

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Makale No: 71

Yeni Tanılı Multipl Sklerozda Artmış Miyeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler: İmmünofenotiplendirme ve Fonksiyonel Doğrulama

Increased Myeloid-Derived Suppressor Cells in Newly Diagnosed Multiple Sclerosis: Immunophenotyping and Functional Validation

ID Nazire Pınar ACAR ÖZEN^{1,2}, ID Hamdullah YANIK^{3,4}, ID Aslı TUNCER^{1,2}¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye²Hacettepe Üniversitesi Multipl Skleroz Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye³Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye⁴Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Giriş ve Amaç: Miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler (MKBH'ler), kronik enflamasyon sırasında immün yanıtın kilit düzenleyicileridir. Erken dönem multipl skleroz (MS) içindeki rolleri tam olarak tanımlanmamıştır. Bu çalışmada, yeni tanılı, tedavi almamış MS hastalarında dolaşımdaki monositik (M-MKBH) ve polimorfonükleer (PMN-MKBH) düzeylerini değerlendirmeyi ve fonksiyonel baskılayıcı kapasitelerini incelemeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya on sekiz yeni tanılı MS hastası ve yaş ile cinsiyet açısından eşleştirilmiş on sağlıklı kontrol dâhil edildi. Periferik kan MKBH alt grupları akım sitometrisi ile kantifiye edildi. Klinik özellikler, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) bulguları ve beyin omurilik sıvısı (BOS) parametreleri kaydedildi. Kavram kanıtlama niteliğindeki fonksiyonel doğrulama, akım sitometrisi ile CFSE floresan seyrelmesi kullanılarak değerlendirilen T-hücre proliferasyon analizleri ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Hem M-MKBH hem de PMN-MKBH yüzdeleri, kontrol grubuna kıyasla MS hastalarında anlamlı düzeyde yüksekti (her ikisi için de $p < 0,001$). Miyeloid kökenli baskılayıcı hücre seviyeleri cinsiyete göre farklılık göstermedi ve semptom başlangıcından geçen süre, MRG aktivitesi veya BOS parametreleri ile korelasyon saptanmadı. Fonksiyonel olarak, sıralanmış (sorted) MKBH alt grupları aktive olmuş T-hücre proliferasyonunu baskıladı.

Sonuç: Yeni tanılı, tedavi edilmemiş MS hastaları, korunmuş baskılayıcı kapasiteye sahip dolaşımdaki MKBH'lerde bir genişleme sergilemektedir. Bu bulgular, erken dönem MS'in, konvansiyonel klinik veya radyolojik ölçümlerle tam olarak yakalanamayan sistemik bir immünregülatuar yanıt içerebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Akım sitometri, multipl skleroz, miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler, T hücre baskılanması

ABSTRACT

Introduction: Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are key regulators of immune responses during chronic inflammation. Their role in early multiple sclerosis (MS) remains incompletely defined. We aimed to evaluate circulating monocytic (M-MDSC) and polymorphonuclear (PMN-MDSC) levels in newly diagnosed, treatment-naïve MS patients and to assess their functional suppressive capacity.

Methods: Eighteen newly diagnosed MS patients and ten age- and sex-matched healthy controls were included. Peripheral blood MDSC subsets were quantified by flow cytometry. Clinical characteristics, MRI findings, and cerebrospinal fluid (CSF) parameters were recorded. Proof-of-concept functional validation was performed using T-cell proliferation assays assessed using CFSE fluorescence dilution by flow cytometry.

Results: Both M-MDSC and PMN-MDSC percentages were significantly higher in MS patients compared with controls ($p < 0.001$ for both). Myeloid-derived suppressor cell levels did not differ according to sex and showed no correlation with time from symptom onset, MRI activity, or CSF parameters. Functionally, sorted MDSC subsets suppressed activated T-cell proliferation.

Conclusion: Newly diagnosed, untreated MS patients exhibit an expansion of circulating MDSCs with preserved suppressive capacity. These findings suggest that early MS may involve a systemic immunoregulatory response that is not fully captured by conventional clinical or radiological measures.

Keywords: Flow cytometry, multiple sclerosis, myeloid derived suppressor cells, T-cell suppression

Cite this article as: Acar Özen NP, Yanık H, Tuncer A. Increased Myeloid-Derived Suppressor Cells in Newly Diagnosed Multiple Sclerosis: Immunophenotyping and Functional Validation. Arch Neuropsychiatry 2026;63:448-453. doi: 10.29399/npa.29385

GİRİŞ

Multipl skleroz (MS), enflamatuvar demiyelinizasyon ve nöroaksonal hasar ile karakterize, merkezi sinir sisteminin kronik immün aracılı bir hastalığıdır. Özellikle otoreaktif T ve B lenfositler başta olmak üzere adaptif immün mekanizmalar MS patogeneğinde merkezi bir rol oynarken, doğal

immün regülasyon da giderek daha fazla immün dengenin kritik bir belirleyicisi olarak tanınmaktadır (1).

Miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler (MKBH'ler), güçlü immünsupresif aktiviteye sahip olgunlaşmamış miyeloid hücreler olup genel olarak

Öne Çıkan Noktalar

- Yeni tanılı MS'te dolaşımdaki M-MKBH ve PMN-MKBH düzeyleri artmıştır.
- Artmış MKBH'ler T-hücre proliferasyonunu baskılar.
- MKBH düzeyleri özürllük, MRG aktivitesi ve BOS belirteçlerinden bağımsızdır.
- Bulgular MS'te erken sistemik immünregülasyonu desteklemektedir.

monositik (M-MKBH) ve polimorfonükleer (PMN-MKBH) alt gruplarına sınıflandırılmaktadır (2). Bu hücreler, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve interlökin-6 gibi sitokinlerin yönlendirdiği enflamatuvar koşullarda genişler ve arginaz-1 aktivitesi, nitrik oksit ile reaktif oksijen türleri üretimi ve inhibitör kontrol noktası sinyalizasyonu aracılığıyla T-hücre yanıtını baskılar (2-4).

Deneysel otoimmün ensefalomyelit modelleri ve insan MS çalışmaları, MKBH'lerin bağlama özgü immünregülatuvar hücreler olarak işlev gördüğünü ve erken enflamatuvar evrelerde potansiyel olarak koruyucu roller üstlenebileceğini düşündürmektedir (5-9). Ancak hastalık başlangıcındaki henüz hastalık modifiye edici tedavi almamış hastalara odaklanan insan verileri kısıtlıdır ve erken MS'te MKBH'lerin fonksiyonel doğrulanması yetersiz kalmaktadır (8,10).

Bu çalışmada, yeni tanılı, henüz hastalık modifiye edici tedavi almamış MS hastalarında dolaşımdaki M-MKBH ve PMN-MKBH düzeylerini ölçmeyi, klinik ve paraklinik parametrelerle ilişkilerini değerlendirmeyi ve fonksiyonel baskılayıcı kapasitelerini doğrulamayı amaçladık.

MS dışındaki, diğer otoimmün ve enflamatuvar hastalıklardan elde edilen giderek artan kanıtlar, miyeloid kökenli baskılayıcı hücre benzeri popülasyonların genişlemesinin hastalık şiddetinin doğrudan bir göstergesi

olmaktan ziyade telafi edici bir immünregülatuvar yanıtı yansıtabileceğine işaret etmektedir (11,12). Otoimmün büllöz hastalıklarda Oktem ve ark., güçlü T-hücre baskılayıcı kapasitesini koruyan, ancak bazal klinik şiddetle sınırlı ilişki gösteren ve tedavi yanıtıyla daha yakın ilişkili olan dolaşımdaki polimorfonükleer MKBH'lerde (PMN-MKBH) belirgin bir artış olduğunu göstermiştir (12). Bu gözlemler, MKBH genişlemesinin aktif immün disregülasyona eşlik edebileceğini ancak bunun mutlaka ölçülebilir klinik veya doku yüküne dönüşmeyeceğini düşündürmektedir.

Öte yandan, son çalışmalar yalnızca yüzey belirteçlerine dayalı MKBH fenotipik tanımlamasının fonksiyonel özelliklerini ortaya koymak için yetersiz kalabileceğini vurgulamaktadır (13). Onkolojik bir bağlamda Horzum ve ark., PMN-MKBH'lerle fenotipik örtüşme gösteren CD66b⁺ miyeloid hücrelerin immünsupresyon yerine pro-enflamatuvar ve T-hücre kostimülatuvar etkiler gösterebileceğini ortaya koyarak fonksiyonel doğrulanmanın önemini vurgulamıştır (14). Bu bulgular bir arada değerlendirildiğinde, MS gibi immün aracılı hastalıklarda MKBH alt gruplarının hem niceliksel hem de fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (2,13,14).

YÖNTEM

Çalışma Popülasyonu

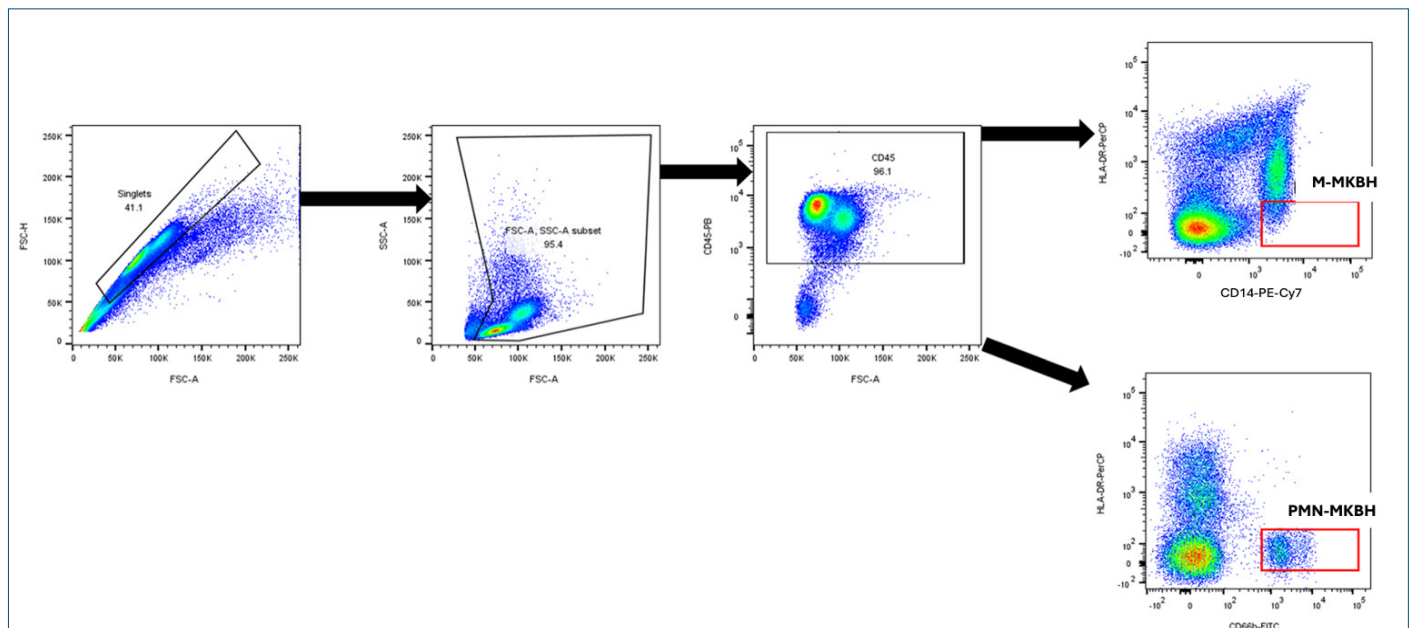
2017 McDonald kriterlerini karşılayan on sekiz yeni tanılı MS hastası ve otoimmün hastalık veya malignitesi bulunmayan, yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş on sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. Tüm MS hastaları örneklemeye anında tedavi almamış durumdaydı.

