSS'ye geçişi engellemektedir[114]. Natalizumab tedavisinin en endişe verici yan etkisi kişinin hayatını tehdit eden progresif multifokal lökoensefalopatidir (PML). PML'ye latent JC virüsün aktive olması sebep olur. Dolayısıyla, Natalizumab başlanılacak ya da tedavisine devam kararı verilecek hastaların serumunda JC virüs antikor titresi tespit edilerek PML riski öngörülmektedir[115].

Nörofilament, aksonal transportta görevli nöronal hücre iskeleti proteinidir ve hafif zincir, orta zincir ve ağır zincir olmak üzere 3 birleşeni vardır[116]. Nörofilament hafif zincir (NfHZ), bir akson yıkım ürünüdür ve MS'e spesifik olmamakla beraber akson hasarıyla giden durumlarda düzeyi artmaktadır[117]. MS tanısına özgül olmasa dahi son otuz yılda en çok üzerine çalışılan ve biyomarker olarak klinik kullanıma girmeye aday bir moleküldür. NfHZ'nin BOS'taki düzeyi tüm MS alt tipleri için hastalık aktivitesini ve progresyonu göstermektedir[117]. Klinik ataklarla beraber BOS'taki NfHZ düzeyi artmaktadır, ayrıca Natalizumab kullanan hastaların 6-12 aylık takipleri sonunda BOS'taki NfHZ düzeyinin

azaldığının gösterilmesi tedavi yanıtı ya da yanıtızlığını da yansıtan bir biyomarker olduğuna işaret etmiştir[118]. NfHZ'nin tedavi yanıtını yansıttığına dair benzer sonuçlar progresif hastaların Rituksimab kullanımı sonrasında da elde edilmiştir[117]. Yeni geliştirilen ultrasensitif immunoassay teknolojisi olan *single molecule array (SIMOA)* sayesinde serumdaki NfHZ düzeyi güvenilir bir şekilde tespit edilmeye başlanılmıştır ve gösterilmiştir ki serum NfHZ düzeyi BOS'taki düzeyiyle korelasyon göstermektedir[119]. Serum NfHZ düzeyi, immunmodülatuvar tedavi yanıtı veya yanıtızlığı konusunda BOS NfHZ düzeyine benzer patern sergilemektedir[120]. Böylelikle tanısal olmasa dahi tedavi monitorizasyonu için serum NfHZ iyi bir biyomarker adaydır. Bununla beraber, serum NfHZ düzeylerinin hem klinik hem görüntülemeye kötü yönde seyir konusunda yol gösterici olduğu, yüksek serum NfHZ düzeylerinin beyin ve spinal kord atrofiyle korele olduğu bilinmektedir[121].

NfHZ yanında prognoza dair bilgi veren biyobelirteç adayları arasında Protein chitinase 3-like1 (CHI3L1) de sayılabilir. CHI3L1 bir glikozidaz molekülü ve glial aktivasyon markerı olup mikroglia, monositler, aktive astrositler, vasküler düz kas hücreleri, solunum yolu epiteli ve kondrositler tarafından salgılanmaktadır[13],[122]. MSS'deki görevi net olarak bilinmese de MSS'deki inflamasyonu yönetmede astrosit cevabını düzenlemeye yardımcı olduğu düşünülmektedir[123]. CHI3L1 düzeylerinin KIS'ten RRMS'e dönüşüm için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiş olmakla beraber hızlı hastalık progresyonuyla da ilişkisi tespit edilmiştir[123]. 813 KIS hastasının takip edildiğı bir çalışmada BOS'ta yüksek düzeyde CHI3L1 gösteren hastaların MS'e dönüşme süresinin daha kısa olduğu ve daha yüksek özürölülük riski taşıdıkları gösterilmiştir[122]. Natalizumab, Mitoksantron ve Fingolimod tedavisi sonrasında BOS'taki CHI3L1 seviyelerinde düşme olduğunun gösterilmiş olması bu molekülün tedavi yanıtını takipte kullanılabileceğini göstermiştir[124]. Ne var ki, CHI3L1'in romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi diğer sistemik inflamatuvar hastalıklarda da yüksek düzeylerde bulunduğu tespit edilmiştir[125].

Osteopontin, T hücreler üzerinde bulunan T hücre kostimölasyonu ve IFN $\gamma$  ekspresyonunu sağlayan bir belirteçtir ve MS lezyonlarında yüksek miktarda

osteopontin tespit edilmiştir[126]. Longitudinal bir çalışmada osteopontin düzeyi klinik atak sayısı ve hastalığın ciddiyetiyle korale bulunmuştur[127]. Ancak, bir başka çalışmada ise hastalığın şiddetiyle osteopontin arasında prognostik bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir[128].

C-X-C Motif Ligand 13 (CXCL13) B hücrelerinin MSS'ye toplanması sinyalini veren en güçlü kemoatraktan moleküllerden birisidir. B lenfositler üzerinde bulunan CXCR5 ile etkileşime geçerek B hücre folikülü ve sekonder lenfoid dokuların oluşumunu tetikler[14]. KIS, RRMS, SPMS, PPMS hastalarında kontrol grubuna kıyasla BOS düzeyinin daha yüksek olduğu bulunmuştur[129], [130]. 465 MS hastasının kontrol grubuyla kıyaslandığı bir çalışmada CXCL13 düzeyinin yüksek atak oranı, EDSS skoru ve radyolojik görüntülemelerde lezyon yüküyle korale olduğu izlenmiştir[130]. KIS hastalarının takip edildiği bir başka çalışma ise 2 yıllık takip sonunda RRMS'e dönüşen hasta grubunda BOS'taki CXCL13 düzeyinin dönüşmeyenlere kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmiştir[131]. CXCL13'ün BOS düzeyi B hücre deplesyonu yapan tedavilerle ve steroid tedavisi, Fingolimod tedavisiyle beraber düşüş göstermektedir[111]. Ne var ki, CXCL13 özellikle viral ensefalit vakalarında yüksek düzeylerde bulunmuş olup hastalığı spesifik değildir[130].

## 5 METOT

### 5.1 Hasta Grubunun Belirlenmesi

Çalışmamıza Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniği ve/veya Multipl Skleroz polikliniğine başvuran ya da bu polikliniklerden takipli olan hastalar dahil edilmiştir. Polikliniğine ilk başvurusundan sonra hastalar araştırmayı yürüten Dr. Ezgi Vural'a yönlendirilmiştir ve hasta başvurularındaki anamnez, görüntüleme yöntemlerindeki lezyonlar ve yardımcı laboratuvar bulguları McDonald 2017 kriterlerine göre Multipl Skleroz tanısını karşılıyorsa bu hastalar Multipl Skleroz hastası grubuna; lomber ponksiyonun tanı ya da tedavide endike olduğu sefalji, izole 6. kraniyel sinir paralizisi, izole 3. kraniyel sinir paralizisi, idiopatik intrakraniyel basınç artışı gibi noninflamatuvar nörolojik hastalıklardan mustarip hastalar kontrol grubuna dahil edilmiştir. Multipl Skleroz grubundaki bireyler taşıdıkları prognostik faktörlere göre Kötü Prognostik Verisi Olan (KPVO) ve Kötü Prognostik Verisi Olmayan (KPVY) olarak ikiye ayrılmıştır. Aşağıda bildirilmiş herhangi bir faktöre sahip olmak hastayı Kötü Prognostik Verisi Olan hasta grubuna dahil etmek için yeterli olmuştur:

- Geç yaşta başlangıç[9] [109],
- Motor, serebellar ve sfinkter fonksiyonlarını etkileyen multifokal atakların olması [9][105],
- 5 yılda EDSS skorunun 4.0 puana ulaşması[104],
- Manyetik Rezonans Görüntülemelerde T2-ağırlıklı kesitlerde yeni ya da genişleyen lezyon varlığı veya T1 ağırlıklı görüntülemelerde Gadolinium tutulumu gösteren gösteren aktif lezyonun olması[106],
- Bazal MRG'de T1 ağırlıklı görüntülemelerde karadelik görüntüsünün varlığı ve atrofi izlenmesi [106],
- MRG'de spinal kord ya da beyin sapında lezyon olması[10].

MS tanısını henüz almış hastalar dahil edildiği ve hastalık modifiye edici tedaviler kullanan hastalar tedaviden çıkarıldığı için tedaviye yönelik kötü prognostik faktörler gözden geçirilmemiştir.

Çalışmanın ilk bölümünde hastaların demografik verilerini, özgeçmiş ve soygeçmiş verilerini, MS tanısı aldığı tarihi, geçmişte geçirdiği demiyelinizan atağa dair süreyi, atakta etkilenen sistemleri ve aldığı tedavileri, geçmişte kullandığı immunmodulator tedavileri, kötü prognostik verilerin olup olmadığını içeren anket bölümü uygulanmıştır. Kontrol grubundaki hastalar MS tanısı, geçirilmiş demiyelinizan ataklar ve kullanılmış immunmodulator tedaviler ve kötü prognostik faktörlere ait verilerin sorgulanmasından muaf tutulmuştur. Anket uygulamasından sonra hastanın nörolojik muayenesi tekrar edilmiş ve fonksiyonel sistem skorları Kurtzke'nin genişletilmiş özürlülük durum ölçeğine (EDSS, expanded disability states scale) göre skorlanmıştır. Anketin son bölümünde ise hastaya ait MRG'nin tarihi, MRG'deki supratentoriyel, periventriküler, juktakortikal, infratentoriyel, spinal yerleşimli lezyon sayıları not edilmiştir.

#### **5.1.1 Çalışmaya dahil edilme kriterleri**

- 18 – 65 yaş arasında olmak,
- Lomber ponksiyonun tanı ve tedavide endike olduğu noninflamatuvar nörolojik hastalıklara sahip olmak,
- McDonald 2017 kriterlerine göre Multipl Skleroz tanısı alıyor olmaktır.

### 5.1.2 Çalışmadan dışlanma kriterleri

- Multipl Skleroz için hastalık modifiye edici tedaviler kullanıyor ya da kullanmış olmak,
- Son 30 gün içerisinde atak ile oral ya da intravenöz steroid tedavisi almış olmak,
- Akut MS atağı geçiriyor olmak,
- MRG’de kontrast madde tutan aktif lezyonun olması,
- MS haricinde herhangi başka bir inflamatuvar hastalığın olması,
- Lomber ponksiyonun gerçekleştirilmesine engel kanama bozukluğu ya da lokal döküntülü hastalıkları ile lokal inflamasyon olmasıdır.

## 5.2 Veri Toplama Araçları

### 5.2.1 Sosyodemografik veri formu

Bu veri formu, hastaların yaş, cinsiyet, etnik köken, özgeçmiş, soy geçmiş, hastalık süreleri, kullanmış oldukları ya da kullanmakta oldukları tedavileri, nörolojik muayene ile tespit edilen ve EDSS’ye göre skorlanan özürlülük durumlarını, kötü prognostik faktörler ile son MRG’deki lezyon karakterlerini sorgulayan verileri belirlemek amacıyla doldurulan görüşme formudur (Ek-1).

### **5.2.2 Manyetik rezonans görüntüleme incelemelerinin değerlendirilmesi**

Hastaların tarafımıza yönlendirilmeden ve lomber ponksiyon (LP) yapılmadan önceki 1 yıl içinde ya da LP'den sonraki 6 ay içinde çektirilmiş olan MRG çalışmaları incelenmiştir. İlk MRG değerlendirmeleri Dr. Ezgi Vural tarafından yapıldıktan sonra aynı görüntüler Doç. Dr. Gülin Sünter ve Prof. Dr. Kadriye Ağan tarafından hastaların kliniğine kör olarak tekrar incelenmiştir. MRG'deki demiyelinizan karakterdeki lezyonlar supratentoriyel, periventriküler, jukstakortikal, infratentoriyel ve spinal lezyonlar olarak sınıflanarak değerlendirilmiştir. Supratentoriyel lezyon sayısı 0, 1-2, 3-8, 9+ olarak; periventriküler lezyon sayısı 0, 1-2, 3+ olarak; jukstakortikal ve infratentoriyel lezyon sayıları 0 ve 1+ olarak sınıflanmışken spinal korddaki lezyon sayısı ifade edilmiştir.

### **5.2.3 Lomber ponksiyon ile BOS elde edilmesi ve muhafazası**

Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar, LP uygulanması ve BOS toplanması için nöroloji servisine yattıkları zaman işlem gerçekleştirilmiştir. İşlem öncesinde tüm hastaların son bir hafta içindeki tam kan sayımı, karaciğer fonksiyon testleri ve INR değerleri incelenmiştir. Hem pıhtılaşma sorunları hem de iğneyle yapılacak girişimsel işlem için kontraendikasyon oluşturacak lokal inflamasyon ya da döküntülü hastalıkların mevcut olmadığından emin olunmuştur. İşlemden önce her hastaya işlemle ilgili bilgi verilmiştir, Türk Nöroloji Derneği Lomber Ponksiyon Onam Formu imzalatılarak alınmıştır.

Lomber ponksiyon, lomber 4 ve 5. vertebralar arasındaki intervertebral aralıktan 18 ya da 20 gauge (G) kesik uçlu spinal iğneler ile girilmek suretiyle steril koşullarda yapılmıştır. İşlemden hastalığın tanısı için gerekli yaklaşık 5 ml beyin omurilik sıvısına ek olarak 5 ml daha BOS 2 mL'lik Eppendorf tüplere toplanmıştır. Nöroloji servisinde LP yapılan her hastadan rutin olarak istenen BOS protein, glikoz,

klor, LDH, mikroskopta hücre sayımı ile piyogen kültür testleri retrospektif olarak incelenmiştir. MS hastalığı ön tanısı olan hastalarda BOS örnekleri ayrıca oligoklonal bant ve immunglobulin G indeksi çalışılması için dış merkeze sevkle yönlendirilmiştir ve sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. LP işlemi travmatik olduysa söz konusu hasta ve hastaya ait serum ile BOS numuneleri çalışmaya dahil edilmemiştir.

LP işleminden hemen sonra OKB ve IgG indeksi çalışılması için alınan periferik kan örneğine ek olarak 5 ml daha periferik kan örneği jelli tüpe alınmıştır. BOS örnekleri iğneden direk polipropilen tüplere alınmıştır.

Elde edilen BOS ve periferik kan örnekleri işlemi takip eden bir saatlik süre içinde 2000 g 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. BOS örneklerinin süpernatant kısmı 1,5 mL'lik polipropilen Eppendorf tüplerin içinde 1-0,5 mL'lik porsiyonlar olacak şekilde taksim edilmiştir. Bu aşamadan itibaren her tüpün üzerine hastaya verilen numara kaydedilmiş ve hastaya ait hiçbir veri kaydedilmemiş olup çalışmanın bundan sonraki kısmı kör olarak yürütülmüştür. Serum ve BOS örnekleri, hastaların çalışmaya dahil edilme ve tüm numunelerin toplanması süresi bitip ELISA çalışmalarına başlanıncaya dek -80 santigrad derecelik dolaplarda muhafaza edilmiştir. ELISA çalışmalarından 24 saat önce numuneler -80 derecelik dolaplardan +4 santigrad derecelik dolaplara alınarak çözündürülmüştür. 24 saatlik çözme fazından sonra ELISA çalışmaları yapılmıştır. Numunelere tekrar eden çözme-dondurma işlemi uygulanmamıştır.

Gerek BOS gerek serum numunelerinin toplanması, saklanması ve işlenmesi konusundan Teunissen ve arkadaşları tarafından bildirilmiş BOS biyobankası standardizasyon önerileri takip edilmiştir[132].

### 5.3 Beyin Omurilik Sıvısı ile Serumda Düzey Tayini İçin Kullanılan Yöntemler

#### 5.3.1 ELISA yöntemi

ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), tabaka bazlı tahlil yöntemi tekniği olup peptidler, proteinler, antikorlar, hormonlar gibi çözülür maddelerin tespiti ve düzey ölçümü için kullanılır[133]. ELISA uygulaması sırasında hedeflenen makromolekülün-antijenin plaka üzerinde immobilizasyonu sağlanır, sonrasında antijenin sinyal enzimi ile bağlantılı antikor ile kompleks oluşturması sağlanır. Ölçüm ise sinyal enziminin substratının ortama konulması ile inkübasyon sonrasında ortaya çıkan düzeyi ölçülebilir ürün ile sağlanır. ELISA'nın en önemli unsuru, spesifik antikor-antijen etkileşimidir. Direk, indirek, sandviç yakalama gibi ELISA için farklı formatlar mevcuttur. Çalışmamızda sandviç yakalama ELISA yöntemi uygulanmıştır. Sandviç ELISA yönteminin çalışma prensibi şu şekildedir[134]:

1. Antikor mikrokuyulara adzorb edilir.
2. Ölçüm yapılacak numuneler mikrokuyulara koyulur ve içindeki antijen mikrokuyulara adzorb edilmiş antikorlara bağlanır.
3. Mikrokuyulara biotin-konjuge antikor eklenmesiyle inkübasyon sağlanır. Bu biotin-konjuge antikor antijenin bağlanmış olduğu antikora bağlanır.
4. İnkübasyonun bitiminden sonra yıkıma fazı sırasında ortamda serbest bulunan biotin-konjuge antikor temizlenir.
5. Ortama *Streptavidin-Horseradish Peroxidase* (HRP) eklenir ve inkübasyonla beraber Streptavidin-HRP, biotin-konjuge antikoara bağlanır.
6. İnkübasyondan sonra yıkama fazında serbest Streptavidin-HRP ortamdan temizlenir.
7. HRP ile reaktif substrat solüsyonu mikrokuyulara eklenir.
8. Numuneler içindeki antijenin miktarıyla korale olacak şekilde renkli bir ürün ortaya çıkar.

9. Reaksiyon ortama asit ürünün eklenmesiyle durdurulur ve adzorbans 450 nanometrede ölçülür.
10. İçindeki antijen düzeyi bilinen 7 dilüsyon numunesine göre standart grafik çizilir ve bu grafiğe göre ölçülmesi hedeflenen antijen düzeyi hesaplanır.

### 5.3.2 ELISA için kullanılan kitler

Kullanılan kitlere ait tetkikin türü, üretici firması, katalog numarası, dilüsyon değerleri, tespit edilebilen minimum (Min.) ve maksimum (Maks.) limit değerleri, duyarlılığı, kit içinde (İntra.) ve kitler arasında (İnter.) ortalama tekrar edilebilirliğini içeren bilgiler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

| Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Kitlere Ait Bilgiler |               |               |                  |                 |
|----------------------------------------------------|---------------|---------------|------------------|-----------------|
|                                                    | Tetkikin Türü | Üretici Firma | Katalog Numarası | Dilüsyon Değeri |
| IL-8                                               | ELISA         | Thermo Fisher | BMS204-3         | 1:2             |
| IL-21                                              | ELISA         | Thermo Fisher | BMS2043          | 1:2             |
| IL-12/<br>IL-23p40                                 | ELISA         | Thermo Fisher | BMS2013          | 1:2             |
| CXCL13                                             | ELISA         | Thermo Fisher | EHCXCL13         | 1:2-1:10        |
| CH3L1                                              | ELISA         | R&D           | DC3L10           | 1:50            |

| Tablo 2. Devamı    |                              |                               |                       |          |          |
|--------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------|----------|
|                    | Min. <sup>1</sup><br>(pg/mL) | Maks. <sup>1</sup><br>(pg/mL) | Duyarlılık<br>(pg/mL) | İntra.   | İnter.   |
| IL-8               | 15,6                         | 1000                          | 2,0                   | %6,3     | %8,7     |
| IL-21              | 78                           | 5000                          | 20                    | %5,8     | %7,7     |
| IL-12/<br>IL-23p40 | 31,3                         | 2000                          | <10                   | %4,7     | %6,4     |
| CXCL13             | 1,37                         | 1000                          | 1,5                   | <%10     | <%12     |
| CH3L1              | 62,5                         | 4000                          | 1,25-8,15             | %4,3-4,7 | %5,3-6,9 |

ELISA yöntemlerinin uygulaması sırasında kitlerle birlikte gönderilen üretici firma kullanım kılavuzlarındaki önerilere uyulmuştur. IL-8, IL-21, IL-12/IL-23p40 kitleri çalışılırken serum örnekleri 1:2 oranında dilüe edilmiştir, BOS örneklerinde çok düşük düzeyde sitokin ve kemokin oranları beklenildiği için dilüsyon yapılmamıştır. CXCL13 kitleri çalışılırken hem serum hem BOS örnekleri 1:2 oranında dilüe edilmiştir. CH3L1 kitleri çalışılırken hem serum hem BOS örnekleri 1:50 dilüe edilmiştir. Her parametrenin ölçümü için 2’şer adet kit kullanılmıştır.

### 5.3.3 Serum ve BOS’ta albümin ölçümü

Serum ve BOS’taki albümin düzeyi Beckmann Coulter AU5800 cihazı kullanılarak otomatize olarak gerçekleştirilmiştir.

Serum albümin düzeyi ölçümü bromokresol yeşili kullanılarak ölçülmüştür. pH 4,2’lik ortamda bromokresol yeşili albümin ile reaksiyona girdiğinde yeşil renkli bir ürün ortaya çıkar ve abzorban değerinin 600/800 nm altında ölçülmesi ile elde

<sup>1</sup> Tespit edilen minimum ve maksimum değerleri, numunelerin dilüsyon oranlarına göre konsantrasyon faktörünü yansıtacak şekilde tekrar hesaplanmıştır.

edilen değerle doğru orantılı olacak şekilde albümin düzeyi hesaplanır[135]. Üretici firmanın sunduğu çalışmaya ait performans değerleri aşağıdaki tabloda bildirilmiştir.

| Tablo 3. Serum Albümin Ölçümü için Üretici Firmaya Ait Performans Değerleri |                     |        |                |        |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------|----------------|--------|
| N=100                                                                       | Aynı Çalışma İçinde |        | Total          |        |
| Ortalama (g/dL)                                                             | Standart Sapma      | CV (%) | Standart Sapma | CV (%) |
| 2,9                                                                         | 0,02                | 0,8    | 0,04           | 1,5    |
| 5,35                                                                        | 0,04                | 0,8    | 0,07           | 1,3    |

BOS albümin düzeyi kalorimetrik yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Pirogallol kırmızı ve molibdat kompleksinin ortamdaki protein ile reaksiyon göstermesi ile mavi-mor bir ürün ortaya çıkar, abzorbans değeri 600 nm altında ölçülerek elde edilen değerle doğru orantılı olacak şekilde albümin düzeyi hesaplanır[136]. Üretici firmanın sunduğu çalışmaya ait performans değerleri aşağıdaki tabloda bildirilmiştir.

| Tablo 4. BOS Albümin Ölçümü için Üretici Firmaya Ait Performans Değerleri |                     |        |                |        |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------|----------------|--------|
| N=80                                                                      | Aynı Çalışma İçinde |        | Total          |        |
| Ortalama (g/dL)                                                           | Standart Sapma      | CV (%) | Standart Sapma | CV (%) |
| 15                                                                        | 0,26                | 1,7    | 0,72           | 4,8    |
| 53                                                                        | 0,64                | 1,2    | 1,01           | 1,9    |
| 152                                                                       | 1,06                | 0,7    | 2,58           | 1,7    |

#### 5.4 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Stata versiyon 15.1 (StataCorp, College Station, Tex) kullanılarak yapılmıştır. Nümerik değişkenlerin tanımlayıcı analizlerinde ortanca değer ve çeyrekler açıklığı, kategorik değişkenlerin analizlerinde yüzde oranları kullanılmıştır. Verilerin normallik değerlendirmesi Kolmogorov-Smirnov sınaması ile yapılmıştır.

Kategorik verilerin analizi Fisher Kesin Olasılık Testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin değerlendirilmesinde bağımsız iki grup için Mann-Whitney U testi, ikiden fazla bağımsız grup için Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Sürekli verilerin bağımlı gruplarda değerlendirilmesi için Wilcoxon işaretli sıra testi kullanılmıştır. İki sürekli değişken arasındaki ilişkiyi tanımlamak için Pearson ve Spearman's rank korelasyon katsayıları kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için  $p$  değerinin 0,05'ten küçük olması şartı gözetilmiştir.

### **5.5 Etik Kurul Onayı ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği**

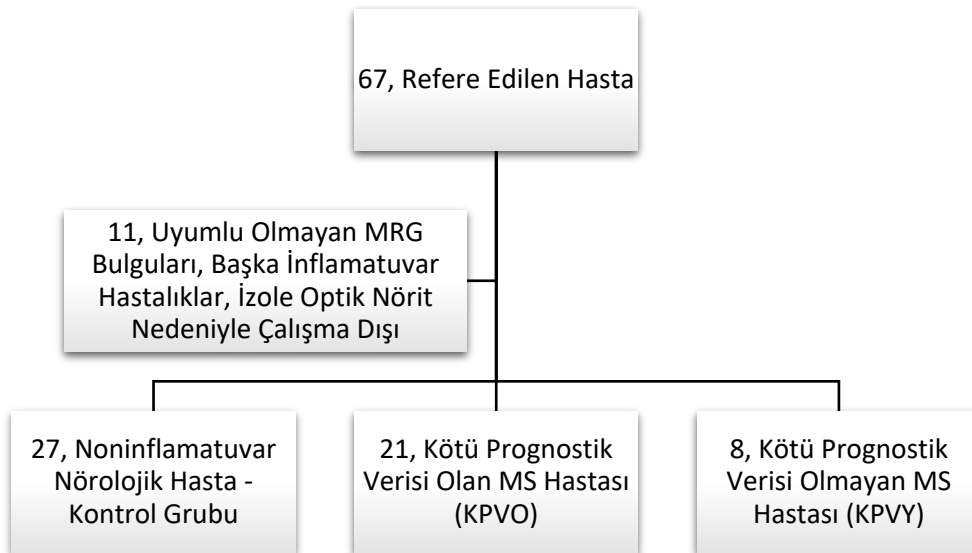
Çalışmamız, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul tarafından 09.2018.819 protokol kodu ile 07.12.2018 tarihinde onaylanmıştır. Çalışmaya katılan tüm araştırmacılar Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesinin son versiyonu ile Sağlık Bakanlığı'nın İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu / İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzu'nu okumuştur. Çalışma, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi, İKU/İLU kriterlerine uygun olarak yürütmüştür.

SAG-C-TUP-080519-0179 numarası ile Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sağlanan proje desteği alınmıştır.

## 6 BULGULAR

### 6.1 Demografik Verileri

Toplam 67 hasta çalışmamız için yönlendirilmiş ve değerlendirmeye alınmıştır. Bu hastaların 27'si noninflamatuvar nörolojik hastalardan oluşan kontrol grubuna dahil edilmiştir. Multipl skleroz ön tanısıyla yönlendirilen hasta sayısı 40 olup bu hastalardan 11'inin kraniyel görüntülemeleri MS ile uyumlu görülmediği, altta yatan romatolojik patolojiler başta olmak üzere başka inflamatuvar hastalıklar tespit edildiği ya da izole optik nörit geçirip MS tanısını destekler başka belirti, bulgu ya da MRG özelliği olmadığı için çalışmadan çıkarılmıştır. Sonuç olarak, 21 kötü prognostik verisi olan (KPVO), 8 kötü prognostik verisi olmayan (KPVY) toplam 29 MS hastası ve 27 kontrol hastası çalışmamıza dahil edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Çalışmaya Dahil Edilen ve Çalışmadan Çıkarılan Hastalar

Tüm MS hastalarının %62,1'i (n=18), kontrol grubunun %92,6'sı (n=25) kadın bireylerden oluşmuştur ve kontrol grubundaki kadın hasta oranı anlamlı oranda yüksek tespit edilmiştir ( $p=0,01$ ). Tüm MS hastaları ile kontrol grubu yaş açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p=0,53$ ).

MS hastalarının dahil edildiği Kötü Prognostik Verisi Olan (KPVO) ve Kötü Prognostik Verisi Olmayan (KPVY) gruplarının katılımcıların cinsiyet dağılımları arasında fark yoktur ve sırasıyla kadın hasta oranı %61,9 ve %62,5'tir. KPVO ve KPVY gruplarındaki kadın katılımcı oranı kontrol grubuna göre anlamlı düşüktür ( $p=0,02$ ). Tüm gruplar katılımcıların yaşları açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p=0,60$ ). Demografik veriler Tablo 5'te özetlenmiştir.

Kontrol grubundaki hastaların lomber ponksiyon için yönlendirilmelerinin başlıca sebebi 16 (%59,3) hastada olduğu üzere idiopatik intrakraniyel hipertansiyondur. Kontrol grubuna dahil olan diğer hastalara LP yapılma sebebi baş ağrısı, papilödem, iskemik abduzens palsi, sinüs ven trombüsü şüphesi gibi durumlardan ileri gelmiştir. Bununla beraber, KPVO ve KPVY gruplarına alınan hastaların tamamı tarafımıza MS başta olmak üzere demiyelinizan hastalık şüphesiyle yönlendirilmiştir.

**Tablo 5. Demografik ve Başlıca Klinik Veriler**

|                                                     | <b>Kontrol</b>        | <b>KPVO</b>           | <b>KPVY</b>           | <b><i>p</i></b> |
|-----------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|
| <b>Kadın n (%)</b>                                  | 25 (93)               | 13 (62)               | 5 (63)                | 0,02            |
| <b>Erkek n (%)</b>                                  | 2 (7)                 | 8 (38)                | 3 (37)                |                 |
| <b>Yaş, Medyan (Aralık)</b>                         | 37,2<br>(21,9 – 53,1) | 36,4<br>(22,9 – 63,1) | 33,0<br>(22,0 – 47,3) | 0,60            |
| <b>Geçmiş Klinik Atak Sayısı, Medyan (Aralık)</b>   | -                     | 1 (0 – 4)             | 1 (0 – 4)             | 0,22            |
| <b>Başlangıçtan İtibaren Progresif Seyir, n (%)</b> | -                     | 3 (14,3)              | 0 (0)                 | 0,54            |

## 6.2 Klinik Özellikler

KPVO ve KPVY gruplarındaki MS hastaları bazaldeki muayene bulgularına ait EDSS skorları ve tarafımıza yönlendirilinceye dek geçirilen atak sayısı açısından kıyaslanmıştır. Total 29 MS hastasının öyküsünden toplam 36 geçmiş demiyelinizan atığa ait bilgi elde edilmiştir. Geçmişteki atakların sayısı değerlendirildiğinde KPVO ve KPVY grupları arasında fark görülmemiştir ( $p=0,22$ ). Geçirilen atakların etkilediği fonksiyonel sistemler hem KPVO hem KPVY için araştırılmıştır ve piramidal sistemi etkileyen atakların sıklığı açısından KPVO grubu için marjinal bir anlamlılığın söz konusu olabileceği görülmüştür ( $p= 0,05$ ).

