



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI**

**ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA SİTOM
YÖNTEMİ KULLANILARAK GENOM/DNA HASARININ
VE HASTALIK PATOGENEZİNDEKİ ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Funda KIRANATLIOĞLU FIRAT

KAYSERİ – 2019



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI**

**ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA SİTOM
YÖNTEMİ KULLANILARAK GENOM/DNA HASARININ
VE HASTALIK PATOGENEZİNDEKİ ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Funda KIRANATLIOĞLU FIRAT

**Danışman
Prof. Dr. Hüseyin DEMİR**

KAYSERİ – 2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bizlerden desteğini esirgemeyen sevgili hocamız ve Erciyes Üniversitesi Rektörümüz sayın Prof. Dr. Mustafa ÇALIŞ'a,

Tez danışmanım ve stajyer öğrenciyken FTR yazmayı düşünmeme sebep olan, hoşgörülü ve bizlere karşı güleryüzünü hiçbir zaman esirgemeyen sevgili hocam sayın Prof. Dr. Hüseyin DEMİR'e,

Uzmanlık eğitimimiz sırasında tecrübelerinden faydalandığımız, bizlere yol gösteren sevgili hocamız sayın Prof. Dr. Mehmet KIRNAP'a,

Tezimi hazırlarken her zaman destek veren, sürekli yardım etmeye çalışan, bilgilerinden faydalandığım, hep yanımda olan sevgili hocam Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ'a,

Tezimi hazırlamamda büyük yardımları dokunan ve hekimliğim adına severek örnek aldığım sevgili hocam Prof. Dr. Fahri BAYRAM'a,

Daha önce çalıştığım ve bilgilerinden epeyce faydalandığım Ahi Evran Üniversitesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı'ndaki hocalarım Prof. Dr. Hatice Rana ERDEM, Prof. Dr. Figen TUNCAY, Doç. Dr. Emine Eda KURT, Dr. Öğretim Üyesi Fatmanur Aybala KOÇAK ve Uzm. Dr. Senem ŞAŞ'a,

Bu tez çalışmam için beni yönlendiren ve onu örnek alarak FTR yazdığım sevgili ablam Uzm. Dr. Emine CÜCE'ye ve tezimi yazarken bilgilerinden faydalandığım eşi Öğr.Gör.Dr. İsa CÜCE'ye,

Severek beraber çalıştığım bütün çalışma arkadaşlarıma,

Bütün zorluklara rağmen her zaman azimli, sabırlı, güleryüzlü, hep destekçim, kelimelere sığdıramayacağım canım ANNEME,

Hasta yatağında bile bana büyük destek veren ve bugünlere gelmemde çok önemli yeri olan canım ANNEANNEME,

Her an beni destekleyip, mutlu olmam için sürekli çaba gösteren canım KARDEŐİME,

Çok kıymetli teyzeme, dayıma, kendi ailem kadar çok sevdiğim canım eşimin ailesine,

Güzel kalbiyle ve sabırlılığı ile benim her an yanımda olan, en büyük destekçim, hayat arkadaşım canım eşim SEDAT TARIK FIRAT'a; ve bu süreçte bana en büyük mutluluğı yaşatan, bana en güzel duyguları tattıran canım oğlum FURKAN ÇAĞAN FIRAT'a ,

En özel teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Funda KIRANATLIOĞLU FIRAT

Eylül 2019, KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SPONDİLOARTRİTLER.....	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	4
2.1.3. Genetik	5
2.1.4. Etiyoloji ve Patogenez.....	6
2.1.4.1. Spondiloartrit Patogenezinde HLA-B27	6
2.1.4.2. Spondiloartrit Patogenezinde Bağırsak Mikrobiyomu, Enfeksiyöz Ajanlar ve Diğer Mikropların Rolü.....	8
2.1.4.3. Spondiloartrit Patogenezinde İnflamasyon.....	9
2.1.4.3.1. İnflamasyon ve Yeni Kemik Oluşumu.....	10
2.1.5. Klinik Bulgular.....	10
2.1.5.1. Kas İskelet Sistemi Bulguları	11
2.1.5.2. Eklem Dışı Bulgular	11
2.1.6. Fizik Muayene Bulguları	13
2.1.7. Laboratuvar Bulguları	14
2.1.8. Görüntüleme.....	14
2.1.9. Sınıflama Kriterleri	17
2.1.10. Klinik Belirtilerin Değerlendirilmesi	19
2.1.11. Tanı ve Ayırıcı Tanı	20
2.1.12. Tedavi.....	21

2.1.12.1. İlaç Tedavisi	23
2.1.12.1.1. Semptom Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar	23
2.1.12.1.2. Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar (DMARD) ...	23
2.2. DNA hasarı.....	28
2.3. Sitokinez Bloke Mikronükleus (CBMN) Yöntemi	28
2.4. Oksidatif Stres	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Hasta Seçimi.....	33
3.3. CBMN-Cyt Yöntemi İçin Kan Örneklerin Toplanması ve Kültüre Edilmesi....	35
3.4. CBMN-cyt Yöntemi ile Hücreleri Tanımlama Kriterleri.....	36
3.4.1. BN Hücrelerdeki DNA hasarı (MN, NPB ve NBUD) için değerlendirme kriterleri;	36
3.4.2. Sitostatik etkiler için, Bir- (mono-nükleer), iki- (bi-nükleer), üç- (trinükleer) ve dört- (tetra-nükleer) çekirdekli hücrelerin sayılma kriterleri;	39
3.5. 8-OHdG Seviyelerinin Belirlenmesi	40
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	41
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	59
KAYNAKLAR	60
ONAY	76