Klinik ve Paraklinik Değerlendirme

Demografik veriler, klinik prezentasyon, Genişletilmiş Özürllük Durum Skalası (EDSS) skorları, MRG aktivitesi (gadolinyum tutan lezyon varlığı) ve beyin omurilik sıvısı (BOS) parametreleri kaydedildi.

Kan Toplama ve İşleme

Kan örnekleri EDTA tüplerine (Vacutest) alındı ve iki saat içinde işleme alındı. Periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMH) yoğunluk



Şekil 1. Dolaşımdaki MKBH alt gruplarının tanımlanması için akım sitometrisi kapılama stratejisi. Dolaşımdaki MKBH popülasyonlarının tanımlanmasında kullanılan temsili kapılama stratejisi. Dubleler ve hücre artıklarının dışlanmasının ardından lökositler ileri saçılım ve yan saçılım özellikleri ile CD45 ekspresyonuna göre kapılındı. Monositik MKBH'ler CD14+HLA-DR- hücreler olarak tanımlanırken, polimorfonükleer MKBH'ler CD66b+HLA-DR- hücreler olarak tanımlandı (MKBH: miyeloid kökenli baskılayıcı hücre; M-MKBH: monositik miyeloid kökenli baskılayıcı hücre; PMN-MKBH: polimorfonükleer miyeloid kökenli baskılayıcı hücre; FSC: ileri saçılım; SSC: yan saçılım).

gradyanı ile ayırımı için örnekler 1:1 oranında 1× fosfat tamponlu salin (PBS) ile sulandırıldı, 1,077 g/mL Ficoll-Hypaque (Sigma-Aldrich) üzerine katmanlandı ve fren ile ivme uygulanmaksızın 400×g'de 30 dakika santrifüj edildi. Toplam PBMH toplandı, yıkandı, sayıldı ve ileri deneylerde kullanıldı.

Akım Sitometrisi

İmmünofenotiplendirme

İmmünofenotiplendirme; anti-insan CD45 (HI30), CD66b (G10F5), HLA-DR (L243) ve CD14 (M5E2) (BioLegend, ABD) monoklonal antikorları kullanılarak gerçekleştirildi. Pozitif hücre yüzdesi izotip eşleştirilmiş antikorlar kullanılarak belirlendi. Tam boyalı çok renkli örnekler toplandı ve kompanzasyon matrisi gerçek zamanlı olarak veya post-akizisyon analizinde uygulandı. Bu işlem her kanaldan hesaplanan taşmayı çıkararak her belirteç için düzeltilmiş floresan sinyalinin elde edilmesini sağladı. Örnekler Canto II (BD Biosciences, ABD) cihazında çalıştırıldı ve veriler FlowJo yazılımı (v. 10) ile analiz edildi.

Hücre sıralama ve saflaştırma

CD14⁺ popülasyonu PBMH'ler arasında anti-CD14 manyetik hücre sıralama (MACS) immunobead'leri ile üretici talimatlarına uygun biçimde (Miltenyi Biotec) izole edildi. Ardından CD14⁺ monosit alt popülasyonlarının, CD14+HLA-DR⁺ monosit popülasyonunun ve CD14⁺HLA-DR⁺ M-MKBH popülasyonlarının izolasyonuna floresan aktive edilmiş hücre sıralama (FACS) ile devam edildi. Kısaca, CD14⁺ monositler ve M-MKBH'lerin saflaştırılması için taze toplanan PBMH'ler MACS tamponunda (1×PBS/2 mM EDTA/%0,5 BSA) yeniden süspense edildi, anti-CD14 immunobead'lerle inkübe edildi, MACS-LS kolonlarına (Miltenyi Biotec) uygulandı ve immobilize hücreler pozitif seleksiyonla seçildi. Akabinde (BioLegend); CD14+HLA-DR⁺ ve CD14+HLD-DR⁺ popülasyonlar FACS ile saflaştırıldı. Sıralanan hücrelerin saflığı akım sitometrik immünofenotiplendirme ile değerlendirildi (Şekil 1).