İlk klinik atak sonrasında progresif seyir gösteren toplam 3 MS hastası çalışmamızda yer almış olup, bu hastaların hepsinin KPVO grubunda oldukları, KPVY grubunda ise progresif seyirli hasta olmadığı görülmüştür. KPVO ve KPVY grupları arasında progresif seyirli hastalar açısından istatistiksel fark izlenmemiştir ( $p=0,54$ ). Ek olarak, katılımcıların hiçbirinde ailesel MS tespit edilmemiştir.

KPVO grubunda yer alan hastaların total EDSS skorları KPVY grubundaki hastalara göre anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ( $p=0,04$ ). Fonksiyonel sistem skorları ayrı ayrı gözden geçirildiğinde iki grup arasında fark gösteren fonksiyonel sistem skoru olmadığı görülmüştür. EDSS fonksiyonel sistem skorlarına ait veriler Tablo 6’da özetlenmiştir.

**Tablo 6. MS Hasta Gruplarının Klinik Verileri**

| <b>EDSS, Fonksiyonel Sistem Skoru</b> | <b>KPVO Ortanca (Aralık)</b> | <b>KPVY Ortanca (Aralık)</b> | <b><i>p</i></b> |
|---------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|
| <b>Piramidal</b>                      | 0 (0 – 1)                    | 0 (0 – 1)                    | 0,27            |
| <b>Serebellar</b>                     | 0 (0 – 3)                    | 0 (0 – 0)                    | 0,14            |
| <b>Beyin Sapı</b>                     | 0 (0 – 3)                    | 0 (0 – 0)                    | 0,27            |
| <b>Duyu Skoru</b>                     | 0 (0 – 2)                    | 0 (0 – 0)                    | 0,19            |
| <b>Mesane – Bağırsak</b>              | 0 (0 – 2)                    | 0 (0 – 0)                    | 0,37            |
| <b>Vizüel</b>                         | 0 (0 – 2)                    | 0 (0 – 0)                    | 0,37            |
| <b>Mental Durum</b>                   | 0 (0 – 1)                    | 0 (0 – 0)                    | 0,58            |
| <b>Ambulasyon</b>                     | 0 (0 – 0)                    | 0 (0 – 0)                    | 1               |
| <b>Total EDSS</b>                     | 1 (0 – 3,5)                  | 0 (0 – 1)                    | 0,04            |

### 6.3 Görüntüleme Özellikleri

KVPO ve KPVY gruplarındaki hastalarının klinik özellikleri yanında bazal MRG verileri de incelemeye alınmıştır. KPVO grubundaki toplam 21 hastadan 20'sine ait MRG verileri kaydedilmiştir, KPVY grubunun tamamına ait MRG kayıtları mevcuttur. MRG ile LP arasındaki sürenin ortanca değeri tüm MS hastaları için LP'den 1 ay öncesidir. En erken MRG çekimi LP'den 10,6 ay öncesinde, en geç MRG çekimi ise LP'den 1,7 ay sonrasında yapılmıştır. Supratentoriyel, periventriküler, jukstakortikal ve infratentoriyel lezyon yükü açısından KPVO ve KPVY grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Bununla beraber, KPVO grubunda spinal korddaki lezyon sayısı KPVY grubuna göre anlamlı düzeyde fazladır ( $p<0,001$ ). Hastaların MRG verileri tablo 7'de ayrıntılandırılmıştır.

**Tablo 7. MS Hasta Gruplarının Görüntüleme Verileri**

| <b>MRG'deki Lezyon</b>                        | <b>KPVO</b> | <b>KPVY</b> | <b>Tüm MS Hastaları</b> | <b><i>p</i></b> |
|-----------------------------------------------|-------------|-------------|-------------------------|-----------------|
| <b>Lokalizasyonu</b>                          | <b>n=20</b> | <b>n=8</b>  | <b>n=28</b>             |                 |
| <b>Supratentoriyel 0,</b><br><b>n (%)</b>     | 0 (0)       | 0 (0)       | 0 (0)                   | -               |
| <b>Supratentoriyel 1-2,</b><br><b>n (%)</b>   | 0 (0)       | 0 (0)       | 0 (0)                   | -               |
| <b>Supratentoriyel 3-8,</b><br><b>n (%)</b>   | 9 (45)      | 5 (62)      | 14 (50)                 | 0,23            |
| <b>Supratentoriyel 9+,</b><br><b>n (%)</b>    | 11 (55)     | 3 (38)      | 14 (50)                 | 0,40            |
| <b>Periventriküler 0,</b><br><b>n (%)</b>     | 2 (10)      | 0 (0)       | 2 (7)                   | 0,35            |
| <b>Periventriküler 1-2,</b><br><b>n (%)</b>   | 0 (0)       | 0 (0)       | 0 (0)                   | -               |
| <b>Periventriküler 3+,</b><br><b>n (%)</b>    | 18 (80)     | 8 (100)     | 26 (93)                 | 0,35            |
| <b>Jukstakortikal 0,</b><br><b>n (%)</b>      | 2 (10)      | 3 (38)      | 5 (18)                  | 0,08            |
| <b>Jukstakortikal 1+,</b><br><b>n (%)</b>     | 18 (90)     | 5 (62)      | 23 (82)                 | 0,09            |
| <b>İnfratentoriyel 0,</b><br><b>n (%)</b>     | 13 (65)     | 5 (62)      | 18 (64)                 | 0,90            |
| <b>İnfratentoriyel 1+,</b><br><b>n (%)</b>    | 7 (35)      | 3 (38)      | 10 (36)                 | 0,90            |
| <b>Spinal Kord,</b><br><b>Medyan (Aralık)</b> | 1 (1 – 6)   | 0 (0 – 0)   | 1 (0 – 6)               | <0,001          |

#### 6.4 Serum ve Beyin Omurilik Sıvısının Temel Biyokimyasal İncelemeleri

Lomber ponksiyonu takiben beyin omurilik sıvısında rutin değerlendirilen protein, glikoz ile hücre sayımı ilk incelenen parametreler olmuştur. Söz konusu veriler Tablo 8’de bildirilmiştir. KPVO ve KPVY gruplarındaki ortalama OKB değeri tip 2 olurken, ortalama IgG indeksi değerleri sırasıyla 0,71 (Aralık; 0,50 – 2,04) ve 0,61 (Aralık; 0,47 – 1,75) olmuştur. Bundan sonra ilk değerlendirilen parametreler serum albümin ve BOS albümin düzeyi olmuştur. Her 3 grupta çalışmaya dahil edilen hastalardan hiçbirisi için hesaplanan albümin oranı yaşa göre belirlenmiş referans albümin oranını aşmamıştır ve böylece kan-beyin bariyerinin sağlamlığı teyit edilmiştir.

Tüm MS hastaları ile kontrol grubu arasında serum albümin düzeyleri için anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,06$ ). BOS albüminin medyan değeri kontrol grubunda 121,6 mg/L (Çeyrekler Açıklığı: 64,8), MS grubunda 145,7 mg/L (Çeyrekler Açıklığı: 56,9) olarak saptanmıştır ve MS grubunda BOS albümini anlamlı olarak yüksek düzeydedir ( $p=0,03$ ).

Kontrol, KPVO, KPVY grupları için tekrar edilen analizlerde serum albüminin kontrol grubunda anlamlı düşük olduğu tespit edilmiştir ( $p=0,04$ ). Alt grup analizleri kontrol grubunun BOS albümin düzeyinin KPVY grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermiştir ( $p=0,02$ ).

**Tablo 8. Grupların Serum ve BOS Biyokimyasal Analizleri**

| <b>Biyokimya<br/>Analizleri</b>       | <b>Kontrol,<br/>Ortanca<br/>(Çeyrekler<br/>Açıklığı)</b> | <b>KPVO,<br/>Ortanca<br/>(Çeyrekler<br/>Açıklığı)</b> | <b>KPVY,<br/>Ortanca<br/>(Çeyrekler<br/>Açıklığı)</b> | <b>p</b> |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------|
| <b>BOS Proteini<br/>(mg/dL)</b>       | 34 (10,8)                                                | 38,8 (15,6)                                           | 36,5 (7,4)                                            | 0,05     |
| <b>BOS Glikozu<br/>(mg/dL)</b>        | 66 (9,3)                                                 | 63 (7,3)                                              | 65,5 (6)                                              | 0,95     |
| <b>BOS Albümin<br/>(mg/L)</b>         | 121,6 (64,8)                                             | 145,7 (59,4)                                          | 145,6 (50,0)                                          | 0,07     |
| <b>Serum Albümin<br/>(mg/L)</b>       | 38700 (3800)                                             | 39600 (4900)                                          | 42850 (4600)                                          | 0,04     |
| <b>BOS'te Lökosit<br/>Sayısı</b>      | 0 (2)                                                    | 0 (8)                                                 | 0 (0)                                                 | 0,09     |
| <b>OKB (Medyan)</b>                   | -                                                        | 2                                                     | 2                                                     | 0,22     |
| <b>OKB Tip 2, n<br/>(%)</b>           | -                                                        | 15 (71)                                               | 5 (63)                                                | -        |
| <b>IgG İndeksi&gt;<br/>0,6, n (%)</b> | -                                                        | 17 (80)                                               | 4 (50)                                                | -        |

### **6.5 Multipl Skleroz Hastaları ile Kontrol Grubu İçin Serum ve BOS Sitokin ile Kemokin Düzeyleri**

Hedef moleküller olan IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri karşılaştırması öncelikle MS hastası olan ve olmayan gruplar arasında, yani KPVO ve KPVY gruplarının birleşimi ile noninflamatuvar demiyelinizan nörolojik hastalıktan mustarip olan kontrol grubu arasında yapılmıştır.

Serum ve BOS'taki interlökin ile kemokin düzeylerinin ELISA ile tespiti sırasında dikkati çeken bir unsur interlökin düzeylerinin her 3 grup için de serum

örneklerinin çoğunda ölçülebilen minimum değeri altında tespit edilmesi olmuştur. Buna göre IL-8 tüm serum örneklerinin %94,7'sinde (n=54), IL-12/IL-23p40 %38,6'sında (n=22), IL-21 %84,2'sinde (n=48) çalışılan kitlerin ölçebildiği minimum değerin altında düzey vermiştir. BOS örnekleri içinse durum şöyledir; IL-8 %8,8 hastada (n=5), IL-12/IL-23p40 %87,8 hastada (n=50) ve IL-21 %22,8 hastada (n=13) ölçülebilen minimum değerin altında kalmıştır. CHI3L1 için ise tam tersi durum söz konusu olmuştur. Tüm serum örneklerinden 1'inde (%1,8) ve tüm BOS örneklerinin 6'sında (%10,5) ölçülebilen sınırın üstünde bir değer elde edilmiştir. CXCL13 ölçümünde serum ya da BOS örneklerinin hiçbirisinde ölçülebilen sınırlar dışında veri elde edilmemiştir.

Tüm araştırmalardan önce tüm gruplar için serum ile BOS IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CHI3L1 ve CXCL13 serum düzeyleriyle BOS düzeyleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, tüm katılımcı numuneleri için IL-8 ( $p=0,52$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,33$ ), IL-21 ( $p=0,29$ ), CHI3L1 ( $p=0,47$ ) ve CXCL13 ( $p=0,84$ ) serum ve BOS düzeyleri arasında anlamlı derecede fark saptanmamıştır.

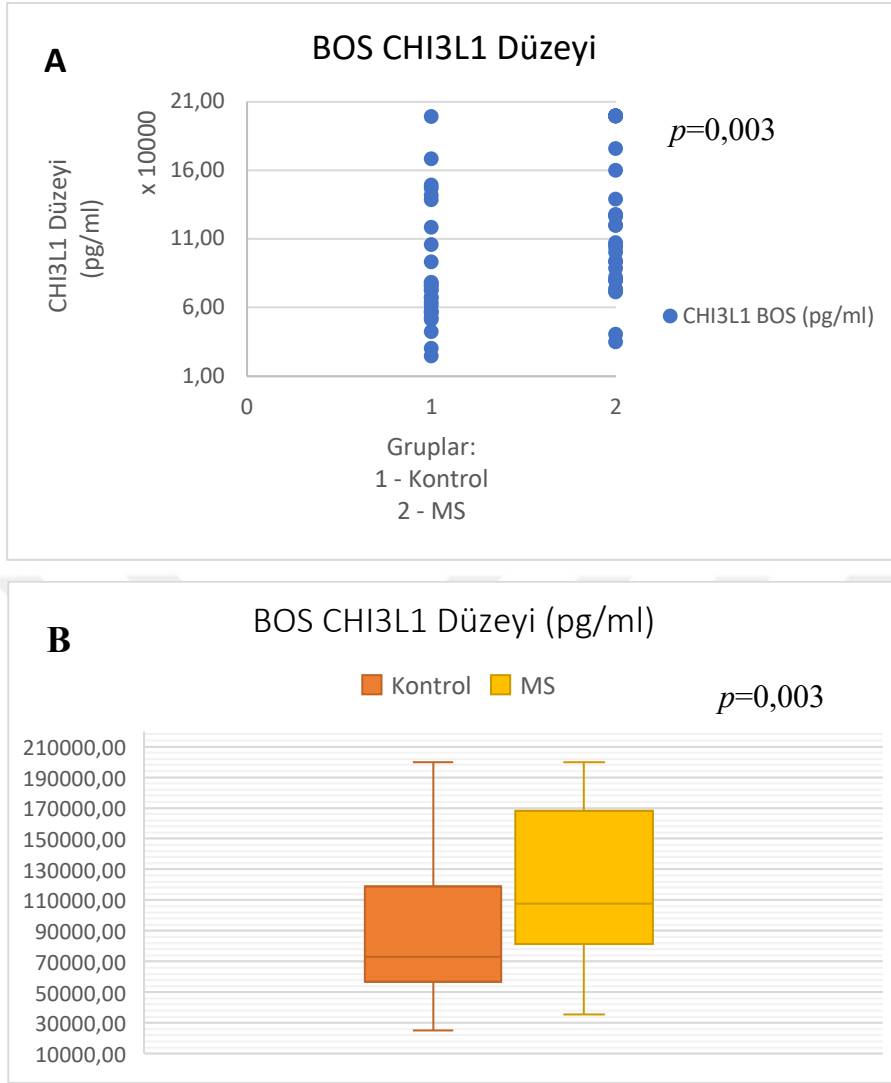
İlk olarak, serum örneklerindeki IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri incelenmiştir. Kontrol grubu ile MS hastalarının serum örneklerinde IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CXCL13 ve CHI3L1 düzeyleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Sonuçlar tablo 9'da özetlenmiştir.

| <b>Tablo 9. Kontrol ve MS Grubu Serum Sitokin ve Kemokin Düzeyleri</b> |                                              |                                               |          |
|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------|
| <b>Serum Düzeyleri (pg/ml)</b>                                         | <b>Kontrol, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>MS Grubu, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>p</b> |
| <b>IL-8</b>                                                            | 31,2 (0)                                     | 31,2 (0)                                      | 0,98     |
| <b>IL-12/IL-23 p40</b>                                                 | 254,2 (485,9)                                | 194,4 (309,4)                                 | 0,51     |
| <b>IL-21</b>                                                           | 156 (0)                                      | 156 (0)                                       | 0,95     |
| <b>CHI3L1</b>                                                          | 44367 (41189)                                | 40147 (26833)                                 | 0,11     |
| <b>CXCL13</b>                                                          | 93,5 (80,5)                                  | 48,5 (92,8)                                   | 0,13     |

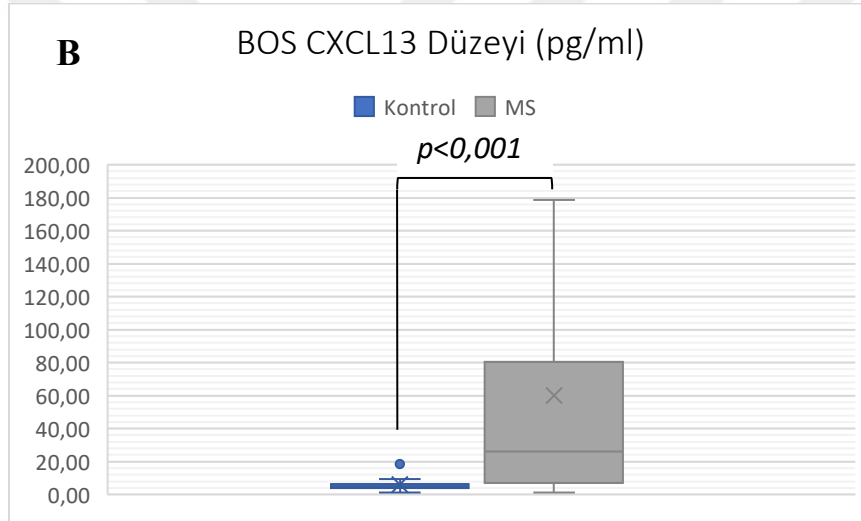
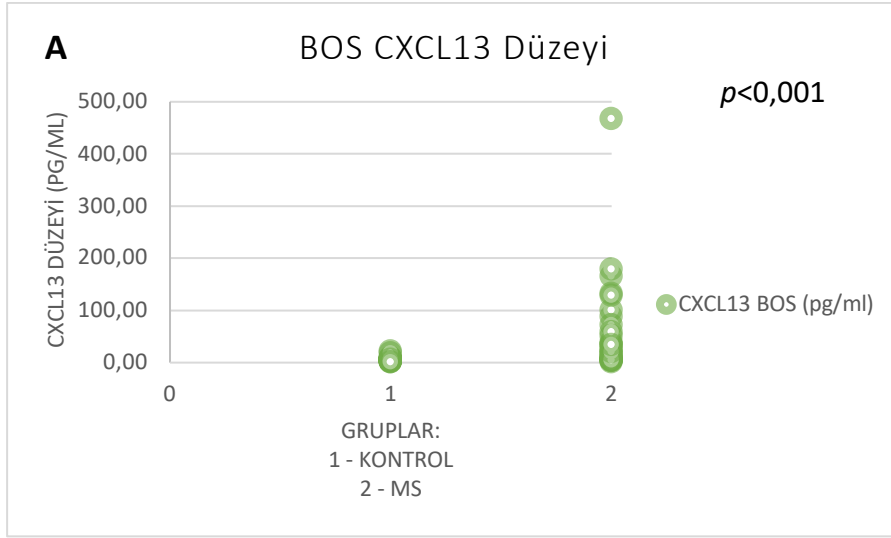
İkinci olaraksa belirtilen parametrelerin BOS düzeyleri değerlendirilmiştir. MS grubunun BOS CHI3L1 (Şekil 4) ve CXCL13 düzeyleri (Şekil 5) kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bununla beraber, IL-12/IL-

23p40 için hem kontrol hem de MS grubundaki BOS medyan değerleri ile çeyrekler açıklığı eş gibi görünse de kontrol grubundaki IL-12/IL-23p40 düzeyinin minimum değeri 31,3 pg/ml ve maksimum değeri yine 31,3 pg/ml olup MS grubundaki minimum değer 31,3 pg/ml iken maksimum değer 148,44 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla MS grubunda kontrol grubuna göre BOS IL-12/IL-23p40 için istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek düzeylerin tespit edildiği anlaşılmıştır ( $p=0,01$ ). Sonuçlar tablo10'da özetlenmiştir.

| <b>Tablo 10. Kontrol ve MS Grubu BOS Sitokin ve Kemokin Düzeyleri</b> |                                                 |                                                  |                 |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------|
| <b>BOS Düzeyleri<br/>(pg/ml)</b>                                      | <b>Kontrol, Medyan<br/>(Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>MS Grubu, Medyan<br/>(Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b><i>p</i></b> |
| <b>IL-8</b>                                                           | 101,8 (42,2)                                    | 131,0 (84,2)                                     | 0,33            |
| <b>IL-12/IL-23 p40</b>                                                | 31,3 (0)                                        | 31,3 (0)                                         | 0,01            |
| <b>IL-21</b>                                                          | 124 (91,9)                                      | 107,8 (472,3)                                    | 0,95            |
| <b>CHI3L1</b>                                                         | 73120 (62145)                                   | 107670 (77965)                                   | 0,003           |
| <b>CXCL13</b>                                                         | 4,6 (2,5)                                       | 26 (63,8)                                        | <0,001          |



Şekil 4. Kontrol grubu ile tüm MS hastalarının beyin omurilik sıvısındaki CHI3L1 düzeylerinin A) Dağılım grafiğindeki B) Kutu-Çizgi grafiğindeki karşılaştırması.



Şekil 5. Kontrol grubu ile tüm MS hastalarının beyin omurilik sıvısındaki CXCL13 düzeylerinin A) Dağılım grafiğindeki B) Kutu-Çizgi grafiğindeki karşılaştırması.

## 6.6 Kontrol, KPVO, KPVY Grupları İçin Serum ve BOS Sitokin ile Kemokin Düzeyleri

Kontrol grubu ve tüm MS hastaları arasında söz konusu sitokin ve kemokin düzeyleri değerlendirildikten sonra her 3 grup için serum ve BOS'taki sitokin ile kemokin düzeyleri incelemeye alınmıştır. Sonuçlar tablo 11 ve 12'de bildirilmiştir. BOS'taki IL-12/IL-23p40, CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri KPVO ve KPVY gruplarında

kontrol grubuna göre anlamlı yüksek tespit edilmiştir ( $p=0,04$ ,  $p=0,009$ ,  $p<0,001$ ). Her 3 grup arasında serum sitokin ve kemokin düzeyleri için fark saptanmamıştır.

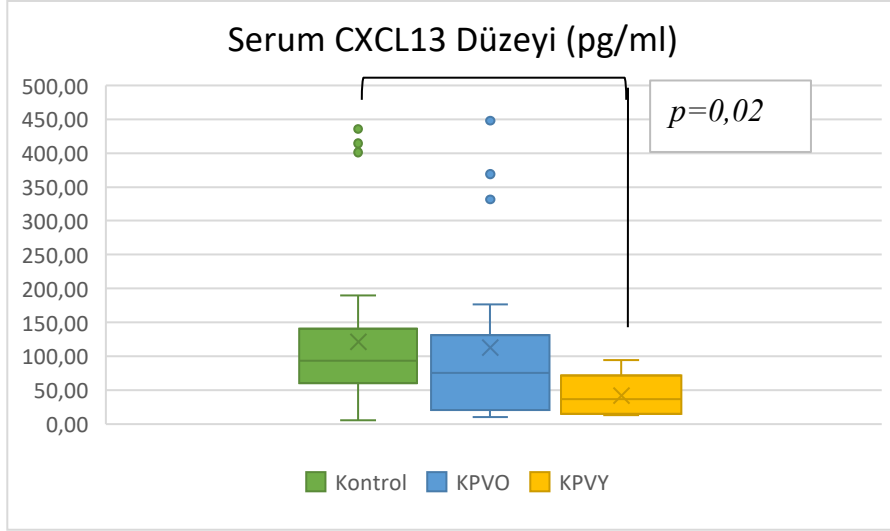
**Tablo 11. 3 Grubun Serum Sitokin ve Kemokin Düzeyleri**

| Serum Düzeyleri (pg/ml) | Kontrol, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı) | KPVO, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı) | KPVY, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı) | <i>p</i> |
|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| <b>IL-8</b>             | 31,2 (0)                              | 31,2 (0)                           | 31,2 (0)                           | 0,82     |
| <b>IL-12/IL-23 p40</b>  | 254,2 (485,9)                         | 243,1 (316,1)                      | 132,4 (143,4)                      | 0,46     |
| <b>IL-21</b>            | 156 (0)                               | 156 (0)                            | 156 (75)                           | 0,61     |
| <b>CHI3L1</b>           | 44366 (41189)                         | 38118 (24273)                      | 52445 (36073)                      | 0,27     |
| <b>CXCL13</b>           | 93,5 (80,5)                           | 75,2 (108,4)                       | 36,4 (49,2)                        | 0,07     |

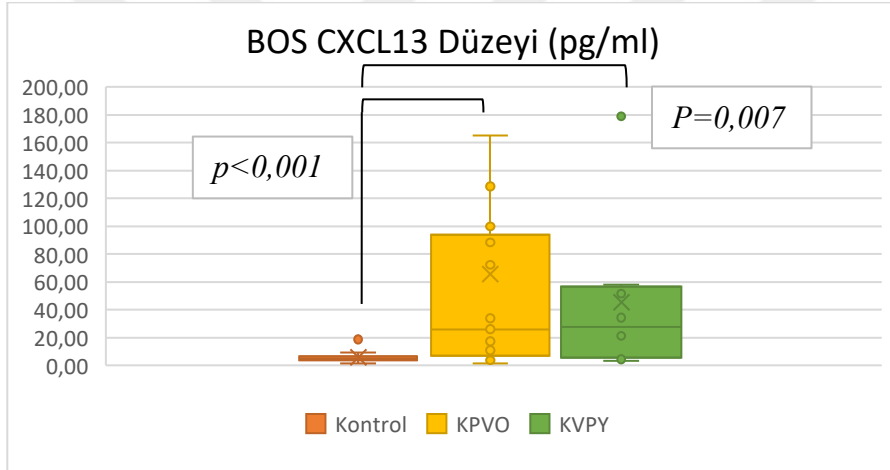
**Tablo 12. 3 Grubun BOS Sitokin ve Kemokin Düzeyleri**

| BOS Düzeyleri (pg/ml)  | Kontrol, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı) | KPVO, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı) | KPVY, Ortanca (Çeyrekler Açıklığı) | <i>p</i> |
|------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| <b>IL-8</b>            | 101,8 (42,2)                          | 127,4 (110,4)                      | 137,8 (43,2)                       | 0,25     |
| <b>IL-12/IL-23 p40</b> | 31,3 (0)                              | 31,3 (0)                           | 31,3 (1,7)                         | 0,04     |
| <b>IL-21</b>           | 124 (91,9)                            | 124,14 (364,7)                     | 101,2 (1340,6)                     | 0,99     |
| <b>CHI3L1</b>          | 73120 (62145)                         | 120130 (93905)                     | 106020 (62546)                     | 0,009    |
| <b>CXCL13</b>          | 4,6 (2,5)                             | 26 (79,8)                          | 27,8 (47,9)                        | <0,001   |

Subgrup analizlerinde kontrol grubunda KPVY grubuna kıyasla BOS IL-12/IL-23p40 düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p=0,008$ ), serum CXCL13 düzeyi anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir ( $p=0,02$ ) (Şekil 6) ve BOS CXCL13 düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p=0,007$ ) (Şekil 7). Kontrol grubu ile KPVY arasında diğer parametreler için anlamlı farklılık saptanmamıştır.



Şekil 6. Kontrol, KPVO ve KPVY gruplarının serum CXCL13 düzeylerinin kıyaslanması.

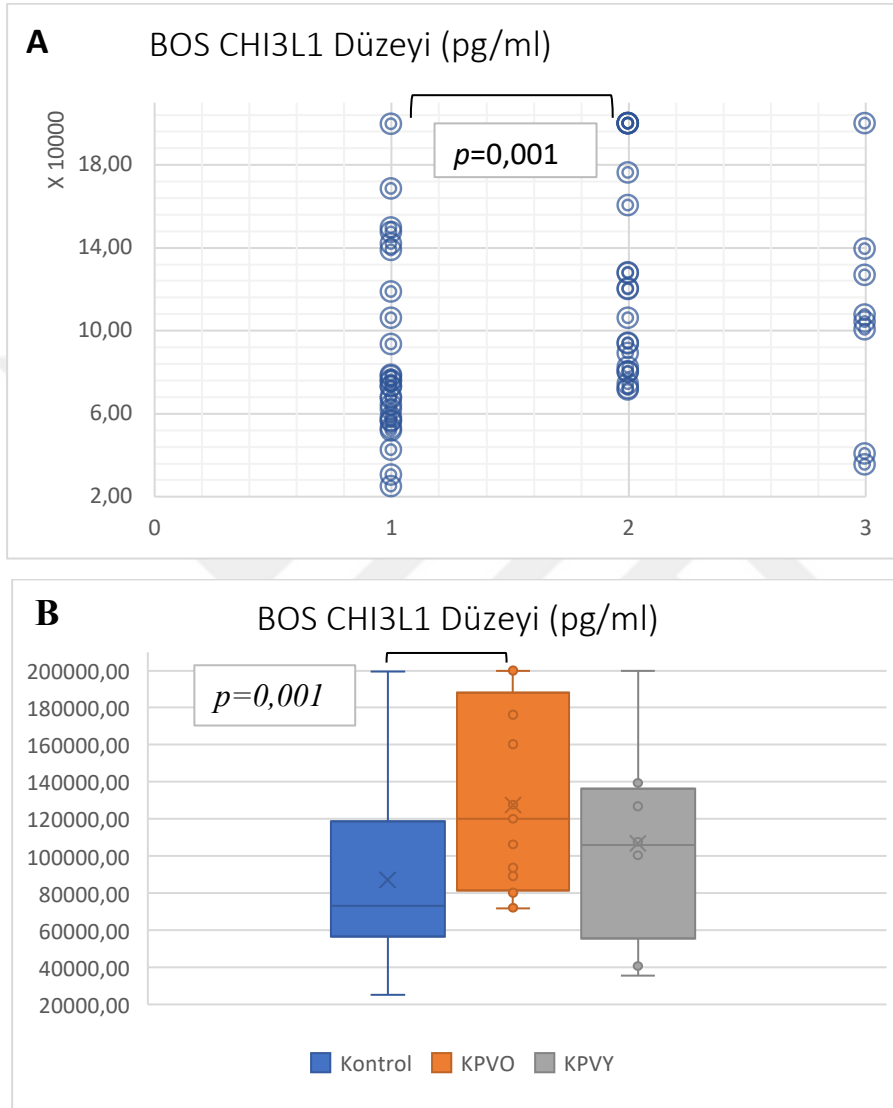


Şekil 7. Kontrol, KPVO ve KPVY gruplarının BOS CXCL13 düzeylerinin karşılaştırılması.