KISALTMALAR

AAÜ	: Akut Anterior Üveit
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACA	: Anti Sentromer Antikor/ Anti Centromer Antibody
ACR	: Amerikan Romatoloji Koleji/American College of Rheumatology
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ANA	: Anti Nükleer Antikor
AOPP	: Gelişmiş Oksidasyon Protein Ürünleri/ Advanced Oxidation Protein Products/
AS	: Ankilozan Spondilit
ASAS	: Uluslararası Spondiloartrit Değerlendirme Derneği/Assessment of SpondyloArthritis International Society
ASDAS	: Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite Skoru/Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score
ASQoL	: Ankilozan Spondilit Yaşam Kalitesi/Ankylosing Spondylitis Quality of Life
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AxSpA	: Aksiyel SpA
BASDAI	: Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi/Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
BASFI	: Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi/Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index
BASMI	: Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi/Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index
BAS-G	: Bath Ankilozan Spondilit Global Skoru
BASRI	: Bath Ankilozan Spondilit Radyoloji İndeksi/Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index
bDMARD	: Biyolojik Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaç/Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drug
BH	: Behçet Hastalığı
BN	: Binükleer Hücre
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CBMN	: Sitokinez Bloke Mikronükleus/ Cytokinez Bloke Micronucleus

CBMN-cyt	: Sitokinez Bloke Mikronükleus sitom/ Cytokinez Bloke Micronucleus cytome
CH	: Crohn Hastalığı
CRP	: C-Reaktif Protein
CTX I	: C Terminal Telopektit Tip I
Cyt-B	: Sitokalazin-B
CAA	: Çeyrekler Arası Aralık
DAS	: Hastalık Aktivite Skoru/Disease Activity Score
DFI	: Dougados Fonksiyonel İndeksi/Dougados Functional Index
Dkk-1	: Dickkopf-1
DMARD	: Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaç/Disease-Modifying Antirheumatic Drug
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DXA	: Dual X-Ray Absorbsiyometri
EDB	: Eklem Dışı Belirtiler
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü/Epidermal Growth Factor
ELISA	: Enzime Bağlı İmmünosorban Yöntemi /Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EMA	: Avrupa İlaç Kurumu/European Medicines Agency
ERAP1	: Endoplazmik Retikulum Aminopeptidaz 1
ESH	: Eritrosit Sedimantasyon Hızı
ESSG	: Avrupa Spondiloartropati Çalışma Grubu/European Spondylarthropathy Study Group
EULAR	: Avrupa Romatizma Birliği/European League Against Rheumatism
FMF	: Ailesel Akdeniz Ateşi/ Familial Mediterranean Fever
FSpA	: Farklılaşmamış SpA
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni/Human Leukocyte Antigen
HUMN	: Human Micronükleus
IFN	: İnterferon
IFNAR	: İnterferon- α/β Reseptörü
Ig	: İmmunoglobulin
IL	: İnterlökin
ILAR	: International League Against Rheumatism/ Uluslararası Romatizma Karşıt Birliği
İBA	: İnflamatuvar Bel Ağrısı

İBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
İBHA	: İBH ile İlişkili Artrit
KA:CA	: Kromozom Aberasyon
KIR3DL2	: Killer-Cell İmmunoglobulin-Like Receptors
KKD	: Kardeş Kromatid Değişimi/ Sister Chromatid Exchange
KMY	: Kemik Mineral Yoğunluğu
MDA	: Malondialdehit
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MN	: Mikronükleus
mNY	: Modifiye New York
MPO	: Myeloperoksidaz
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mSASSS	: Modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
MTX	: Metotreksat
NBI	: Nükleer Bölünme İndeksi/ Nuclear Division Index
NBUD	: Nükleer Tomurcuk/ Nuclear Buds
NPB	: Nükleoplazmik Köprü/ Nucleoplasmic Bridges
NFκB	: Nükleer Faktör Kappa B
NK	: Natural Killer
nr-axSpA	: Non-Radyografik Aksiyel Spondiloartrit
NSAİİ	: Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaç
OKS	: Oral Kontraseptif
OPD	: Oksidatif Protein Hasarı
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
PRDX2	: Peroksiredoksin 2
PsA:	Psöriyatik Artrit
PsSpA	: Psöriyatik Spondiloartrit
RA	: Romatoid Artrit
RANK	: Receptor Activator Of Nuclear Factor Kappa-B
ReA	: Reaktif Artrit
ReSpA	: Reaktif Spondiloartrit
RF	: Romatoid Faktör
RFn	: Raynaud Fenomeni
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri

SAA	: Serum Amiloid A
SAPHO	: Sinovit, Akne, Püstüloz, Hiperostoz ve Osteit Sendromu
SİE	: Sakroiliak Eklem
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SpA	: Spondiloartrit/ Spondiloartropati
SpAİBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ile İlişkili Spondiloartrit
SPARTAN	: Spondyloarthritis Research and Treatment Network
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
SSc	: Sistemik Skleroz
SSZ	: Sülfasalazin
STIR	: Short Tau İnversion Recovery
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
TCR	: T Hücre Reseptörü
TGF-β	: Transforming Growth Factor-Beta
Th	: T helper
TLR	: Toll-Like Reseptör
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TRASD	: Türkiye Romatizma Araştırma ve Savaş Derneği
TRX	: Tioredoksinin
T-SH	: Tiyol
ÜK	: Ülseratif Kolit
UPR	: Katlanmamış Protein Tepkisi/ Unfolded Protein Response
USG	: Ultrasonografi
VAS	: Vizüel Analog Skala
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
Wnt	: Wingless
8-OHdG	: 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin
8-oksodG	: 8-okso-7,8-dihidro-2-deoksiguanozin

