

## Tedavi Almamış Multipl Sklerozda Serum ve BOS Sitokin ve Kemokin Düzeyleri: Hastalık Aktivitesi ile İlişkileri

### CHI3L1 and CXCL13 Levels of Serum and CSF in Treatment-Naïve Multiple Sclerosis: Associations with Disease Activity

<sup>1</sup>Ezgi VURAL<sup>1</sup>, <sup>2</sup>Ali YAMAN<sup>2</sup>, <sup>3</sup>Can ILGIN<sup>3</sup>, <sup>1</sup>Gülin SÜNTER<sup>1</sup>, <sup>2</sup>Goncagül HAKLAR<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Dilek GÜNAL<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Kadriye AĞAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

#### ÖZ

**Giriş ve Amaç:** Sitokinler, hücre içi polipeptitler ve küçük bir protein süper ailesi olan kemokinler, enflamasyon ve hücre göçünde hayati roller oynar. Bu moleküllerin profillenmesi, enflamatuvar süreç ve hastalık prognozu hakkında değerli bilgiler sağlayabilir. Bu çalışma, tedavi almamış hastalardan alınan serum ve beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde sitokin ve kemokin düzeylerini ölçerek, hastalık aktivitesini yansıtan biyobelirteçleri tanımlamayı amaçlamaktadır.

**Yöntem:** Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi nöroloji polikliniğinde Multiple Skleroz veya enflamatuvar olmayan nörolojik hastalık tanısı konan hastalarla prospektif, gözlemsel, kesitsel bir çalışma yapılmıştır. Multiple Skleroz hastaları, daha önce bildirilmiş klinik ve radyolojik kriterlere göre kötü prognoz beklentisi olanlar ve olmayanlar olarak iki gruba ayrılmıştır. Beyin omurilik sıvısı (BOS) ve serum örneklerinde IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. İstatistiksel analiz Stata sürüm 15,1 kullanılarak yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmaya toplam 56 hasta dâhil edilmiştir. Multipl skleroz (MS) hastalarında BOS CHI3L1 ( $p=0,003$ ) ve CXCL13 ( $p<0,001$ ) düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksektir. Multipl skleroz hastaları arasında, serum CXCL13 düzeyleri ile EDSS skoru ( $p=0,04$ ,  $r=0,39$ ) ve omurilik lezyon sayısı ( $p=0,009$ ,  $r=0,48$ ) arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca, MS hastaları arasında BOS CXCL13 düzeyleri ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon bulunmuştur ( $p=0,03$ ,  $r=-0,42$ ).

**Sonuç:** Yüksek BOS CHI3L1 ve CXCL13 düzeyleri, Relapsing-Remitting MS (RRMS) hastaları için tanısız belirteçler olarak hizmet edebilir. Serum örneklerinin alınmasının kolaylığı göz önüne alındığında, serum CXCL13 düzeyleri ile EDSS skoru ve omurilik lezyon sayısı arasındaki ilişkiyi daha büyük bir popülasyonda belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Beyin omurilik sıvısı, biyobelirteç, kemokinler, multipl skleroz, sitokinler

#### ABSTRACT

**Introduction:** Cytokines, intracellular polypeptides, and chemokines, which belong to a small protein superfamily, are crucial in regulating inflammation and cell migration. Profiling these molecules can offer significant insights into the inflammatory process and aid in predicting disease outcomes. This study seeks to quantify cytokine and chemokine levels in serum and cerebrospinal fluid (CSF) samples from treatment-naïve patients, both with and without poor prognostic indicators, to identify biomarkers indicative of disease activity.

**Methods:** A prospective, observational, cross-sectional study was carried out involving patients diagnosed with Multiple sclerosis (MS) or non-inflammatory neurological disorders at Marmara University Faculty of Medicine. Multiple sclerosis patients were further classified into two groups based on previously established clinical and radiological criteria: those with poor prognostic outcomes and those without. Levels of IL-8, IL-12/IL-23p40, IL-21, CHI3L1, and CXCL13 were measured in both CSF and serum samples using the ELISA method. Statistical analyses were conducted using Stata version 15.1.

**Results:** A total of 56 patients participated in the study. CHI3L1 ( $p=0.003$ ) and CXCL13 ( $p<0.001$ ) levels in CSF were significantly elevated in MS patients compared to the control group. Among the MS cohort, serum CXCL13 levels positively correlated with the EDSS score ( $p=0.04$ ,  $r=0.39$ ) and the number of spinal cord lesions ( $p=0.009$ ,  $r=0.48$ ). Additionally, a significant negative correlation was observed between CSF CXCL13 levels and patient age in the MS group ( $p=0.03$ ,  $r=-0.42$ ).

**Conclusion:** Increased CSF levels of CHI3L1 and CXCL13 may serve as potential diagnostic markers for Relapsing-Remitting MS (RRMS) patients. Given the ease of collecting serum samples, further research is necessary to explore the relationship between serum CXCL13 levels, EDSS scores, and spinal cord lesions in larger cohorts.

**Keywords:** Biomarker, cerebrospinal fluid, chemokines, cytokines, multiple sclerosis

**Cite this article as:** Vural E, Yaman A, Ilgin C, Sünter G, Haklar G, Günal D et al. CHI3L1 and CXCL13 Levels of Serum and CSF in Treatment-Naïve Multiple Sclerosis: Associations with Disease Activity. Arch Neuropsychiatry 2026;63:152-157. doi: 10.29399/npa.28889

## Öne Çıkan Noktalar

- MS grubundaki BOS CHI3L1 ve CXCL13 seviyeleri, kontrol grubuna göre daha yüksektir.
- Omurilik lezyon sayısı, serum CXCL13 seviyeleri ile pozitif korelasyon göstermiştir.
- EDSS ile serum CXCL13 seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur.
- BOS CXCL13 seviyeleri ile hastaların yaşı arasında negatif bir korelasyon vardır.