Kontrol grubunda KPVO grubuna göre BOS IL-12/IL-23p40 düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p=0,02$ ), BOS CHI3L1 düzeyi anlamlı olarak düşük saptanmıştır ( $p=0,001$ ) (Şekil 8) ve BOS'taki CXCL13 düzeyi anlamlı olarak düşük izlenmiştir ( $p<0,001$ ) (Şekil 7).

IL-12/IL-23p40 açısından gözden geçirildiğinde her 3 grubun ortanca değeri 31,3 pg/ml ve çeyrekler açıklığı 0 olarak hesaplanmış olsa dahi KPVO grubundaki minimum BOS düzeyi 31,3 pg/ml ve maksimum düzeyi 148,4 pg/ml, KPVY grubunda ise minimum değer yine 31,3 pg/ml iken maksimum değer 47,6 pg/ml olup tüm kontrol hastaları için BOS IL-12/IL23p40 saptanabilen limitin altında sonuç verdiği için dağılım aralığı KPVO ile KPVY gruplarında kontrol grubuna göre daha

geniştir. KPVO grubundaki hastalardan 4 ‘ünde, KPVY grubundaki ise 2 hastada BOS örneklerinde IL-12/IL-23p40 düzeyi tespit edilebilen düzeyin üstünde sonuç vermiştir.



Şekil 8. Kontrol, KPVO ve KPVY gruplarındaki hastaların BOS CHI3L1 düzeylerinin A) Dağılım grafiğinde B)Kutu-Çizgi grafiğinde karşılaştırılması. A Grafiği için: 1 – Kontrol, 2 – KPVO, 3 – KPVY

## 6.7 Kötü Prognostik Verilere Yönelik Serum ve BOS'ta Sitokin ile Kemokin Düzeylerinin Araştırılması

Kötü prognostik verisi olan ve kötü prognostik verisi olmayan grupları için serum ve BOS sitokin ile kemokin değerleri üzerine analiz yapılmıştır. Sonuçlar tablo 13 ile 14'te özetlemiş olmakla beraber serum ya da BOS'ta hiçbir parametre için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

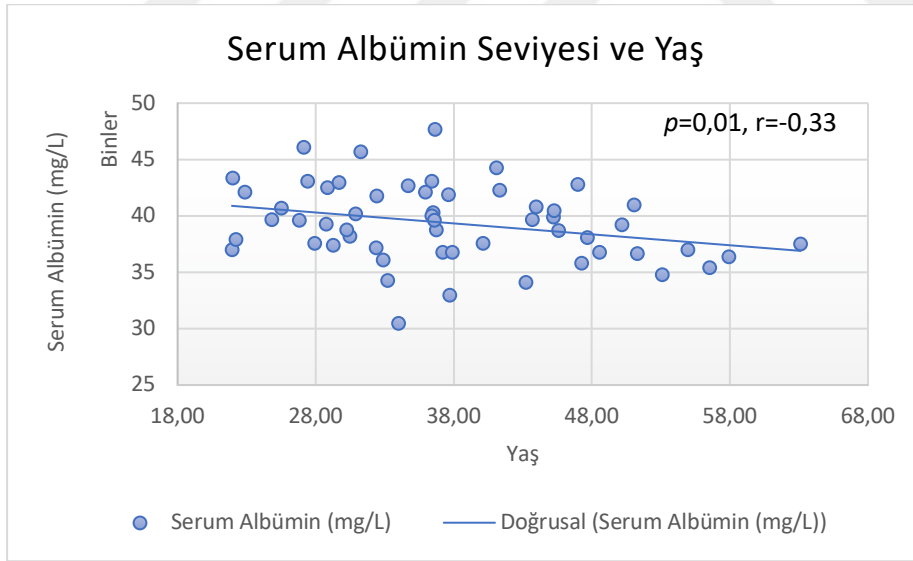
| <b>Tablo 13. Kötü Prognostik Verilere Göre Gruplandırılmış MS Hastalarında Serum Sitokin ve Kemokin Düzeyleri</b> |                                               |                                               |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------|
| <b>Serum Düzeyleri<br/>(pg/ml)</b>                                                                                | <b>KPVO, Ortanca<br/>(Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>KPVY, Ortanca<br/>(Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>p</b> |
| <b>IL-8</b>                                                                                                       | 31,2 (0)                                      | 31,2 (0)                                      | 0,54     |
| <b>IL-12/IL-23 p40</b>                                                                                            | 243,1 (316,1)                                 | 132,4 (143,4)                                 | 0,28     |
| <b>IL-21</b>                                                                                                      | 156 (0)                                       | 156 (75)                                      | 0,33     |
| <b>CHI3L1</b>                                                                                                     | 38118 (24273)                                 | 52445 (36073)                                 | 0,85     |
| <b>CXCL13</b>                                                                                                     | 75,2 (108,4)                                  | 36,4 (49,2)                                   | 0,10     |

| <b>Tablo 14. Kötü Prognostik Verilere Göre Gruplandırılmış MS Hastalarında BOS Sitokin ve Kemokin Düzeyleri</b> |                                               |                                               |          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------|
| <b>BOS Düzeyleri<br/>(pg/ml)</b>                                                                                | <b>KPVO, Ortanca<br/>(Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>KPVY, Ortanca<br/>(Çeyrekler Açıklığı)</b> | <b>p</b> |
| <b>IL-8</b>                                                                                                     | 127,4 (110,4)                                 | 137,8 (43,2)                                  | 0,30     |
| <b>IL-12/IL-23p 40</b>                                                                                          | 31,3 (0)                                      | 31,3 (1,7)                                    | 0,84     |
| <b>IL-21</b>                                                                                                    | 124,1 (364,7)                                 | 101,2 (1340,7)                                | 0,77     |
| <b>CHI3L1</b>                                                                                                   | 120130 (93905)                                | 106020 (62546)                                | 0,57     |
| <b>CXCL13</b>                                                                                                   | 26 (79,8)                                     | 27,8 (47,9)                                   | 0,81     |

## 6.8 Korelasyon Analizleri

### 6.8.1 Demografik verilerle korelasyon analizleri

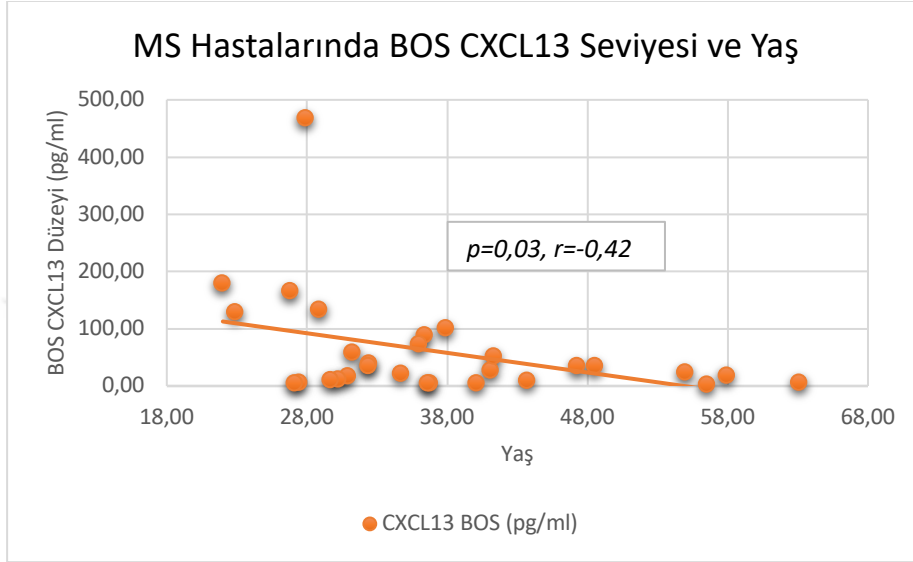
Demografik verilerle serum ve BOS parametreleri arasındaki ilişki tüm katılımcıların verileri üzerinden incelenmiştir. Tüm hastalar için incelendiğinde yaş ile serum albümini arasında hafif şiddette negatif yönde bir ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,01$ ,  $r=-0,33$ ) (Şekil 9). Bununla beraber, yaş ile BOS CXCL13 düzeyi arasında zayıf da olsa negatif yönlü anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ( $p=0,02$ ,  $r=-0,31$ ). Yaş ile serum IL-8 ( $p=0,44$ ), IL-12/IL-13p40 ( $p=0,48$ ), IL-21 ( $p=0,93$ ), CHI3L1 ( $p=0,10$ ), CXCL13 ( $p=0,43$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,19$ ), IL-12/IL-13p40 ( $p=0,47$ ), IL-21 ( $p=0,99$ ), CHI3L1 ( $p=0,46$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.



Şekil 9. Çalışmaya katılan tüm hastaların serum albümin seviyesi ile yaş arasındaki negatif korelasyon.

MS grubundaki hastalar için korelasyon analizleri tekrar edilmiştir. Serum albümini ile yaş arasında negatif yönlü orta şiddette bir ilişki bu analizde de tespit edilmiştir ( $p=0,001$ ,  $r=-0,60$ ). Yaş ile serum CHI3L1 düzeyi ( $p=0,13$ ), BOS CHI3L1

düzeyi ( $p=0,45$ ), serum CXCL13 düzeyi ( $p=0,36$ ) arasında korelasyon tespit edilmemiştir. Sadece MS hastaları için değerlendirildiğinde de BOS CXCL13 ile yaş arasında ise istatistiksel olarak anlamlı olan, negatif yönlü zayıf bir ilişkinin devam ettiği görülmüştür ( $p=0,03$ ,  $r=-0,42$ ) (Şekil 10).



Şekil 10. MS hastalarının BOS örneklerindeki CXCL13 seviyesi ile hasta yaşı arasındaki ilişki.

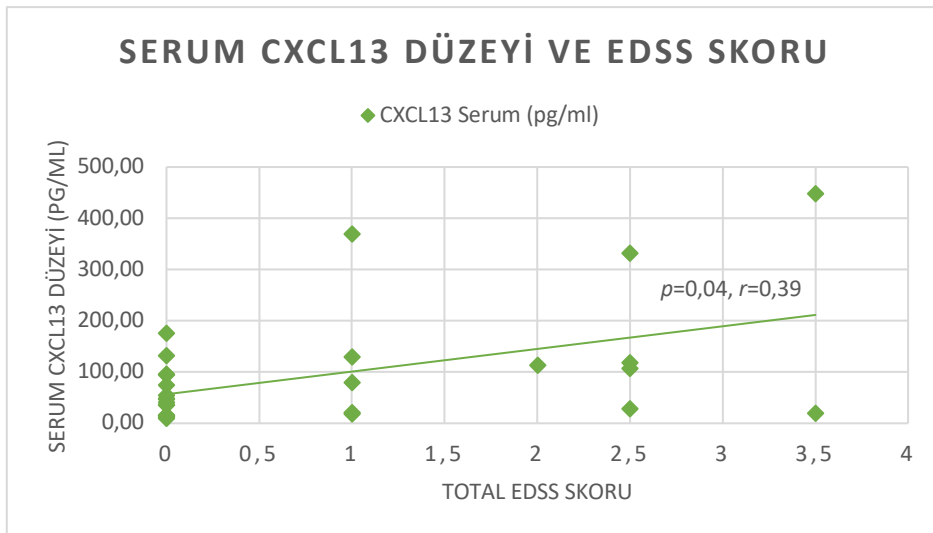
Bir diğer demografik faktör olan cinsiyet için analizler yapılmıştır. Tüm hastalar için değerlendirildiğinde erkek hastalardaki serum albümin düzeyi ( $p=0,009$ ) ve BOS albümin düzeyi ( $p<0,001$ ) kadın hastalara kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Kadın hastalar için serum albümin düzeyinin medyan değeri 38800 mg/L, BOS albümin düzeyi 127,4 mg/L olup erkek hastalarda serum albümin ortanca değeri 42500 mg/L, BOS albümin ortanca değeri ise 200,5 mg/L'dir.

Sadece MS hastaları için değerlendirildiğinde cinsiyete göre serum albümini için anlamlı fark tespit edilmemişken ( $p=0,06$ ), BOS albümini düzeyleri ( $p<0,001$ ) erkek hastalarda anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Erkek MS hastalarının BOS albümin ortanca değeri 200,5 mg/L olarak tespit edilmişken, kadın MS hastalarında ortanca BOS albümin değeri 132,8 mg/L'dir. Cinsiyet açısından değerlendirildiğinde kadın hastalarda BOS'taki IL-12/IL-23p40 düzeyi anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır ( $p=0,04$ ). Erkek hastaların tümünde BOS IL-12/IL-23p40 düzeyi saptanabilen düzeyin altında kalmışken, çalışabilen kitlerin

saptayabildiği aralıkta sonuç alınan katılımcıların tümünün kadın olduğu görülmüştür. BOS IL-12/IL-23p40 minimum değeri erkek ve kadın hastalar için 31,3 pg/ml olurken, maksimum değer erkek hastalar için yine 31,3 pg/ml kadın hastalar içinse 148,4 pg/ml olmuştur. Diğer parametrelerin hiçbiri için cinsiyet grupları arasında fark tespit edilmemiştir.

### 6.8.2 Klinik bulgularla korelasyon analizleri

Hastaların klinik durumuyla serum ve BOS parametrelerinin korelasyonu incelenmek istenmiş ve bunun için EDSS skorları ile sitokin ve kemokin düzeyleri kıyaslanmıştır. Tüm MS hastaları için değerlendirildiğinde EDSS ile BOS IL-8 ( $p=0,80$ ), BOS IL-12/IL-23p40 ( $p=0,86$ ), BOS IL-21 ( $p=0,21$ ), serum CHI3L1 ( $p=0,32$ ), BOS CHI3L1 ( $p=0,42$ ) arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Bununla beraber EDSS ile serum CXCL13 arasında zayıf da olsa pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir ( $p=0,04$ ,  $r=0,39$ ) (Şekil 11), fakat benzer bir korelasyon EDSS ile BOS CXCL13 düzeyi arasında saptanmamıştır ( $p=0,98$ ).



Şekil 11. MS hastalarının EDSS skorları ile serum CXCL13 düzeyi arasındaki korelasyon.

### 6.8.3 Kötü prognoz verilerine yönelik korelasyon analizleri

Serum ve BOS parametreleriyle kötü prognoz göstergesi faktörler arasındaki ilişki incelenmiştir.

Geç yaşta başlangıç gösteren 1 hasta (%3,5) mevcut olup serumdaki IL-8 ( $p=0,85$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,27$ ), CHI3L1 ( $p=0,72$ ), CXCL13 ( $p=0,47$ ) ve BOS'taki IL-8 ( $p=0,55$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,61$ ), IL-21 ( $p=0,19$ ), CHI3L1 ( $p=0,55$ ), CXCL13 ( $p=0,72$ ) düzeylerinde anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bununla beraber, geç yaşta başlangıç gösteren hastanın serumdaki IL-21 düzeyi 1098,82 pg/ml olup diğer MS hastalarındaki serum IL-21 ortanca değeri 156 pg/ml'dir (Aralık; 156 – 1776,9). Buna göre, geç başlangıç gösteren MS hastasının serum IL-21 düzeyi diğer MS hastaların göre yüksektir ( $p=0,02$ ).

Bir diğer kötü prognoz göstergesi olan beyin sapı ve/veya spinal kordda lezyon mevcudiyeti tüm MS hastalarının 21'inde (%72,4) saptanmıştır. Buna göre, beyin sapı ve/veya spinal kordda lezyonu olan hastaların serum IL-8 ( $p=0,54$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,28$ ), IL-21 ( $p=0,33$ ), CHI3L1 ( $p=0,85$ ), CXCL13 ( $p=0,10$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,30$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,84$ ), IL-21 ( $p=0,77$ ), CHI3L1 ( $p=0,57$ ), CXCL13 ( $p=0,81$ ) düzeylerinde anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir.

Multifokal atakları nedeniyle KPVO hasta grubuna dahil edilen bireylerin sayısı 6 (%20,7) olup serum IL-8 ( $p=0,61$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,29$ ), IL-21 ( $p=0,28$ ), CHI3L1 ( $p=0,73$ ), CXCL13 ( $p=0,13$ ) ve BOS IL-12/IL-23p40 ( $p=0,82$ ), IL-21 ( $p=0,66$ ), CHI3L1 ( $p=0,13$ ), CXCL13 ( $p=0,52$ ) düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır. Bu gruptaki hastaların BOS IL-8 düzeyi ortanca değeri 61,17 pg/ml (Aralık; 15,6 – 137,69) iken diğer MS hastalarında söz konusu parametrenin medyan değeri 132,63 pg/ml'dir (Aralık; 15,6 – 205,8). Multifokal ataklar geçirmiş olan MS hastalarında BOS IL-8 düzeyi anlamlı olacak şekilde düşük bulunmuştur ( $p=0,04$ ).

Birden çok kötü prognostik verisi olan hasta sayısı ise 7'dir ve tüm MS hastalarının %24,1'ini oluşturmaktadır. Birden fazla kötü prognostik faktörü olan hastaların serum IL-8 ( $p=0,82$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,64$ ), IL-21 ( $p=1$ ), CHI3L1 ( $p=0,64$ ), CXCL13 ( $p=0,09$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,09$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,78$ ), IL-21

( $p=0,90$ ), CHI3L1 ( $p=0,26$ ), CXCL13 ( $p=0,67$ ) düzeylerinde anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir.

#### **6.8.4 Görüntüleme verilerine yönelik korelasyon analizleri**

MRG'deki lezyon yerleşimi ve lezyon yüküyle serum ile BOS sitokin ve kemokin düzeylerinin nasıl değiştii araştırılmıştır.

Supratentoriyel alanda 3 ile 8 arasında lezyonu olan 14 (%50) MS hastası vardır. Bu gruptaki serum IL-8 ( $p=0,30$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,25$ ), IL-21 ( $p=0,31$ ), CHI3L1 ( $p=0,96$ ), CXCL13 ( $p=0,77$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,77$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,57$ ), IL-21 ( $p=0,14$ ), CHI3L1 ( $p=0,33$ ), CXCL13 ( $p=0,70$ ) düzeylerinde MS grubundaki diğer hastalara göre fark saptanmamıştır.

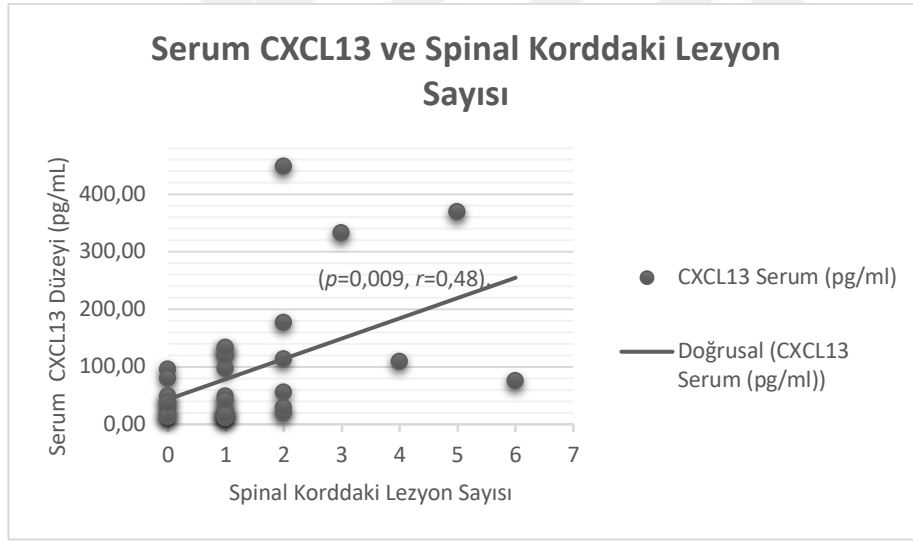
Supratentoriyel bölgede 9 ve üzeri sayıda lezyon saptanan hasta sayısı 14'tür (%50). Bu hasta grubunda serum IL-8 ( $p=0,32$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,30$ ), IL-21 ( $p=0,27$ ), CHI3L1 ( $p=0,93$ ), CXCL13 ( $p=0,85$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,96$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,41$ ), IL-21 ( $p=0,27$ ), CHI3L1 ( $p=0,22$ ), CXCL13 ( $p=0,71$ ) düzeyleri için diğer MS hastalarıyla fark izlenmemiştir.

Periventriküler alanda 1 veya 2 lezyonu olan hasta yoktur. Periventriküler bölgede 3 ve daha fazla lezyonu olan hastalar 26 (%93) kişidir. Serum IL-8 ( $p=0,78$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,14$ ), IL-21 ( $p=0,56$ ), CHI3L1 ( $p=0,15$ ), CXCL13 ( $p=0,86$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,30$ ), IL-12/IL-23 p 40 ( $p=0,24$ ), IL-21 ( $p=0,37$ ), CHI3L1 ( $p=0,15$ ), CXCL13 ( $p=0,86$ ) için bu gruba ait bireylerle diğer MS hastaları arasında fark saptanmamıştır.

Jukstakortikal alanda 1 veya daha fazla lezyonu olan katılımcı sayısı 23'tür (%82). Serum IL-8 ( $p=0,64$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,36$ ), IL-21 ( $p=0,32$ ), CHI3L1 ( $p=0,65$ ), CXCL13 ( $p=0,29$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,27$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,24$ ), IL-21 ( $p=0,74$ ), CHI3L1 ( $p=0,61$ ), CXCL13 ( $p=0,22$ ) için 1 ya da daha fazla jukstakortikal lezyonu olan hastalarla diğer MS hastaları arasında fark saptanmamıştır.

İnfratentoriyel alanda 1 ya da daha fazla lezyonu olan hasta sayısı 10'dur (%36). Serum IL-8 ( $p=0,18$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,48$ ), IL-21 ( $p=0,06$ ), CHI3L1 ( $p=0,08$ ), CXCL13 ( $p=0,60$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,67$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,89$ ), IL-21 ( $p=0,29$ ), CHI3L1 ( $p=0,18$ ), CXCL13 ( $p=0,14$ ) için bu gruba dahil olan bireylerle diğer MS hastaları arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir.

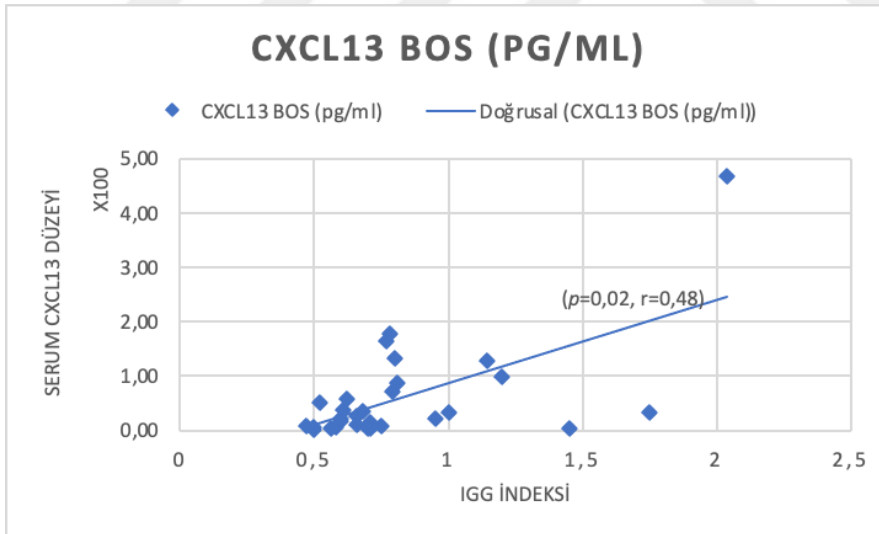
MRG'deki lezyon yerleşimi ve sitokin ve kemokin değerlerinin araştırıldığı kısımda son olarak spinal korddaki lezyon sayısı değerlendirilmeye alınmıştır. Buna göre, spinal kordda lezyonu olan 21 (%75) hasta tespit edilmiştir ve serum IL-8 ( $p=0,90$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,24$ ), IL-21 ( $p=0,53$ ), CHI3L1 ( $p=0,97$ ) ile BOS IL-8 ( $p=0,57$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,76$ ), IL-21 ( $p=0,84$ ), CHI3L1 ( $p=0,14$ ), CXCL13 ( $p=0,67$ ) için spinal korddaki lezyon sayısı ile korelasyon tespit edilmemiştir. Ek olarak, spinal korddaki lezyon sayısı ile serum CXCL13 arasında pozitif yönde orta düzeyde bir korelasyon tespit edilmiştir ( $p=0,009$ ,  $r=0,48$ ) (Şekil 12).



Şekil 12. MS hastalarında spinal korddaki lezyon sayısı ile serum CXCL13 arasındaki korelasyon.

### 6.8.5 OKB ve IgG indeksi için korelasyon analizleri

MS hastalığını desteklemek üzere günlük klinik pratikte kullanılan OKB tipi ve IgG indeksi düzeyiyle korelasyon analizleri yapılmıştır. OKB ile serum IL-8 ( $p=0,72$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,59$ ), CHI3L1 ( $p=0,53$ ), CXCL13 ( $p=0,96$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,75$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,07$ ), IL-21 ( $p=0,96$ ), CHI3L1 ( $p=0,17$ ), CXCL13 ( $p=0,09$ ) arasında anlamlı düzeyde bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca, serum IL-21 düzeyiyle OKB arasında negatif yönlü zayıf bir korelasyon izlenmiştir ( $p=0,02$ ,  $r=-0,43$ ). IgG indeksi için incelendiğinde ise serum IL-8 ( $p=0,95$ ), IL-12/IL-23p40 ( $p=0,66$ ), IL-21 ( $p=0,19$ ), CHI3L1 ( $p=0,73$ ), CXCL13 ( $p=0,56$ ) ve BOS IL-8 ( $p=0,21$ ), IL-21 ( $p=0,29$ ), CHI3L1 ( $p=0,47$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir korelasyon tespit edilmemiştir. Bununla beraber, IgG indeksi ile BOS IL-12/IL-23p40 ( $p=0,003$ ,  $r=0,54$ ) ve BOS CXCL13 ( $p=0,02$ ,  $r=0,48$ ) (Şekil 13) arasında pozitif yönlü orta derecede korelasyon tespit edilmiştir.



Şekil 13. MS hastaları için hesaplanan IgG indeksi ile serum CXCL13 arasındaki korelasyon.

## 6.9 Multipl Skleroz Hastalarının Klinik Takipleri

Lomber ponksiyon işleminden sonra MS hastaları demiyelinizan hastalıklar polikliniğinde klinik takibe alınmaları için yönlendirilmiştir. 29 hastadan 27'si klinik takibini sürdürmüştür. Bu hastalardan 19'u KPVO, 8'i KPVY grubundaki hastalardır. Hastaların klinik takip sürelerinin ortanca değeri 10,97 aydır (Aralık; 1,13 – 17,4). Takip süresi boyunca 4 hastaya ait 4 klinik atak kaydedilmiştir. İki hasta duyuşal sistemi etkileyen atak bildirmişken, bir hasta serebellar sistemi etkileyen, bir diğer hasta beyin sapını etkileyen atak bildirmiştir. Hastaların geliş muayeneleri ve son takiplerindeki muayene skorları incelenmiştir. Hastaların geliş EDSS skorları ve son takip vizitlerindeki EDSS skorları arasında anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,22$ ). Hastaların geliş muayene ve son kontrollerindeki muayene skorları tablo 15'te verilmiştir.

Takibe alınan hastalardan 22'sine (%81) hastalık modifiye edici tedaviler başlandığı görülmüştür. Diğer 5 hasta ise herhangi bir immunmodulator tedavi almadan takip edilmektedir. Hastaların aldıkları tedaviler gözden geçirildiğinde büyük kısmına oral ajanların tercih edildiği görülmüştür. 8 (%36) hasta teriflunomid, 8 (%36) hasta dimetil fumarat, 5 (%23) hasta glatiramer asetat, 1 (%5) hasta ise okrelizumab tedavisi almaktadır. Progresif seyirli 1 hastaya okrelizumab tedavisi verilmesi dışında diğer hastaların birinci basamak tedaviler aldığı görülmüştür. Progresif seyirli diğer 2 hastanın takipten çıktığı tespit edilmiştir.

| <b>Tablo 15. Tüm MS Hastalarının İlk Vizit ve Son Vizitteki Fonksiyonel Skorları</b> |                                              |                                              |                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------|
| <b>EDSS, Fonksiyonel Sistem Skorları</b>                                             | <b>İlk Vizit (n=29)<br/>Ortanca (Aralık)</b> | <b>Son Vizit (n=27)<br/>Ortanca (Aralık)</b> | <b><i>p</i></b> |
| <b>Piramidal</b>                                                                     | 0 (0 – 1)                                    | 0 (0 – 2)                                    | 0,90            |
| <b>Serebellar</b>                                                                    | 0 (0 – 3)                                    | 0 (0 – 2)                                    | 0,40            |
| <b>Beyin Sapı</b>                                                                    | 0 (0 – 3)                                    | 0 (0 – 0)                                    | 0,16            |
| <b>Duyu</b>                                                                          | 0 (0 – 2)                                    | 0 (0 – 2)                                    | 0,32            |
| <b>Mesane Bağırsak</b>                                                               | 0 (0 – 2)                                    | 0 (0 – 4)                                    | 0,60            |
| <b>Vizüel</b>                                                                        | 0 (0 – 2)                                    | 0 (0 – 1)                                    | 0,32            |
| <b>Mental</b>                                                                        | 0 (0 – 1)                                    | 0 (0 – 0)                                    | 1               |
| <b>Ambulasyon</b>                                                                    | 0 (0 – 0)                                    | 0 (0 – 4)                                    | 0,32            |
| <b>Total EDSS</b>                                                                    | 0 (0 – 3,5)                                  | 0 (0 – 4)                                    | 0,22            |

## 7 TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyomarker, normal biyolojik süreci, patolojik bir süreci ya da tedavi yanıtını objektif olarak ölçebilen ve değerlendirmeyi sağlayan karakteristik belirteç olarak tanımlanmaktadır[110]. İdeal bir biyomarkerın bir patoloji söz konusu olduğunda hasta olan kişilerde saptanabilir, sağlıklı kişilerde negatif olması beklenmektedir. Bununla beraber, hastalık progresyonuyla beraber biyobelirtecın düzeyinin artması, hastalıktaki düzelme periyotlarında biyomarker düzeyinin düşmesi beklenmektedir[137]. Ayrıca, noninvazif metotlarla belirtece ulaşılması tercih edilmektedir. Klinik kullanımda yer bulabilmesi için biyomarker düzeyini tespit eden metodun güvenilir, tekrar edilebilir, mümkün olduğunca basit ve uygun maliyetli olması gerekir[138]. Yine kullanılabilirlik açısından biyomarker düzeyi örneklerin toplanması, işlenmesi ve saklanması süreçlerinden etkilenmiyor olmalıdır[132].