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Modifiye New York Kriterleri	4
Tablo 2.2. Sakroileitin New York Ölçütlerine Göre Derecelendirilmesi	15
Tablo 2.3. ASAS Aksiyal SpA Kriterleri	18
Tablo 2.4. ASAS Periferik SpA Kriterleri.....	19
Tablo 2.5. ASAS İBA Kriterleri.....	19
Tablo 2.6. Ankilozan Spondilite Özgü Değerlendirme Yöntemleri.....	20
Tablo 2.7. Sakroiliit Yapan Nedenler	21
Tablo 2.8. ASAS/EULAR Aksiyel SpA Tedavi Önerileri	22
Tablo 2.9. ASAS EULAR AxSpA'lı Hastalarda bDMARD Tedavisi Önerileri	24
Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Kişilerin Demografik Özellikleri	44
Tablo 4.2. Hasta ve Kontrol Kişilerin Bazal Değerleri	44
Tablo 4.3. Hasta ve Kontrol Kişilere Ait CBMN-Cyt Yöntemi Parametreleri ve Oksidatif DNA Hasarı Sonuçları.....	45
Tablo 4.4. HLA-B27 (+) ve HLA-B27 (-) Hasta Kişilere Ait CBMN-Cyt Yöntemi Parametreleri ve Oksidatif DNA Hasarı Sonuçları	46
Tablo 4.5. Hasta Kişilerde Parametreler Arasındaki Korelasyon.....	47
Tablo 4.6. Kontrol Kişilerde Parametreler Arasındaki Korelasyon	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Spondiloartrit Spektrumu	4
Şekil 2.2.	AS'de HLA-B27'nin Rolünü Açıklayan Hipotezlere Genel Bakış	8
Şekil 2.3.	AS Tedavi Önerileri	21
Şekil 2.4.	ASAS/EULAR'ın bDMARD'ların Devamı İçin Önerileri	26
Şekil 2.5.	AxSpA Yönetiminde 2016 ASAS/EULAR Önerileri.....	27
Şekil 2.6.	Çeşitli Sitotoksik ve Genotoksik Ajanlara Maruz Kaldıktan Sonra, Kültüre Edilmiş Sitokinez-Bloke Hücrelerdeki Genom Hasarı ve Hücre Ölümü (114)	30
Şekil 2.7.	DNA'daki Oksidatif Hasarın Belirteci Olarak 8-OHdG Oluşumu (128).....	32
Şekil 3.1.	BN Hücre İçindeki MN'lerin Morfolojik Görüntüleri. (a) MN'lerin çapı ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında olabilir; (b) BN hücreye temas eden ve üst üste binmemiş MN'ler; (c) İki MN içeren birbirine NPB ile bağlı BN hücre; (d) Farklı boyutlarda altı MN içeren BN hücre (123)...	37
Şekil 3.2.	BN Hücre İçindeki NPB'nin Morfolojik Görüntüleri. (a) İdeal BN hücre; (b) Çekirdekleri birbirine değen BN hücre; (c) Dar bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre; (d) Geniş bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre (123).	38
Şekil 3.3.	BN Hücre İçindeki NBUD'lerin Morfolojik Görüntüleri (123).....	39
Şekil 3.4.	Bir ve Çok (Üç ve Dört) Çekirdekli Hücrelerin Morfolojik Görüntüleri (123).	40
Şekil 3.5.	Standart Eğri.....	41
Şekil 4.1.	Çalışma Akış Şeması.....	43

**ANKILOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA SİTOM YÖNTEMİ
KULLANILARAK GENOM/DNA HASARININ VE HASTALIK
PATOGENEZİNDEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Giriş-Amaç: Ankilozan spondilit (AS) inflamasyon ve yeni kemik oluşumu ile karakterize, spondiloartropati (SpA) grubu hastalıkların prototipidir. Son yıllarda, AS patogenezinde rol oynayan genetik ve immün sistem yollarının belirlenmesinde yeni gelişmeler meydana gelmiştir. Diğer kronik inflamatuvar hastalıklarda kromozomal DNA hasarı ve oksidatif DNA hasarı parametrelerinin inflamasyon yolağı üzerindeki etkileri araştırılmış ve artmış DNA ve kromozom hasarının bu hastalıkların patogenezi üzerinde etkili olabileceğı düşünölmüştür. Bu nedenle çalışmamızda, AS'li hastalarda sitom yöntemi kullanılarak genom /DNA hasarının ve hastalık patogenezindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya AS tanısı konulan 25 hasta ve yaş-cinsiyet olarak eşleştirilmiş 25 sağlıklı kontrol alındı. Tam kan sayımı (CBC), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri ölçöldü. Hastaların ayrıca Human Lökosit Antijen (HLA)-B27 gen analizine bakıldı. Hastalık aktivitesi için BASDAI (Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi) hesaplandı. Standart bir olgu bildirim ve mikronökleus (MN) bilgi formu dolduruldu. Her bir katılımcı için, 1000 binökleer (BN) hücre sayıldı. DNA hasarını belirlemek üzere MN'li, nükleer tomurcuklu (NBUD) ve nükleoplazmik köprölü (NPB) BN hücre frekansları (%) kaydedildi. Hücre çoğalmasını belirlemek üzere de BN, multi nükleer hücreler skorlandı ve metafaz sayısı (%), BN'li hücre frekansı (%), nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerleri hesaplandı. Hasta ve kontrollerin plazma örneklerinde de ELISA kiti kullanılarak 8-OHdG (ng /mL) ölçümü yapıldı.

Bulgular: AS hastalarında MN frekansı, NPB'li, NBUD'li hücre frekansları ve 8-OHdG seviyeleri kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek iken, metafaz sayısı, BN hücre frekansı, NBİ değerleri ise kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Hastalar, HLA-B27 pozitifliğı ve negatifliğı ya da AS açısından aile öyküsü pozitifliğı veya negatifliğı açısından iki gruba ayrılarak karşılaştırıldığında;

DNA ve kromozom hasarı ile ilişkili incelenen parametrelerin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Ayrıca DNA ve kromozom hasarı ile ilişkili parametreler açısından incelendiğinde; sadece kontrol grubunda yaş ile 8-OHdG seviyeleri arasında negatif korelasyon vardı.