## GİRİŞ

Multipl skleroz (MS), otoreaktif lenfositler tarafından tetiklenen bağışıklık aracılı enflamasyon ile karakterizedir (1,2). Multipl skleroz hastaları için prognostik veriler önerilse de, mevcut bilgilerimiz hasta bireylerde hastalığın ilerlemesini tahmin edebilecek kesin parametrelerden yoksundur (3).

Sitokinler, hücre içi polipeptitler olarak enflamasyonda aktif rol oynarken; kemokinler, küçük bir protein süper ailesi olarak çeşitli hücreleri enflamasyon bölgelerine yönlendirmede önemli rol oynar (4,5). Bu moleküllerin profilini çıkarmak, MS'in altında yatan patofizyolojik mekanizmalar hakkında değerli bilgiler sağlayabilir ve hastalık aktivitesini yansıtan biyobelirteçlerin tanımlanmasına olanak tanıyabilir.

Bu çalışma, tedavi görmemiş MS hastalarını prognoz beklentilerine göre kategorize ederek serum ve beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde sitokin ve kemokin seviyelerini değerlendirmek suretiyle hastalık aktivitesini gösteren potansiyel biyobelirteçleri tanımlamayı amaçlamaktadır. Özellikle MS'in patofizyolojisinde önemli roller oynadığı bilinen şu moleküller hedeflenmiştir: proenflamatuvar bir sitokin ve oksidatif stres belirteci olan IL-8; miyeloid hücreler için kemotaktik olan IL-12/IL-23p40; B ve CD4+ T hücrelerinin çoğalması ve hayatta kalmasında düzenleyici olan IL-21; mikroglial aktivasyonun bir belirteci olan CHI3L1; ve merkezi sinir sistemine B hücrelerinin toplanmasında güçlü bir kemotaktik olan CXCL13 (6-10).

## YÖNTEM

### Hastalar

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi nöroloji polikliniğine başvuran hastalar çalışmaya dâhil edilmiştir. McDonald 2017 kriterlerine göre Multipl Skleroz (MS) tanısı alan ve lomber ponksiyonun tanı ya da tedavi için gerektiği enflamatuvar olmayan nörolojik hastalık tanısı alan yetişkin bireyler çalışmaya dâhil edildi. Tüm hastalar bilgilendirilmiş onam formunu imzalayarak çalışmaya katılım gösterdi.

Dışlama kriterleri olarak MS için hastalık-modifiye edici tedavi kullanımı, akut MS atağı geçirme veya son 30 gün içinde bunun için tedavi alma, MRG'de Gadolinium tutulumu gösteren lezyon varlığı, MS dışı herhangi bir enflamatuvar durum, MRG'de nonspesifik beyaz cevher lezyonları veya lomber ponksiyona engel teşkil eden herhangi bir durum belirlendi. Tedavi almamış MS hastaları, kötü prognoz beklentisi (KP) olanlar ve olmayanlar (KPO) olarak iki gruba ayrıldı. Hastalar aşağıdaki kriterlerden herhangi birini karşılıyorsa KP grubuna dâhil edildi:

- İleri yaşta hastalık başlangıcı (11,12),
- Motor, serebellar veya sfinkter fonksiyonlarını içeren multifokal ataklar (11,13),
- Hastalık başlangıcından itibaren beş yıl içinde EDSS skorunun 4,0'a ulaşması (14),

- T2-ağırlıklı görüntülerde yeni veya genişleyen lezyonların varlığı veya T1-ağırlıklı görüntülerde Gadolinium tutulumu gösteren aktif lezyon varlığı (15),
- T1-ağırlıklı görüntülerde kara deliklerin veya atrofinin varlığı (15),
- MRG'de omurilik veya beyin sapı lezyonlarının varlığı (16).

Klinik hem de radyolojik değerlendirmeler yapılarak hastalardan demografik bilgiler, geçmiş tıbbi öykü ve aile öyküsü, MS tanı tarihi, önceki demiyelinizan ataklar sırasında etkilenen sistemler, aldıkları tedaviler ve herhangi bir kötü prognoz göstergesinin olup olmadığına dair bilgi sağlamaları istendi. Engellilik EDSS (Expanded Disability Status Scale) kullanılarak değerlendirildi. Çalışmadan bir yıl önce veya lomber ponksiyondan (LP) sonraki altı ay içinde çekilen MRG taramaları incelendi. Her katılımcı için supratentorial, periventriküler, jukstakortikal, infratentorial ve spinal lezyonların sayısı kaydedildi.

### Serum ve Beyin Omurilik Sıvısı Eldesi ve Analizi

Hastalardan bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra serum örnekleri için kan alımı ve atravmatik LP eş zamanlı olarak gerçekleştirildi. Eşleştirilmiş serum ve BOS örneklerinde hücre sayısı, toplam protein, albümin düzeyleri, BOS/serum albümin oranı (QAlb), BOS/serum IgG oranı ve IgG İndeksi analiz edildi. Serum ve BOS'taki albümin düzeyleri Beckman Coulter AU5800 sistemi kullanılarak otomatik olarak ölçüldü. Oligoklonal bantlar (OKB) izoelektrik odaklama yöntemiyle tespit edildi. QAlb hastanın yaşı için normal değeri aştıysa kan-beyin bariyeri disfonksiyonundan şüphelenildi ve bu hastalar çalışmadan dışlandı (17). Serum ve BOS örneklerinin toplanması, saklanması ve işlenmesi Teunissen ve ark.'nın biyobank standardizasyonu önerilerine göre gerçekleştirildi (18).