Monositler ve M-MKBH'lerin T-hücre yanıtları üzerindeki etkisinin analizi

CD3⁺ T hücreleri, sağlıklı donörlerden ve MS hastalarından elde edilen periferik kan mononükleer hücrelerinden (PBMH) CD3 MACS (Miltenyi Biotec) kullanılarak izole edildi. Bu hücreler ardından üretici protokölüne göre karboksifluoresein süksinimidil ester (CFSE, 5 µM) (BioLegend, ABD) ile işaretlendi. MS hastalarından saflaştırılan HLA-DR⁺ monositler ve HLA-DR⁺ M-MKBH'ler (25000 hücre/200 µL, U tabanlı 96 kuyucuklu plakalarda), T-hücre aktivasyonu için başlangıç sinyalini taklit eden anti-CD3/CD28 bead varlığında çeşitli oranlarda 96 saat boyunca ko-kültüre edildi. CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri kapılandı ve 96 saatlik ko-kültür sonrası akım sitometrisi ile CFSE floresan seyrelmesi kullanılarak proliferasyonları değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler normallik açısından değerlendirildi ve uygun şekilde ortalama ± standart sapma ya da medyan (çeyrekler arası aralık) olarak sunuldu. Gruplar arası karşılaştırmalar, normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız örneklem t testi, normal dağılım göstermeyenler için Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Korelasyon analizleri, veri dağılımına göre Pearson veya Spearman korelasyon katsayıları kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics sürüm 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) ve GraphPad Prism 10 yazılımları ile yapıldı. Tüm istatistiksel testler çift yönlüydü ve p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri yerel etik kurulu tarafından onaylanmıştır (GO2020/11-37) ve Helsinki Deklarasyonu'nun yol gösterici ilkeleri ile iyi klinik uygulamalar çerçevesinde yürütülmüştür. Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alındı ve tüm yöntemler ilgili kılavuzlar ve düzenlemeler doğrultusunda uygulandı.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 18 henüz hastalık modifiye edici tedavi almamış yeni tanılı MS hastası ve 10 sağlıklı kontrol dâhil edildi. Çalışma popülasyonunun demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de özetlenmektedir. Ortalama yaş, MS hastaları (33,3±10,4 yıl) ile sağlıklı kontroller (37,2±4,8 yıl) arasında anlamlı farklılık göstermedi (p=0,343). Cinsiyet dağılımı da gruplar arasında benzerdi (kadın: erkek oranı MS'te 12:6, kontrollerde 6:4; p=0,185). MS kohortunda medyan EDSS skoru 2,5 idi (aralık 0-3,0).

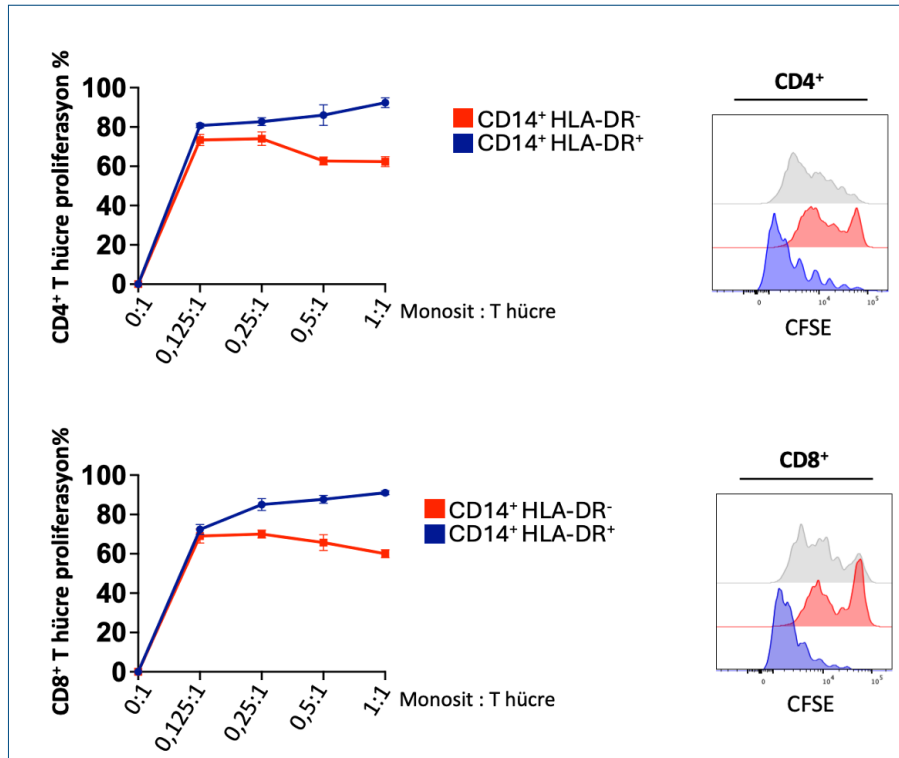
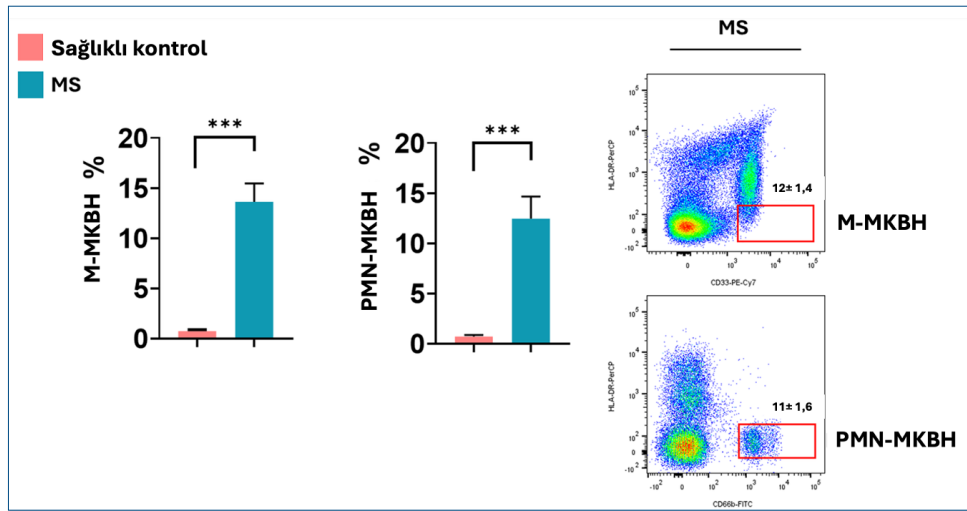
Buna karşın, dolaşımdaki MKBH alt grupları MS hastalarında sağlıklı bireylerle kıyaslandığında belirgin biçimde artmıştı. Hem monositik MKBH'ler (M-MKBH) hem de polimorfonükleer MKBH'ler (PMN-MKBH), periferik kan mononükleer hücrelerinin yüzdesi ve mikrolitredeki mutlak sayı olarak MS hastalarında anlamlı düzeyde yüksekti.