Sonuç: Bu çalışma, AS hastalarında MN'li, NPB'li ve NBUD'li BN hücre frekanslarının ve 8-OHdG seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı arttığı buna karşın metafaz sayılarının, BN hücre frekansının ve NBİ oranlarının kontrol grubuna göre anlamlı azaldığını göstermiştir. Bu sonuç, diğer kronik inflamatuvar hastalıklar ile benzer şekilde, AS hastalığının patogenezinde de genotoksisitenin ve oksidatif DNA hasarının etkili olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan; karsinogenezin erken dönemlerinde görülebilen MN, NPB ve NBUD'li BN hücre frekanslarındaki anormal değişiklikler, AS hastalarının erken dönem kanser riskini yansıtması açısından anlamlı olabilir. Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız AS'de Sitokinez Bloke MN sitom (CBMN-cyt) parametrelerini ve 8-OHdG seviyelerini araştıran ilk çalışmadır ve sonuçlarının daha kapsamlı çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Ankilozan spondilit, mikronukleus, 8-OHdG, DNA hasarı, kanser

**INVESTIGATION OF GENOM / DNA INJURY AND THE ROLE IN
PATHOGENESIS OF DISEASE IN PATIENTS WITH ANKYLOSING
SPONDYLITIS USING CYTOMA METHOD**

ABSTRACT

Introduction-Aim: Ankylosing spondylitis (AS) is characterized by inflammation and new bone formation; spondyloarthropathy (SpA) is the prototype of the group of diseases. In recent years, new advances have been made in identifying genetic and immune pathways involved in the pathogenesis of AS. The effects of chromosomal DNA damage and oxidative DNA damage parameters on inflammation pathway in other chronic inflammatory diseases were investigated and it was thought that increased DNA and chromosomal damage might have an effect on the pathogenesis of these diseases. Therefore, the aim of this study was to investigate genome /DNA damage and its role in pathogenesis of cytome method in patients with AS.

Materials and Methods: Twenty-five patients diagnosed with AS and 25 age-sex matched healthy controls were included in this study. Complete blood count (CBC), erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) levels were measured. Human leukocyte antigen (HLA)-B27 gene analysis was also worked. BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index) was calculated for disease activity. A standard case report and micronucleus (MN) information form was completed. For each participant, 1000 binuclear (BN) cells were counted. BN cell frequencies (%) with MN, nuclear bud (NBUD) and nucleoplasmic bridge (NPB) were recorded to determine DNA damage. In order to determine cell proliferation, BN, multi nuclear cells were scored and metaphase number (‰), cell frequency with BN (%), nuclear division index (NBI) values were calculated. Plasma samples of patients and controls were also measured with 8-OHdG (ng/mL) using ELISA kit.

Results: While MN frequency, NPB, NBUD, and 8-OHdG levels were significantly higher in AS patients compared to controls, the number of metaphase, BN cell frequency and NBI values were found to be significantly lower than controls. Patients were divided into two groups according to HLA-B27 positivity and negativity or AS family history positivity or negativity; no statistically significant difference was found

in any of the parameters related to DNA and chromosome damage. In addition, when DNA and chromosome damage parameters are examined; there was a negative correlation between age and 8-OHdG levels only in the control group.

Conclusion: This study demonstrated that BN cell frequencies and 8-OHdG levels with MN, NPB and NBUD were significantly increased in AS patients compared to the control group, whereas metaphase numbers, BN cell frequency and NBI ratios were significantly decreased compared to the control group. This result suggests that genotoxicity and oxidative DNA damage may be effective in the pathogenesis of AS, similar to other chronic inflammatory diseases. On the other hand; abnormal changes in BN cell frequencies with MN, NPB and NBUD, which can be seen in early stages of carcinogenesis, may be significant in terms of reflecting early cancer risk in AS patients. To our knowledge, this is the first study to investigate Cytokinesis Blocked MN cytoma (CBMN-cyt) parameters and 8-OHdG levels in AS, and the results need to be supported by more comprehensive studies.

Key words: Ankylosing spondylitis, micronucleus, 8-OHdG, DNA damage, cancer

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ankilozan spondilit (AS), aksiyel iskeleti etkileyerek yapısal ve fonksiyonel bozukluklara yol açan inflamatuvar bel ağrısı ile karakterize yaygın inflamatuvar romatizmal bir hastalıktır. AS, spondiloartropati (SpA) veya spondiloartrit terimi altında gruplanan ortak klinik, patolojik ve genetik özelliklere sahip bir grup hastalığın prototipidir. Sakroiliit ve spinal inflamasyonun yanısıra asimetrik periferik oligoartrit, entezit ve spesifik organ tutulumu bu hastalıkların klinik tipik özellikleridir (1).

Ankilozan spondilit patogenezi multifaktöriyeldir ve tam olarak anlaşılammıştır. Ancak son yıllarda, AS etyopatogenezinde yer alan yeni genetik ve immün sistem yollarının belirlenmesinde kayda değer ilerlemeler yaşanmıştır. Bu gelişmelerden en önemlisi AS ile genetik ilişkilerini destekleyen fonksiyonel mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmasa da, IL-23 /17A yolunu etkileyen genetik faktörlerin AS' ye yatkınlık oluşturduğunun gösterilmesi olmuştur (2, 3).

Daha önceki çalışmalarda kronik inflamatuvar hastalıklardan olan Romatoid Artrit (RA), Behçet, Ailevi Akdeniz Ateşi (Familian Mediterrian Fever-FMF), Sistemik skleroz (SSc), Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) gibi hastalıkların patogenezinde kromozomal DNA hasarı parametreleri, özellikle mikronükleus (MN) frekansı araştırılmış ve kontrol gruplarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu nedenle kromozomal DNA hasarının kronik inflamatuvar hastalıkların genetik ve immün sistem etkileşiminde rol oynayan faktörlerden biri olabileceği düşünülmüştür (4-8).

Ayrıca kronik inflamatuvar hastalıkları olan bireylerden elde edilen serum, periferik lökositler veya tümör dokularında oksidatif hasar ölçümü yapılmıştır. Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen türevleri (ROS) aşırı üretilirse veya antioksidan sistemler tarafından yetersiz şekilde uzaklaştırılırsa dejeneratif, neoplastik, immün ya da inflamatuvar bozuklukların dahil olduğu hücresel DNA, protein ve lipitlerde oksidatif hasar meydana gelir (9, 10). Protein oksidasyonunda; inflamatuvar sinyal moleküllerinin çok büyük bir kısmı ve peroksiredoksin 2 (PRDX2) inflamatuvar sinyal olarak kabul edilmiştir. İnflamatuvar uyarıcılar, her yerde bulunan bir redoks aktif hücre içi enzimi olan PRDX2'nin salınımını uyarır. Salınımından sonra redoks bağımlı bir inflamatuvar aracı olarak görev yapar ve TNF- α üretmek ve salgılamak için makrofajları aktive eder. Çalışmalarda, makrofajlardan gelen PRDX2 ve tioredoksinin (TRX), hücre yüzeyi reseptörlerinin redoks durumunu değiştirebildiği ve inflamatuvar yanıtın indüklenmesine izin verdiği böylece kronik inflamatuvar hastalıklarda potansiyel yeni bir terapötik hedef sağladığı sonucuna varılmıştır (11). Buna ek olarak endoplazmik retikulumda (ER) katlanmamış protein tepkisinin oksidatif strese bağlı ER stresi ile ortaya çıktığı ve inflamasyon patofizyolojisinde önemli olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (12, 13). 8-OHdG de serbest radikal kaynaklı oksidatif lezyonların baskın formlarından biridir ve bu nedenle oksidatif stres için bir biyobelirteç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Çalışmalar 8-OHdG'nin çeşitli kanserlerin, dejeneratif ve inflamatuvar hastalıkların risk değerlendirmesi için iyi bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir (14).