Söz konusu bir biyomarker olduğunda duyarlılık ve özgüllük iki önemli veri haline gelir. Duyarlılık, hastalığı taşıyan bireyler arasında testin doğru pozitifliği; özgüllük sağlıklı bireyler arasında söz konusu testin doğru negatifliği[139]. Biyomarker olarak belirlenen molekülün ve çalışılan testin hem duyarlılık hem de özgüllük açısından yüksek değerlere sahip olması idealdir.

Olası biyomarkerlar üzerinde çalışmanın birtakım güçlükleri vardır. Bunlardan ilki hedeflenen molekülü tespit etmek için kullanılan yöntemin güvenilirliği, tekrar edilebilirliği ile ilgili sorunlar olmakla beraber aynı molekülü ölçmek için kullanılan fark yöntemlerde farklı sonuçlar alınıyorsa çalışılan molekülün patoloji ya da fizyolojiyi ne kadar yansıttığına dair sorunlar gündeme gelebilir. IL-21 düzeyinin biyomarker olarak hedeflendiği bir çalışmada testte kullanılan malzemelerin değişmesiyle beraber elde edilen sonuçların değiştiği bildirilmiştir[140]. Çalışmalar sırasında karşı karşıya kalınan bir diğer güçlük ise aday moleküllerin küçük hasta gruplarında belirlenmesi ve sonrasında tespit edilen korelasyonun daha geniş hasta ve sağlıklı bireyler için denenmesidir, çünkü küçük ölçekli çalışmalar her zaman genel geçer fizyoloji ya da patofizyoloji olaylarını yansıtmayabilir. Geçmişte anti-miyelin oligodendrosit protein (anti-MOG) ve anti-miyelin basic protein (anti-MBP) için ilk demiyelinizan olay sonrasında MS'e

dönüşüm riskini yansıttığına dair yayınlar olmasına rağmen geniş ölçekli çalışmalarda bu bilgi doğrulanamamıştır[141]. Elbette, değişen tanı kriterleriyle beraber çalışmalara dahil edilen hasta popülasyonunda olabilecek farklılıkların uzun vadede bu tür sonuçlara sebep olabileceği göz önünde bulundurulabilir.

Sitokinler, sekrete edilen protein yapıda immun sistem hücreleri arasındaki aracı moleküllerdir[11]. Sitokiler ve kemokinler, enfeksiyon, doku hasarı, self-tolerans için immun sistem hücrelerinin yanıtlarını düzenler[142]. Bu moleküller vücut sıvılarında çok az miktarda bulunur ve pleiotrofik fonksiyonları vardır[142]. Kemokinler, protein süperailisi olup hem kendileri hem de reseptörleri inflamasyona lökositlerin katılımında anahtar rol oynamaktadır[12]. Kemokinler kabaca iki sınıfa ayrılabilir ki ilk sınıfta yer alanlar inflamatuvar kemokinler olup inflamasyonun olduğu doku bölgesine lökosit trafiğini düzenlerken ikinci sınıfta yer alanlar homeostatik kemokinler olup lenfoid dokulara hücre transferinde kurucu rol üstlenir[143]. Multipl skleroz etiyolojisinde hem doğal hem de adaptif immun sistemin rolü olduğu için MS spesifik immun profilin çıkarılması hastalığın başlangıcı ve progresyonunu yansıtabilecek olası biyomarkerların tespitini sağlayabilir[144].

Bu çalışmada MS'in patofizyolojisinde rol aldığı bilinen ve prognoz göstergesi olabileceği düşünülen 5 adet hedef molekül belirlenmiştir. Hedef moleküller olarak oksidatif stres göstergesi ve başlıca proinflamatuvar sitokinlerden birisi olan IL-8, miyeloid kökenli hücreler için kemoatraktan olan IL-12/IL-23p40, CD4+ T lenfositler ve B-lenfositlerin aktivasyonu ile proliferasyonu ve hayatta kalmasını regüle eden IL-21, mikrogial aktivasyonu yansıtan CHI3L1 ve son olarak B hücrelerin MSS'ne toplanması sinyalini veren en güçlü kemoatraktan moleküllerden birisi olan CXCL13 belirlenmiştir[13],[14],[15],[16],[17]. Böylelikle MS'in patofizyolojisinde bilinen tüm basamaklar kapsanmaya çalışılmıştır.

Çalışmamıza hastalar prospektif olarak dahil edilmiş, Multipl Skleroz patofizyolojisi ve hastalığın klinik seyrini değerlendirmek üzere kesitsel inceleme yapılmıştır. İmmunomodülatuvar tedavilerin hastalığın doğal seyrine müdahalesini ekarte etmek için naif ve yeni tanı MS hastaları seçilmiştir. Çalışmamızın hedefi klinik ve radyolojik prognoz faktörlerle serum ve beyin omurilik sıvısındaki sitokin ile kemokin düzeylerinin örtüşüp örtüşmediğinin test edilmesinden yola

çıkarak olası bir biyomarker belirlemek olduğu için çalışmadaki tüm gruplar olabildiğince homojen oluşturulmaya gayret edilmiştir.

Tüm MS hastaları arasında kadın hastaların oranı %62,1, KPVO grubu için %61,9, KVPY grubu için %62,5 olarak tespit edilmiş olup kontrol grubundaki kadın hastaların oranı %92,6'dır. MS hastalığının kadınları daha sık etkilediği bilinmektedir[1]. Hem KPVO hem de KVPY gruplarındaki kadın hasta oranı MS'in kadınlar arasındaki genel prevalansıya uyumlu görünmektedir. Kontrol hastalarının çoğunluğunu baş ağrısı ve idiopatik intrakraniyel hipertansiyon hastaları oluşturduğu için bu grupta kadın hasta ağırlığı söz konusudur, çünkü bilinmektedir ki idiopatik intrakraniyel hipertansiyon hastalarının %10'undan azını erkek hastalar oluşturmaktadır[145]. Gruplar arasındaki cinsiyet dağılımındaki farkın incelenen parametreler üzerine etkisi tek tek söz konusu sitokin ve kemokin düzeyleri değerlendirilirken yapılacaktır.

Çalışmamızdaki katılımcıların dahil edildikleri grupların yaş ortanca değerleri birbiriyle uyumlu tespit edilmiştir. Gruplar arasında yaş açısından fark saptanmamıştır. Böylelikle, yaşınc incelenen parametreler üzerinde yaratabileceği farkların bertaraf edildiği düşünülmüştür.

Çalışmamız MS hastalığının bireylerdeki değişik spektrumlardaki klinik ve radyolojik özelliklerine dayanarak prognoz göstergesi olabilecek bir aday biyomolekül göstermeyi hedeflemiştir. Bununla beraber, ilgilenen parametreleri çalışmamızın ilgi alanı dışına çıkararak etkileyebilecek farklı MS alt tipleri ya da ailesel MS gibi durumlar hem KPVO hem de KVPY gruplarında izlenmemiştir. MS'in progresif seyri kötü prognoz göstergesi olmakla beraber KPVO ve KVPY grupları arasında primer progresif seyirli hasta açısından anlamlı fark saptanmaması, KPVO grubundaki 3 primer progresif seyirli hasta dışındaki diğer MS hastalarının tümünün RRMS hastası olması tespit edilen serum ve BOS sitokin ile kemokin düzeyi analizlerini daha güvenilir kılmıştır. Ek olarak, KPVO ve KVPY gruplarındaki MS hastalarının geçmişte geçirdiği atak sayısı ve çalışmamıza dahil edildiklerindeki özürllülük durumları uyumlu görülmüştür. KVPY grubundaki EDSS ortanca değeri 0'ken bu değer KPVO grubunda 1'dir. Çalışmamıza dahil edilen MS hastaların düşük özürllülük taşıdığı göz önünde bulundurulmalıdır. KPVO ve KVPY gruplarındaki MS hastalarının total EDSS skorları arasında KPVO grubu lehine

ancak marjinal bir farklılık saptanmıştır. KPVO grubundaki MS hastalarının KPVY grubuna göre daha fazla piramidal atak bildirmiş olmasının total EDSS skorundaki kısmi yüksekliğe sebep olmuş olabileceği düşünülmüştür, çünkü piramidal sisteme ait atakların serebellar ve mesane-bağırsak sistemlerini tutan ataklarla beraber en çok özürlülük birikimine sebebiyet veren atak tipleri olduğu bilinmektedir[146].

Çalışmamıza son bir ay içinde atak geçirmemiş, steroid tedavisi almamış MS hastaları ile noninflamatuvar nörolojik hastalıklardan mustarip kontrol hastalarının dahil edilmesinin sebebi kan beyin bariyerinin intakt olduğunun güvenceye alınmak istenmesidir. Böylelikle bozulmuş kan beyin bariyeri sebebiyle serumdaki sitokin ve kemokinlerin beyin omurilik sıvısına geçmiş olabileceği şüphesi ortadan kaldırılmıştır. Aynı amaca binaen radyolojik görüntülemelerde kontrast madde tutulumu olan hastalar çalışmamıza kabul edilmemiştir. Ayrıca, herhangi bir immunmodulatuvar tedavi almamış, yeni tanı MS hastaları kabul edilmiştir ve böylelikle hastalığın doğal patofizyolojisi hakkında da bilgi sahibi olunmak hedeflenmiştir.

KPVO ve KPVY gruplarındaki MS hastaları demografik ve klinik olarak birbiriyle uyumlu olup kraniyel görüntülemelerdeki lezyon lokalizasyonu ve lezyon yükü açısından da iki grup arasında anlamlı fark olmaması iki homojen hasta grubunun elde edilmesi sağlamıştır. Her ne kadar çalışmamıza tedavi naif ve yeni tanı hastalar alınmış olsa da tüm MS hastalarının %93'ünde periventriküler alanda 3'ten fazla lezyonun olması, %50'sinde supratentoriyel 9 üzerinde lezyon saptanması hastaların beyindeki lezyon yükünün fazla olduğunu göstermektedir. Bununla beraber, spinal kordda ve beyin sapında lezyon mevcudiyeti MS'in prognozu açısından olumsuz bir göstergedir[10]. Çalışmamızın başında spinal kordda lezyonu olan hastaların KPVO grubuna dahil edileceklerine böylelikle karar verilmiştir. Bundan ötürüdür ki, KPVO grubunda KPVY grubuna göre anlamlı düzeyde fazla sayıda spinal kord lezyonu tespit edilmiştir. Spinal kordda daha fazla lezyon bulunmasının KPVO grubundaki sınırdaki EDSS yüksekliğine katkıda bulunmuş olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak, yaş, klinik özürlülük, radyolojik özellikleri birbiriyle uyumlu mümkün olan en homojen grupların oluşturulduğu söylenebilir.

Lomber ponksiyon sonrasında ilk değerlendirilen parametrelerden ikisi serum albümin ve BOS albümin olmuştur. Klinik ve radyolojik olarak kan beyin bariyeri

disfonksiyonunu düşündüren durumlar çalışmanın başında ekarte edilmiş olmakla beraber her katılımcı için hesaplanmış referans albümin oranını aşan katılımcı olmaması çalışmaya dahil edilmiş her bireyin kan beyin bariyerinin sağlamlığını teyit etmiştir.

Albümin, karaciğer tarafından üretilen, serumda en yüksek miktarda bulunan, MSS’de üretimi olmayan ve ancak KBB geçirgenliğinin arttığı durumlarda MSS’de serumdaki miktarına göre oranı artan proteindir[147]. Bununla beraber, albümin hem kanda elektrolitlerin taşınmasında hem de ilaçların taşınması ile metabolizmasında görevli bir moleküldür[148]. Binden fazla hastaya ait serum örneklerinin çalışılarak serum albümin düzeyinin analiz edildiği bir çalışmada 20 yaşına dek serum albümin düzeyinin pik seviyesine ulaştığı, bundan sonra ise azalarak seyrettiği bildirilmiştir[148]. Aynı çalışma, serum albüminindeki düşüşün kadın hastalarda erkeklere göre daha hızlı olduğunu, 60 yaşında ise iki cinsiyete ait verilerin başa baş olduğunu göstermiştir[148]. Çalışmamızda saptanan tüm katılımcıların yaşları ile serum albümin düzeyi arasındaki negatif yönlü hafif şiddetteki korelasyon ve MS hastalarının yaşları ile serum albüminleri arasındaki orta şiddetli negatif korelasyon geçmiş çalışmalarla paralel yöndedir.

Albümin oranı, KBB disfonksiyonunu göstermekte sıkça kullanılan bir hesaplama yöntemi olmakla beraber yaşla birlikte bu oranın yükseldiği bilinmektedir[99]. Bu bilgiye ek olarak, erkek cinsiyette albümin oranının artış seviyesinin kadınlara göre daha hızlı seyrettiği ve albümin oranı hesaplanırken erkek cinsiyetin de hesaba katılması gerektiği son çalışmada bildirilmiştir[149]. Buna karşın çalışmamızda her birey için hesaplanmış yaşa göre albümin oranını aşan albümin oranına sahip katılımcı olmasa da fizyolojik sınırlarda olmakla beraber artan serum albüminine sekonder olarak BOS albüminin de artmış olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızdaki tüm katılımcılar için yapılan incelemeler göstermiştir ki erkek hastaların hem serum hem de BOS albümin düzeyleri kadın hastalara göre daha yüksektir. Söz konusu analiz MS hastalarına sınırlandırıldığında erkek hastaların BOS albüminin yine kadın hastalara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları geçmiş verilerle uyumlu görülmektedir. Çalışmamızda serum albümin düzeyi KPVY grubuna göre kontrol grubunda düşük saptanmıştır ( $p=0,04$ ). Bu sonucun gruplar arasındaki cinsiyet

farkından ileri geldiği kanaatine varılmıştır. Bunun sebebi, kontrol grubu, KPVO ile KPVY gruplarının yaş açısından benzer özellikler göstermesi, yaşın serum albümini üzerine olan etkisi bertaraf edilmesi ve aynı yaş aralığında kadın hastalar kontrol grubunda daha ağırlıkta olmasıdır.

IL-8, oksidatif stres göstergesi olan, potent kemoatraksiyonla nötrofil ve monositleri aktive ederek bu hücrelerin endotel yüzeyine tutunmasını sağlayan adhezyon moleküllerini regüle eden ve damar duvarından geçişi kolaylaştıran başlıca proinflamatuvar sitokinlerden birisidir[15]. Kuvvetli anjiojenik etkisi olmakla beraber monosit, lenfosit, granülosit, fibroblast, endotel hücresi ve astrosit gibi pek çok hücre grubu tarafından sekrete edilmektedir[150]. Nötrofiller kan beyin bariyerini geçtikten sonra IL-8 aracılığıyla T-lenfositleri ortama çekmek üzere kemoatraktan moleküller salgılar ve superoksit ürünleri gibi nörotoksik maddeleri üretir[151]. IL-8'in KBB'deki bozulmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir, çünkü yüksek doz kortikosteroid tedavisi ardından serumdaki IL-8 düzeyinin azaldığını gösteren çalışmalar mevcut olduğu gibi MS atağı sırasında BOS'taki seviyesinin yükseldiği de tespit edilmiştir[152],[153]. Sağlıklı kişilerle kıyaslandığında beyin omurilik sıvısındaki ve serumdaki IL-8 düzeyinin MS hastalarında yüksek olduğu bilinmektedir[144],[154]. Bu çalışmada ise literatürdeki bilgiden farklı olmak üzere MS hastalarında kontrol grubuna kıyasla serum ya da BOS IL-8 düzeyleri anlamlı fark bulunmamıştır. MS hastaları KPVO ve KPVY gruplarına ayrılarak incelendiğinde de iki farklı klinik prentazyona sahip grupta serum ve BOS IL-8 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir.

Rossi ve arkadaşlarının 193 RIS, KIS ve RRMS hastayla yürüttükleri çalışmada BOS'ta yüksek düzeyde IL-8 bulunmasının 2 yıllık takip sonunda RIS hastaları için progresyon riskini, KIS hastaları için RRMS'e dönüşme riskini arttırdığı, RRMS hastalarındaysa yüksek atak frekansını gösterdiği tespit edilmiştir[155]. Bu çalışmada kötü prognostik veri taşıyan ve taşımayan MS grupları arasında serum ve BOS IL-8 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadığı gibi kötü prognoz göstergeleri için tek tek değerlendirildiğinde de geç yaşta başlangıç ve beyinsapı ya da spinal kord lezyonlarının varlığıyla IL-8'in serum ya da BOS düzeyleri arasında fark izlenmemiştir. Tam tersi yönde bir sonuç multifokal atakları olan hastalar için kaydedilmiştir. Başlıca proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-8'in

herhangi bir kötü prognoz göstergesi taşıyan MS hastalarında yüksek sonuçlanması beklenirdi. Oysa multifokal atak öyküsü olan MS hastalarında BOS IL-8 düzeyi (ortanca 61,2 pg/ml) diğer MS hastalarına (ortanca 132,6 pg/ml) göre düşük tespit edilmiştir ki bu veri geçmiş çalışmaların öne sürdüğü bilgilerle zıt yönde gibi görünmektedir. Ancak multifokal atak öyküsü olan sadece altı hastanın bulunması genel geçer bir yorum yapmaya mani olmaktadır.

205 RRMS hastasının BOS IL-6 ve IL-8 profili ile klinik ve radyolojik hastalık seyrini araştıran bir çalışma, hastalık süresi uzadıkça BOS'taki IL-8 düzeyinin arttığını göstermiştir[156]. Bununla beraber, aynı çalışma BOS'taki IL-8 düzeyiyle LP işlemi için başvurdaki özürlülük skorları ve MRG verilerini kıyaslamış ve anlamlı bir ilişki bulunmadığını bildirmişken 37 aylık klinik takip sonuçlarına göre IL-8'in BOS'taki düzeyi ile takip süresinde geçirilen klinik atak ve radyolojik atak sayısı arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur[156]. Bir yıllık takip sonunda EDSS'teki değişimle IL-8 düzeyi arasında ilişki tespit edilmemiş olup takip süresi 3 yıla uzatıldığında EDSS skorları ile IL-8'in BOS düzeyi arasında pozitif yönlü ilişki olduğu bildirilmiştir[156]. MS tanısı konulduğunda kortikal lezyon yükü fazlaysa BOS'taki IL-8 dahil proinflamatuvar sitokin düzeylerinin yüksek olduğu Magliozzi ve arkadaşlarının çalışmasında tespit edilmiştir[157]. Bizim çalışmamızda da mevcut bilgilerle uyumlu olarak MS hastalarının LP işlemi öncesindeki EDSS skorları ile serum ya da BOS IL-8 düzeyleri arasında korelasyon izlenmemiştir. Hastaların klinik takiplerine devam edildiği durumda hem özürlülük skorlarındaki değişim hem de geçirilen klinik ve radyolojik ataklarla serum ve BOS IL-8 düzeyi arasındaki analizlerin yapılmasında fayda olacağı aşıkardır. Aynı şekilde MRG verileriyle kıyaslandığı zaman herhangi bir MS için tipik atak bölgesindeki demiyelinizan lezyon sayısı ile serum ya da BOS IL-8 düzeyi arasında ilişki tespit edilmemiştir. Bununla beraber, çalışmamızda kortikal lezyon sayısı değerlendirilmemiştir.

Maxeiner ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada menenjit, MS, sefalji, duygu durum bozuklukları ve şizofrenisi olan 86 hastanın serum ve BOS örneklerinin sitokin profilleri çıkarılmıştır[158]. Bu çalışmanın sonucunda, menenjit ve MS benzeri MSS'de enflamasyonla giden hastalıklarda olduğu gibi psikiyatrik hastalıklarda da BOS'ta IL-8 düzeyinin orta düzeyde arttığı ifade edilmiştir ve IL-

8'in BOS'taki artışının serumdaki artışa belirgin olması sebebiyle intratekal inflamasyon göstergesi olarak kabul edilmiştir[158]. Bir başka çalışmada daha IL-8 BOS seviyesinin MS gibi diğer inflamatuvar nörolojik hastalıklarda da yüksek olduğu gösterilmiştir[159]. Bielekova ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada LP işlemine en yakın tarihli MRG'deki kontrast tutan lezyon sayısı ile BOS sitokin profili arasındaki ilişki araştırılmış, ancak IL-8 için anlamlı bir korelasyon tespit edilmediği bildirilmiştir[159].

Pek çok inflamatuvar nörolojik hastalıkta BOS IL-8 düzeyinin yüksek saptanmış olması bu molekülün MS için spesifik olmadığını düşündürmektedir. MS'te görülen demiyelinizan plakların pek çok başka inflamatuvar hastalığın MSS tutulumuyla karışabildiği göz önünde bulundurulduğunda IL-8 BOS düzeyinin tanısal değerinin düşük olacağı aşıkardır. Bizim çalışmamızda kontrol grubuna noninflamatuvar nörolojik hastalıklardan mustarip kişilerin dahil edilmesi ve bu kişilerin büyük bir kısmının baş ağrısı kliniğinin olması sonuçları değerlendirirken göz önünde bulundurulmalıdır. Maxeiner ve arkadaşlarının çalışmasında gösterildiği gibi sadece inflamasyonla giden MSS hastalıklarında değil, sefalji ve hatta şizofreni ve duygu durum bozuklukları gibi psikiyatrik hastalıklarda BOS IL-8 düzeyinin yüksek olduğunun gösterilmiş olması bizim çalışmamızda kontrol grubu ile MS grupları arasındaki serum ve BOS IL-8 düzeyleri arasında fark olmaması durumunu açıklayabilir. Ek olarak, örneklem sayımızın bahsedilen diğer çalışmalara göre daha küçük olmasının da sonuçlar üzerine etkili olduğu ve potansiyel farkların saptanamamış olabileceği düşünülmüştür.

IL-12/IL-23p40, IL-12 ve IL-23 sitokinleri tarafından paylaşılan bir subünitedir ve IL-12 ile IL-23'e göre 5 ile 100 kat daha fazla üretilmektedir[160],[161]. İnflamatuvar stimulusla beraber monosit, makrofaj, mikrogliya, miyeloid dendritik hücreler gibi miyeloid kökenli hücreler tarafından üretilir[160]. IL-12/IL-23p40 miyeloid kökenli hücreler için kemoatraktan görevi görürken homodimeri nitrik oksit sentazı ve mikrogliadaki lökotrien-alfa'yı indükler, CD8+ T-lenfositleri aktive eder[16],[162]. Antijenik stimulus sonrasında T-Helper 1 ile T-Helper 2 hücreleri arasındaki dengeyi T-Helper 1 yönünde kaydırır[163]. Otopsi çalışmalarında aktif MS lezyonlarında IL-12/IL-23p40 mRNA'sının eksprese edildiği gösterilmiştir[164].

Çalışmamızda MS hastalarının BOS’unda kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde IL-12/IL-23p40 bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca kontrol grubu ile MS hasta grupları olan KPVO ve KPVY grupları ayrı ayrı kıyaslandığında da her iki MS grubundaki BOS IL-12/IL-23p40 düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları literatürdeki geçmiş çalışmalarla uyum içinde görülmektedir. Orbach ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 49 KIS, 29 RRMS ve 37 diğer nörolojik hastaların BOS IL-12/IL-23p40 seviyeleri çalışmıştır ve RRMS ile KIS hastaların BOS düzeyin anlamlı derecede yüksek olmasıyla beraber bu sitokinin KIS ile diğer nörolojik hastalıkları ayırt etme gücünün yüksek olduğu izlenmiştir[165]. Aynı çalışmada hastaların klinik özürüllük durumları ve T2 ağırlıklı kesitlerdeki demiyelinizan lezyon sayısı ile bir ilişki tespit edilmediği bildirilmişken KIS ile diğer nörolojik hastalıkları ayırt etmek için biyomarker adayları olduğu vurgulanmıştır[165]. Bizim çalışmamızda da noninflamatuvar nörolojik hastalıklardan yakınan bireylerin BOS IL-12/IL23p40 düzeylerinin anlamlı derecede düşük olması gerçekten de MS ile diğer noninflamatuvar nörolojik hastalıkları ayırt etmede fayda sağlayabilecek bir molekül olduğu görüşünü destekler niteliktedir.

239 hastayla yapılan bir çalışmada BOS IL-12/IL-23p40 düzeyinin RRMS hastalarında KIS hastalarına, noninflamatuvar hastalık grubu ve diğer MSS inflamatuvar hastalıkları grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur[159]. Aynı çalışmada BOS IL-12/IL-23p40 düzeyiyle IgG indeksi ve MRG’de kontrast tutan lezyon sayısı arasında orta şiddette bir korelasyon tespit edilmiştir[159]. Başka bir çalışmada ise BOS IL-12/IL-23p40 düzeyinin remisyondaki RRMS ve KIS hastalarında atak geçirenlere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir[166]. Bizim çalışmamızda da MRG’deki lezyon lokalizasyonu ve lezyon yüküyle BOS ya da serum IL-12/IL-23p40 düzeyi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememişken BOS IL-12/IL-23p40 ile IgG indeksi arasında pozitif yönlü korelasyon varlığı geçmiş çalışmaları destekler niteliktedir. Her ne kadar MS için daha belirleyici olan OKB ile IL-12/IL-23p40 arasında ilişki tespit edilememiş olsa da IgG indeksi ile orta düzeyde böyle bir korelasyon IL-12/IL-23p40’ın MS’e özgü olabileceğini düşündürmektedir.

Magliozi ve arkadaşları kortikal lezyon yüküyle birlikte BOS sitokin profilini değerlendiren bir çalışma yürütmüştür[157]. Bu çalışmaya göre, postmortem

beyin dokusunda yüksek miktarda meningeal inflamasyon bulgusu olan MS hastalarının beyin dokularında hem kontrollere hem de beyin dokusunda düşük miktarda meningeal inflamasyon bulgusu olan MS hastalarına kıyasla yüksek miktarda IL-12/IL-23p40 tespit etmiştir[157]. Ne var ki, bizim çalışmada KPVO ve KPVY grupları arasında söz konusu sitokinin BOS seviyeleri arasında fark saptanmamış olması IL-12/IL-23p40'ın intratekal inflamasyonun derecesini yansıtmayabileceğini ya da kortikal inflamasyonun beyin omurilik sıvısına yansımayabileceğini düşündürülebilir. Yine özürölük skorları ile serum ya da BOS IL-12/IL-23p40 düzeyi arasında bağlantı saptanamamış olması da bu hipoteze destek verebilir. Ayrıca, çalışmamız BOS IL-12/IL-23p40 düzeyi için cinsiyet farklılığı olduğunu, kadın hastaların BOS IL-12/IL-23p40 düzeyinin erkek hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bizim sonuçlarımızla uyumlu olacak şekilde literatürdeki bir başka çalışma da kadın hastalarda IL-12/IL-23p40 düzeyini erkeklere göre daha yüksek bulmuştur[167]. Erkek cinsiyetin kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilebildiği düşünülürse ve IL-12/IL-23p40 meningeal inflamasyon göstergesiye aslında erkek hastalarda bu sitokinin BOS düzeyinin daha yüksek olması beklenirdi. Tam tersi sonuç elde edilmiş olması nedeniyle bu sitokinin BOS'taki inflamasyonu yansıtmayabileceği öne atılabilir.

IL-12/IL-23p40 MS patogeneğinde önemli rolleri olan T-Helper 1 ve T-Helper 17 hücrelerinin farklılaşması için gerekli bir molekül olduğu için hastalık aktivitesini yansıtan bir molekül olarak değerlendirilmiştir[137]. Ustekinumab, IL-12/IL-23p40 monoklonal antikoru olup RRMS hastalarında subkutan enjeksiyon formu tedavi ajanı olarak değerlendirilmiş, primer sonlanım noktasına ulaşmayıp MRG'de kontrast madde tutan lezyon sayısını azaltmadığı için faz 2 çalışmalarını geçememiştir[168].

RRMS hastalarında interferon-beta1b tedavisi ile serum sitokin profilini değerlendiren bir çalışmada 24 hastanın bir yıllık tedavi periyodu sonrasında serum IL-12/IL-23p40 düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir[169]. Halbuki, bizim çalışmamızda da benzer büyüklükte MS örnekleme olmasına rağmen serum IL-12/IL-23p40 düzeyi MS hastaları ile kontrol hastaları arasında farklı değildir. Yine de bizim çalışmamızda tedavi sonrası serum düzeylerinin karşılaştırılmadığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bundan başka, 70 klinik olarak stabil MS hastası ve 55 sağlıklı

kontrol ile yapılan bir çalışma BOS IL-12/IL-23p40 düzeyinin sağlıklı gönüllülere göre daha yüksek olduğunu doğrulamış olup çalışmadaki RRMS hastalarında Rituksimab tedavisine geçirilmiş, tedavi değişiminden 1 yıl sonra bu hastaların BOS IL-12/IL-23p40 seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir[154]. Dolayısıyla, söz konusu molekülün tedavi yanıtında kullanıma girmesi söz konusu olabilirken bizim çalışmamızda farklı klinik prezentasyonlara göre farklı inflamatuvar süreçlerin yürüdüğü düşünülen naif MS hastalarında farklı düzeylerdeki inflamasyonu yansıtmada konusunda yetersiz kaldığı görülmüştür.