Buna karşın, dolaşımdaki MKBH alt grupları MS hastalarında belirgin biçimde artmıştı. Monositik MKBH (M-MKBH) oranı, MS hastalarında sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında anlamlı düzeyde yüksekti (%13,64±7,8 ve %0,75±0,45; p <0,001). Benzer şekilde, polimorfonükleer MKBH'ler (PMN-MKBH) MS grubunda anlamlı düzeyde artmıştı (%12,48±9,32 ve %0,73±0,46; p <0,001). Bu bulgularla tutarlı olarak, dolaşımdaki MKBH alt gruplarının mutlak sayıları da MS hastalarında anlamlı düzeyde artmıştı. Mutlak M-MKBH sayısı MS hastalarında 335,09±297,84 hücre/µL iken kontrollerde 15,68±7,90 hücre/µL idi (p <0,001); PMN-MKBH sayısı ise sırasıyla 238,16±245,34 hücre/µL ve 15,02±9,03 hücre/µL idi (p=0,001) (Tablo 1, Şekil 2). Bu sonuçlar, yeni tanılı, henüz hastalık modifiye edici tedavi almamış MS hastalarında her iki MKBH alt grubunun da belirgin biçimde genişlediğini göstermektedir.

Tablo 1. Multipl skleroz hastalarının ve sağlıklı kontrollerin demografik, klinik ve MKBH özellikleri

	MS (n=18)	Kontrol (n=10)	p değeri
Yaş ± SS	33,3±10,4	37,2±4,8	0,343
Kadın: Erkek (%)	12:6 (66:34)	6:4 (60:40)	0,185
EDSS (min-maks)	2,5 (0,0-3,0)	-	
BOS IgG endeksi ± SS	1,15±0,53	-	
BOS proteini (mg/dL) ± SS	42,59±12,07	-	
M-MKBH% ± SS	13,64±7,8	0,75±0,45	<0,001
PMN-MKBH% ± SS	12,48±9,32	0,73±0,46	<0,001
M-MKBH sayısı (/µL) ± SS	335,09±297,84	15,676±7,902	<0,001
PMN-MKBH sayısı (/µL) ± SS	238,16±245,34	15,016±9,034	0,001

SS: standart sapma; min: minimum; maks: maksimum; EDSS: genişletilmiş özürülülük durum skalası; BOS: beyin omurilik sıvısı; IgG: immünooglobulin G; M-MKBH: monositik miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler; PMN-MKBH: polimorfonükleer miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler; p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



MS kohortunda, M-MKBH veya PMN-MKBH yüzdeleri açısından kadın ve erkek hastalar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Benzer şekilde, IgG endeksi ve BOS protein düzeyleri dâhil Genişletilmiş Özürlülük Durum Skalası (EDSS) skorları ile beyin omurilik sıvısı parametreleri cinsiyete göre farklılık göstermedi.