Sitokinez Bloke Mikronükleus Sitom (CBMN-cyt) yöntemi de kromozom/DNA hasarı, sitostazi ve sitotoksisite ölçümüne olanak veren detaylı bir yöntemdir. Literatürde, bildiğimiz kadarıyla, kromozomal ve oksidatif DNA hasarının AS patogenezi ve hastalık şiddetine etkisi ile ilişkisini araştıran kapsamlı bir çalışmaya rastlamadık. Bu nedenle, çalışmamızda AS'de genom/DNA hasarı parametrelerinin patogenez üzerindeki etkilerini, CBMN sitom yöntemi ve 8-OHdG'yi kullanarak değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SPONDİLOARTRİTLER

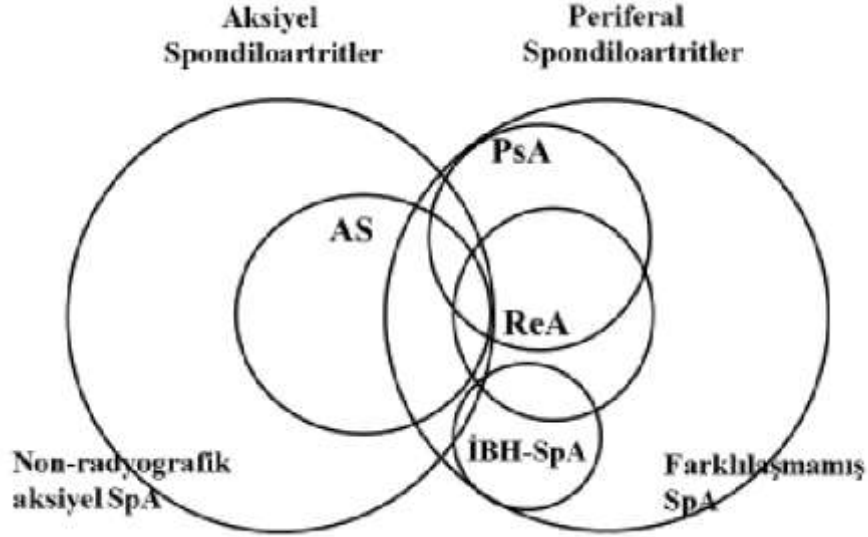
2.1.1. Tanımı

Spondiloartropatiler ya da yeni terimiyle spondiloartritler (SpA); ortak genetik yatkınlığa ilaveten benzer klinik ve radyolojik özellikler gösteren birbiriyle ilişkili heterojen bir grup kronik otoimmün hastalığı ifade etmektedir (15, 16). Ankilozan spondilit (AS) ve ilgili spondiloartritler, IL-23 ve IL-17 ile yönlendirilen sinyalleme, entezit ve yeni kemik oluşumunu içeren inflamasyon dahil, ortak genetik ve klinik özellikleri paylaşan bir grup hastalıktır (17). SpA kavramı içinde yer alan hastalıklar prototipi AS olmak üzere, psöriyatik spondiloartrit (PsSpA), reaktif spondiloartrit (ReSpA), inflamatuvar bağırsak hastalıkları ile ilişkili spondiloartrit (SpAİBH) ve farklılaşmamış (andiferansiye) spondiloartritlerdir (Şekil 2.1) (18, 19). Diğer bir sınıflandırma SpA alt gruplarının yerine baskın olan semptomlar veya belirtilere göre yapılır. Buna göre sakroiliak eklemlerde ve/veya omurgadaki inflamasyonun baskın olduğu 'aksiyel ağırlıklı SpA' ve periferik artrit, entezit ve daktilit gibi periferik belirtilerin ön planda olduğu 'periferik ağırlıklı SpA' olarak sınıflandırılır. (20).

AS; aksiyel SpA spektrumu içinde en sık görülen, etyolojisi bilinmeyen, immun-aracılı inflamatuvar romatizmal hastalıkların prototipidir. Hastalığın seyri sırasında hastaların %90'ında radyografik sakroiliit görülür (21). Radyografik sakroiliit modifiye New York (mNY) kriterlerinin bir parçasıdır ve kesin AS tanısı için bulunması gerekmektedir (Tablo 2.1) (22).

Tablo 2.1. Modifiye New York Kriterleri

1)	En az 3 aydır olan, egzersizle düzelip istirahat ile azalmayan bel ağrısı
2)	Lomber omurganın sagittal ve frontal düzlemlerde hareket kısıtlılığı
3)	Göğüs ekspansiyonunun yaş ve cinsiyete göre normal değerlerin altında olması
4)	a. Bilateral grade 2-4 sakroiliit b. Unilateral grade 3-4 sakroiliit
(4a veya 4b) ve Herhangi bir klinik kriter varsa kesin Ankilozan Spondilit	



Şekil 2.1 Spondiloartrit Spektrumu

PsA: Psöriatik Artrit, ReA: Reaktif Artrit, İBH-SpA: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı İlişkili Spondiloartrit. (23)'den değiştirilerek adapte edilmiştir.