IL-8 (Thermo Fisher, Katalog No. BMS204-3), IL-21 (Thermo Fisher, Katalog No. BMS2043), IL-12/IL-23p40 (Thermo Fisher, Katalog No. BMS2013), CHI3L1 (R&D Systems, Katalog No. DC3L10) ve CXCL13 (Thermo Fisher, Katalog No. EHCXCL13) düzeyleri, üreticilerin talimatlarına uygun olarak ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. IL-8, IL-21 ve IL-12/IL-23p40, 1:2 oranında seyreltilmiş serum ve seyreltilmemiş BOS'ta, CHI3L1 1:50 oranında seyreltilmiş serum ve BOS'ta, CXCL13 ise 1:2 oranında seyreltilmiş serum ve BOS'ta ölçüldü.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Stata sürüm 15,1 (StataCorp, College Station, TX) kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normalliği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Sayısal değişkenlerin tanımlayıcı analizinde ortanca değerler ve çeyrekler arası aralık (ÇA) raporlanırken, kategorik değişkenler yüzdelik olarak ifade edildi. Kategorik veriler Fisher'in Kesin Olasılık Testi ile analiz edildi. Sürekli değişkenlerde iki bağımsız grup arasındaki karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi, ikiden fazla bağımsız grup için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Bağımlı gruplardaki sürekli verileri değerlendirmek için Wilcoxon işaretli sıralar testi uygulandı. İki sürekli değişken arasındaki ilişkileri değerlendirmek için Pearson ve Spearman sıra korelasyon katsayıları hesaplandı. 0,05'ten küçük bir p-değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışma, 07.12.2018 tarihinde Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 09.2018.819 protokol kodu ile onaylandı.

## BULGULAR

### Demografik Veriler, Klinik ve Radyolojik Karakteristik Özellikler

Toplamda 67 hasta çalışma için değerlendirildi. Bunlardan 27 hasta, kontrol grubuna dâhil edildi; bu grubun tamamı baş ağrısı tanımlı enflamatuvar olmayan nörolojik durumlara sahip bireylerden oluşuyordu. Çalışmada toplamda 27 kontrol hastası ve 29 MS hastası yer aldı; MS hastalarının 21'i kötü prognoz beklentisine (KP) sahipken, sekizi kötü prognoz beklentisine sahip değildi (KPO).

Multipl skleroz grubunun %62,1'i (n=18) ve kontrol grubunun %92,6'sı (n=25) kadınlardan oluşuyordu. Demografik, klinik ve radyolojik özelliklerin bir özeti Tablo 1'de sunulmuştur. Toplam 29 MS hastasında, daha önce meydana gelmiş toplam 36 demiyelinizan atak kaydedildi. Kötü prognoz beklentisi olan (KP) ve olmayan (KPO) gruplar arasında önceki atak sayısında anlamlı bir fark yoktu (p=0,22). Ancak, EDSS skorları KP grubunda KPO grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (p=0,04). Fonksiyonel sistem skorlarında gruplar arasında kayda değer bir fark gözlenmedi. Her iki grupta da piramidal sistem skorları 0 ile 1 arasında değişmekteydi (p=0,27). Kötü prognoz beklentisi olmayan grupta diğer tüm fonksiyonel sistem skorları 0 iken, KP grubunda serebellar ve beyin sapı skorları 0 ile 3 arasında değişmekteydi (sırasıyla p=0,14, p=0,27).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) verileri 28 MS hastası için mevcuttu ve lomber ponksiyon ile MRG arasındaki ortalama süre 1,5 aydı. Bir hastanın MRG verisi eksik olduğu için, bu hasta MRG ile ilgili analizlerden çıkarıldı. Multipl skleroz hastalarının %93'ünde üçten fazla periventriküler lezyon tespit edilirken, %50'sinde supratentoriyel bölgede dokuzdan fazla lezyon vardı. Supratentoriyel, periventriküler, jukstakortikal ve infratentoriyel bölgelerdeki lezyon yükü açısından KP ve KPO grupları arasında anlamlı bir fark yoktu.

### Serum ve BOS Analizleri

Gruplar arasında BOS toplam protein, albümin seviyeleri veya hücre sayısı açısından anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 2). Her katılımcı için hesaplanan QAlb değerleri, yaşa göre ayarlanmış referans aralığında kaldı. Kötü prognoz beklentisi olan ve olmayan grupların ortalama OKB tipi Tip 2

iken, ortalama IgG endeksi değerleri KP grubu için 0,71 (Aralık: 0,50 - 2,04) ve KPO grubu için 0,61 (Aralık: 0,47 - 1,75) idi.

Katılımcılar arasında ölçülen tüm sitokin ve kemokinlerin serum ve BOS seviyeleri karşılaştırıldığında, serum ve BOS seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Çoğu serum örneğinde interlökin seviyeleri minimum tespit sınırının altındaydı; IL-8 vakaların %94,7'sinde (n=54), IL-12/IL-23p40 %38,6'sında (n=22) ve IL-21 %84,2'sinde (n=48) tespit edilemedi. Beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde ise IL-8 vakaların %8,8'inde (n=5), IL-12/IL-23p40 %87,8'inde (n=50) ve IL-21 %22,8'inde (n=13) tespit sınırının altındaydı. CHI3L1 için durum tersineydi; bir serum örneğinde (%1,8) ve altı BOS örneğinde (%10,5) ölçülebilir sınırın üzerinde seviyeler bulundu. Serum veya BOS örneklerinde CXCL13 için ölçülebilir sınırların dışında herhangi bir değer tespit edilmedi.

Analizler hem MS hem de kontrol grupları için yapıldı. Multipl skleroz grubunda, CHI3L1 ve CXCL13 BOS seviyeleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksekti, ancak serum seviyelerinde anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 3). Serum ve BOS'taki sitokin ve kemokin seviyeleri üç grup arasında karşılaştırıldı (Tablo 3). Kötü prognoz beklentisi olan ve olmayan grupların her ikisinde de CHI3L1 ve CXCL13 BOS seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (p=0,009, p<0,001).