IL-12/IL-23p40 için son olarak, 226 çalışmanın değerlendirmesiyle yapılan bir meta-analiz çalışmasında IL-12/IL-23p40 serum ve BOS düzeyinin MS hastalarında yüksek olduğu ve kontrollerden ayrılmasını sağladığı bildirilmiştir[170]. Bununla beraber, söz konusu sitokinin serum düzeyinin çalışmalar arasında yüksek heterojenite gösterdiği, BOS düzeyininse orta derecede heterojenite gösterdiği ifade edilmiştir[170].

Bizim çalışmamızdaki örneklem grubunun küçük olması farklılıkların saptanabilir düzeye gelmesine engel olmuş olabilir, çünkü BOS numunelerinden sadece %12,2'sinde saptanabilen düzeylerin üstünde bir değer elde edilmişken bahsi geçen farklılıkların tespit edilmiş olması daha geniş bir örneklem grubuyla sonuçların daha bariz olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bir diğer sorun da bahsedildiği gibi çalışmalar arasında hem serum hem de BOS IL-12/IL-23p40 düzeylerindeki yüksek seviyelere ulaşabilen heterojenitedir. Her ne kadar bizim çalışmamız da literatürde mevcut olan çalışmalar da bu sitokini inflamasyon göstergesi olarak işaret ediyor olsa da çalışmalarda tekrar edilebilir ve birbiriyle uyumlu sayısal değerler elde edilemiyor olması IL-12/IL-23p40'ı biyomarker olarak zayıf kılmaktadır.

IL-21, CD4+ T lenfositler ve B-lenfositlerin aktivasyonu, proliferasyonu ve hayatta kalmasını regüle eder, indüklenebilir konumdaki regülatör T lenfositlerin farklılaşmasını sınırlandırır ve T-Helper 17 hücrelerinden salgılanarak yine T-Helper 17 lenfositlerin gelişimini otokrin olarak destekler[17]. Regülatör T lenfositlerin gelişiminin inhibisyonuyla NMO ve MS'teki otoimmün yanıtı baskılar[171]. Ayrıca, IL-21 için B hücrelerinin kaderini belirlediği söylenmektedir ki B-hücrelerin proliferasyonu, immunglobulin üreten plazma hücrelerine farklılaşmasını

tetikleyebilirken apoptozunu da indükleyebilir[172]. Bundan başka, IL-21'in diğer T-Helper kaynaklı sitokinlerle birlikte immunglobulin farklılaşmasında rolü olduğu bilinmektedir ki bu sitokinin B hücre fonksiyonları üzerinde kritik işlevi olduğunu göstermektedir[173].

MS lezyonlarında IL-21 ve IL-21 reseptörünü in-situ hibridizasyon ve immunohistokimyasal yöntemlerle araştıran Tzartos ve arkadaşları aktif MS plaklarında ve bir miktar da kronik aktif MS plaklarında IL-21 pozitif hücreler tespit etmiş olup bu hücrelerin çoğunlukla CD4+ T lenfositler olduğunu bildirmiş, IL-21'in MS'in hem akut hem de kronik fazında önemli oyuncularından birisi olduğunu öne sürmüştür[174].

40 klinik izole sendrom yaşayan hasta ve 17 sağlıklı gönüllü ile yapılan çalışmada hem serum hem BOS IL-21 düzeyleri değerlendirilmiştir[175]. Öncelikle tüm katılımcılar içinde sadece 1 hastaya ait serum numunesinde ölçüm yapılabildiği bildirilmiş ve IL-21'in intratekal üretildiği sonucuna varıldığı bildirilmiş olup KIS hastaları ile sağlıklı kontroller arasında BOS IL-21 düzeyleri arasında fark saptanmadığı ifade edilmiştir[175]. Bizim çalışmamızda da tüm serum örneklerinin %84,2'sinde saptanabilen minimum değerin altında sonuçlar elde edilmişken, BOS'ta görece daha az (%22,8) örnekte minimum altında sonuç elde edilmiştir. Bahsedilen çalışmada olduğu için serumdan ziyade BOS'ta IL-21 saptanmış olması intratekal üretim için düşündürücü olsa da literatürde tersi yönde sonuçları olan yayınlar vardır.

Bu sonuçlarla kısmen zıt düşen, kısmen örtüşen bir başka çalışma sağlıklı kontrol, MS hastaları ve nöromiyelitis optika (NMO) hastalarının serum IL-21 düzeylerini değerlendirmiş ve yalnızca NMO hastalarının serum IL-21 düzeyinin sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğunu bildirirken MS grubu ile kontrol grubu arasında fark bildirmemiştir[176]. Literatürdeki bu iki çalışma sağlıklı bireyler ve MS hastaları arasında IL-21 düzeylerinde farklılık bulunmaması açısından benzer sonuçlara varmışken, bir çalışmada serum düzeyinin ölçülemediği bildirilmişken ve bizim çalışmamızda da benzer bir durum söz konusuysa diğer çalışma primer olarak IL-21 serum düzeylerini karşılaştırmıştır.

Yukarıda bahsedilmiş serum IL-21 seviyelerinin kıyaslandığı çalışmanın devamı niteliğinde olan bir diğer çalışmada NMO, MS ve kontrol gruplarında BOS

IL-21 düzeyleri değerlendirilmiş olup yine benzer bir şekilde NMO grubunda kontrollere göre yüksek seviyeler tespit edilmiş, kontroller ile MS grubu arasında anlamlı fark saptanamamıştır[177]. Bizim çalışmamızda kontrol grubu ile MS grupları arasında serum ve BOS IL-21 düzeyleri arasında fark saptanmaması geçmiş çalışmaların verileriyle uyumlu görünmektedir. Aynı çalışmada MS hastalarında yıllık atak oranı ya da özürlülük skoruyla BOS IL-21 düzeyi arasında korelasyon saptanmadığı bildirilmişken bizim çalışmamızda da demografik veriler, EDSS skoru ile serum ya da BOS IL-21 düzeyi arasında anlamlı ilişki tespit edilememiştir[177]. Ayrıca, IgG indeksin IL-21'in yüksek düzeylerinde artma trendinde olduğu bildirilmiş olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca varılamadığı söylenmiştir[177]. Çalışmamızda literatürdeki bu sonucu destekler veri yer almamakta olup IgG indeksi ile IL-21 düzeyi arasında korelasyon saptanamamıştır. Bizim çalışmamıza serum IL-21 düzeyiyle OKB arasında negatif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. Literatürde BOS IL-21 seviyesiyle OKB arasındaki ilişkiye dair bir veri tespit edilememiştir. OKB ile negatif ilişkinin IL-21'in MS için özgün bir gösterge olmadığına işaret ettiği düşünülmüştür. Mevcut sonuçlarla beraber, MS'ten ziyade NMO hastalarının serum ve BOS örneklerinde IL-21 düzeyinin yüksek olması da bu savı destekler niteliktedir.

Ek olarak, İsveç kohortunda 2090 MS hastası ve 1732 kontrol hastasında yapılan bir diğer çalışma IL-21'i etiketleyen 12 *single* nükleotid polimorfizmini (SNP) araştırmış, sonuç olarak değerlendirilen SNP'lerin hiçbirisinin MS ile alakalı olmadığı tespit edilmiş ve IL-21'in MS için majör bir risk geni olmadığı bildirilmiştir[178]. Bizim çalışmamızın sonuçlarında da kontrol grubu ile MS grupları arasında IL-21 için fark saptanmaması, OKB ile negatif korelasyon ve geçmiş çalışmalarda NMO hastalarında IL-21 düzeyinin anlamlı yüksek bulunması IL-21'in MS risk faktörü olmadığını doğrular niteliktedir. Bununla beraber, IL-21'in yüksek düzeyde inflamasyonu yansıtıyor olması sebebiyle NMO hastalarında anlamlı yüksek çıkması olasıdır. İnflamasyon derecesini yansıtır düzeyi çalışmamızda MRG verileri ve kötü prognostik verilerle incelenmiştir. MRG'deki lezyon lokalizasyonu ve yeriyle serum ya da BOS IL-21 düzeyi arasında hiçbir korelasyon görülmemiştir. Kötü prognoz göstergelerinden sadece geç yaşta başlangıç gösteren 1 hastada serum IL-21 düzeyinin anlamlı yüksek saptanması yüksek inflamasyonu

gösteriyor olabilirken örneklem grubunun küçük olması, IL-21 ile yaş arasında korelasyon tespit edilememiş olması, hali hazırda serum örneklerinin çoğunda ölçümün minimum değerin altında sonuçlanması elde edilen bu verinin güvenilirliğini azaltmaktadır. Bununla beraber, literatürde MS hastalarında MRG verileri ve klinik prognostik faktörlerle IL-21 seviyeleri arasındaki ilişkiye dair veri bulunmaması çalışmamızın bu sonuçlarını kıymetli hale getirmektedir.

CHI3L1 (Protein Chitinase 3-like 1; diğer adıyla YKL-40), mikroglia, makrofaj, epitelial hücreler, astrositler tarafından salgılanır ve kronik otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol alır[13]. CHI3L1 bir glikozidaz molekülü ve glial aktivasyon markeri olup mikroglia, monositler, aktive astrositler, vasküler düz kas hücreleri, solunum yolu epiteli ve kondrositler tarafından salgılanmaktadır[13],[122]. MSS'deki görevi net olarak bilinmese de MSS'deki inflamasyonu yönetmede astrosit cevabını düzenlemeye yardımcı olduğu düşünülmektedir[123]. CHI3L1'in mikroglial aktivasyonu yansıttığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda kontrol hastalarında MS grubuna göre BOS CHI3L1 düzeyi anlamlı düşük bulunmuştur. Çalışmamızın bu sonucu bahsedilecek olan geçmişteki pek çok çalışmayla uyum içindedir. Bununla beraber, hastaların demografik özellikleri ve bazal EDSS skorları ile bir bağlantı tespit edememiş bulunmaktayız.

Novakova ve arkadaşları 59 RRMS hastası ve 39 sağlıklı kontrolle yaptıkları çalışmada atak geçirsin ya da geçirmesin MS hastalarında BOS CHI3L1 düzeyinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu ifade etmiştir[179]. Aynı çalışmada CHI3L1 seviyesinin klinik atakla ve EDSS skoruyla korele olduğu bilgisine ulaşılmıştır[179]. Ayrıca, CHI3L1'in yaş bağımlı olduğu bildirilerek çalışmanın katılımcıların yaşlara göre eşleştirilerek dizayn edildiği bildirilmiş, cinsiyetle CHI3L1 arasında bağlantı bulunmadığı bildirilmiştir[179]. Bizim çalışmamızda kontrol, KPVO ve KPVY grupları arasında yaş açısından fark olmadığı için sonuçların yaş unsuru tarafından etkilendiği düşünülmemektedir, ancak bahsedilen yayındaki sonuçlardan farklı olarak özürlülük skoruyla BOS CHI3L1 arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir.

CHI3L1'in MS prognozunu yansıtıp yansıtmadığına dair pek çok çalışma vardır. Bizim çalışmamız da primer olarak kötü prognostik verilere göre serum ve BOS'taki sitokin ve kemokin düzeylerini değerlendirmeyi hedeflemiştir.

Literatürdeki çalışmalar özellikle KIS – RRMS ya da RIS – RRMS dönüşümü üzerine odaklanmıştır. Bizim çalışmamızda ise hastaların klinik verileri, MRG özellikleri ve klinik ile radyolojik prognostik verileri kesitsel olarak değerlendirilmeye alınmıştır. Dolayısıyla literatürdeki kohort çalışmalarına göre farklı sonuçlar elde edilebileceği öngörülebilir.

MS'in kısa vadedeki seyri için takip eden 2 yıldaki atak sayısını yansıtmaya ve uzun vadedeki seyri için 5 yıllık takip sonunda özürlülükte artış ya da sekonder progresif faza geçişi değerlendiren bir çalışmada 177 yeni tanılı KIS ya da RRMS hastası ortalama 5,7 yıl boyunca takip edilmiştir[180]. Bu çalışma sonucunda yaş ve artan özürlülük durumuyla beraber BOS CHI3L1 düzeyinde hafif bir artış olduğu, BOS CHI3L1 ile bir önceki yıl geçirilen atak sayısı, takip eden 2 yıldaki atak oranı ve takip süresi sonunda sekonder progresif faza geçiş arasında korelasyon tespit edilemediği bildirilmiştir[180]. Ancak elde edilen sonuçların katılımcıların hastalık modifiye edici tedaviler kullanmasından etkilenmiş olabileceği de bildirilmiştir[180].

İlk demiyelinizan atak olarak optik nörit geçiren 86 hastanın retrospektif olarak incelendiği ve ortalama 13,6 yıllık takiplerinin araştırıldığı bir çalışmada lomber ponksiyonun optik nöriti takip eden medyan 16 günde yapıldığı bildirilmiş, BOS CHI3L1 seviyesinin MRG verileriyle kombine edilmesi durumunda klinik olarak kesin MS dönüşümü için prediktif olduğu tespit edilmiştir[181].

Bir başka çalışmada ise KIS olup MS'e dönüşüm gösteren ve göstermeyen 30'ar kişilik hasta grupları değerlendirilmeye alınmıştır[182]. Buna göre, MS'e dönüşüm gösteren ve göstermeyen KIS hastalarının serum CHI3L1 düzeyleri benzerken, MS'e dönüşen hastaların BOS CHI3L1 düzeyi hem KIS olarak kalan hastalara hem de diğer nöroloji hastalara göre anlamlı yüksek saptanmıştır[182]. Tüm hastalar, BOS CHI3L1 düzeylerine göre yüksek ve düşük (sınır: 287,9 mg/ml) olarak ikiye ayrılmış, yüksek BOS CHI3L1 düzeyi gösteren grupta MS'e dönüşümün daha kısa sürede gerçekleştiği bildirilmiştir; düşük grup için dönüşüm süresi 34,2 ayken yüksek grup için 17,6 ay olarak tespit edilmiştir.[182]. Son olarak, hastaların bazal EDSS skorlarıyla BOS CHI3L1 düzeyi arasında ilişki bildirilmemiş olup 4 yıla kadarki yıllık EDSS değişiklikleriyle BOS CHI3L1 arasında anlamlı düzeyde ilişki tarif edilmiştir[182].

CHI3L1'i prognostik biyomarker olarak öneren başlıca çalışmalar birisi Canto' ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. 813 KIS hastasının dahil olduğu çok merkezli bu çalışmada klinik olarak kesin MS olmuş KIS hastalarının BOS CHI3L1 düzeyi KIS olarak kalan hastalara göre de noninflamatuvar nörolojik hastalığı olan bireylere göre de yüksek saptanmıştır[183]. Bu çalışmada BOS CHI3L1 alt seviyesi olarak 170 ng/ml bildirilmiş ve bu seviyeyi aşan bireyler için Cox regresyon analizi yapıldığında BOS CHI3L1 düzeyinin McDonald kriterlerini karşılamak için bağımsız risk faktörü olduğu tespit edilmiştir[183]. BOS CHI3L1 düzeyi 170 ng/ml üstünde ve altında olan hastalar karşılaştırıldığında yüksek seviyeler gösteren hastaların EDSS 3,0'a daha kısa sürede ulaştıkları gösterilmiştir[183].

Çalışmamızın sonuçları bahsedilen başlıca çalışmalardan farklıdır. Öncelikle, bazal EDSS skoru ile BOS CHI3L1 düzeyi arasında bağlantı saptayamamış bulunmaktayız. Bunun sebebinin çalışmamıza katılan tüm MS hastalarının yeni tanı almış olması ve düşük seviyede özürllülük göstermesi olduğu düşünülmüştür. Comabella ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi özürllülük skorlarının yıllar içindeki değişimiyle BOS CHI3L1 arasında pozitif yönlü bir ilişkinin olması geçmiş çalışmalar gözden geçirildiğinde kuvvetle muhtemel görülmektedir. Bu çalışmadaki MS hastaları kötü prognostik verilerine göre gruplandığında KPVO ve KPVY gruplarına ayrılmıştır. KPVO ve KPVY gruplarının BOS CHI3L1 düzeyleri birbirinden farklı görünmekle beraber (KPVO için medyan: 120130 pg/ml; KPVY için medyan: 106020 pg/ml) bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Geç yaşta başlangıç, multifokal ataklar, spinal kordda ya da beyin sapında lezyon bulunması bizim çalışmamızdaki başlıca kötü prognostik veriler olmakla beraber bu bulgu ve belirtiler aynı zamanda KIS – RRMS ve RIS – RRMS dönüşümü için de risk faktörüdür. Dolayısıyla, geçmişteki çalışmaların sonuçları da göz önünde bulundurulduğunda KPVO ve KPVY grupları arasında BOS CHI3L1 için fark olması beklenirken bu sonucun elde edilememesinin örneklem gruplarının küçük olmasından ileri geldiği düşünülmüştür.

Aksine, çalışmamızdaki KPVO ve KPVY gruplarının BOS CHI3L1 düzeylerinde anlamlı fark olmamasını doğrular nitelikte olabilecek ve geçmiş çalışmaların sonuçlarıyla zıt düşen başka araştırmalar da vardır. Timirci-Kahraman ve arkadaşlarının çalışmasında KIS – RRMS dönüşümü geçiren ve geçirmeyen

hastaların BOS proteomik analizlerinde BOS CHI3L1 düzeyi için gruplar arasında anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir[184].

KIS'in RRMS'e dönüşümüyle ilgili literatürdeki çalışmalar böyleyken Thouvenot ve arkadaşları RIS'in RRMS'e dönüşümünde BOS CHI3L1'i araştırmıştır[185]. Çalışmaya 71 RIS, 48 KIS, 50 RRMS ve 42 sağlıklı kontrol katılmış, RIS hastalarının BOS CHI3L1 düzeyi RRMS hastalarından düşüken kontroller ve KIS'ten farklı saptanmamıştır[185]. Bununla beraber, OKB'si pozitif olan ya da IgG indeksi yüksek olan RIS hastalarında BOS'u MS açısından tanımlayıcı olmayan gruba göre ve kontrollere göre yüksek BOS CHI3L1 düzeyi izlenmiştir[185]. Ek olarak, RIS hastalarının BOS CHI3L1 düzeyiyle spinal kordda en az bir lezyonun olması, bir ya da daha fazla kontrast tutan lezyonun bulunması ya da Barkhof kriterlerinin karşılanması arasında anlamlı ilişki tespit edilememiştir[185]. RIS grubu medyan 7 ay takip edilmiş ve spinal kord lezyonu varlığı, BOS CHI3L1 düzeyi, 4 Barkhof kriterinin varlığı ile regresyon analizi yapıldığında sadece spinal kord lezyonunun RIS-RRMS dönüşümü için risk arz ettiği saptanmış, BOS CHI3L1 düzeyinin bağımsız risk faktörü olmadığı bulunmuştur[185]. Bahsedilen bu 2 araştırmanın sonuçları ışığında değerlendirildiğinde BOS CHI3L1'in tek başına prognoz göstergesi olmayabileceği ve spinal kord lezyonu gibi güçlü prognostik göstergelerle değerlendirildiğinde anlam ifade edebileceği, sonuç olarak bizim çalışmamızın sonuçlarının da bu bilgiyle örtüştüğü, kötü prognoz verisi olsun olmasın CHI3L1 düzeyinin tek başına fark oluşturmayacağı düşünülebilir.

MS hastalarının MRG takipleriyle BOS kemokin düzeylerini araştıran çalışmalar mevcuttur. Önceki bir çalışmada 41 KIS ya da RRMS olan hasta, 22 sağlıklı gönüllü ile dizayn edilen longitudinal kohort çalışmasında 4 yıllık takipler sonunda incelenen nörofilament hafif zincir, CXCL13, CXCL10, CXCL1, CCL2 gibi potansiyel biyomarkerların önüne geçerek BOS CHI3L1'in beyin parankim atrofisini en iyi yansıtan molekül olarak tespit edilmiştir[186]. Bir başka çalışmada KIS'ten RRMS'e dönüşen ve dönüşmeyen hastaların bazal MRG'lerindeki T2 ağırlıklı kesitlerde izlenen demiyelinizan lezyon sayısı ve T1 ağırlıklı kesitlerde kontrast tutulumu gösteren lezyon sayısı ile BOS CHI3L1 düzeyi arasında pozitif yönlü korelasyon bulunduğu bildirilmiş, ancak bu korelasyonun takibin 1. ve 5. yıllarında

çekilen MRG’lerde elde edilemediği bildirilmiş, bu sonucun az sayıda hastaya ait MRG takibin mevcudiyetine bağlı olabileceği öne sürülmüştür[182]. Yukarıda bahsedilmiş olan Canto ve arkadaşlarının çalışmasında da T2’deki lezyon sayısı ve kontrast madde tutulumu gösteren lezyon sayısı ile BOS CHI3L1 düzeyi bağlantılı bulunmuşken IgG indeksi ile bir korelasyon tespit edilememiştir[183].

Bizim çalışmamıza klinik ya da radyolojik olarak atak geçiren hiçbir MS hastası dahil edilmemiştir, dolayısıyla çalışmamızda T1 ağırlıklı kesitlerde kontrast madde tutulumu gösteren lezyon sayısı ile korelasyon analizleri mevcut değildir. T2 ağırlıklı kesitlerdeki lezyon sayısı ve lokalizasyonu açısından tüm değerlendirmeler çalışmamızda mevcut olmasına rağmen BOS CHI3L1 düzeyiyle lezyon yeri ve sayısı arasında bir bağlantı bulunmamıştır. Geçmiş çalışmalarda çok sefer bildirilen bu korelasyonu tespit edememiş olmamızın hem örneklem gruplarının küçüklüğüne hem de her ne kadar yeni tanı ve düşük özürüllük seviyesinde de olsa MS hastalarının çoğunun supratentoriyel lezyon yükünün fazla olmasına sekonder olarak ortaya çıktığını düşünüyoruz. Çalışmamızı öne çıkaran bir unsur spinal korddaki lezyon sayısının analizlere katılmış olmasıdır. BOS CHI3L1 seviyesiyle spinal korddaki lezyon sayısı arasında korelasyon bulunamamıştır.

CHI3L1’in tedavi yanıtıyla ilintisi olup olmadığına dair çalışmalar yapılmıştır. Tedavi almayan RRMS hastaları, İnterferon Beta ve Natalizumab tedavisi alanların BOS’unda sağlıklı kontrollere göre CHI3L1 düzeyi yüksek gösterilmiş olsa da Natalizumab tedavisi ile takip edilenlerin BOS CHI3L1 düzeyi İnterferon Beta altındaki hastalara göre daha düşük saptanmıştır[179]. Yine de tedaviyle CHI3L1 düzeyinin hiçbir zaman normal seviyelerde gösterilememiş olması RRMS’te etkin tedavi kullanılsa dahi bir miktar mikrogial aktivasyonun devam ettiği sonucuna götürmüştür[179]. Birinci basamak tedaviden Fingolimod tedavisine geçen 43 RRMS hastanın BOS CHI3L1 düzeylerinin bazal seviyesine göre düştüğü, ancak sağlıklı bireylerdeki düzeyine göre hala yüksek olduğu bu çalışmada da kanıtlanmıştır[187]. Ek olarak, Fingolimod tedavisiyle birlikte azalan atak sayısı, MRG’de yeni T2 lezyon sayısı ve kontrast tutan lezyon sayısı ile CHI3L1 düzeyindeki azalmanın paralel olduğu bildirilmiştir[187].

Her ne kadar CHI3L1 multipl skleroz için güçlü bir prognostik biyomarker adayı olsa da romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, inflamatuvar bağırsak

hastalıkları gibi diğer sistemik inflamatuvar hastalıklarda da yüksek düzeylerde bulunduğunun tespit edildiği unutulmamalıdır [125]. Hele ki, HIV ensefalopatisi, inme, Alzheimer hastalığı gibi diğer MSS hastalıklarında beyin dokusunda CHI3L1'in mevcudiyetinin bilinmesiyle beraber bu kemokinin atipik vakalarda tanısal kullanımının düşük olacağı öngörülmektedir[188]. Dolayısıyla, yaygın kullanıma girmeden önce BOS CHI3L1 düzeyinin diğer inflamatuvar nörolojik hastalıklardaki düzeyiyle ilgili daha fazla çalışmanın gerekeceği kanaatine varmış bulunmaktayız.

C-X-C Motif Ligand 13 (CXCL13) B hücrelerinin MSS'ye toplanması sinyalini veren en güçlü kemoatraktan moleküllerden birisidir, B lenfositler üzerinde bulunan CXCR5 ile etkileşime geçerek B hücre folikülü ve sekonder lenfoid dokuların oluşumunu tetikler[14]. CXCL13, özellikle miyeloid kökenli hücreler tarafından üretilmekte olup T ve B lenfositler tarafından üretildiği de bilinmektedir[189]. CXCL13 ektoptik lenfoid foliküllerden kaynak almaktadır ve ektoptik lenfoid dokuların ortaya çıkışı ve devamlılığı açısından önem arz ettiği düşünülmektedir[189],[190]. Aktif demiyelinizasyon gösteren MS lezyonlarında CXCL13 üretimi gösterilmiştir ve kronik inaktif lezyonlarda ise bu üretime dair veri bulunamamıştır[143]. CXCL13 perivasküler infiltratlarda ve parankimal lezyon bölgesine sızan hücrelerde tespit edilmiştir[143]. Ayrıca, BOS CXCL13 düzeyinin intratekal immünglobulin üretimiyle yüksek korelasyon gösterdiği bildirilmiştir[143].

Bu çalışmada hem serum hem de BOS CXCL13 seviyeleri ölçülmüş, MS ile kontrol grupları arasındaki analizlerden sonra kontrol, KPVO ve KPVY grupları için serum ve BOS CXCL13 düzeyleri tekrar kıyaslanmıştır. Çalışmamızda BOS CXCL13 düzeyi MS grubunda kontrol grubuna göre, KPVO grubunda kontrol grubuna göre ve KPVY grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek izlenmiştir ki bu sonuçlar şu zamana kadar yapılan çalışmaların verileriyle uyum içindedir.

BOS CXCL13 seviyesini KIS, RRMS, nöroborreliozis, diğer inflamatuvar nörolojik hastalıklar ve noninflamatuvar nörolojik hastalıklar tanısı olan toplam 118 hastada araştıran bir çalışmada inflamasyonla seyreden tüm nörolojik hastalıklarda noninflamatuvar hastalıklara göre BOS CXCL13 düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmiş olup en yüksek seviyelerin nöroborreliozis hastaları için saptandığı

söylenmiştir[191]. Bu çalışmada yaş ile söz konusu kemokin seviyesi arasında korelasyon saptanmadığından bahsedilmiş olup intratekal IgG senteziyle korelasyon olduğu ifade edilmiştir[191]. Çalışmanın sonucu olarak, nöroinflamasyona B hücre katılımının başlıca göstergesinin CXCL13 olduğu bildirilmiş olsa da MS'e özgü bir belirteç olduğu bildirilememiştir[191].

Hastalığın henüz tanı aşamasında olan 40 MS veya KIS olan hasta ile 17 bireyden oluşan kontrol grubunun dahil edildiği çalışmada serum CXCL13 düzeyi düşük düzeylerde katılımcıların çoğu için tespit edilebilmiş, BOS CXCL13'ün tüm numunelerin %47'sinde ölçülebilen düzeyde olduğu bildirilmiş ve KIS/RRMS grubunda kontrol grubuna göre daha sık, daha yüksek düzeylerde BOS CXCL13 seviyelerinin tespit edildiği gösterilmiştir[175]. Aynı çalışmada tüm katılımcılar için değerlendirildiğinde IgG indeksi ile BOS CXCL13 arasında pozitif yönlü ilişki bulunmuş olduğu bildirilse de IgG indeksi için boş değerler analizden çıkarıldığında korelasyonun kaybolduğu ya da oldukça zayıf olduğu bildirilmiştir[175]. Ayrıca kortikal incellemeyle korelasyon analizi yapabilmek için RRMS/KIS grubundaki hastalar BOS CXCL13 düzeyi 6,8 pg/ml değerinden düşük ve yüksek olarak ikiye ayrılmış, yüksek seviyede BOS CXCL13 ile prezente olan grupta anlamlı düzeyde fazla kortikal incelleme görüldüğü bildirilmiştir[175].

Maglizzo ve arkadaşlarının çalışmasında postmortem SPMS hastalarından yüksek kortikal inflamasyonu taşıyanların meningeal dokularında kontrol grubuna kıyasla tümör nekroz faktör, interferon gama gibi proinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra CXCL13 gen ekspresyonunun arttığı, ayrıca yüksek kortikal inflamasyonu olan hastalarda düşük kortikal inflamasyon taşıyanlara göre CXCL13 gen ekspresyonunun artmış olduğu bildirilmiştir[157]. Aynı bireylerin BOS numuneleri değerlendirildiğinde yüksek kortikal inflamasyon gösteren hastaların BOS CXCL13 düzeyinin kontrol grubuna ve düşük kortikal inflamasyon grubuna göre yüksek olduğu bildirilmiştir[157]. Ek olarak, aynı çalışmanın klinik kohortunda kortikal lezyon sayısı fazla olan gruptaki hastaların BOS CXCL13 düzeyi hem kontrol grubu hem de kortikal lezyon sayısı az olan bireylere göre yüksek bulunmuştur[157].

Bizim çalışmamızda yüksek inflamasyon göstergesi olarak klinik veriler kullanılmıştır. Her ne kadar KPVO ve KPVY gruplarının ayrı ayrı kontrolle kıyasında BOS CXCL13 düzeyi yüksek bulunsun da Maglizzo ve arkadaşlarının

verilerinden farklı olarak kötü prognostik verisi olan MS hastalarının BOS ya da serum CXCL13 düzeyi için kötü prognostik veri taşımayanlara göre anlamlı fark izlenmemiştir. Klinik verilerle postmortem patoloji verilerinin birbirini yansıtmayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

25 RRMS, 24 PPMS hastası ve 31 sağlıklı kontrolle yapılan bir çalışmada hem MS'li bireylerle kontrol grubu hem de relapsing-remitting MS formuyla progresif seyirli MS hastalarının BOS kemokin düzeyleri karşılaştırılarak değerlendirilmiştir[192]. Sonuçları, MS hastalarının BOS CXCL13 düzeyinin daha yüksek olduğu, ancak relapsing-remitting MS ile PPMS hastaları arasında BOS CXCL13 düzeyi arasında anlamlı fark olmadığı şeklinde olmuştur[192]. Hastalık süresi ve EDSS skoruyla BOS CXCL13 arasında korelasyon olmadığı ifade edilmiştir[192]. Bununla beraber, serum CXCL13 için RRMS, PPMS ya da kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamadığı bildirilmiştir[192].