2.1.2. Epidemiyoloji

AS'nin global prevalansının %0.1 ile %1.4 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar dünya genelinde AS prevalansının HLA-B27 dağılımının genel yansıması olduğunu göstermiştir (24). AS ve tüm SpA grubu hastalıkların prevalansı toplumdaki HLA-B27 sıklığı ile ilişkilidir. Bu nedenle SpA prevalansında belirgin coğrafik farklılıklar görülebilmektedir. HLA-B27 sıklığı kuzey ülkelerinde

daha yüksektir ve Haida yerlilerinde HLA-B27 prevalansı %50 ve AS prevalansı yaklaşık %6'dır (25, 26). Batı Avrupa ülkelerinde HLA-B27 prevalansı %4-13 arasında değişiklik gösterirken, Kuzey İskandinav ülkelerinde HLA-B27 prevalansı %15-25'tir. HLA-B27 Arap toplumlarında (%2-5) ve Japonya'da (%1) nadir görülmektedir (27). AS, erkeklerde kadınlara göre 2-3 kat daha sık görülürken, nonradyografik aksiyel SpA (nr-axSpA)'lı hastalarda cinsiyet dağılımı benzerdir (28).

2.1.3. Genetik

AS, 6. kromozomda yer alan "majör histocompatibility complex" (MHC) sınıf I'in bir alleli olan HLA-B27 ile kuvvetli ilişki gösteren poligenik bir hastalıktır. AS prevalansı bazı genetik ve henüz tanımlanmamış çevresel faktörlere göre değişmektedir. En olası kalıtım şekli, lokuslar arasında çoğullayıcı etkileşim ile poligeniktir (29). AS, büyük bir kalıtsal bileşenle ilişkilidir; HLA-B27'nin varlığı, kalıtsal varyasyonun yaklaşık %30'unu oluştururken, endoplazmik retikulum aminopeptidaz-1 (ERAP-1), IL-23R, IL-12B ve Th17 yanıtlarına bağlı diğer genler daha az rol oynar (>100 lokus geniş genetik analizlerde AS'ye bağlanmıştır) (30).

HLA-B27'nin coğrafi dağılımına bağlı olarak prevalansı %0,2-0,3 civarındadır (31). HLA-B27, 1973'teki keşfinden beri hastalık etyopatogenezine bağlı ana genetik faktördür (32). Bununla birlikte, tanımlanmış AS'li hastaların yaklaşık %10-20'si HLA-B27 taşımamakta, bu da nr-axSpA incelenmesinde %40'a çıkmaktadır. HLA-B27 ve erken axSpA'da yapısal progresyon dahil olmak üzere aksiyel bulgular arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu durum, daha genç başlangıç yaşı, daha fazla aile öyküsü (33, 34) ve daha az psöriazis, inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) ile ilişkili bulunmuştur (33).

Genetik çalışmalar, HLA-B27'nin MHC'deki lokusun AS kalıtılabilirliğinin %20.1'sine katkıda bulunduğunu ve %4.3'ünün HLA-B dışındaki lokuslarla ilişkili olduğunu göstermiştir (35). HLA-B27:01'den HLA-B27:106'ya kadar adlandırılan ve 132 alel ile kodlanan 105 kadar alt tipte yüksek bir genetik polimorfizm derecesine sahiptir.

İkiz çalışmaları AS'de kalıtımın %90'dan fazla rol oynadığını düşündürmektedir (43). AS'li bir hastanın kardeşinde hastalık görülme riski %8.2 iken genel populasyonda risk %0.1'dir (29). Yapılan bir çalışma, yayınlanmış verilere dayanarak, axSpA hastalarının

aile bireylerinde hastalık riskinin, monozigotik ikizlerde %63, birinci derece akrabalarda %8, ikinci derece akrabalarda %1 ve üçüncü derece akrabalarda %0.7 olarak belirlemiştir (29). İzlanda'da yapılan bir çalışmada, AS'li hastaların birinci, ikinci ve üçüncü derece akrabaları için nispi risk taşıyan AS geliştirmesi açısından değerlendirilmesinde sırasıyla %75.5, %20.2 ve %3.5 olmak üzere önemli ölçüde artmış bir risk gösterdiği görülmüştür (36). Bu durum hastalık gelişme riskinin büyük ölçüde genetik olarak belirlendiğini düşündürür.

2.1.4. Etiyoloji ve Patogenez

Spondiloartropatiler genetik olarak yatkın kişilerde çevresel faktörlerin tetiklemesiyle oluşan multifaktöriyel hastalıklardır. İnflamasyonun moleküler ve hücrel mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. HLA-B27'nin hastalığa yatkınlıkta direkt bir rolü olduğu bilinmesine rağmen, alta yatan moleküler temel hala bilinmemektedir (37, 38).

2.1.4.1. Spondiloartrit Patogenezinde HLA-B27

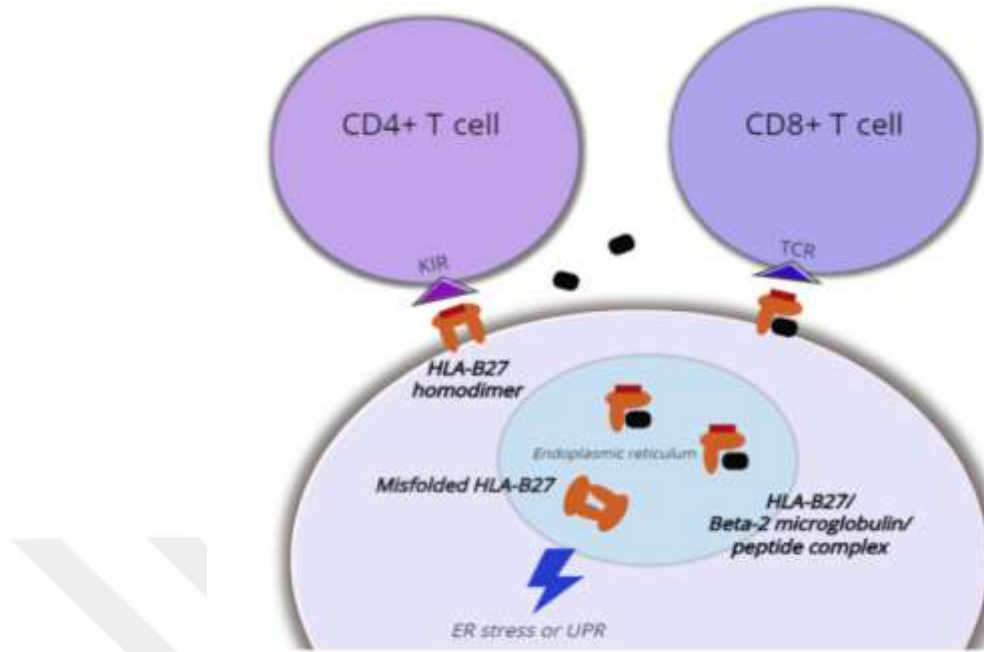
HLA-B27'nin AS'nin patogenezindeki rolünü açıklayan çeşitli teoriler öne sürülmüştür. En önemli 3 teori artritogenik peptid hipotezi, ağır zincir homodimer hipotezi ve HLA-B27 misfolding (yanlış katlanma) hipotezidir (Şekil 2.2).