Alt grup analizlerinde, BOS CHI3L1 seviyesi kontrol grubunda KP grubuna göre anlamlı derecede düşüktü (p=0,001). Kontrol hastalarındaki ortalama BOS CHI3L1 seviyesi, KPO grubuna göre daha düşük görünse de bu fark

**Tablo 1.** Demografik veriler, klinik ve radyolojik özellikler

	Kontrol	KP	KPO	p
Kadın, n (%)	25 (93)	13 (62)	5 (63)	0,02
Erkek, n (%)	2 (7)	8 (38)	3 (37)	
Yaş, medyan (aralık)	37,2 (21,9-53,1)	36,4 (22,9-63,1)	33 (22-47,3)	0,60
Geçmiş atak sayısı, medyan (aralık)	NA	1 (0-4)	1 (0-4)	0,22
EDSS, medyan (aralık)	NA	1 (0-3,5)	0 (0-1)	0,04
Supratentoriyal 3-8 Lezyon, n (%)	NA	9 (45)	5 (62)	0,23
Supratentoriyal 9+ lezyon, n (%)	NA	11 (55)	3 (38)	0,4
Omurilik lezyon sayısı, medyan (aralık)	NA	1 (1-6)	0 (0-0)	<0,001

KP: kötü prognostik verisi olan; KPO: kötü prognostik verisi olmayan; n: sayı; NA: geçerli değil.

**Tablo 2.** Beyin omurilik sıvısı analizi

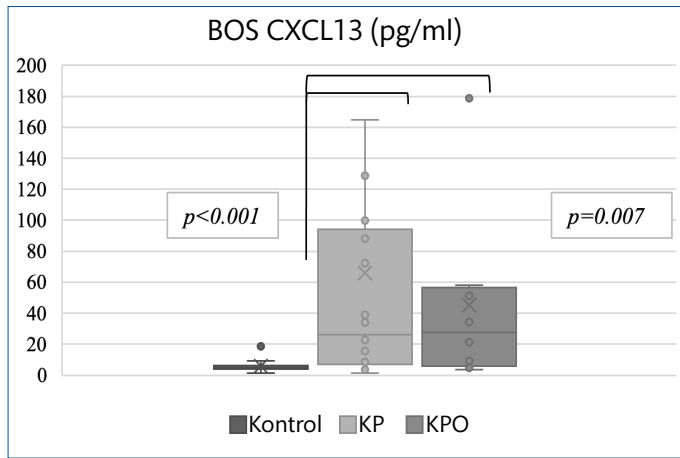
	Kontrol, medyan (ÇA)	KP, medyan (ÇA)	KPO, medyan (ÇA)	p
BOS Protein (mg/dL)	34 (10,8)	38,8 (15,6)	36,5 (7,4)	0,05
BOS Albümin (mg/L)	121,6 (64,8)	145,7 (59,4)	145,6 (50)	0,07
BOS Hücre Sayısı	0 (2)	0 (8)	0 (0)	0,09
OKB	-	2	2	0,22
OKB Tip 2, n (%)	-	15 (71)	5 (63)	-
IgG Endeks >0,6, n (%)	-	17 (80)	4 (50)	-

BOS: beyin omurilik sıvısı; ÇA: çeyrekler arası aralık; OKB: oligoklonal bant; KP: kötü prognostik verisi olan; KPO: kötü prognostik verisi olmayan; n: sayı.

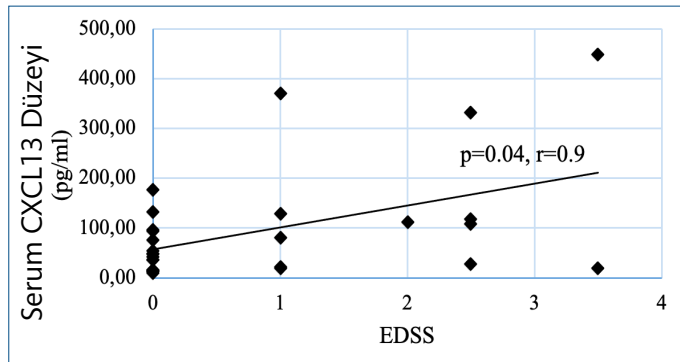
**Tablo 3.** Serum ile BOS sitokin ve kemokin düzeyleri

	Kontrol, medyan (ÇA)	MS, medyan (ÇA)	p	KP, medyan (ÇA)	KPO, medyan (ÇA)	p
Serum CHI3L1 (ng/ml)	44,4 (41,2)	40,1 (26,8)	0,11	38,1 (24,3)	52,4 (36,1)	0,27
Serum CXCL13 (pg/ml)	93,5 (80,5)	48,5 (92,8)	0,13	75,2 (108,4)	36,4 (49,2)	0,07
BOS CHI3L1 (ng/ml)	73,1 (62,1)	107,7 (78,0)	0,003	120,1 (94)	106,0 (62,5)	0,009
BOS CXCL13 (pg/ml)	4,6 (2,5)	26 (63,8)	<0,001	26 (79,8)	27,8 (47,9)	<0,001

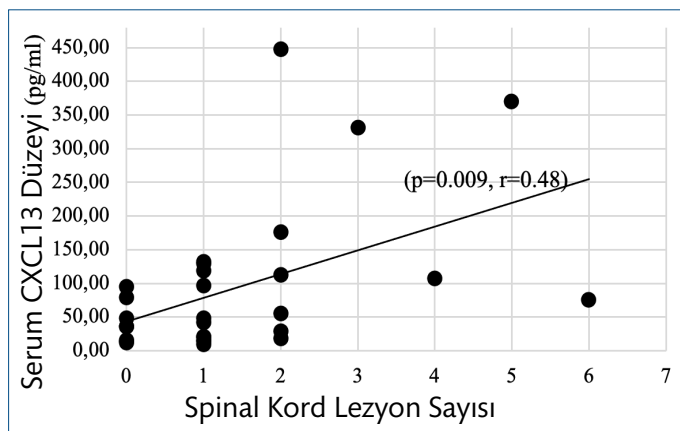
BOS: beyin omurilik sıvısı; CHI3L1: protein chitinase 3-like 1; CXCL13: C-X-C motif ligand 13; ÇA: çeyrekler arası aralık; KP: kötü prognostik verisi olan; KPO: kötü prognostik verisi olmayan; n: sayı.