Korelasyon analizleri, ilk klinik semptomdan kan alınmasına kadar geçen süre ile M-MKBH oranı ($r=-0,028$, $p=0,912$) veya PMN-MKBH oranı ($r=0,089$, $p=0,726$) arasında anlamlı bir ilişki olmadığını ortaya koydu. Ayrıca radyolojik aktif lezyonu olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında, M-MKBH veya PMN-MKBH yüzdelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,338$; $p=0,871$)

Fonksiyonel doğrulama, yeni tanılı MS hastalarında tespit edilen M-MKBH'lerin güçlü immünsupresif kimliğini teyit etti. Kavram kanıtlama baskılama analizlerinde M-MKBH'ler, kontrol koşullarına kıyasla T-hücre

proliferasyonunu anlamlı düzeyde inhibe etti. Kontrol kültürlerindeki stimüle T hücreleri CD4+ T hücrelerinde yüksek proliferasyon oranı sergiledi (%92,3±1,4), CD8+ T hücrelerinde (%91,2±1,1) 1:1 monosit-T hücre oranında; ancak sıralanmış M-MKBH'lerle ko-kültür, T-hücre ekspansiyonunda belirgin bir azalmaya yol açtı: CD4+ T hücrelerinde (%62,3±1,4), CD8+ T hücrelerinde (%60,1±1,1); bu bulgular %50'yi aşan bir baskılama oranına işaret etmektedir (Şekil 3). Tüm bu bulgular, hastalık başlangıcındaki M-MKBH kompartımanının genişlemesinin fonksiyonel olarak aktif bir immünregülatuar bileşeni temsil ettiğini ve erken MS patolojisine özgü immünolojik disregülasyona potansiyel katkıda bulunabileceğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak, MS hastalarında her iki MKBH düzeyi de sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında anlamlı biçimde yüksek olmasına karşın, bu kohortda MKBH frekansları ile klinik özürülük, radyolojik aktivite veya beyin omurilik sıvısı parametreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, yeni tanılı, tedavi başlanmamış MS hastalarında hem monositik hem de polimorfonükleer miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerde özellikle monositik alt grupta korunmuş baskılayıcı aktivite eşliğinde anlamlı bir genişleme olduğunu gösteriyoruz. Bu bulgular, MKBH genişlemesinin birikimli doku hasarının veya klinik özürüllüğün pasif bir yan ürünü olmaktan ziyade erken bir immünregülatuar yanıtı temsil ettiği kavramını desteklemektedir (15). Giderek artan kanıtlar, MKBH'lerin MS'te bağlama özgü işlevler gösterdiğini ve düzenleyici özelliklerinin hastalık şiddetini doğrudan yansıtmak yerine hastalık evresine göre farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (6,16).

Deneyel ve insan çalışmaları, MKBH'lerin aşırı otoreaktif T-hücre yanıtlarını sınırlamaya yönelik telafi edici bir mekanizmanın parçası olarak erken enflamatuvar evrelerde tercihli biçimde mobilize edilebileceğini düşündürmektedir (17-19). Bu bağlamda, kohortumuzda ilerlemiş özürüllük ya da kapsamlı radyolojik yük yokluğuna karşın gözlemlenen artmış dolaşımdaki MKBH'ler, hastalık başlangıcında immün homeostazi yeniden sağlamaya yönelik sistemik bir girişimi yansıtmaya olabilir. Benzer dinamikler deneysel otoimmün ensefalomyelit modellerinde de tanımlanmıştır; bu modellerde MKBH popülasyonları erken enflamasyon döneminde genişlemekte, ancak kronik enflamasyon yerleştikçe azalmakta veya fonksiyonel yeniden programlamaya uğramaktadır (6).

Bulgularımız, erken MS'te periferik miyeloid değişiklikleri araştıran önceki immünofenotiplendirme çalışmalarını genişletmektedir. Çeşitli çalışmalar, multiparametrik akım sitometriyi kullanarak tedavi almamış relapsing-remitting MS hastalarında artmış monositik MKBH ve enflamatuvar monosit frekansları bildirmiştir (16,20). Ancak söz konusu çalışmalar ağırlıklı olarak fonksiyonel değerlendirme yapmaksızın fenotipik karakterizasyona odaklanmıştır. Buna karşın verilerimiz, genişlemiş monositik MKBH popülasyonunun baskılayıcı aktivitesini koruduğunu göstererek erken MKBH genişlemesinin yalnızca bir fenotipik değişiklikten ibaret olmadığını, aktif bir immünregülatuar yanıtı temsil ettiğini gösteren fonksiyonel kanıt sunmaktadır.

MS'te MKBH'leri değerlendiren insan çalışmaları sınırlı kalmaya devam etmekte ve heterojen sonuçlar ortaya koymaktadır. Iacobaeus ve ark., monositik ve granülositik MKBH alt gruplarının relapsing-remitting hastalık sürecinde arttığını ve baskılayıcı kapasitelerini koruduğunu, ancak bu fonksiyonun sekonder progresif MS'te bozulmuş görüldüğünü göstermiş; bu durum, hastalık seyri boyunca MKBH'lerin evreye özgü fonksiyonel plastisite sergilediğini düşündürmektedir (16). Bulgularımız, MKBH genişlemesinin tedaviye başlanmamış hastalığın klinik olarak saptanabilen en erken evrelerinde hâlihazırda mevcut olduğunu göstererek bu gözlemleri genişletmektedir.