Artritogenik peptid hipotezi, HLA-B27 tarafından sunulabilecek self peptitlere çok benzeyen belirli mikrobiyal peptitlerin bulunduğunu ileri sürer. Moleküler taklit nedeniyle, HLA-B27-peptid komplekslerine karşı CD8+ T lenfositlerinin reaktivitesi, otoreaktiviteye ve daha sonra, artrit ve spondilit dahil otoimmün hastalığa yol açacaktır. HLA-B27'nin peptid bağlanma motifi kapsamlı bir şekilde araştırılmış olmasına rağmen, artritogenik peptitler henüz keşfedilmemiştir (39). Ayrıca, SpA'nın HLA-B27 transjenik sıçan modelinde; HLA-B27'nin klasik T hücrelerini tanıması birincil öneme sahiptir ve bu ihtimali zorlaştıran herhangi bir fonksiyonel CD8+ T hücresi yokluğunda da hastalık gelişebilir (40).

HLA-B27'nin AS ile ilişkisini açıklayan ikinci bir model, HLA-B27 ağır zincirlerinin beta-2 mikroglobülinsiz homodimerler oluşturabildiği gözlemine dayanmaktadır. Bu HLA-B27 homodimerlerinin, peptide bağlı dizisinden bağımsız olarak lökosit

reseptörlerini bağlayabildiği gösterilmiştir (41). Dahası, peptide bağlı HLA-B27 homodimer komplekslerinin, KIR3DL2+ CD4+ T hücrelerinin proliferasyonunu ve bu hücreler tarafından ex-vivo olarak IL-17 üretimini arttırarak hayatta kalmayı (survival) arttırdığı gösterilmiştir (42). IL-4 üreten CD4+ T hücrelerinin, uzun süredir devam eden hastalıkta, CD4+ T hücrelerinin önemli bir yüzdesini oluşturduğu bildirilmiştir, ancak yeni başlangıçlı axSpA'da tespit edilmesi güç olmuştur (43).

HLA-B27'nin AS ile ilişkisini açıklayan üçüncü hipotez olan yanlış katlanma (misfolding) hipotezi, HLA-B27'nin protein yanlış katlanması nedeniyle hücrenin yüzeyine ulaşamadığından hastalığın oluşmasına katkı sağladığını belirtmektedir. Düzgün bir şekilde bir araya getirilmiş HLA-B27 kuarterner bir yapıya sahiptir ve 3 farklı bileşen olan; 1 HLA-B27 ağır zincir, beta-2-mikroglobulin ve bir peptit içerir. Bu düzenlemeyi yapan hücrenin endoplazmik retikulumu (ER)'dur. HLA-B27'nin katlanma işlemi diğer HLA allellerinden daha yavaş olduğu için, yanlış katlanmış HLA-B27 proteinlerinin ER'de biriktiği düşünülmektedir. Bu yanlış katlanma işlemi, otofaji veya IL-23/IL-17 yolunu da aktive edebilen ER katlanmamış protein tepkisi (UPR) olarak adlandırılan normal olarak HLA-B27 moleküllerine bağlanan peptitleri kırpmaya yarayan ve bu nedenle hücrenin yüzeyine çıkışını kolaylaştıran işlevsiz ERAP-1'e bağlı olarak uygunsuz HLA-B27 katlanmasının ya da değişiminin hücresel strese neden olmasının sonucudur (30, 43). Çalışmalarda UPR, ER homeostazını iyileştirmek ve korumak amacıyla, ER transmembran transdüserleri boyunca birçok yolu tetikleyen ve uyaran bir sinyalleşme yoludur. Artan sayıda çalışma, oksidatif stresin ER stresine güçlü bir bağlantısı olduğu görüşünü desteklemektedir. Protein katlanma işlemi sırasında, reaktif oksijen türleri yan ürünler olarak üretilir ve bu da oksidatif stres denilen oksidan-antioksidan dengenin oksidan yöne bozulmasına (redoks) yol açar. Protein katlanma işlemi redoks homeostazına bağlı olduğundan, oksidatif stres protein katlanma mekanizmasını bozabilir ve yanlış katlanmış proteinlerin üretimini artırabilir ve daha fazla ER stresine neden olabilir. Endoplazmik retikulum stresi ve oksidatif stresin hepatit, pankreatit ve İBH gibi inflamatuvar bozukluklardaki rolü üzerine çalışmalar yoğun olarak yapılmıştır ve inflamatuvar patofizyolojide önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (12, 13).