**Şekil 1.** Kontrol, KP ve KPO gruplarının BOS CXCL13 seviyelerinin karşılaştırılması. BOS: Beyin Omurilik Sıvısı; CXCL13:C-X-C Motif Ligand 13; KPO: Kötü prognoz beklentisi olmayan; KP: Kötü prognoz beklentisi olan



**Şekil 2.** Multipl skleroz hastalarının EDSS skorları ile serum CXCL13 seviyeleri arasındaki korelasyon (CXCL13: C-X-C motif ligand 13; EDSS: genişletilmiş özürülük durum ölçeği).



**Şekil 3.** Multipl skleroz hastalarında omurilik lezyon sayısı ile serum CXCL13 arasındaki korelasyon (CXCL13: C-X-C Motif Ligand 13).

istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,3$ ). Beyin omurilik sıvısı CXCL13 seviyesi kontrol grubunda KPO grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ( $p=0,007$ ) (Şekil 1). Ayrıca, KP grubundaki BOS CXCL13 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ( $p<0,001$ ) (Şekil 1). Kötü prognoz beklentisine sahip olan ve olmayan MS hastaları arasında herhangi bir serum veya BOS parametresinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

## Korelasyon Analizi

Öncelikle, demografik veriler ile serum ve BOS parametreleri arasındaki korelasyon analiz edildi. Multipl skleroz hastalarında, BOS CXCL13 seviyeleri ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ancak zayıf negatif bir korelasyon gözlemlendi ( $p=0,03$ ,  $r=-0,42$ ). Yaş ile serum CHI3L1 seviyeleri ( $p=0,13$ ), BOS CHI3L1 seviyeleri ( $p=0,45$ ) veya serum CXCL13 seviyeleri ( $p=0,36$ ) arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı.

Tüm MS hastaları için, serum CXCL13 seviyeleri ile özürülük skorları arasında zayıf bir pozitif korelasyon belirlendi ( $p=0,04$ ,  $r=0,39$ ) (Şekil 2). Ancak, EDSS ile BOS CXCL13 seviyeleri arasında benzer bir korelasyon bulunamadı ( $p=0,98$ ).

Serum ve BOS kemokin seviyelerinin bireysel kötü prognoz göstergeleri veya birden fazla kötü prognoz faktörünün varlığı ile karşılaştırılmasında anlamlı sonuçlar gözlemlenmedi. Multipl skleroz hastaları arasında 21'inde (%75) spinal kord lezyonları tespit edildi ve spinal kord lezyonlarının sayısı ile serum CXCL13 seviyeleri arasında orta derecede pozitif bir korelasyon bulundu ( $p=0,009$ ,  $r=0,48$ ) (Şekil 3). Spinal kord lezyonlarının sayısı ile serum CHI3L1 ( $p=0,97$ ), BOS CHI3L1 ( $p=0,14$ ) veya BOS CXCL13 seviyeleri ( $p=0,67$ ) arasında korelasyon bulunamadı. Ayrıca, herhangi bir kranial MRG parametresi ile serum veya BOS sitokin ve kemokin seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

Son olarak, rutin serum ve BOS parametreleri serum ve BOS sitokin ve kemokin seviyeleri ile ilişkili olarak değerlendirildi. Multipl skleroz hastalarında IgG endeksi ile BOS CXCL13 seviyeleri arasında orta derecede pozitif bir korelasyon bulundu ( $p=0,02$ ,  $r=0,48$ ).

## TARTIŞMA

CHI3L1 (Chitinase-3-like protein 1, YKL-40) mikroglia, makrofajlar, epitel hücreleri ve astrositler tarafından salgılanır ve kronik otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol oynar (6). Bir glikozidaz molekülü ve glial aktivasyonun bir belirteci olup mikroglia, monositler, aktif astrositler ve vasküler düz kas hücreleri tarafından salgılanır (6,19). Merkezi sinir sistemindeki (MSS) spesifik rolü tam olarak anlaşılamamış olsa da, MSS enflamasyonunun kontrolünde astrosit yanıtının düzenlenmesine katkı sağladığı düşünülmektedir (20).

Çalışmamızda, BOS CHI3L1 seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla MS grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi, bu da önceki bulgularla uyumludur. Elli dokuz RRMS hastası ve 39 sağlıklı kontrolü kapsayan bir çalışmada da, BOS CHI3L1 seviyelerinin relaps döneminde olsun veya olmasın MS hastalarında yüksek olduğu bulunmuştur (21). Ayrıca, bu çalışmada CHI3L1 seviyeleri ile klinik relaps ve EDSS skorları arasında bir ilişki rapor edilmiştir (21). Multipl sklerozun kısa dönem seyrini inceleyen bir başka takip çalışması, BOS CHI3L1 seviyelerinde yaş ve artan özürülük ile hafif bir artış olduğunu, ancak son bir yıl veya takip eden iki yıl içindeki relaps sayısı ile CHI3L1 seviyeleri arasında bir korelasyon olmadığını gözlemlemiştir. Ayrıca, takip döneminin sonunda sekonder progresif faza ilerleme ile bir ilişki tespit edilmiştir (22). Çalışmamızda, BOS CHI3L1 seviyeleri MS hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olmakla birlikte, CHI3L1 seviyeleri ile özürülük skorları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bunun nedeni çalışmamızdaki tüm MS hastalarının yeni tanı almış ve nispeten düşük sakatlık seviyelerine sahip olmalarından kaynaklanıyor olabilir.