Bielekova ve arkadaşlarına ait çalışmada BOS CXCL13 seviyesinin hem KIS hastalarından hem de noninflamatuvar nörolojik hastalığı olan bireyden yüksek olduğu bulunmuştur[159]. BOS CXCL13 düzeyiyle IgG indeksi ve kontrast madde tutulumu gösteren lezyon arasındaki bağlantıdan bu çalışmada da söz edilmiştir[159].

Ferraro ve arkadaşları 110 KIS hastasını klinik, MRG ve BOS verileriyle takibe almışlardır ve RRMS'e dönüşen hastaların bazal değerlendirilmelerinde BOS'taki CXCL13 düzeyinin RRMS'e dönüşmeyenlere kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir[193]. Bu çalışmada da IgG indeksiyle CXCL13 arasındaki pozitif yönlü korelasyondan bahsedilmiştir. Ayrıca belirleyici CXCL13 seviyesi olarak 15,4 pg/ml saptandığında klinik olarak kesin MS'e dönüşüm için duyarlılık %61,2 ile özgüllük %67,1 olarak hesaplanmıştır; çok değişkenli modellemede ise pozitif bazal MRG ile yüksek 15,4 pg/ml'den yüksek BOS CXCL13 düzeyinin istatistiksel anlamlılığını koruduğu bildirilmiştir[193]. Bununla beraber, MRG verileri ve özürlülük skorlarıyla BOS CXCL13 arasında korelasyon tespit edilmediğinden bahsedilmiştir[193].

Bizim çalışmamızda hastalara ait MRG verileri kaydedilmiş, BOS CXCL13 düzeyiyle korelasyonu incelenmiştir. Öncelikle çalışmamıza klinik ya da radyolojik olarak atak geçiren hastalar dahil edilmediği için kontrast madde tutulumuyla BOS CXCL13 düzeyi incelemesi yukarıda bahsedilmiş olan çalışmalardaki şekilde

yapılamamıştır. Bundan başka, çalışmamızda lezyon lokalizasyonu ve yüküyle BOS CXCL13 düzeyi arasında bir ilişki saptanamamıştır. Bunun bir sebebi, hastaların çoğunluğunun lezyon yükünün hali hazırda yüksek olması ve örneklem grubunun küçük olmasıyken bir diğer sebebi de bazal MRG verilerinin değerlendirilmiş olması olabilir. Takip MRG’lerde yeni ya da genişleyen T2 lezyon sayısının BOS CXCL13 düzeyiyle analizi uygun olacaktır, çünkü yukarıdaki çalışmalarda bildirildiği üzere kontrast madde tutulumu gösteren lezyon sayısı ile BOS CXCL13 düzeyi arasında pozitif yönlü bir ilişki söz konusuysa yeni ya da genişleyen T2 lezyon sayısı ile da korele olması beklenebilir. Fakat, Ferraro ve arkadaşlarının çalışmasında da MRG verileriyle ilgili korelasyon bulunamamış olması ve bahsedilen diğer çalışmalarda sadece kontrast madde tutulumu gösteren lezyon sayısı ile BOS CXCL13 düzeyi arasında korelasyon bildirilmiş olması bu kemokinin BOS düzeyinin diğer MRG verileriyle ilişkisi olmadığı fikrini doğrular. Ferraro ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak bizim çalışmamızda da klinik özüllük oranlarıyla BOS CXCL13 düzeyi arasında anlamlı ilişki tespit edilmemiştir.

Bahsi geçen tüm çalışmalara ek olarak bu kemokinle üzerine yapılmış en kapsamlı ve prognoz verilerini değerlendirmeye alan çalışma Khademi ve arkadaşları tarafından yürütülmüştür. Toplam 837 hastanın değerlendirildiği çalışmada 323 RRMS, 40 SPMS, 24 PPMS ile 181 diğer nörolojik hastalar ve 176 inflamasyonun olduğu diğer nörolojik hastalar şeklinde geniş tanımlayıcı bir katılımcı kitlesiyle çalışılmıştır[130]. BOS CXCL13’ün en yüksek seviyeleri viral ve bakteriyel MSS enfeksiyonlarında kaydedilmiş olup tüm MS gruplarında atak sırasında remisyon dönemlerine göre BOS CXCL13 yüksek bulunmuştur[130]. RRMS hastalarından 5 yıl boyunca takip edilenler için en yüksek BOS CXCL13 düzeyine sahip olanların en yüksek atak sıklığına sahip olduğu anlaşılmıştır[130]. Bundan başka, CXCL13 düzeyi yüksek olan hastaların beyin MRG’lerinde anlamlı düzeyde daha fazla lezyon sayısı olduğu tespit edilmiştir[130]. KIS hastaları çalışma dahilinde 2 yıl boyunca takip edilmiş ve RRMS’e dönüşüm gösterenlerin BOS CXCL13 düzeyinin RRMS’e dönüşüm göstermeyenlere göre yüksek olduğu bildirilmiş, BOS CXCL13’ün hastalık prognozunda önemli bir gösterge olduğu bildirilmiştir[130].

BOS CXCL13’ün viral ve bakteriyel enfeksiyon durumlarında da yükselmesi bu belirtecin tanısal gücünü oldukça düşürmektedir. Bununla beraber, yapılan

Çalışmalarda KIS-RRMS dönüşümü geçiren hastalarda anlamlı yüksek olması literatürde sıkça prognoz göstergesi bir belirteç olarak anılmasına sebebiyet vermiştir. Bizim alışmamızda klinik olarak kesin MS tanılı hastalar klinik verilerine göre kötü prognoz beklentisine göre gruplanmıştır. Ancak, KPVO ve KPVY grupları arasında literatürde belirtildiğinin aksine anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bunun sebebi, hali hazırda forme olmuş hastalık durumunda BOS CXCL13 düzeyinin prognozu belirleme gücündeki azalma olabilir. Bir başka düşünce BOS CXCL13'n kısmen düşük seviyedeki süreğen inflamasyonu ayırt etme gücünün düşük olduğu yönünde olabilir, çünkü atak durumu gibi inflamasyonun çok aktif olduğu dönemlerde remisyon haline göre bu marker anlamlı yüksektir.

Birinci basamak tedavi olarak İnterferon Beta kullanan ile ikinci basamak tedavi olarak Natalizumab kullanan RRMS hastalarla kontrol grubundaki bireylerin klinik zellikleri, MRG verileri ve BOS sitokin ile kemokin seviyelerini değerlendiren bir çalışmada BOS CXCL13 düzeyi RRMS grubunda kontrol grubuna göre yüksek tespit edilmiştir[179]. Ayrıca atak geçiren hastalar analiz dışına çıkarıldığında yine RRMS hastalarının BOS CXCL13 düzeyleri kontrollere yüksek saptanmış ve herhangi bir tedavi almayan RRMS hastaları ile İnterferon Beta kullanan hastaların BOS CXCL13 seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek izlenmiştir[179]. Bununla beraber, Natalizumab tedavisi altındaki RRMS hastalarının BOS CXCL13 düzeyi İnterferon Beta kullanan hastalara göre daha düşük bulunmuştur[179]. Aynı alışmada MRG verileriyle beraber incelendiğinde yeni ya da genişleyen T2 lezyon sayısı ve kontrast madde tutulumu gösteren lezyon sayısıyla birlikte BOS CXCL13 düzeyinde artış olduğu bildirilmiştir, fakat spinal kord görüntülemeleri çalışmaya dahil edilmediğiyi için spinal korddaki lezyonlarla ilgili analizlerin yapılamadığı söylenmiştir[179]. Bu çalışmada yaşla ve cinsiyetle CXCL13 düzeyi arasında ilişki bildirilmemiştir, ancak kontrol grubunun tamamında RRMS grubunun ise %64'nde CXCL13 seviyesinin tespit edilebilir limitin altında kaldığı not edilmiştir[179].

Bizim çalışmamızın bahsedilmiş literatür çalışmalarına göre kuvvetli yanı tüm katılımcıların serum ve BOS rnekleri için CXCL13 düzeyinin saptanabilmiş olmasıdır. Yalnız, geçmiş çalışmalarda yaşla BOS CXCL13 arasında ilişki olmadığı bildirilmiş olmasına rağmen bizim çalışmamızda aksi yönde CXCL13'n BOS

seviyesiyle yaş arasında negatif yönlü bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Bu analiz hem tüm katılımcılar için hem de sadece MS hastaları için yapılmıştır ve aynı sonuç elde edilmiştir. Hastaların hiçbirisinin MRG'sinde kontrast madde tutan lezyonun olmaması ve T2 ağırlıklı kesitlerde lezyon sayısının benzer olması sebebiyle BOS CXCL13 düzeyini etkileyebilecek diğer faktörler elimine edilmiştir ve dolayısıyla literatürdeki bilgiden farklı olarak CXCL13'ün ilerleyen yaşla beraber BOS'taki düzeyinin azaldığını fark etmiş bulunmaktayız.

Birinci basamak tedaviler ve Natalizumab'dan Fingolimod tedavisine geçen 43 RRMS hastasında BOS sitokin ve kemokin düzeylerindeki değişimi değerlendiren bir diğer çalışmada Fingolimod tedavisine geçişten 4-12 ay sonrasında BOS CXCL13 düzeyinin bazal değerlendirmeye göre anlamlı oranda azaldığı ve sağlıklı kontrollerin ortalama BOS CXCL13 düzeyiyle bu grubun ortalama değerinin benzer olduğu bildirmiştir[187]. Yalnız, Natalizumab'dan Fingolimod'a geçiş yapan hastaların BOS CXCL13 düzeyinde anlamlı değişiklik olmadığından bahsedilmiştir[187]. Ek olarak, çalışmadaki 43 hastadan 27'sinin BOS numunelerinde CXCL13 düzeyinin tespit edilebilir değerlerin altında sonuçlandığı bildirilmiştir[187]. Aynı çalışmada BOS CXCL13 düzeyiyle kontrast tutulumu gösteren lezyon sayısı arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir[187].

B hücre depleasyonu yapan tedavi sonrasında BOS'taki hücre çeşitliliği ve kemokin düzeylerindeki değişimi araştıran bir çalışmada 26 RRMS hastasına hali hazırda kullanmakta oldukları immunmodülatör tedaviye ek olarak ritüksimab tedavisi başlanılmış, Ritüksimab tedavisi öncesinde ve sonrasında serum ile BOS eldesi sağlanmıştır[52]. Ritüksimab tedavisi sonrasında BOS'taki B lenfositlerin %95 oranında azaldığı bildirilmiş olmakla beraber, BOS ve serum CXCL13 düzeylerinin tedavi sonrasında anlamlı düşüş gösterdiği bildirilmiştir[52].

Bizim çalışmamızın hedefi olan naif MS hastalarında prognostik gücü olan biyobelirteç belirlemeyle ters düşmemesi için çalışmamızın bu aşamasında incelenen sitokin ve kemokinlerin tedavi öncesi ve sonrası değerlendirmeleri yapılmamıştır. Ancak bu zamana kadarki çalışmalardan anlaşılmaktadır ki etkin immunmodülatör tedaviyle beraber bu moleküllerin düzeyinde anlamlı düşüşler saptanmıştır ve hastalık aktivitesiyle incelenen markerlar arasında bağlantı mevcuttur. Ayrıca, CXCL13 fizyolojik olarak MSS'de üretilmemektedir ve bizim çalışmamızda da

olduğu gibi erken hastalık aşamalarından itibaren BOS'ta görece yüksek düzeylerde saptanabiliyor olması naif B hücrelerinin hastalık patofizyolojisine katkısını göstermektedir[175].

226 çalışmanın değerlendirmeye alındığı bir meta-analiz çalışmasında BOS CXCL13 düzeylerinin çalışmalar arasındaki heterojenitesi düşük bulunmuştur, ancak yaş ve cinsiyetin analizler üzerine ılımlı da olsa etkisi bulunabileceği, çünkü MS'in kadın hastalarda daha sık olduğu ve yaşı ileri hastalarda özürlülük bırakarak seyrettiğinin bilindiği belirtilmiştir[170].

Muhakkak ki, çalışmamızın en ilgi çekici sonuçları serum CXCL13 düzeyiyle ilgili olmuştur. Öncelikle, serum CXCL13 düzeyi kontrol grubunda KPVY grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Kontrol grubuyla MS grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşabilen bir fark yokken kontrol grubundaki serum CXCL13 ortanca değeri 93,5 pg/ml (Çeyrekler açıklığı: 80,5) ve MS grubunda serum CXCL13 ortanca değeri 48,5 pg/ml (Çeyrekler açıklığı:92,8) olmuştur. Bahsi geçen diğer çalışmaların hiçbirinde serum CXCL13 düzeyi için MS hastalarıyla kontrol grubunda anlamlı farklar bildirilmemiş olması hali hazırda literatüde olan bilgiden farklı bir bilgiyle karşı karşıya olduğumuzu düşündürmüştür. Üstelik CXCL13 düzeyinin en yüksek seviyelerine ulaştığı bakteriyel ve viral enfeksiyon durumlarını yaşayan hastaların ne kontrol hastası ne de MS hastası olarak çalışmamıza dahil edilmemiş olması bu savımızı destekler niteliktedir. Geçmiş bir çalışmada MS hastalarıyla kontrol grubunun serum CXCL13 arasında anlamlı fark olmadığı bildirilmiş olsa da söz konusu çalışmanın 9 MS hastası ve 10 noninflamatuvar nörolojik hasta ile örneklem büyüklüğü bizim çalışmamızdan daha küçük olduğu için bizim çalışmamızın verileri daha güncel bulunmuştur[194].

Ek olarak, serum CXCL13 düzeyinin hem EDSS skoru hem de spinal kord lezyon sayısı ile korele olduğunun gösterilmesi serum CXCL13 düzeyiyle ilgili verilerin insidental olarak ortaya çıkmış olabileceği düşüncesini ortadan kaldırmaktadır. Beyin omurilik sıvısı merkezi sinir sistemine en yakın doku olduğu için MSS hastalıklarını en objektif şekilde yansıtacağı düşüncesiyle geçmiş çalışmalar demiyelinizan hastalıklarda biyobelirteçleri test ederken BOS dokusunu değerlendirme eğilimi içinde olmuştur. Oysa, serum eldesi daha kolay, zahmetsiz ve daha az invazif bir süreçtir. Bizim çalışmamızda MS hastalarının serum CXCL13

ortanca değeri 48,5 pg/ml (Çeyrekler açıklığı: 92,8) ve BOS için ortanca değeri 26 pg/ml (Çeyrekler açıklığı: 63,8) olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla, MS hastalarında serum CXCL13 düzeyi BOS'tan az olmayarak tespit edilebilir düzeydedir, üstelik bu çalışmada BOS ve serum CXCL13 düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir ( $p=0,84$ ). BOS CXCL13 düzeyiyle EDSS skorunun korelasyonu önceki çalışmalarda bildirilmiş olmakla beraber serum seviyesiyle ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır[194]. Geçmiş çalışmalar beyindeki lezyon sayısı üzerine odaklanmış ve spinal kord lezyonlarının sayısı ile ilgili bilgi içermemiştir. Çalışmamızda beyindeki lezyon yeri ve lokalizasyonuna ek olarak spinal korddaki lezyon sayısının da değerlendirilmeye katılmış olması önemli bir güçlülük unsurudur. Çalışmamızda Multipl Skleroz hastalarının artan CXCL13 düzeyiyle beraber total EDSS skorunun yükseldiği tespit edilmiştir. Bu veriyi destekler nitelikte spinal kord lezyon sayısı ile serum CXCL13 düzeyi arasında pozitif yönlü bağlantı bulunmuştur. Spinal kord lezyonlarının özürllülük üzerindeki olumsuz etkileri bilinmektedir[195]. Dolayısıyla, serum CXCL13 düzeyinin birbiriyle bağlantılı olan EDSS skoru ve spinal kord lezyonuyla olan benzer güçteki pozitif yönlü ilişkisi sadece insidental olarak saptanmış bir veri değildir. Klinik ve radyolojik verilerle korelasyonu tespit edilen CXCL13 düzeyini minimal invazif, kolaylıkla elde edilen serum örneklerinde daha geniş örneklem gruplarında çalışmak önem arz etmektedir. Geniş hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında yapılacak çalışmalar sonucunda serum CXCL13 düzeyinin hastalık aktivitesini yansıtmaya potansiyeli olan bir biyobelirteç olabileceğini düşünülmüştür.

Literatürdeki MS prognozu üzerine yapılmış çalışmalar özellikle KIS – RRMS ya da RIS – RRMS dönüşümü üzerine odaklanmıştır. Bizim çalışmamızda ise hastaların klinik verileri, MRG özellikleri ve klinik ile radyolojik prognostik verileri kesitsel olarak değerlendirilmeye alınmıştır. Dolayısıyla literatürdeki kohort çalışmalarına göre farklı sonuçlar elde edilebileceği öngörülebilir. Tanımlayıcı sonuçlar elde etmek üzere tasarlanmış bir çalışma yapmış bulunmaktayız. Bu çalışmada hastaların demografik verileri, geçirilmiş atak sayıları, hangi sistemlere ait atak geçirdikleri, MS alt tipleri, bazal muayenelerine göre EDSS skorları, bazal MRG'lerindeki gerek beyin gerekse spinal korddaki lezyon sayısı ve lezyon yerleşimi gibi hastalığı tanımlayıcı özelliklerle beraber serum ve BOS'ta sitokin ve

kemokin ölçümlerinin analiz edilmiş olması kapsayıcı tanımlamalar yapmaya olanak sağladığı için çalışmamızın en güçlü tarafıdır. Bununla beraber, yeni tip Korona virüs pandemisiyle beraber elektif işlemlerin iptali ve hastane yatışlarına getirilen sınırlandırmalar ya da hastaların hastane ortamına girmekten çekinmesi dolayısıyla çalışmamıza katılan hasta sayısı arttırılamamış ve örneklem sayısının düşük kalmıştır. Çalışmamızın en zayıf yanının literatürdeki çalışmalara kıyasla az sayıda katılımcıyla projenin yürütülmüş olmasıdır.

Uzun dönem takiplerde MS hastaları hastalık modifiye edici tedaviler aldıkları için hem klinik özürölülük verileri hem de MRG'deki yeni ya da genişleyen T2 lezyon veya kontrast madde tutan lezyon sayısı etkilenmektedir. Dolayısıyla, tedavilerin olası serum ya da BOS biyomarkerların uzun dönem prognozu yansıtmama durumuna müdahalede bulunduğunu düşünmek yanlış olmayacaktır. Çalışmamızın bu aşamasında tedavilerin hastalık sürecine müdahalesini bertaraf etmek ve olası biyomarkerların prognozla ilişkisini tespit etmek için klinik uygulamalarda kullanılagelen radyolojik ve klinik prognostik verilere göre hastalarımızı sınıflandırmış bulunmaktayız. Bizim çalışmamızdaki hastaların da %81'i hastalık modifiye edici tedaviler almaya başlamıştır, yine de bu hastalarımızı klinik ve radyolojik olarak takip etmeye devam etmekteyiz ve gelecekte mevcut sitokin ve kemokin düzeyleriyle takip sonuçları için regresyon analizlerini yapmayı planlamaktayız. Çalışmamızın uzantısı olacak gelecek değerlendirmelerde EDSS skoru, MRG verileri kadar yukarıda bahsedildiği gibi hastalık modifiye edici tedaviler hastalık sürecini etkilediği için tedavi yanıtıslılığını ve tedavi yanıtıslılığına bağılı ikinci ya da üçüncü basamak tedavilere geçilmesinin gerekliliğini de değerlendirmeye almak yerinde olacaktır.

Çalışmamızda özellikle interlökinlerin ölçümü sırasında zorluklarla karşılaşılmıştır. Tüm serum numunelerinin %94,7'si IL-8 için, %38,6'sı IL-12/IL-23p40 için, %84,2'si IL-21 için ölçülebilen minimum değerin altında sonuç vermiştir. Tüm BOS numunelerinin %8,8'i IL-8 için, %87,8'i IL-12/IL-23p40 için, %22,8'i IL-21 için ölçülebilen limitlerin altında kalmıştır. Yaşanan güçlüklerin kullanılan ELISA yönteminin bir handikabı olduğu kanaatine varılmıştır, çünkü numuneleri toplama, saklama gibi ELISA işlemine kadar olan kısımda BOS biyobankası standardizasyonu için yapılmış öneriler takip edilmiştir[132].

*Enzyme-linked immunosorbent-assay* (ELISA), ligand bağlayıcı *assay*'leri kullanarak biyolojik materyallerde protein tespiti için kullanılagelen bir metottur ve bu yöntemde kalorimetrik yöntemle abzorban değeri ölçümü yapılır[196]. Son çalışmalarla beraber ligand bağlayıcı *assay*'lerin dinamik aralığı, güvenilirliği ve sensitivitesi ile ilgili gelişmeler yaşanmıştır ve kemilüminesans ile çeşitli floresan okumalar gibi alternatif protein tespit yöntemleri kullanıma girmiştir[197]. Böylelikle yeni teknolojiler konvensiyonel ligand bağlayıcı *assay*'lerin kapasitesini aşan düzeylerde dinamik aralık ve sensitivite artışı sağlamıştır[198]. BOS ve serum sitokin profilinin değerlendirildiği güncel çalışmalarda bu teknolojilerin kullanıldığı dikkati çekmektedir[158]. Günümüzde sitokin biyomarker araştırmaları ile piyasada bulunan son teknoloji *yüksek sensitiviteli immunoassay* teknolojilerinin karşılaştırıldığı ve belirlenen en güvenilir, sensitif yöntemlerle biyomarker çalışmalarının yürütülmesinin önerildiği çalışmalar vardır[199]. Diğer *yüksek sensitiviteli immunoassay yöntemlerine göre Single-molecule array (Simoa)* günümüzde en sensitif yöntem olmakla beraber BOS ve serum sitokin araştırmalarında sıkça kullanıldığı görülen Meso-Plex, Luminex sistemlerinde dahi sitokin ölçümlerinde değişken sonuçlar verdiği bildirilmiştir[199]. Hastanemizde ve üniversitemizde *yüksek sensitiviteli immunoassay yöntemlerinden* hiçbirisi mevcut olmadığı için konvensiyonel ligand bağlayıcı *assay*'ler ile ELISA yöntemini uygulamış bulunmaktayız. Dolayısıyla, literatürde bildirilmiş olan serum ya da BOS interlökin seviyelerini tespit edememiş olmamız kullanılan teknolojilerin farkı sebebiyle doğal karşılanmıştır.

Literatürde IL-21 düzeyiyle ilgili birbirini takip eden iki çalışmanın sonuçları kullanılan yöntemlerin elde edilen sonuçların güvenilirliğini ne derecede etkilediğini göstermektedir. İlk çalışmalarında Jones ve arkadaşları Alemtuzumab tedavisi sonrasında sekonder otoimmünite geliştiren hastaların serum IL-21 düzeylerinin otoimmünite geliştirmeyenlere göre 2 kat fazla olduğunu bildirmiş ve Alemtuzumab tedavisi sonrasında IL-21'in sekonder otoimmünite gelişimi için biyomarker olarak kullanımını önermiştir[200]. Yine aynı çalışma grubundan Azzopardi ve arkadaşlarının çalışması bir önceki çalışmada kullanılan asit bazlı kitlerin piyasadaki geri çekilmesi üzerine piyasaya yeni sürülen 5 farklı IL-21 kiti ve önceki çalışmada kullanılan kit ile 144 MS hastasının serum örneklerinde ELISA yöntemiyle IL-21

düzeyleri tespit edilerek karşılaştırılmıştır[140]. Çalışma sonucunda, eski kit ile yeni kitlerden bir tanesinde IL-21 düzeyinin sekonder immünite geliştiren MS hastalarında daha yüksek bulunduğu, ancak sadece eski kitte pozitif prediktif değerin elde edildiği bildirilmiş, varılan bu sonucun asit bazlı çalışmadan hücre kültürü bazlı çalışmaya geçen kitlerin IL-21 için sensitivitesinin azalmasına ve antikora antijen bağlanma kapasitesindeki azalmaya bağlı olabileceğinin düşünüldüğü bildirilmiştir[140]. Sonuç olarak, IL-21'in sekonder otoimmünite için biyomarker olma potansiyeli devam ediyor olsa da piyasada mevcut olan kitlerle sekonder otoimmünite için tanısıl çalışmaların yapılmamasının önerildiği bildirilmiştir[140]. Çalışmaların sonunda önerildiği gibi serum IL-21 sekonder otoimmünite gelişen hastalarda yüksek olsa da ölçüm yöntemlerinde yapılan değişikliklerle elde edilen istatistiksel sonucun değişmesi elde edilen verilerin güvenilirliği için önemli bir tehlike unsurudur.

Bundan başka, serum ve BOS sitokin çalışmalarının yaşadığı tek güçlük farklı teknolojilerin kullanılması değil, belki kısmen kullanılan yöntemden etkileniyor olsa da elde edilen sonuçların tekrar edilebilirliğindeki eksiklik, çalışmalar arasında uyumlu sonuçların elde edilememesidir[170]. 226 çalışmayı inceleyen bir meta-analiz göstermiştir ki, bizim çalışmamızda değerlendirilmiş olan serum IL-21 için orta derecede, serum IL-12/IL-23p40 için yüksek derecede ve BOS IL-12/IL-23p40 için düşük derecede çalışmalar arası heterojenite vardır[170]. Dolayısıyla, farklı laboratuvarlar arasındaki zayıf karşılaştırılabilirlik ve bağımsız araştırma grupları arasındaki validasyon eksikliği sebebiyle üzerinde konsensusa varılabilmiş çok az sayıda biyomarker vardır[170].

Ölçüm yöntemlerinin farkı, araştırma grupları arasındaki validasyon eksikliği bir yana bir de çalışan moleküllerin karakterinden ileri gelen güçlükler söz konusudur. Sitokinler biyolojik numunelerde çok düşük konsantrasyonlarda, pikogram/mililitre düzeyinde bulunmaktadır[201]. Böyle düşük seviyeleri tespit etmek oldukça güç olmaktadır. Bundan başka, sitokinler protein yapıda moleküller oldukları için biyolojik numuneler içinde proteazlar tarafından degrade edilirler, dolayısıyla numunenin elde edilmesinden kısa bir süre sonra uygun saklama koşullarına alınmaları gerekmektedir[202]. Numunelerin eldesi ve saklanması arasındaki süre farklı yayınlarda 60 ile 90 dakika arasında değişmektedir, ancak

yayınlar arasında değişmeyen unsur sitokinlerin kısa yarı ömrü nedeniyle biyolojik örneklerin uzun süre bekletilmemesi gerektiğidir[132],[203]. Sitokinler yıllar boyunca -80 santigrad altında varlığını sürdürmeye devam edebilir, ancak numuneler çözüldükten sonra tekrarlayan çöz-dondur işleminden kaçınmak gerekmektedir[202].

Sonuç olarak, sitokin ve kemokin düzeylerini biyolojik numunelerde ölçmek zahmetli bir süreçtir. Moleküllerin hızlı degradasyonu, bir saati çekmeyen sürede -80 santigrad altında muhafaza edilmeye başlanılmasının gerekmesi, biyolojik numunelerde çok düşük düzeylerde bulunması, ölçüm metotlarından kaynaklanan düşük tekrar edilebilirlik nedenleriyle sitokin ve kemokinlerin günlük pratikte kullanımı sınırlı olacaktır. Belirtilen sebepler aynı zamanda sitokin ve kemokinlerin biyobelirteç olarak kullanımı önündeki engellerdir. Protein yapıda moleküller olması ve biyolojik numunelerdeki konsantrasyonu değiştirilemez güçlüklerken uygun saklama koşullarının yaygınlaştırılması, *yüksek sensitiviteli immunassay* yöntemleri için gerekli teknolojilerin elde edilmesi ile kullanımının sıklaştırılması söz konusu engellerin bir kısmını aşmayı sağlayabilir. Çalışmamızda incelenen IL-8, IL-21, CHI3L1 moleküllerinin Multipl Skleroz'a özgü olmadığı bizim çalışmamızda da literatürdeki çalışmalarda da gösterilmiştir. IL-12/IL-23p40'ın ise beyin omurilik sıvısında ölçümünün MS'i diğer nörolojik hastalıklardan ayırt etme gücünün görece daha fazla olduğu izlenmiştir. CHI3L1 ve CXCL13 BOS düzeyleri MS hastalarında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur, dolayısıyla MS hastalığı biyobelirteci olma potansiyeli bu iki molekül için yüksektir. Çalışmamızda incelenen hiçbir sitokin ya da kemokin için klinik ya da radyolojik kötü prognostik veriyle güçlü anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Bununla beraber, serum CXCL13 düzeyi ile klinik özürölülük skoru ve spinal kord lezyonu sayısı arasındaki bağlantı, serum örneklerini elde etmenin kolaylığı, söz konusu korelasyonun geniş sağlıklı birey ve hasta popülasyonunda değerlendirilmesini elzem kılmaktadır.