Önemli olarak, çeşitli çalışmalar MKBH genişlemesinin hastalık şiddetinin geleneksel ölçütleriyle mutlaka ilişkili olmadığını ortaya koymaktadır (5). Benzer gözlemler diğer otoimmün hastalıklarda da bildirilmiştir; bu koşullarda artmış dolaşımdaki PMN-MKBH'ler, bazal hastalık aktivitesiyle sınırlı ilişkiye karşın güçlü baskılayıcı aktivite sergilemektedir (12). Bu bulgular, MKBH'lerin yalnızca fenotipik tanımlamasının immünolojik rollerini ortaya koymak için yetersiz kalabileceğini vurgulamakta ve fonksiyonel doğrulamanın önemini altını çizmektedir (14). Buna göre, mevcut çalışmadaki fonksiyonel analizler, arginaz-1, nitrik oksit üretimi ve immün kontrol noktası sinyalizasyonunu içeren baskılayıcı mekanizmalarla daha tutarlı biçimde ilişkilendirilen monositik MKBH'lere odaklandı (13,21,22).

Önceki çalışmalar bazı MS kohortlarında azalmış dolaşımdaki MKBH'leri de bildirmiştir. Örneğin Cantoni ve ark., relapsing-remitting MS hastalarında STAT3 ve ARG1 gibi düzenleyici yollardaki değişikliklerle birlikte azalmış monositik MKBH düzeylerini gözlemlemiştir (23). Bu

tutarlılıklar, hastalık evresi, tedaviye maruz kalma ya da immünolojik bağlamdaki farklılıkları yansıtmaya olabilir. Erken enflamatuvar evreler baskılayıcı miyeloid popülasyonların genişlemesini destekleyebilirken, kronik veya tedavi gören hastalık durumları niceliksel veya fonksiyonel değişikliklerle ilişkili olabilir.

Bu yorumla tutarlı olarak, dolaşımdaki MKBH düzeyleri ile klinik özürüllük, MRG aktivitesi veya beyin omurilik sıvısı enflamatuvar belirteçleri arasında anlamlı korelasyonlar gözlemlenmedi. Bu bulgular, erken MS'te MKBH genişlemesinin hastalık yükünün doğrudan modülasyonundan ziyade sistemik bir immünregülatuar yanıtı yansıttığını düşündürmektedir.

Bazı sınırlılıkların kabul edilmesi gerekmektedir. Fonksiyonel analizler monositik MKBH'lerle sınırlandırıldı; bunun başlıca nedeni PMN-MKBH'lerin yoğunluk gradyanı ayrımı sonrasında düşük geri kazanım göstermesi ve ex vivo manipülasyon sırasında aktivasyona karşı yüksek duyarlılığı olmasıdır. Ayrıca kohort görece küçük olup yalnızca yeni tanılı, tedavi almamış hastalardan oluşmaktaydı. Son olarak, kesitsel tasarım hastalık progresyonu veya tedavi sürecindeki MKBH popülasyonlarının boylamsal değişimlerinin değerlendirilmesini kısıtlamaktadır.

Hastalık evreleri ve hastalık modifiye edici tedaviler süresince MKBH alt gruplarının zamansal dinamiklerini netleştirmek ve polimorfonükleer MKBH'lerin insan otoimmün hastalığındaki fonksiyonel rolünü daha iyi tanımlamak için boylamsal örnekleme içeren ileriye yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, erken dönem multipl sklerozun fonksiyonel olarak baskılayıcı MKBH'lerin sistemik genişlemesi ile birlikte seyrettiği görülmektedir; bu durum, geleneksel klinik veya radyolojik ölçütlerde doğrudan yansımaya intrinsik bir immünregülatuar yanıtın varlığını desteklemektedir.

Teşekkür: Güneş Esendağlı'ya değerli mentorluğu ve bilimsel rehberliği için, ayrıca bu çalışmanın deneysel bileşenlerini destekleyen laboratuvar olanaklarına erişim sağladığı için teşekkür ederiz.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri yerel etik kurulu tarafından onaylanmıştır (GO2020/11-37).

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alındı.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlıdır.

Yazar Katkıları: Fikir- NPAÖ, AT; Tasarım- NPAÖ, HY; Denetleme- NPAÖ, HY; Kaynaklar- NPAÖ, AT; Malzemeler- NPAÖ, AT; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- NPAÖ, HY; Analiz ve/veya Yorum- NPAÖ, HY; Literatür Taraması- NPAÖ, HY; Yazıyı Yazan- NPAÖ, HY, AT; Eleştirel İnceleme- NPAÖ, HY, AT.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Türk MS Derneği - Geleceğimizin MS Projesi Ödülü tarafından desteklenmiştir. Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Makalenin bazı bölümlerinde dil düzenlemesi, dilbilgisi ve açıklık iyileştirmesi için üretken bir yapay zeka aracı (ChatGPT) kullanılmıştır. Veri analizi, yorumlama veya bilimsel içerik oluşturma için hiçbir yapay zeka aracı kullanılmamıştır. Tüm bilimsel sorumluluk yazarlara aittir.