Canto ve ark.'nın çok merkezli bir çalışmasında, RRMS'ye ilerleyen hastaların BOS CHI3L1 düzeylerinin, Klinik İzole Sendrom (KİS) ile kalanlara ve enflamatuvar olmayan nörolojik hastalığı olanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (19). Ayrıca, BOS CHI3L1 düzeyleri 170 ng/ml'nin üzerinde olan hastaların, daha düşük düzeylere sahip olanlara göre EDSS skorunda 3,0'a daha hızlı ulaştığı tespit edilmiştir

(19). Ancak, BOS CHI3L1 düzeylerinin Radyolojik İzole Sendrom'dan (RİS) RRMS'e dönüşümdeki rolünü araştıran bir çalışma çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (23). Bu çalışmada, spinal kord lezyonları, BOS CHI3L1 düzeyleri ve dört Barkhof kriterinin varlığı gibi değişkenlerle yapılan regresyon analizinde, yalnızca spinal kord lezyonları RİS'ten RRMS'ye dönüşüm için bir risk faktörü olarak belirlenmiş; BOS CHI3L1 düzeylerinin ise bağımsız bir risk faktörü olmadığı görülmüştür (23). Bizim çalışmamızda da KP ve KPO grupları arasında BOS CHI3L1 düzeylerinde farklılıklar var gibi görünse de, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızdaki başlıca kötü prognostik faktörler geç başlangıç, multifokal relapslar, spinal kord veya beyin sapında lezyonlar olup; bu faktörler aynı zamanda KİS'ten RRMS'ye ve RİS'ten RRMS'ye dönüşümle ilişkilidir. Bu doğrultuda, KP ve KPO grupları arasında BOS CHI3L1 düzeylerinde farklılık gözlemlemeyi bekledik. Ancak, anlamlı sonuçlar elde edilememesi örneklem büyüklüğünün yetersizliğinden kaynaklanabilir. Ayrıca, Thouvenot ve ark.'nın belirttiği gibi, CHI3L1 tek başına bir prognostik belirteç olarak kullanılamaz ve spinal kord lezyonları gibi daha güçlü prognostik göstergelerle birlikte değerlendirildiğinde daha anlamlı hale gelebilir.

Canto ve ark.'nın çalışmasında, T2-ağırlıklı görüntülerdeki lezyon sayısı ve T1-ağırlıklı görüntülerde kontrast tutan lezyonlar, BOS CHI3L1 seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur (19). Bizim çalışmamızda ise klinik veya radyolojik relapsları olan hiçbir MS hastası dâhil edilmemiş olup, BOS CHI3L1 seviyeleri ile lezyon yeri veya sayısı arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Bu korelasyon eksikliğinin hem örneklem büyüklüğünün küçük olması hem de MS hastalarımızın çoğunda mevcut olan yüksek supratentoryal lezyon yüküne bağlanabileceğini düşünüyoruz.

C-X-C Motif Ligand 13 (CXCL13), MSS'ye B hücrelerinin toplanmasını sağlayarak, B hücre foliküllerinin ve sekonder lenfoid dokuların oluşumunu CXCR5 reseptörü üzerinden B lenfositlerle etkileşime girerek kolaylaştıran güçlü bir kemotaktik ajan olarak işlev görmektedir (7). CXCL13 ektoptik lenfoid foliküllerden kaynaklanır ve bu ektoptik lenfoid dokuların gelişimi ve sürdürülmesinde kilit bir rol oynadığı düşünülmektedir (24,25). Çalışmalar, CXCL13 üretiminin aktif MS lezyonlarında gerçekleştiğini ve burada perivasküler infiltratlar ve parankimal lezyon bölgelerindeki hücrelerde tespit edildiğini göstermiştir. Ayrıca, BOS CXCL13 seviyelerinin intratekal immünooglobulin üretimi ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (26).

Çalışmamızda, KP ve KPO grupları dâhil olmak üzere MS grubunda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek BOS CXCL13 seviyeleri gözlemledik. Bu bulgular, önceki çalışmalarla tutarlıdır. Bir çalışma, MS hastalarının BOS CXCL13 seviyelerinin yüksek olduğunu ancak bu seviyeler ile hastalık süresi, EDSS ile ilişki bulunamamış ve RRMS, primer progresif MS ve kontrol grupları arasında serum CXCL13 seviyeleri arasında bir farklılık bulamamıştır (27). Ferraro ve ark., başlangıçtaki yüksek BOS CXCL13 seviyelerinin KİS hastalarında RRMS'ye dönüşme olasılığını artırdığını ve CXCL13 ile IgG endeksi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirlemiştir (28). Ancak, BOS CXCL13 seviyeleri ile MRG verileri veya özürüllük skorları arasında bir ilişki gözlenmemiştir (28). Bulgularımız, kontrol grubuna kıyasla MS hastalarında daha yüksek BOS CXCL13 seviyelerini doğrulamakta ve IgG endeksi ile pozitif bir korelasyon göstermektedir, ancak BOS CXCL13 seviyeleri ile lezyon lokalizasyonu veya yükü arasında bir ilişki bulamamaktayız. Ferraro ve ark. ile benzer şekilde, klinik özürüllük skorları ile BOS CXCL13 seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmedi.