## 8 KAYNAKLAR

- [1] A. Alonso and M. A. Hernán, “Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: A systematic review,” *Neurology*, vol. 71, no. 2, pp. 129–135, Jul. 2008, doi: 10.1212/01.wnl.0000316802.35974.34.
- [2] D. S. Goodin, “The epidemiology of multiple sclerosis. insights to disease pathogenesis,” in *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 122, Elsevier B.V., 2014, pp. 231–266.
- [3] A. Nylander and D. A. Hafler, “Multiple sclerosis,” *Journal of Clinical Investigation*, vol. 122, no. 4. J Clin Invest, pp. 1180–1188, Apr. 02, 2012, doi: 10.1172/JCI58649.
- [4] H. L. Weiner, “Multiple sclerosis is an inflammatory T-cell-mediated autoimmune disease,” *Archives of Neurology*, vol. 61, no. 10. Arch Neurol, pp. 1613–1615, Oct. 2004, doi: 10.1001/archneur.61.10.1613.
- [5] L. Steinman, “A brief history of TH17, the first major revision in the T H1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage,” *Nature Medicine*, vol. 13, no. 2. Nat Med, pp. 139–145, Feb. 2007, doi: 10.1038/nm1551.
- [6] H. Kebir *et al.*, “Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation,” *Nat. Med.*, vol. 13, no. 10, pp. 1173–1175, Oct. 2007, doi: 10.1038/nm1651.
- [7] J. Swanton, K. Fernando, and D. Miller, “Early prognosis of multiple sclerosis,” in *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 122, Elsevier B.V., 2014, pp. 371–391.
- [8] H. Tremlett, D. Paty, and V. Devonshire, “Disability progression in multiple sclerosis is slower than previously reported,” *Neurology*, vol. 66, no. 2, pp. 172–177, 2006, doi: 10.1212/01.wnl.0000194259.90286.fe.
- [9] B. G. Weinshenker, “Natural history of multiple sclerosis,” in *Annals of Neurology*, 1994, vol. 36, no. SUPPL., doi: 10.1002/ana.410360704.
- [10] W. J. Brownlee *et al.*, “Early imaging predictors of long-term outcomes in relapse-onset multiple sclerosis,” *Brain*, vol. 142, no. 8, pp. 2276–2287, Aug. 2019, doi: 10.1093/brain/awz156.
- [11] R. Bhat and L. Steinman, “Innate and Adaptive Autoimmunity Directed to the

- Central Nervous System,” *Neuron*, vol. 64, no. 1. Cell Press, pp. 123–132, Oct. 15, 2009, doi: 10.1016/j.neuron.2009.09.015.
- [12] A. Zlotnik and O. Yoshie, “The Chemokine Superfamily Revisited,” *Immunity*, vol. 36, no. 5. Cell Press, pp. 705–716, May 25, 2012, doi: 10.1016/j.immuni.2012.05.008.
- [13] G. Hinsinger *et al.*, “Chitinase 3-like proteins as diagnostic and prognostic biomarkers of multiple sclerosis,” *Mult. Scler.*, vol. 21, no. 10, pp. 1251–1261, Sep. 2015, doi: 10.1177/1352458514561906.
- [14] D. F. Legler, M. Loetscher, R. S. Roos, I. Clark-Lewis, M. Baggiolini, and B. Moser, “B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5,” *J. Exp. Med.*, vol. 187, no. 4, pp. 655–660, Feb. 1998, doi: 10.1084/jem.187.4.655.
- [15] N. Lukacs, R. Strieter, V. Elner, H. Evanoff, M. Burdick, and S. Kunkel, “Production of chemokines, interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1, during monocyte: endothelial cell interactions,” *Blood*, vol. 86, no. 7, pp. 2767–2773, Oct. 1995, doi: 10.1182/blood.v86.7.2767.bloodjournal8672767.
- [16] M. Jana, S. Dasgupta, U. Pal, and K. Pahan, “IL-12 p40 homodimer, the so-called biologically inactive molecule, induces nitric oxide synthase in microglia via IL-12R $\beta$ 1,” *Glia*, vol. 57, no. 14, pp. 1553–1565, Nov. 2009, doi: 10.1002/glia.20869.
- [17] G. Monteleone, F. Pallone, and T. T. Macdonald, “Interleukin-21 as a new therapeutic target for immune-mediated diseases,” *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 30, no. 8. Trends Pharmacol Sci, pp. 441–447, Aug. 2009, doi: 10.1016/j.tips.2009.05.006.
- [18] S. V. Ramagopalan and A. D. Sadovnick, “Epidemiology of Multiple Sclerosis,” *Neurologic Clinics*, vol. 29, no. 2. Neurol Clin, pp. 207–217, May 2011, doi: 10.1016/j.ncl.2010.12.010.
- [19] R. A. Marrie *et al.*, “A systematic review of the incidence and prevalence of autoimmune disease in multiple sclerosis,” *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 21, no. 3. SAGE Publications Ltd, pp. 282–293, Mar. 16, 2015, doi:

10.1177/1352458514564490.

- [20] N. M. Nielsen *et al.*, “Type 1 diabetes and multiple sclerosis: A Danish population-based cohort study,” *Arch. Neurol.*, vol. 63, no. 7, pp. 1001–1004, 2006, doi: 10.1001/archneur.63.7.1001.
- [21] G. Gupta, J. M. Gelfand, and J. D. Lewis, “Increased risk for demyelinating diseases in patients with inflammatory bowel disease,” *Gastroenterology*, vol. 129, no. 3, pp. 819–826, 2005, doi: 10.1053/j.gastro.2005.06.022.
- [22] N. A. Patsopoulos *et al.*, “Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility,” *Science (80-. )*, vol. 365, no. 6460, Sep. 2019, doi: 10.1126/science.aav7188.
- [23] M. R. Lincoln *et al.*, “A predominant role for the HLA class II region in the association of the MHC region with multiple sclerosis,” *Nat. Genet.*, vol. 37, no. 10, pp. 1108–1112, Oct. 2005, doi: 10.1038/ng1647.
- [24] S. Sawcer *et al.*, “Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis,” *Nature*, vol. 476, no. 7359, Nature, pp. 214–219, Aug. 11, 2011, doi: 10.1038/nature10251.
- [25] S. V. Ramagopalan *et al.*, “Expression of the multiple sclerosis-associated MHC class II allele HLA-DRB1\*1501 is regulated by vitamin D,” *PLoS Genet.*, vol. 5, no. 2, Feb. 2009, doi: 10.1371/journal.pgen.1000369.
- [26] D. Nolan *et al.*, “Contributions of vitamin D response elements and HLA promoters to multiple sclerosis risk,” *Neurology*, vol. 79, no. 6, pp. 538–546, Aug. 2012, doi: 10.1212/WNL.0b013e318263c407.
- [27] E. Cocco *et al.*, “Vitamin D responsive elements within the HLA-DRB1 promoter region in sardinian multiple sclerosis associated alleles,” *PLoS One*, vol. 7, no. 7, Jul. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0041678.
- [28] A. D. Sadovnick *et al.*, “A population-based study of multiple sclerosis in twins: Update,” *Ann. Neurol.*, vol. 33, no. 3, pp. 281–285, 1993, doi: 10.1002/ana.410330309.
- [29] M. F. Cusick, J. E. Libbey, and R. S. Fujinami, “Multiple sclerosis: Autoimmunity and viruses,” *Current Opinion in Rheumatology*, vol. 25, no. 4, Curr Opin Rheumatol, pp. 496–501, Jul. 2013, doi: 10.1097/BOR.0b013e328362004d.

- [30] M. A. Hernán, S. M. Zhang, L. Lipworth, M. J. Olek, and A. Ascherio, "Multiple sclerosis and age at infection with common viruses," *Epidemiology*, vol. 12, no. 3, pp. 301–306, 2001, doi: 10.1097/00001648-200105000-00009.
- [31] S. Abrahamyan *et al.*, "Complete Epstein-Barr virus seropositivity in a large cohort of patients with early multiple sclerosis," *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 91, no. 7, pp. 681–686, Jul. 2020, doi: 10.1136/jnnp-2020-322941.
- [32] A. Ascherio *et al.*, "Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: A prospective study," *J. Am. Med. Assoc.*, vol. 286, no. 24, pp. 3083–3088, Dec. 2001, doi: 10.1001/jama.286.24.3083.
- [33] L. I. Levin *et al.*, "Temporal relationship between elevation of Epstein-Barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis," *J. Am. Med. Assoc.*, vol. 293, no. 20, pp. 2496–2500, May 2005, doi: 10.1001/jama.293.20.2496.
- [34] J. Pakpoor, G. Giovannoni, and S. V. Ramagopalan, "Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: Association or causation?," *Expert Review of Neurotherapeutics*, vol. 13, no. 3, pp. 287–297, 2013, doi: 10.1586/ern.13.6.
- [35] M. T. Wallin *et al.*, "Global, regional, and national burden of multiple sclerosis 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016," *Lancet Neurol.*, vol. 18, no. 3, pp. 269–285, Mar. 2019, doi: 10.1016/S1474-4422(18)30443-5.
- [36] S. Simpson, W. Wang, P. Otahal, L. Blizzard, I. A. F. Van Der Mei, and B. V. Taylor, "Latitude continues to be significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: An updated meta-analysis," *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 90, no. 11, pp. 1193–1200, Nov. 2019, doi: 10.1136/jnnp-2018-320189.
- [37] G. Dean and J. F. Kurtzke, "On the Risk of Multiple Sclerosis According to Age at Immigration to South Africa," *Br. Med. J.*, vol. 3, no. 5777, pp. 725–729, Sep. 1971, doi: 10.1136/bmj.3.5777.725.
- [38] N. Munk Nielsen *et al.*, "Multiple sclerosis among first- and second-generation immigrants in Denmark: a population-based cohort study," *Brain*,

- vol. 142, no. 6, pp. 1587–1597, Jun. 2019, doi: 10.1093/brain/awz088.
- [39] A. Ascherio and K. L. Munger, “Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors,” *Annals of Neurology*, vol. 61, no. 6, Ann Neurol, pp. 504–513, Jun. 2007, doi: 10.1002/ana.21141.
  - [40] A. Ascherio *et al.*, “Vitamin D as an early predictor of multiple sclerosis activity and progression,” *JAMA Neurol.*, vol. 71, no. 3, pp. 306–314, 2014, doi: 10.1001/jamaneurol.2013.5993.
  - [41] E. M. Mowry *et al.*, “Vitamin D status predicts new brain magnetic resonance imaging activity in multiple sclerosis,” *Ann. Neurol.*, vol. 72, no. 2, pp. 234–240, Aug. 2012, doi: 10.1002/ana.23591.
  - [42] K. C. O’Connor, A. Bar-Or, and D. A. Hafler, “The neuroimmunology of multiple sclerosis: Possible roles of T and B lymphocytes in immunopathogenesis,” *J. Clin. Immunol.*, vol. 21, no. 2, pp. 81–92, 2001, doi: 10.1023/A:1011064007686.
  - [43] N. Garg and T. W. Smith, “An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis,” *Brain Behav.*, vol. 5, no. 9, Sep. 2015, doi: 10.1002/brb3.362.
  - [44] H. Batoulis, K. Addicks, and S. Kuerten, “Emerging concepts in autoimmune encephalomyelitis beyond the CD4/TH1 paradigm,” *Annals of Anatomy*, vol. 192, no. 4, Ann Anat, pp. 179–193, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.aanat.2010.06.006.
  - [45] H. Lassmann, “Pathogenic mechanisms associated with different clinical courses of multiple sclerosis,” *Frontiers in Immunology*, vol. 10, no. JAN, Frontiers Media S.A., 2019, doi: 10.3389/fimmu.2018.03116.
  - [46] R. Dobson, S. Ramagopalan, A. Davis, and G. Giovannoni, “Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: A meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude,” *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 84, no. 8, pp. 909–914, 2013, doi: 10.1136/jnnp-2012-304695.
  - [47] S. L. Hauser *et al.*, “B-Cell Depletion with Rituximab in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 358, no. 7, pp. 676–688, Feb. 2008, doi: 10.1056/NEJMoa0706383.

- [48] S. L. Hauser *et al.*, “Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 376, no. 3, pp. 221–234, Jan. 2017, doi: 10.1056/nejmoa1601277.
- [49] J. Machado-Santos *et al.*, “The compartmentalized inflammatory response in the multiple sclerosis brain is composed of tissue-resident CD8+ T lymphocytes and B cells,” *Brain*, vol. 141, no. 7, pp. 2066–2082, Jul. 2018, doi: 10.1093/brain/awy151.
- [50] B. Serafini, B. Rosicarelli, R. Magliozzi, E. Stigliano, and F. Aloisi, “Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis,” *Brain Pathol.*, vol. 14, no. 2, pp. 164–174, 2004, doi: 10.1111/j.1750-3639.2004.tb00049.x.
- [51] L. Lovato *et al.*, “Related B cell clones populate the meninges and parenchyma of patients with multiple sclerosis,” *Brain*, vol. 134, no. 2, pp. 534–541, Feb. 2011, doi: 10.1093/brain/awq350.
- [52] L. Piccio *et al.*, “Changes in B- and T-lymphocyte and chemokine levels with rituximab treatment in multiple sclerosis,” *Arch. Neurol.*, vol. 67, no. 6, pp. 707–714, Jun. 2010, doi: 10.1001/archneurol.2010.99.
- [53] H. Lassmann, W. Brück, and C. F. Lucchinetti, “The immunopathology of multiple sclerosis: An overview,” in *Brain Pathology*, Apr. 2007, vol. 17, no. 2, pp. 210–218, doi: 10.1111/j.1750-3639.2007.00064.x.
- [54] A. Kutzelnigg *et al.*, “Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis,” *Brain*, vol. 128, no. 11, pp. 2705–2712, 2005, doi: 10.1093/brain/awh641.
- [55] C. Bjartmar, G. Kidd, S. Mørk, R. Rudick, and B. D. Trapp, “Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients,” *Ann. Neurol.*, vol. 48, no. 6, pp. 893–901, Dec. 2000, doi: 10.1002/1531-8249(200012)48:6<893::AID-ANA10>3.0.CO;2-B.
- [56] P. Patrikios *et al.*, “Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients,” *Brain*, vol. 129, no. 12, pp. 3165–3172, Jun. 2006, doi: 10.1093/brain/awl217.
- [57] H. Babbe *et al.*, “Clonal expansions of CD8+ T cells dominate the T cell

- infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction,” *J. Exp. Med.*, vol. 192, no. 3, pp. 393–404, Aug. 2000, doi: 10.1084/jem.192.3.393.
- [58] K. W. Wucherpfennig, J. Newcombe, H. Li, C. Keddy, M. L. Cuzner, and D. A. Hafler, “ $\gamma\delta$  T-cell receptor repertoire in acute multiple sclerosis lesions,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 89, no. 10, pp. 4588–4592, 1992, doi: 10.1073/pnas.89.10.4588.
- [59] J. W. Prineas and J. S. Graham, “Multiple sclerosis: Capping of surface immunoglobulin G on macrophages engaged in myelin breakdown,” *Ann. Neurol.*, vol. 10, no. 2, pp. 149–158, 1981, doi: 10.1002/ana.410100205.
- [60] M. Filippi, P. Rossi, A. Campi, B. Colombo, C. Pereira, and G. Comi, “Serial contrast-enhanced MR in patients with multiple sclerosis and varying levels of disability,” *Am. J. Neuroradiol.*, vol. 18, no. 8, 1997.
- [61] J. M. Frischer *et al.*, “The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains,” *Brain*, vol. 132, no. 5, pp. 1175–1189, May 2009, doi: 10.1093/brain/awp070.
- [62] S. Luchetti, N. L. Fransen, C. G. van Eden, V. Ramaglia, M. Mason, and I. Huitinga, “Progressive multiple sclerosis patients show substantial lesion activity that correlates with clinical disease severity and sex: a retrospective autopsy cohort analysis,” *Acta Neuropathol.*, vol. 135, no. 4, pp. 511–528, Apr. 2018, doi: 10.1007/s00401-018-1818-y.
- [63] C. Lucchinetti, W. Brück, J. Parisi, B. Scheithauer, M. Rodriguez, and H. Lassmann, “Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: Implications for the pathogenesis of demyelination,” *Ann. Neurol.*, vol. 47, no. 6, pp. 707–717, 2000, doi: 10.1002/1531-8249(200006)47:6<707::AID-ANA3>3.0.CO;2-Q.
- [64] T. Dzedzic *et al.*, “Wallerian degeneration: A major component of early axonal pathology in multiple sclerosis,” *Brain Pathol.*, vol. 20, no. 5, pp. 976–985, Sep. 2010, doi: 10.1111/j.1750-3639.2010.00401.x.
- [65] K. J. Smith and H. Lassmann, “The role of nitric oxide in multiple sclerosis,” *Lancet Neurology*, vol. 1, no. 4. Lancet Publishing Group, pp. 232–241, Apr. 01, 2002, doi: 10.1016/S1474-4422(02)00102-3.
- [66] M. H. Barnett and J. W. Prineas, “Relapsing and Remitting Multiple Sclerosis:

- Pathology of the Newly Forming Lesion,” *Ann. Neurol.*, vol. 55, no. 4, pp. 458–468, Apr. 2004, doi: 10.1002/ana.20016.
- [67] C. Confavreux and S. Vukusic, “The clinical course of multiple sclerosis,” in *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 122, Elsevier B.V., 2014, pp. 343–369.
- [68] R. G. Richards, F. C. Sampson, S. M. Beard, and P. Tappenden, “A review of the natural history and epidemiology of multiple sclerosis: Implications for resource allocation and health economic models,” *Health Technology Assessment*, vol. 6, no. 10. National Co-ordinating Centre for HTA, 2002, doi: 10.3310/hta6100.
- [69] A. J. Thompson *et al.*, “Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria,” *The Lancet Neurology*, vol. 17, no. 2. Lancet Publishing Group, pp. 162–173, Feb. 01, 2018, doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
- [70] W. J. Brownlee, T. A. Hardy, F. Fazekas, and D. H. Miller, “Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges,” *The Lancet*, vol. 389, no. 10076. Lancet Publishing Group, pp. 1336–1346, Apr. 01, 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(16)30959-X.
- [71] I. Galea, N. Ward-Abel, and C. Heesen, “Relapse in multiple sclerosis,” *BMJ (Online)*, vol. 350. BMJ Publishing Group, Apr. 14, 2015, doi: 10.1136/bmj.h1765.
- [72] F. D. Lublin and S. C. Reingold, “Defining the clinical course of multiple sclerosis: Results of an international survey,” *Neurology*, vol. 46, no. 4. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 907–911, 1996, doi: 10.1212/WNL.46.4.907.
- [73] F. D. Lublin *et al.*, “Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions,” *Neurology*, vol. 83, no. 3. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 278–286, Jul. 15, 2014, doi: 10.1212/WNL.0000000000000560.
- [74] F. D. Lublin, T. Coetzee, J. A. Cohen, R. A. Marrie, and A. J. Thompson, “The 2013 clinical course descriptors for multiple sclerosis: A clarification,” *Neurology*, vol. 94, no. 24. NLM (Medline), pp. 1088–1092, Jun. 16, 2020, doi: 10.1212/WNL.00000000000009636.
- [75] M. Tintoré *et al.*, “Isolated demyelinating syndromes: Comparison of CSF oligoclonal bands and different MR imaging criteria to predict conversion to

- CDMS,” *Mult. Scler.*, vol. 7, no. 6, pp. 359–363, Dec. 2001, doi: 10.1191/135245801701567069.
- [76] G. Comi *et al.*, “Effect of glatiramer acetate on conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndrome (PreCISe study): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial,” *Lancet*, vol. 374, no. 9700, pp. 1503–1511, 2009, doi: 10.1016/S0140-6736(09)61259-9.
- [77] D. T. Okuda *et al.*, “Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: The radiologically isolated syndrome,” *Neurology*, vol. 72, no. 9, pp. 800–805, Mar. 2009, doi: 10.1212/01.wnl.0000335764.14513.1a.
- [78] D. T. Okuda *et al.*, “Asymptomatic spinal cord lesions predict disease progression in radiologically isolated syndrome,” *Neurology*, vol. 76, no. 8, pp. 686–692, Feb. 2011, doi: 10.1212/WNL.0b013e31820d8b1d.
- [79] A. Giorgio *et al.*, “Cortical lesions in radiologically isolated syndrome,” *Neurology*, vol. 77, no. 21, pp. 1896–1899, Nov. 2011, doi: 10.1212/WNL.0b013e318238ee9b.
- [80] H. Lassmann, J. Van Horssen, and D. Mahad, “Progressive multiple sclerosis: Pathology and pathogenesis,” *Nature Reviews Neurology*, vol. 8, no. 11, Nature Publishing Group, pp. 647–656, 2012, doi: 10.1038/nrneurol.2012.168.
- [81] E. Hüsnü Efendi Demet Yandım Kuşcu, *MULTİPL SKLEROZ TANI VE TEDAVİ KILAVUZU 2018*. .
- [82] F. Brusaferri and L. Candelise, “Steroids for multiple sclerosis and optic neuritis: A meta-analysis of randomized controlled clinical trials,” *J. Neurol.*, vol. 247, no. 6, pp. 435–442, 2000, doi: 10.1007/s004150070172.
- [83] M. J. Kupersmith *et al.*, “Megadose corticosteroids in multiple sclerosis,” *Neurology*, vol. 44, no. 1, pp. 1–4, 1994, doi: 10.1212/wnl.44.1.1.
- [84] G. Arrambide *et al.*, “Aggressive multiple sclerosis (2): Treatment,” *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 26, no. 9, SAGE Publications Ltd, pp. 1045–1063, Aug. 01, 2020, doi: 10.1177/1352458520924595.
- [85] F. D. Lublin, M. Baier, and G. Cutter, “Effect of relapses on development of residual deficit in multiple sclerosis,” *Neurology*, vol. 61, no. 11, pp. 1528–1532, Dec. 2003, doi: 10.1212/01.WNL.0000096175.39831.21.

- [86] L. M. Metz, “Clinically isolated syndrome and early relapsing multiple sclerosis,” *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*, vol. 25, no. 3. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 670–688, Jun. 01, 2019, doi: 10.1212/CON.0000000000000729.
- [87] M. P. Amato *et al.*, “Disease-modifying drugs can reduce disability progression in relapsing multiple sclerosis,” *Brain*, vol. 143, no. 10, pp. 3013–3024, Oct. 2020, doi: 10.1093/brain/awaa251.
- [88] T. Vollmer, “The natural history of relapses in multiple sclerosis,” *J. Neurol. Sci.*, vol. 256, no. SUPPL. 1, May 2007, doi: 10.1016/j.jns.2007.01.065.
- [89] D. M. Wingerchuk and J. L. Carter, “Multiple sclerosis: Current and emerging disease-modifying therapies and treatment strategies,” *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 89, no. 2. Elsevier Ltd, pp. 225–240, 2014, doi: 10.1016/j.mayocp.2013.11.002.
- [90] R. H. Gross and J. R. Corboy, “Monitoring, switching, and stopping multiple sclerosis disease-modifying therapies,” *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*, vol. 25, no. 3. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 715–735, Jun. 01, 2019, doi: 10.1212/CON.0000000000000738.
- [91] M. Filippi and M. A. Rocca, “MR imaging of multiple sclerosis,” *Radiology*, vol. 259, no. 3. Radiology, pp. 659–681, Jun. 2011, doi: 10.1148/radiol.11101362.
- [92] A. J. Thompson *et al.*, “Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria,” *The Lancet Neurology*, vol. 17, no. 2. Lancet Publishing Group, pp. 162–173, Feb. 01, 2018, doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
- [93] W. J. Brownlee, J. K. Swanton, K. A. Miszkil, D. H. Miller, and O. Ciccarelli, “Should the symptomatic region be included in dissemination in space in MRI criteria for MS?,” *Neurology*, vol. 87, no. 7, pp. 680–683, Aug. 2016, doi: 10.1212/WNL.0000000000002975.
- [94] M. Filippi *et al.*, “Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines,” *Brain*, vol. 142, no. 7, pp. 1858–1875, 2019, doi: 10.1093/brain/awz144.
- [95] M. A. A. Van Walderveen *et al.*, “Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis,” *Neurology*, vol.

- 50, no. 5, pp. 1282–1288, May 1998, doi: 10.1212/WNL.50.5.1282.
- [96] E. S. Beck *et al.*, “Improved visualization of cortical lesions in multiple sclerosis using 7T MP2RAGE,” *Am. J. Neuroradiol.*, vol. 39, no. 3, pp. 459–466, Mar. 2018, doi: 10.3174/ajnr.A5534.
- [97] C. Tortorella *et al.*, “Disease activity in multiple sclerosis studied by weekly triple-dose magnetic resonance imaging,” *J. Neurol.*, vol. 246, no. 8, pp. 689–692, 1999, doi: 10.1007/s004150050433.
- [98] D. Pohl, K. Rostasy, H. Reiber, and F. Hanefeld, “CSF characteristics in early-onset multiple sclerosis,” *Neurology*, vol. 63, no. 10, pp. 1966–1967, Nov. 2004, doi: 10.1212/01.WNL.0000144352.67102.BC.
- [99] H. Hegen, M. Auer, A. Zeileis, and F. Deisenhammer, “Upper reference limits for cerebrospinal fluid total protein and albumin quotient based on a large cohort of control patients: Implications for increased clinical specificity,” *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 54, no. 2, pp. 285–292, Feb. 2016, doi: 10.1515/cclm-2015-0253.
- [100] B. S. Giesser, “Diagnosis of Multiple Sclerosis,” *Neurologic Clinics*, vol. 29, no. 2. *Neurol Clin*, pp. 381–388, May 2011, doi: 10.1016/j.ncl.2010.12.001.
- [101] A. Petzold *et al.*, “Optical coherence tomography in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis,” *The Lancet Neurology*, vol. 9, no. 9. *Lancet Neurol*, pp. 921–932, Sep. 2010, doi: 10.1016/S1474-4422(10)70168-X.
- [102] A. Petzold *et al.*, “Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis,” *Lancet Neurol.*, vol. 16, no. 10, pp. 797–812, Oct. 2017, doi: 10.1016/S1474-4422(17)30278-8.
- [103] H. Tremlett, D. Paty, and V. Devonshire, “Disability progression in multiple sclerosis is slower than previously reported,” *Neurology*, vol. 66, no. 2, pp. 172–177, 2006, doi: 10.1212/01.wnl.0000194259.90286.fe.
- [104] C. Confavreux, S. Vukusic, T. Moreau, and P. Adeleine, “Relapses and Progression of Disability in Multiple Sclerosis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 343, no. 20, pp. 1430–1438, Nov. 2000, doi: 10.1056/nejm200011163432001.
- [105] M. Kremenutzky, G. P. A. Rice, J. Baskerville, D. M. Wingerchuk, and G. C. Ebers, “The natural history of multiple sclerosis: A geographically based

- study 9: Observations on the progressive phase of the disease,” *Brain*, vol. 129, no. 3, pp. 584–594, Mar. 2006, doi: 10.1093/brain/awh721.
- [106] E. C. Klawiter, “Current and new directions in MRI in multiple sclerosis,” *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*, vol. 19, no. 4. Continuum (Minneapolis, Minn), pp. 1058–1073, Aug. 2013, doi: 10.1212/01.CON.0000433283.00221.37.
- [107] A. MacKenzie-Graham *et al.*, “Disability-specific atlases of gray matter loss in relapsing-remitting multiple sclerosis,” *JAMA Neurol.*, vol. 73, no. 8, pp. 944–953, Aug. 2016, doi: 10.1001/jamaneurol.2016.0966.
- [108] M. Koch *et al.*, “The natural history of secondary progressive multiple sclerosis,” *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 81, no. 9, pp. 1039–1043, Sep. 2010, doi: 10.1136/jnnp.2010.208173.
- [109] S. Ramachandran, R. C. Strange, P. W. Jones, S. Kalra, D. Nayak, and C. P. Hawkins, “Associations between onset age and disability in multiple sclerosis patients studied using MSSS and a progression model,” *Mult. Scler. Relat. Disord.*, vol. 3, no. 5, pp. 593–599, 2014, doi: 10.1016/j.msard.2014.06.002.
- [110] A. J. Atkinson *et al.*, “Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework,” *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, vol. 69, no. 3. Clin Pharmacol Ther, pp. 89–95, Jan. 01, 2001, doi: 10.1067/mcp.2001.113989.
- [111] F. Deisenhammer, H. Zetterberg, B. Fitzner, and U. K. Zettl, “The cerebrospinal fluid in multiple sclerosis,” *Frontiers in Immunology*, vol. 10, no. APR. Frontiers Media S.A., p. 726, Apr. 12, 2019, doi: 10.3389/fimmu.2019.00726.
- [112] J. Kuhle *et al.*, “Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study,” *Mult. Scler.*, vol. 21, no. 8, pp. 1013–1024, Jul. 2015, doi: 10.1177/1352458514568827.
- [113] S. J. Khoury *et al.*, “Longitudinal MRI in multiple sclerosis: Correlation between disability and lesion burden,” *Neurology*, vol. 44, no. 11, pp. 2120–2124, 1994, doi: 10.1212/wnl.44.11.2120.
- [114] C. H. Polman *et al.*, “A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Natalizumab for Relapsing Multiple Sclerosis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 354, no. 9, pp. 899–

- 910, Mar. 2006, doi: 10.1056/nejmoa044397.
- [115] C. Antonioli and B. Stankoff, “Immunological markers for PML prediction in MS patients treated with natalizumab,” *Frontiers in Immunology*, vol. 6, no. JAN. Frontiers Media S.A., 2015, doi: 10.3389/fimmu.2014.00668.
- [116] A. Yuan, M. V. Rao, Veeranna, and R. A. Nixon, “Neurofilaments at a glance,” *Journal of Cell Science*, vol. 125, no. 14. The Company of Biologists Ltd, pp. 3257–3263, Jul. 15, 2012, doi: 10.1242/jcs.104729.
- [117] M. Khalil *et al.*, “Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders,” *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 14, no. 10, pp. 577–589, Oct. 2018, doi: 10.1038/s41582-018-0058-z.
- [118] M. Gunnarsson *et al.*, “Axonal damage in relapsing multiple sclerosis is markedly reduced by natalizumab,” *Ann. Neurol.*, vol. 69, no. 1, pp. 83–89, Jan. 2011, doi: 10.1002/ana.22247.
- [119] M. Gisslén *et al.*, “Plasma Concentration of the Neurofilament Light Protein (NFL) is a Biomarker of CNS Injury in HIV Infection: A Cross-Sectional Study,” *EBioMedicine*, vol. 3, pp. 135–140, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.ebiom.2015.11.036.
- [120] L. Novakova *et al.*, “Monitoring disease activity in multiple sclerosis using serum neurofilament light protein,” *Neurology*, vol. 89, no. 22, pp. 2230–2237, Nov. 2017, doi: 10.1212/WNL.0000000000004683.
- [121] C. Barro *et al.*, “Serum neurofilament as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis,” *Brain*, vol. 141, no. 8, pp. 2382–2391, Aug. 2018, doi: 10.1093/brain/awy154.
- [122] E. Canto *et al.*, “Chitinase 3-like 1: Prognostic biomarker in clinically isolated syndromes,” *Brain*, vol. 138, no. 4, pp. 918–931, Apr. 2015, doi: 10.1093/brain/awv017.
- [123] T. Ziemssen, K. Akgün, and W. Brück, “Molecular biomarkers in multiple sclerosis,” *Journal of Neuroinflammation*, vol. 16, no. 1. BioMed Central Ltd., Dec. 23, 2019, doi: 10.1186/s12974-019-1674-2.
- [124] M. Comabella, J. Sastre-Garriga, and X. Montalban, “Precision medicine in multiple sclerosis,” *Curr. Opin. Neurol.*, vol. 29, no. 3, pp. 254–262, Jun. 2016, doi: 10.1097/WCO.0000000000000336.