KAYNAKLAR

- Liu R, Du S, Zhao L, Jain S, Sahay K, Rizvanov A, et al. Autoreactive lymphocytes in multiple sclerosis: Pathogenesis and treatment target. *Front Immunol.* 2022;13:996469. [\[Crossref\]](#)
- Veglia F, Perego M, Gabrilovich D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age. *Nat Immunol.* 2018;19:108-119. [\[Crossref\]](#)
- Lu J, Luo Y, Rao D, Wang T, Lei Z, Chen X, et al. Myeloid-derived suppressor cells in cancer: therapeutic targets to overcome tumor immune evasion. *Exp Hematol Oncol.* 2024;13:39. [\[Crossref\]](#)
- Wang K, Wang X, Sun N. Molecular mechanisms governing the differentiation

- and expansion of myeloid-derived suppressor cells. *Front Cell Dev Biol.* 2025;13. [\[Crossref\]](#)
5. Melero-Jerez C, Fernández-Gómez B, Lebrón-Galán R, Ortega M, Lara IS-D, Ojalvo AC, et al. Myeloid-derived suppressor cells support remyelination in a murine model of multiple sclerosis by promoting oligodendrocyte precursor cell survival, proliferation, and differentiation. *Glia.* 2020;69:905–924. [\[Crossref\]](#)
 6. Jiang Q, Duan J, Van Kaer L, Yang G. The role of myeloid-derived suppressor cells in multiple sclerosis and its animal model. *Aging Dis.* 2023;15:1329–1343. [\[Crossref\]](#)
 7. Zhang E, Algarni H, Zhang L, Chao C-J, He S, Upadhye A, et al. Nanoparticle-boosted myeloid-derived suppressor cell therapy for immune reprogramming in multiple sclerosis. *Sci Adv.* 2025;11. [\[Crossref\]](#)
 8. Zanghi A, Di Filippo PS, Avolio C, D'Amico E. Myeloid-derived suppressor cells and multiple sclerosis. *Curr Neuropharmacol.* 2024;23:36–57. [\[Crossref\]](#)
 9. Serrano-Regal MP, Camacho-Toledano C, Alonso-Garcia I, Ortega MC, Machin-Diaz I, Lebron-Galan R, et al. Circulating myeloid-derived suppressor cell load and disease severity are associated to an enhanced oligodendroglial production in a murine model of multiple sclerosis. *Neurobiol Dis.* 2025;210:106919. [\[Crossref\]](#)
 10. Camacho-Toledano C, Machin-Diaz I, Calahorra L, Cabanas-Cotillas M, Otaegui D, Castillo-Trivino T, et al. Peripheral myeloid-derived suppressor cells are good biomarkers of the efficacy of fingolimod in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2022;19:277. [\[Crossref\]](#)
 11. Xu D, Li C, Xu Y, Huang M, Cui D, Xie J. Myeloid-derived suppressor cell: a crucial player in autoimmune diseases. *Front Immunol.* 2022;13:1021612. [\[Crossref\]](#)
 12. Oktem A, Horzum U, Ertop P, Kundakci N, Akay BN, Yalcin B, et al. Clinical relevance of polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells in autoimmune-blistering disorders pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid. *J Invest Dermatol.* 2021;141:672–675.e1. [\[Crossref\]](#)
 13. Bronte V, Brandau S, Chen SH, Colombo MP, Frey AB, Greten TF, et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun.* 2016;7:12150. [\[Crossref\]](#)
 14. Horzum U, Yoyen-Ermis D, Taskiran EZ, Yilmaz KB, Hamaloglu E, Karakoc D, et al. CD66b (+) monocytes represent a proinflammatory myeloid subpopulation in cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2021;70:75–87. [\[Crossref\]](#)
 15. Tambari L, Belloni A, Pugnali A, Rippon MR, Olivieri F, Procopio AD, et al. The influence of myeloid-derived suppressor cell expansion in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *Cells.* 2024;13:643. [\[Crossref\]](#)
 16. Iacobaeus E, Douagi I, Jitschin R, Marcusson-Ståhl M, Andrén AT, Gavin C, et al. Phenotypic and functional alterations of myeloid-derived suppressor cells during the disease course of multiple sclerosis. *Immunol Cell Biol.* 2018;96:820–830. [\[Crossref\]](#)
 17. Moline-Velazquez V, Cuervo H, Vila-Del Sol V, Ortega MC, Clemente D, de Castro F. Myeloid-derived suppressor cells limit the inflammation by promoting T lymphocyte apoptosis in the spinal cord of a murine model of multiple sclerosis. *Brain Pathol.* 2011;21:678–691. [\[Crossref\]](#)
 18. Zhu B, Bando Y, Xiao S, Yang K, Anderson AC, Kuchroo VK, et al. CD11b+Ly-6C (hi) suppressive monocytes in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol.* 2007;179:5228–5237. [\[Crossref\]](#)
 19. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2009;9:162–174. [\[Crossref\]](#)
 20. D'Amico E, Zanghi A, Parrinello NL, Romano A, Palumbo GA, Chisari CG, et al. Immunological subsets characterization in newly diagnosed relapsing-remitting multiple sclerosis. *Front Immunol.* 2022;13:819136. [\[Crossref\]](#)
 21. Bruger AM, Dorhoi A, Esendagli G, Barczyk-Kahlert K, van der Bruggen P, Lipoldova M, et al. How to measure the immunosuppressive activity of MDSC assays, problems and potential solutions. *Cancer Immunol Immunother.* 2019;68:631–644. [\[Crossref\]](#)
 22. Gabrilovich DI. Myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Immunol Res.* 2017;5:3–8. [\[Crossref\]](#)
 23. Cantoni C, Cignarella F, Ghezzi L, Mikesell B, Bollman B, Berrien-Elliott MM, et al. Mir-223 regulates the number and function of myeloid-derived suppressor cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Acta Neuropathol.* 2017;133:61–77. [\[Crossref\]](#)