Khademi ve ark., viral ve bakteriyel MSS enfeksiyonu olan hastalarda en yüksek BOS CXCL13 seviyelerini kaydetmiş ve MS gruplarının tamamında alevlenme dönemlerinde remisyona kıyasla CXCL13 seviyelerinin yüksek olduğunu bulmuştur (29). Relapsing-remitting MS hastalarında, en yüksek BOS CXCL13 seviyelerine sahip olanların daha sık alevlenme yaşadığı ve daha fazla beyin lezyonuna sahip olduğu gözlemlenmiştir (29). Ayrıca,

KİS'ten RRMS'ye dönüşüm yaşayan hastalarda CXCL13 seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve bu durum, KİS'ten RRMS'ye dönüşüm için potansiyel bir prognostik belirteç olarak değerlendirilmiştir (29). Çalışmamızda, klinik olarak kesin MS hastalarını prognostik beklentilerine göre grupladık ancak KP ve KPO grupları arasında anlamlı bir fark bulamadık. Bu, yerleşik hastalıkta BOS CXCL13'ün prognostik değerinin azalmasına veya CXCL13'ün daha çok aktif enflamasyon dönemlerinde öngörücü olmasına bağlanabilir. Alternatif olarak, çalışmamızın kesitsel tasarımı ve kohortumuzdaki kronik enflamasyon düzeylerinin görece düşük olması da bu sonuçları etkilemiş olabilir.

Çalışmamızın en ilgi çekici bulguları, serum CXCL13 seviyeleriyle ilişkilidir. Kontrol ve MS gruplarını karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu durum, MS hastaları ile kontroller arasında serum CXCL13 seviyelerinde anlamlı bir fark bildirmeyen diğer çalışmalarla uyumludur. BOS, MSS'ye daha yakın olduğundan, önceki araştırmalar miyelin yıkımı hastalıkları için biyobelirteçlerin BOS'ta değerlendirilmesine odaklanmıştır. Ancak serum almak daha basit ve invaziv olmayan bir işlemdir. Çalışmamızda, MS hastalarındaki serum CXCL13 seviyeleri tespit edilebilir düzeydeydi ve BOS ile karşılaştırılabilir seviyelerdeydi (p=0,84). Önceki çalışmalar BOS CXCL13 seviyeleri ile EDSS skorları arasında korelasyon bildirmiş olsa da, serum seviyelerine ilişkin veri bulunmamaktadır (30). Araştırmamızda, MS hastalarında EDSS skorlarının serum CXCL13 seviyeleri arttıkça yükseldiğini bulduk.

Önceki çalışmalar beyin lezyon sayılarına vurgu yapmış, ancak omurilik lezyon sayılarını dikkate almamıştır. Çalışmamızda, omurilik lezyon sayısı ile serum CXCL13 seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon bulundu. Omurilik lezyonlarının özürüllük üzerindeki olumsuz etkisi iyi belgelenmiş olduğundan, serum CXCL13 seviyeleri, EDSS skorları ve omurilik lezyonları arasındaki korelasyon tesadüfi görünmemektedir. Bu bulguları daha geniş örnek gruplarında doğrulamak önemli olacaktır (31). Daha fazla hasta ve sağlıklı kontrolü içeren daha büyük çalışmalarda doğrulanması halinde, serum CXCL13 hastalık aktivitesini yansıtmaya potansiyeline sahip bir biyobelirteç olarak ortaya çıkabilir.

Çalışmamız, immünomodülatör tedavilerin etkisinden kaçınmak için tedavi almamış ve yeni tanı almış MS hastalarına odaklanan, kesitsel bir çalışmadır. Multipl skleroz prognozu üzerine yapılan önceki çalışmalar esas olarak KİS veya RİS'in RRMS'e dönüşümünü incelemiş olup, bizim çalışmamızın kohort çalışmalarına kıyasla farklı sonuçlar ortaya çıkarabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız, demografik, klinik ve radyolojik verilerin yanı sıra serum ve BOS sitokin ve kemokin seviyelerini analiz ederek tanımlayıcı sonuçlar sağlamayı hedeflemiştir ki bu durum araştırmamızın güçlü yönlerinden biridir çünkü kapsamlı bilgiler sunmaktadır. Ancak, Covid-19 pandemisinin neden olduğu katılımcı sayısının azlığı bir sınırlılık olarak not edilmelidir.

Sonuç olarak, beyin omurilik sıvısı CHI3L1 ve CXCL13 seviyeleri MS hastalarında anlamlı derecede yüksek olup, bu durum bu molekülleri MS için potansiyel biyomarker olarak vurgulamaktadır. Ayrıca, serum örneklemenin kolaylığı ile beraber değerlendirildiğinde, serum CXCL13 seviyeleri ile klinik özürüllük skorları ve omurilik lezyonları arasında gözlemlenen ilişkinin daha geniş hasta ve kontrol popülasyonlarında değerlendirilmesinin önemli olacağı kanısına varılmıştır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 07.12.2018 tarihinde 09.2018.819 protokol kodu ile onaylanmıştır. Çalışmada kullanılan prosedürler, Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygundur.