- [125] K. Vos *et al.*, “Raised human cartilage glycoprotein-39 plasma levels in patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 59, no. 7, pp. 544–548, 2000, doi: 10.1136/ard.59.7.544.
- [126] D. Chabas *et al.*, “The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease,” *Science (80-. )*, vol. 294, no. 5547, pp. 1731–1735, Nov. 2001, doi: 10.1126/science.1062960.
- [127] M. H. J. Vogt *et al.*, “Osteopontin levels and increased disease activity in relapsing-remitting multiple sclerosis patients,” *J. Neuroimmunol.*, vol. 155, no. 1–2, pp. 155–160, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.jneuroim.2004.06.007.
- [128] T. F. Runia, M. Van Meurs, K. Nasserinejad, and R. Q. Hintzen, “No evidence for an association of osteopontin plasma levels with disease activity in multiple sclerosis,” *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 20, no. 12. Mult Scler, pp. 1670–1671, Oct. 11, 2014, doi: 10.1177/1352458514528765.
- [129] M. Stilund, M. C. Gjelstrup, T. Petersen, H. J. Møller, P. V. Rasmussen, and T. Christensen, “Biomarkers of inflammation and axonal degeneration/damage in patients with newly diagnosed multiple sclerosis: Contributions of the soluble CD163 CSF/serum ratio to a biomarker panel,” *PLoS One*, vol. 10, no. 4, pp. 1–22, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0119681.
- [130] M. Khademi *et al.*, “Cerebrospinal fluid CXCL13 in multiple sclerosis: A suggestive prognostic marker for the disease course,” *Mult. Scler. J.*, vol. 17, no. 3, pp. 335–343, 2011, doi: 10.1177/1352458510389102.
- [131] J. Brettschneider *et al.*, “The chemokine CXCL13 is a prognostic marker in clinically isolated syndrome (CIS),” *PLoS One*, vol. 5, no. 8, 2010, doi: 10.1371/journal.pone.0011986.
- [132] C. E. Teunissen, H. Tumani, S. Engelborghs, and B. Mollenhauer, “Biobanking of CSF: International standardization to optimize biomarker development,” *Clin. Biochem.*, vol. 47, no. 4–5, pp. 288–292, 2014, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.024.
- [133] A. H. W. M. Schuurs and B. K. Van Weemen, “Enzyme-immunoassay: A powerful analytical tool,” *J. Immunoassay*, vol. 1, no. 2, pp. 229–249, Jan. 1980, doi: 10.1080/01971528008055786.
- [134] “Overview of ELISA | Thermo Fisher Scientific - TR.”

- <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html#2> (accessed Feb. 22, 2021).
- [135] “Albumin OSR General Chemistry,” 2009.
  - [136] “Urinary/CSF Protein.”
  - [137] M. Comabella and X. Montalban, “Body fluid biomarkers in multiple sclerosis,” *The Lancet Neurology*, vol. 13, no. 1. Lancet Neurol, pp. 113–126, Jan. 2014, doi: 10.1016/S1474-4422(13)70233-3.
  - [138] Z. J. Sahab, S. M. Semaan, and Q.-X. A. Sang, “Methodology and Applications of Disease Biomarker Identification in Human Serum,” *Biomark. Insights*, vol. 2, p. 117727190700200, Jan. 2007, doi: 10.1177/117727190700200034.
  - [139] R. Simon, “Sensitivity, Specificity, PPV, and NPV for Predictive Biomarkers,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 107, no. 8, Aug. 2015, doi: 10.1093/jnci/djv153.
  - [140] L. Azzopardi *et al.*, “Predicting autoimmunity after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis,” *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 85, no. 7, pp. 795–798, 2014, doi: 10.1136/jnnp-2013-307042.
  - [141] J. Kuhle *et al.*, “Lack of Association between Antimyelin Antibodies and Progression to Multiple Sclerosis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 356, no. 4, pp. 371–378, Jan. 2007, doi: 10.1056/nejmoa063602.
  - [142] N. Nishimoto, “Cytokine signal regulation and autoimmune disorders,” *Autoimmunity*, vol. 38, no. 5. Taylor & Francis, pp. 359–367, Aug. 2005, doi: 10.1080/08916930500124106.
  - [143] M. Krumbholz *et al.*, “Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment,” *Brain*, vol. 129, no. 1, pp. 200–211, Jan. 2006, doi: 10.1093/brain/awh680.
  - [144] A. Malekzadeh, H. Twaalfhoven, N. J. Wijnstok, J. Killestein, M. A. Blankenstein, and C. E. Teunissen, “Comparison of multiplex platforms for cytokine assessments and their potential use for biomarker profiling in

- multiple sclerosis,” *Cytokine*, vol. 91, pp. 145–152, 2017, doi: 10.1016/j.cyto.2016.12.021.
- [145] J. Chen and M. Wall, “Epidemiology and Risk Factors for Idiopathic Intracranial Hypertension,” *Int. Ophthalmol. Clin.*, vol. 54, no. 1, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1097/IIO.0b013e3182aabf11.
- [146] T. Stewart *et al.*, “Contribution of different relapse phenotypes to disability in multiple sclerosis,” *Mult. Scler.*, vol. 23, no. 2, pp. 266–276, Feb. 2017, doi: 10.1177/1352458516643392.
- [147] W. W. Tourtellotte *et al.*, “Multiple sclerosis: Measurement and validation of central nervous system IgG synthesis rate,” *Neurology*, vol. 30, no. 3, pp. 240–244, 1980, doi: 10.1212/wnl.30.3.240.
- [148] G. Weaving, G. F. Batstone, and R. G. Jones, “Age and sex variation in serum albumin concentration: an observational study,” *Ann. Clin. Biochem.*, vol. 53, no. 1, pp. 106–111, Jan. 2016, doi: 10.1177/0004563215593561.
- [149] M. Castellazzi *et al.*, “Increased age and male sex are independently associated with higher frequency of blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction using the albumin quotient,” *Fluids Barriers CNS*, vol. 17, no. 1, p. 14, Feb. 2020, doi: 10.1186/s12987-020-0173-2.
- [150] Z. Matejčíková *et al.*, “Cerebrospinal fluid and serum levels of interleukin-8 in patients with multiple sclerosis and its correlation with Q-albumin,” *Mult. Scler. Relat. Disord.*, vol. 14, no. March, pp. 12–15, 2017, doi: 10.1016/j.msard.2017.03.007.
- [151] D. D. Taub, M. Anver, J. J. Oppenheim, D. L. Longo, and W. J. Murphy, “T lymphocyte recruitment by interleukin-8 (IL-8): IL-8-induced degranulation of neutrophils releases potent chemoattractants for human T lymphocytes both in vitro and in vivo,” *J. Clin. Invest.*, vol. 97, no. 8, pp. 1931–1941, Apr. 1996, doi: 10.1172/JCI118625.
- [152] D. M. Mirowska-Guzel *et al.*, “High dose of intravenously given glucocorticosteroids decrease IL-8 production by monocytes in multiple sclerosis patients treated during relapse,” *J. Neuroimmunol.*, vol. 176, no. 1–2, pp. 134–140, Jul. 2006, doi: 10.1016/j.jneuroim.2006.03.024.
- [153] H. Bartosik-Psujek and Z. Stelmasiak, “The levels of chemokines CXCL8,

- CCL2 and CCL5 in multiple sclerosis patients are linked to the activity of the disease,” *Eur. J. Neurol.*, vol. 12, no. 1, pp. 49–54, Jan. 2005, doi: 10.1111/j.1468-1331.2004.00951.x.
- [154] P. De Flon *et al.*, “Immunological profile in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis after treatment switch to rituximab and compared with healthy controls,” *PLoS One*, vol. 13, no. 2, pp. 1–11, 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0192516.
- [155] S. Rossi *et al.*, “Subclinical central inflammation is risk for RIS and CIS conversion to MS,” *Mult. Scler.*, vol. 21, no. 11, pp. 1443–1452, 2015, doi: 10.1177/1352458514564482.
- [156] M. Stampanoni Bassi *et al.*, “Delayed treatment of MS is associated with high CSF levels of IL-6 and IL-8 and worse future disease course,” *J. Neurol.*, vol. 265, no. 11, pp. 2540–2547, 2018, doi: 10.1007/s00415-018-8994-5.
- [157] R. Magliozzi *et al.*, “Inflammatory intrathecal profiles and cortical damage in multiple sclerosis,” *Ann. Neurol.*, vol. 83, no. 4, pp. 739–755, 2018, doi: 10.1002/ana.25197.
- [158] H. G. Maxeiner, E. Marion Schneider, S. T. Kurfiss, J. Brettschneider, H. Tumani, and K. Bechter, “Cerebrospinal fluid and serum cytokine profiling to detect immune control of infectious and inflammatory neurological and psychiatric diseases,” *Cytokine*, vol. 69, no. 1, pp. 62–67, 2014, doi: 10.1016/j.cyto.2014.05.008.
- [159] B. Bielekova, M. Komori, Q. Xu, D. S. Reich, and T. Wu, “Cerebrospinal Fluid IL-12p40, CXCL13 and IL-8 as a Combinatorial Biomarker of Active Intrathecal Inflammation,” *PLoS One*, vol. 7, no. 11, pp. 1–9, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0048370.
- [160] S. Kanangat, J. Thomas, S. Gangappa, J. S. Babu, and B. T. Rouse, “Herpes simplex virus type 1-mediated up-regulation of IL-12 (p40) mRNA expression. Implications in immunopathogenesis and protection.,” *J. Immunol.*, vol. 156, no. 3, 1996.
- [161] A. M. Cooper and S. A. Khader, “IL-12p40: an inherently agonistic cytokine,” *Trends in Immunology*, vol. 28, no. 1. Elsevier Current Trends, pp. 33–38, Jan. 01, 2007, doi: 10.1016/j.it.2006.11.002.

- [162] J. R. Piccotti, S. Y. Chan, K. Li, E. J. Eichwald, and D. K. Bishop, "Differential effects of IL-12 receptor blockade with IL-12 p40 homodimer on the induction of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> IFN-gamma-producing cells.," *J. Immunol.*, vol. 158, no. 2, 1997.
- [163] M. K. Gately *et al.*, "The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: Role in normal and pathologic immune responses," *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 16, pp. 495–521, 1998, doi: 10.1146/annurev.immunol.16.1.495.
- [164] A. Windhagen *et al.*, "Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), and interleukin 12 cytokine in multiple sclerosis lesions," *J. Exp. Med.*, vol. 182, no. 6, pp. 1985–1996, Dec. 1995, doi: 10.1084/jem.182.6.1985.
- [165] R. Orbach, M. Gurevich, and A. Achiron, "Interleukin-12p40 in the spinal fluid as a biomarker for clinically isolated syndrome," *Mult. Scler.*, vol. 20, no. 1, pp. 35–42, 2014, doi: 10.1177/1352458513491166.
- [166] S. Bonin *et al.*, "Cerebrospinal Fluid Cytokine Expression Profile in Multiple Sclerosis and Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy," *Immunol. Invest.*, vol. 47, no. 2, pp. 135–145, 2018, doi: 10.1080/08820139.2017.1405978.
- [167] L. Miteva, A. Trenova, G. Slavov, and S. Stanilova, "IL12B gene polymorphisms have sex-specific effects in relapsing–remitting multiple sclerosis," *Acta Neurol. Belg.*, vol. 119, no. 1, pp. 83–93, Mar. 2019, doi: 10.1007/s13760-018-01066-3.
- [168] B. M. Segal, C. S. Constantinescu, A. Raychaudhuri, L. Kim, R. Fidelus-Gort, and L. H. Kasper, "Repeated subcutaneous injections of IL12/23 p40 neutralising antibody, ustekinumab, in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase II, double-blind, placebo-controlled, randomised, dose-ranging study," *Lancet Neurol.*, vol. 7, no. 9, pp. 796–804, Sep. 2008, doi: 10.1016/S1474-4422(08)70173-X.
- [169] J. S. Alexander *et al.*, "Alterations in serum MMP-8, MMP-9, IL-12p40 and IL-23 in multiple sclerosis patients treated with interferon- $\beta$ 1b," *Mult. Scler.*, vol. 16, no. 7, pp. 801–809, 2010, doi: 10.1177/1352458510370791.
- [170] Z. Bai *et al.*, "Cerebrospinal Fluid and Blood Cytokines as Biomarkers for

- Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of 226 Studies With 13,526 Multiple Sclerosis Patients,” *Frontiers in Neuroscience*, vol. 13. Frontiers Media S.A., Oct. 04, 2019, doi: 10.3389/fnins.2019.01026.
- [171] E. K. Deenick and S. G. Tangye, “Autoimmunity: IL-21: A new player in Th17-cell differentiation,” *Immunology and Cell Biology*, vol. 85, no. 7. Nature Publishing Group, pp. 503–505, 2007, doi: 10.1038/sj.icb.7100114.
- [172] D. Konforte, N. Simard, and C. J. Paige, “IL-21: An Executor of B Cell Fate,” *J. Immunol.*, vol. 182, no. 4, pp. 1781–1787, Feb. 2009, doi: 10.4049/jimmunol.0803009.
- [173] R. Ettinger, S. Kuchen, and P. E. Lipsky, “The role of IL-21 in regulating B-cell function in health and disease,” *Immunological Reviews*, vol. 223, no. 1. Immunol Rev, pp. 60–86, Jun. 2008, doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00631.x.
- [174] J. S. Tzartos *et al.*, “IL-21 and IL-21 receptor expression in lymphocytes and neurons in multiple sclerosis brain,” *Am. J. Pathol.*, vol. 178, no. 2, pp. 794–802, 2011, doi: 10.1016/j.ajpath.2010.10.043.
- [175] M. Puthenparampil *et al.*, “BAFF Index and CXCL13 levels in the cerebrospinal fluid associate respectively with intrathecal IgG synthesis and cortical atrophy in multiple sclerosis at clinical onset,” *J. Neuroinflammation*, vol. 14, no. 1, pp. 5–13, 2017, doi: 10.1186/s12974-016-0785-2.
- [176] H. H. Wang *et al.*, “Interleukin-17-secreting T cells in neuromyelitis optica and multiple sclerosis during relapse,” *J. Clin. Neurosci.*, vol. 18, no. 10, pp. 1313–1317, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.jocn.2011.01.031.
- [177] A. Wu *et al.*, “Cerebrospinal fluid IL-21 levels in neuromyelitis optica and multiple sclerosis,” *Can. J. Neurol. Sci.*, vol. 39, no. 6, pp. 813–820, Nov. 2012, doi: 10.1017/S0317167100015663.
- [178] M. Lindén *et al.*, “No evidence of IL21 association with multiple sclerosis in a Swedish population,” *Tissue Antigens*, vol. 78, no. 4, pp. 271–274, Oct. 2011, doi: 10.1111/j.1399-0039.2011.01734.x.
- [179] L. Novakova *et al.*, “Cerebrospinal fluid biomarkers as a measure of disease activity and treatment efficacy in relapsing-remitting multiple sclerosis,” *J. Neurochem.*, vol. 141, no. 2, pp. 296–304, 2017, doi: 10.1111/jnc.13881.
- [180] F. Sellebjerg, L. Royen, P. Soelberg Sørensen, A. B. Oturai, and P. E. H.

- Jensen, “Prognostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light chain and chitinase-3-like-1 in newly diagnosed patients with multiple sclerosis,” *Mult. Scler. J.*, vol. 25, no. 11, pp. 1444–1451, Oct. 2019, doi: 10.1177/1352458518794308.
- [181] S. Modvig *et al.*, “Cerebrospinal fluid levels of chitinase 3-like 1 and neurofilament light chain predict multiple sclerosis development and disability after optic neuritis,” *Mult. Scler.*, vol. 21, no. 14, pp. 1761–1770, Dec. 2015, doi: 10.1177/1352458515574148.
- [182] M. Comabella *et al.*, “Cerebrospinal fluid chitinase 3-like 1 levels are associated with conversion to multiple sclerosis,” *Brain*, vol. 133, no. 4, pp. 1082–1093, 2010, doi: 10.1093/brain/awq035.
- [183] E. Canto *et al.*, “Chitinase 3-like 1: Prognostic biomarker in clinically isolated syndromes,” *Brain*, vol. 138, no. 4, pp. 918–931, Apr. 2015, doi: 10.1093/brain/awv017.
- [184] O. Timirci-Kahraman *et al.*, “Identification of candidate biomarkers in converting and non-converting clinically isolated syndrome by proteomics analysis of cerebrospinal fluid,” *Acta Neurol. Belg.*, vol. 119, no. 1, pp. 101–111, Mar. 2019, doi: 10.1007/s13760-018-0954-4.
- [185] E. Thouvenot *et al.*, “Cerebrospinal fluid chitinase-3-like protein 1 level is not an independent predictive factor for the risk of clinical conversion in radiologically isolated syndrome,” *Mult. Scler. J.*, vol. 25, no. 5, pp. 669–677, Apr. 2019, doi: 10.1177/1352458518767043.
- [186] I. Håkansson *et al.*, “Neurofilament levels, disease activity and brain volume during follow-up in multiple sclerosis,” *J. Neuroinflammation*, vol. 15, no. 1, Jul. 2018, doi: 10.1186/s12974-018-1249-7.
- [187] L. Novakova *et al.*, “Cerebrospinal fluid biomarkers of inflammation and degeneration as measures of fingolimod efficacy in multiple sclerosis,” *Mult. Scler.*, vol. 23, no. 1, pp. 62–71, 2017, doi: 10.1177/1352458516639384.
- [188] D. Bonne-Barkay, S. J. Bissel, J. Kofler, A. Starkey, G. Wang, and C. A. Wiley, “Astrocyte and macrophage regulation of YKL-40 expression and cellular response in neuroinflammation,” *Brain Pathol.*, vol. 22, no. 4, pp. 530–546, Jul. 2012, doi: 10.1111/j.1750-3639.2011.00550.x.

- [189] A. Manzo *et al.*, “Systematic microanatomical analysis of CXCL13 and CCL21 in situ production and progressive lymphoid organization in rheumatoid synovitis,” *Eur. J. Immunol.*, vol. 35, no. 5, pp. 1347–1359, May 2005, doi: 10.1002/eji.200425830.
- [190] S. A. Van De Pavert *et al.*, “Chemokine cxcl13 is essential for lymph node initiation and is induced by retinoic acid and neuronal stimulation,” *Nat. Immunol.*, vol. 10, no. 11, pp. 1193–1199, 2009, doi: 10.1038/ni.1789.
- [191] M. C. Kowarik *et al.*, “CXCL13 is the major determinant for B cell recruitment to the CSF during neuroinflammation,” *J. Neuroinflammation*, vol. 9, May 2012, doi: 10.1186/1742-2094-9-93.
- [192] P. Iwanowski, J. Losy, L. Kramer, M. Wójcicka, and E. Kaufman, “CXCL10 and CXCL13 chemokines in patients with relapsing remitting and primary progressive multiple sclerosis,” *J. Neurol. Sci.*, vol. 380, pp. 22–26, 2017, doi: 10.1016/j.jns.2017.06.048.
- [193] D. Ferraro *et al.*, “Cerebrospinal fluid CXCL13 in clinically isolated syndrome patients: Association with oligoclonal IgM bands and prediction of multiple sclerosis diagnosis,” *J. Neuroimmunol.*, vol. 283, pp. 64–69, 2015, doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.04.011.
- [194] E. Alvarez *et al.*, “CXCL13 is a biomarker of inflammation in multiple sclerosis, neuromyelitis optica, and other neurological conditions,” *Mult. Scler. J.*, vol. 19, no. 9, pp. 1204–1208, 2013, doi: 10.1177/1352458512473362.
- [195] I. Dekker *et al.*, “Infratentorial and spinal cord lesions: Cumulative predictors of long-term disability?,” *Mult. Scler. J.*, vol. 26, no. 11, pp. 1381–1391, Oct. 2020, doi: 10.1177/1352458519864933.
- [196] E. Engvall and P. Perlmann, “Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G,” *Immunochemistry*, vol. 8, no. 9, pp. 871–874, 1971, doi: 10.1016/0019-2791(71)90454-X.
- [197] P. Novo, D. M. Frana Prazeres, V. Chu, and J. P. Conde, “Microspot-based ELISA in microfluidics: Chemiluminescence and colorimetry detection using integrated thin-film hydrogenated amorphous silicon photodiodes,” *Lab Chip*, vol. 11, no. 23, pp. 4063–4071, Dec. 2011, doi: 10.1039/c1lc20362b.

- [198] S. K. Fischer *et al.*, “Emerging Technologies to Increase Ligand Binding Assay Sensitivity,” *AAPS J.*, vol. 17, no. 1, pp. 93–101, Jan. 2015, doi: 10.1208/s12248-014-9682-8.
- [199] H. C. Lasseter, A. C. Provost, L. E. Chaby, N. P. Daskalakis, M. Haas, and A. Jeromin, “Cross-platform comparison of highly sensitive immunoassay technologies for cytokine markers: Platform performance in post-traumatic stress disorder and Parkinson’s disease,” *Cytokine X*, vol. 2, no. 2, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.cytox.2020.100027.
- [200] J. L. Jones *et al.*, “IL-21 drives secondary autoimmunity in patients with multiple sclerosis, following therapeutic lymphocyte depletion with alemtuzumab (Campath-1H),” *J. Clin. Invest.*, vol. 119, no. 7, pp. 2052–2061, Jul. 2009, doi: 10.1172/jci37878.
- [201] T. Schenk, H. Irth, G. Marko-Varga, L. E. Edholm, U. R. Tjaden, and J. Van der Greef, “Potential of on-line micro-LC immunochemical detection in the bioanalysis of cytokines,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 26, no. 5–6, pp. 975–985, 2001, doi: 10.1016/S0731-7085(01)00464-2.
- [202] J. A. Stenken and A. J. Poschenrieder, “Bioanalytical chemistry of cytokines - A review,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 853, no. 1. Elsevier B.V., pp. 95–115, 2015, doi: 10.1016/j.aca.2014.10.009.
- [203] C. E. Teunissen *et al.*, “A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking,” *Neurology*, vol. 73, no. 22. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 1914–1922, 2009, doi: 10.1212/WNL.0b013e3181c47cc2.

## 9 Ekler

### 9.1 Katılımcı Bilgilendirme Formu

#### **Multipl Skleroz Hastalığında Serum İle Beyin Omurilik Sıvısında Sitokin İle Kemokin Düzeyleri Ve Yüksek Hastalık Aktivitesiyle İlişkili Olabilecek Olası Biyobelirteçler**

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin inflamatuvar bir hastalığıdır. Genç bireyleri etkilemekle beraber tedavi edilmediği halde ilerleyerek ciddi özürlülüğe sebep olmaktadır. Merkezi sinir sistemindeki sinir hücrelerinin uzantılarını saran kılıflarının bağışıklık sistemince hasar görmesi bu hastalığın nedenidir. Multipl sklerozun etiyolojisi net olarak henüz anlaşılamamış olmakla beraber bağışıklık sistemine ait lenfosit denen hücreler sorumlu tutulmaktadır.

İlk tanı sırasında hastalar çok farklı şikayetlerle ve çok farklı şiddette yakınmalarla başvurabilmektedirler. Kimi hasta hiç özürlülük olmadan tanı kriterlerini doldurarak MS tanısını alabilirken kimi hastada ise tek bir atak ileri özürlülük bırakabilir ve ancak bundan sonra MS tanısı alabilir. Klinik ve radyolojik görüntülemelerde hastalığın özürlülük bırakarak ilerleyeceğini, hatta progresif olabileceğini düşündürebilecek veriler olsa bile başlangıç aşamasından itibaren hastalığın seyriyle ilgili net bir bilgi veren belirteç henüz mevcut değildir. Bu nedenle, hastaya ve hastalığa yönelik stratejileri erkenden, özürlülük gelişmeden oluşturmak için hastalığın gidişatıyla ilgili bilgi verebilecek biyobelirteçler zaruri olmaktadır.

Beyin omurilik sıvısı (BOS) beyin ve sinir dokularıyla en yakın ilişki içinde olan, sinirlerdeki değişimleri en iyi yansıtan dokudur. BOS'ta üretilen immunglobulin G ile oligoklonal bantlar rutin olarak MS tanısında kullanılmaktadır. BOS'ta bulunan sitokin ve kemokin denen maddelerin inflamatuvar süreçle yani hastalık aktivitesiyle ilgili vermesi kıymetlidir.

Lomber ponksiyon sonrası baş ağrısı hissedilebilir. Baş ağrısı hafif olabileceği gibi bazen şiddetli de olabilir. Baş ağrısı durumunda sırt üstü düz yatılması rahatlatıcı olacaktır, Rahatlama olmazsa ağızdan parasetamol gibi ağrı kesici ilaç kullanılması

gerekebilir. Aspirin kanamaya eğilim yaratabileceğinden alınmamalıdır. Ayrıca bol sıvı alınması da baş ağrısını önler veya azaltır. Bazen de hastanın girişim yapılan yerde ağrısı olabilir, bu durum genellikle geçici olsa da ağrı kesici verilmesi gerekebilir. Seyrek olarak girişim yapılan yerden uzayan kanama veya beyin-omurilik sıvısı sızması veya girişim yerinde kızarıklık, sıcaklık artışı ve ağrı ile kendini gösteren enfeksiyon görülebilir. Bunlar uygun şekilde tedavi edilebilecek durumlardır.

Araştırmaya katılmak için herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyeceksiniz, ayrıca tarafınıza bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırma süresince ve sonrasında kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır.

İstediğiniz zaman çalışmaya katılmaktan vazgeçebilirsiniz. Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük esasına bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde takip ve tedavinizde herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Bu formu imzalamadan önce araştırma ile ilgili sorularınız varsa lütfen Dr. Ezgi Vural'a sorunuz.

## 9.2 Gönüllü Onay Formu

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin adı-soyadı, imzası, adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının adı-soyadı, imzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin adı-soyadı, imzası, görevi

### 9.3 Hasta Görüşme Anketi

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ NÖROLOJİ ANABİLİM DALI  
MS BİYOMARKER HASTA TAKİP FORMU

- ☐ Noninflamatuvar Nörolojik Hasta
- ☐ Kötü Prognostik Verileri Olan MS Hastası
- ☐ Kötü Prognostik Verileri Olmayan MS Hastası

|                      |                    |
|----------------------|--------------------|
| Hastanın Adı/Soyadı: | TC:                |
| Cinsiyet:            | Doğum Tarihi:      |
| Tel:                 | E-mail:            |
| Etnik Köken:         | LP Yapılma Nedeni: |

Özgeçmiş:

Varsa mevcut inflamatuvar hastalıkları:

Kullandığı İlaçlar:

Sigara ve alkol kullanımı:

Anne babada akraba evliliği:

Ailede MS öyküsü: Var ☐ Yok ☐ Ailede MS varsa kimde:

|                                  |                  |
|----------------------------------|------------------|
| <b>Güncel Nörolojik Muayene:</b> |                  |
| Piramidal:                       | Mesane/Bağırsak: |
| Serebellar:                      | Optik:           |
| Beyin Sapı:                      | Mental:          |
| Duyu:                            | Toplam Skor:     |

Biliniyorsa ilk EDSS:

Hastanın MS tanısı aldığı tarih:

|                           |                                        |               |                   |
|---------------------------|----------------------------------------|---------------|-------------------|
| <b>Geçirdiği Ataklar:</b> |                                        |               |                   |
| Atak Tarihi               | Atakta Etkilenen Fonksiyonel Sistemler | Atağın süresi | Steroid Kullanımı |
|                           |                                        |               |                   |
|                           |                                        |               |                   |
|                           |                                        |               |                   |

|                                                         |                                                       |                       |  |
|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------|--|
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
| <b>Geçmişte Kullandığı İmmunomodülatuvar Tedaviler:</b> |                                                       |                       |  |
| İlacın Etken Maddesi                                    | Kullanım Süresi                                       | Tedavi Değişim Nedeni |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
|                                                         |                                                       |                       |  |
| <b>Kötü prognotik verileri var mı?</b>                  |                                                       |                       |  |
| 5 yılda EDSS skorunun 4.0 olması                        | Multifokal ataklar                                    |                       |  |
| 1 yıllık DMT altında >2 kısmen düzelen atak             | Steroid tedavisine yetersiz yanıt                     |                       |  |
| 1 yıllık DMT altında MRG’de >2 aktif/yeni lezyon        | MRG’de lezyonun beyin sapı ya da spinal kordda olması |                       |  |
| Erkek cinsiyet                                          | Tanıda MRG’de T1 sekansında black hole olması         |                       |  |
| Geç yaşta başlangıç                                     |                                                       |                       |  |
| OKB:                                                    | IgG İndeksi:                                          |                       |  |
| BOS IgG:                                                | BOS Albumin:                                          |                       |  |
| Serum IgG:                                              | Serum Albumin:                                        |                       |  |
| Son MRG tarihi:                                         |                                                       |                       |  |
| Supratentorial lezyon sayısı:                           |                                                       |                       |  |
| İnfratentorial lezyon sayısı:                           |                                                       |                       |  |
| Spinal lezyon sayısı:                                   |                                                       |                       |  |