**Bilgilendirilmiş Onam:** Çalışmaya dahil edilen tüm bireysel katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- EV, KA; Tasarım- EV, AY, GS, GH; Denetleme- GS, KA, DG, GH; Kaynaklar- KA, GS, GH, DG; Malzemeler- EV, AY; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- EV, AY, CI; Analiz ve/veya Yorum- EV, CI; Literatür Taraması- EV; Yazıyı Yazan- EV; Eleştirel İnceleme- GS, KA.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından SAG-C-TUP-080519-0179 proje kodu ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Nylander A, Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest.* 2012;122:1180–1188. [\[Crossref\]](#)
- Weiner HL. Multiple sclerosis is an inflammatory T-cell-mediated autoimmune disease. *Arch Neurol.* 2004;61:1613–1615. [\[Crossref\]](#)
- Swanton J, Fernando K, Miller D. Early prognosis of multiple sclerosis. *Handb Clin Neurol.* 2014;122:371–391. [\[Crossref\]](#)
- Bhat R, Steinman L. Innate and adaptive autoimmunity directed to the central nervous system. *Neuron.* 2009;64:123–132. [\[Crossref\]](#)
- Zlotnik A, Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity.* 2012;36:705–716. [\[Crossref\]](#)
- Hinsinger G, Galéotti N, Nabholz N, Urbach S, Rigau V, Demattei C, et al. Chitinase 3-like proteins as diagnostic and prognostic biomarkers of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2015;21:1251–1261. [\[Crossref\]](#)
- Legler DF, Loetscher M, Roos RS, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B. B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J Exp Med.* 1998;187:655–660. [\[Crossref\]](#)
- Lukacs N, Strieter R, Elnor V, Evanoff H, Burdick M, Kunkel S. Production of chemokines, interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1, during monocyte: endothelial cell interactions. *Blood.* 1995;86:2767–2773. [\[Crossref\]](#)
- Jana M, Dasgupta S, Pal U, Pahan K. IL-12 p40 homodimer, the so-called biologically inactive molecule, induces nitric oxide synthase in microglia via IL-12Rβ1. *Glia.* 2009;57:1553–1565. [\[Crossref\]](#)
- Monteleone G, Pallone F, Macdonald TT. Interleukin-21 as a new therapeutic target for immune-mediated diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 2009;30:441–447. [\[Crossref\]](#)
- Weinshenker BG. Natural history of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 1994;36 Suppl:S6–S11. [\[Crossref\]](#)
- Ramachandran S, Strange RC, Jones PW, Kalra S, Nayak D, Hawkins CP. Associations between onset age and disability in multiple sclerosis patients studied using MSSS and a progression model. *Mult Scler Relat Disord.* 2014;3:593–599. [\[Crossref\]](#)
- Kremenutzky M, Rice GPA, Baskerville J, Wingerchuk DM, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 9: observations on the progressive phase of the disease. *Brain.* 2006;129:584–594. [\[Crossref\]](#)
- Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000;343:1430–1438. [\[Crossref\]](#)
- Klawiter EC. Current and new directions in MRI in multiple sclerosis. *Continuum (Minneapolis Minn).* 2013;19:1058–1073. [\[Crossref\]](#)
- Brownlee WJ, Altmann DR, Prados F, Miszkil KA, Eshaghi A, Gandini Wheeler-Kingshott CAM, et al. Early imaging predictors of long-term outcomes in relapse-onset multiple sclerosis. *Brain.* 2019;142:2276–2287. [\[Crossref\]](#)
- Hegen H, Auer M, Zeileis A, Deisenhammer F. 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.* 2016;54:285–292. [\[Crossref\]](#)
- Teunissen CE, Tumani H, Engelborghs S, Mollenhauer B. Biobanking of CSF: international standardization to optimize biomarker development. *Clin Biochem.* 2014;47:288–292. [\[Crossref\]](#)
- Canto E, Tintore M, Villar LM, Costa C, Nurtdinov R, Alvarez-Cermeno JC, et al. Chitinase 3-like 1: prognostic biomarker in clinically isolated syndromes. *Brain.* 2015;138:918–931. [\[Crossref\]](#)
- Ziemssen T, Akgün K, Brück W. Molecular biomarkers in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2019;16:272. [\[Crossref\]](#)
- Novakova L, Axelsson M, Khademi M, Zetterberg H, Blennow K, Malmeström C, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers as a measure of disease activity and treatment efficacy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurochem.* 2017;141:296–304. [\[Crossref\]](#)
- Sellebjerg F, Royen L, Soelberg Sørensen P, Oturai AB, Jensen PEH. Prognostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light chain and chitinase-3-like-1 in newly diagnosed patients with multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2019;25:1444–1451. [\[Crossref\]](#)
- Thouvenot E, Hinsinger G, Demattei C, Uygunoglu U, Castelnuovo G, Pittion-Vouyovitch S, 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.* 2019;25:669–677. [\[Crossref\]](#)
- Manzo A, Paoletti S, Carulli M, Blades MC, Barone F, Yanni G, et al. Systematic microanatomical analysis of CXCL13 and CCL21 in situ production and progressive lymphoid organization in rheumatoid synovitis. *Eur J Immunol.* 2005;35:1347–1359. [\[Crossref\]](#)
- Van De Pavert SA, Olivier BJ, Goverse G, Vondenhoff MF, Greuter M, Beke P, et al. Chemokine cxcl13 is essential for lymph node initiation and is induced by retinoic acid and neuronal stimulation. *Nat Immunol.* 2009;10:1193–1199. [\[Crossref\]](#)
- Krumbholz M, Theil D, Cepok S, Hemmer B, Kivisäkk P, Ransohoff RM, et al. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain.* 2006;129:200–211. [\[Crossref\]](#)
- Iwanowski P, Losy J, Kramer L, Wójcicka M, Kaufman E. CXCL10 and CXCL13 chemokines in patients with relapsing remitting and primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2017;380:22–26. [\[Crossref\]](#)
- Ferraro D, Galli V, Vitetta F, Simone AM, Bedin R, Del Giovane C, et al. Cerebrospinal fluid CXCL13 in clinically isolated syndrome patients: association with oligoclonal IgM bands and prediction of multiple sclerosis diagnosis. *J Neuroimmunol.* 2015;283:64–69. [\[Crossref\]](#)
- Khademi M, Kockum I, Andersson ML, Iacobaeus E, Brundin L, Sellebjerg F, et al. Cerebrospinal fluid CXCL13 in multiple sclerosis: a suggestive prognostic marker for the disease course. *Mult Scler J.* 2011;17:335–343. [\[Crossref\]](#)
- Alvarez E, Piccio L, Mikesell RJ, Klawiter EC, Parks BJ, Naismith RT, et al. CXCL13 is a biomarker of inflammation in multiple sclerosis, neuromyelitis optica, and other neurological conditions. *Mult Scler J.* 2013;19:1204–1208. [\[Crossref\]](#)
- Dekker I, Sombekke MH, Balk LJ, Moraal B, Geurts JGG, Barkhof F, et al. Infratentorial and spinal cord lesions: cumulative predictors of long-term disability? *Mult Scler J.* 2020;26:1381–1391. [\[Crossref\]](#)