Şekil 2.2. AS'de HLA-B27'nin Rolünü Açıklayan Hipotezlere Genel Bakış

- A. Artritogenik peptid hipotezi: Geleneksel HLA-B27/beta-2 mikroglobulin komplekslerine bağlı patojen veya self-derived peptidler, T hücre reseptörü (TCR) aracılığıyla otoreaktif CD8+ T hücreleri tarafından kabul edilir.
- B. Hücre yüzeyi HLA-B27 serbest ağır zincir homodimer ekspresyon hipotezi: HLA-B27 homodimerler, disfonksiyonel HLA-B27 homodimerlerini içeren serbest ağır zincirler hücre yüzeyinde eksprese edilir ve katil immünoglobulin benzeri reseptörleri (KIR) ve/veya lökosit immünoglobulin benzeri reseptörleri taşıyan CD4+ T veya NK gibi hücreleri aktive eder.
- C. Yanlış katlanmış HLA-B27 hipotezi: HLA-B27'nin ER'de yanlış katlanması, hücresel fonksiyonda aşağı yönde etkileri olan katlanmamış protein tepkisine veya başka hücresel stres veya otofajiye neden olur. (Örneğin; aşırı IL-23 salımı).

2.1.4.2. Spondiloartrit Patogenezinde Bağırsak Mikrobiyomu, Enfeksiyöz Ajanlar ve Diğer Mikropların Rolü

SpA grubu hastalıklar içerisinde yer alan İBH ilişkili artrit patogenezinde bağırsak mikrobiyomunun etkili olabileceği düşünülmektedir. Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn

(CH) kolitini içeren İBH, “disbiyozis” olarak adlandırılan değişen bağırsak mikrobiyotası ile kesişebilen farklı inflamatuvar yollarla ilişkili olan bir hastalık kategorisidir. Özellikle, İBH ve SpA arasında belirgin bir overlap (çakışma) vardır (44). Uzun dönem takipler, SpA hastalarının %6.5'inin 5 yıl içinde klinik olarak İBH geliştirdiğini göstermiştir.

İBH ve SpA arasındaki bağlantıların ötesinde, çok sayıda çalışma, bakterileri SpA patogenezi ile nedensel olarak ilişkili olarak gösterir. Tüm SpA'lardan, ReA'da bakterilerin rolü en açık şekilde tanımlanmıştır (45). SpA'da bağırsak ve eklem arasındaki ilişkinin en açık göstergesi, ReA'nın Salmonella, Shigella, Yersinia ve Campylobacteri de içeren daha önceki gastrointestinal enfeksiyonlarla tetiklenmesidir. Ayrıca, ReA'lı hastaların %20 kadarı 10 ila 20 yıl içinde AS geliştirir (46).

2.1.4.3. Spondiloartrit Patogenezinde İnflamasyon

AS'de inflamasyonun en sık görüldüğü yerler; SİE'ler, entez bölgeleri, intervertebral disklere komşu vertebra gövdeleri, periferik eklem sinoviyumu, gastrointestinal sistem ve gözdür. Erken sakroiliitte sinovit ve miksoid görünümlü kemik iliği görülürken daha sonraları pannus ve granülasyon dokusu oluşur. T hücreleri (CD4>CD8) ve CD68+ makrofajlara çoğalmakta olan fibroblastlar ve neovaskularizasyon eşlik eder. SİE'lerden alınan biyopsilerde tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve transforming growth factor- β (TGF- β) mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (47, 48).

Spondiloartritli hastalardaki periferik sinovit diğer inflamatuvar artritlerdekine benzer özellikler göstermektedir. Adezyon molekülleri ve kemotaktik faktörlerin aşırı üretiminin yanı sıra artmış vaskularizasyon ve endotelial hücre aktivasyonu görülmektedir (49). Dokuda CD8+ T hücrelerinden daha çok olan CD4+ T hücreleri, natural killer (NK) hücreleri, B lenfositler ve CD68+ makrofajlar bulunur (50).

Spondiloartritlerin en önemli özelliklerinden biri olan entezitlerde alttaki kemik iliği infiltrasyonu ile birlikte hiperosteoklastik, inflamatuvar, eroziv lezyonlar görülebilmektedir. Erken hastalıkta entezit lezyonlarında CD68+ makrofaj baskınlığı görülürken, yerleşik hastalıkta CD8+ ve CD4+ T hücrelerini içeren yoğun lenfosit infiltrasyonu görülmektedir (48, 51). Bu çalışmalar SpA hastalarındaki inflamatuvar yollarda doğal ve edinilmiş immün yanıtın rol oynadığını göstermektedir.

Son yıllarda hastalığıdaki immün yanıtın temelinde iki yolağın yer aldığı görüşü dikkati çekmiştir. Bunlar; TNF- α aksı ve IL-23/IL-17 aksıdır. Miyeloid hücrelerde katlanmamış protein yanıtının aktive olması ile IL-23 üretimi tetiklenmektedir. IL-23 stimülasyonu ile T helper (Th)-17 hücrelerinden IL-17 salınmaktadır. Bununla birlikte IL-17 sadece T hücrelerinden değil aynı zamanda etkilenen dokulardaki mast hücreleri ve granülositler gibi doğal bağışıklık sistemi hücrelerinden de salınmaktadır (52). TNF- α ve IL-17 yolları arasındaki bağlantı tam olarak bilinmemektedir. Bir hayvan modelinde IL-23'ün aşırı ekspresyonu entezit gelişmesini başlatmıştır. Bu durum insanlarda da entezit gelişiminde IL-23'ün patojenik bir rolü olabileceği düşüncesini desteklemektedir (53). IL-23'ün AS'li hastaların omurgasındaki subkondral kemik iliğinde osteoartritli hastalardakinden daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir (54). AS patogenezindeki anahtar inflamatuvar yollardan biri de TNF aksıdır ve TNF blokajının önemli klinik etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Bununla birlikte bu yolağın hastalığıdaki fonksiyonları ile ilgili bilgi kısıtlıdır. TNF aşırı ekspresyonunun olduğu hayvan modellerinde destrukatif polisinovit geliştiği görülmüştür (28).

Spondiloartritlerdeki karakteristik inflamasyon SİE'ler, omurga ve entez bölgelerindeki kıkırdak ve kemik ara yüzünde görülmektedir. İnflamasyonun başlamasında ve sürdürülmesinde mekanik stres etkili olmaktadır (55). Bu durum hastalığın çoğunlukla ağırlık taşıyan bölgeleri etkileme nedenini açıklayabilmektedir.

2.1.4.3.1. İnflamasyon ve Yeni Kemik Oluşumu

Spondiloartropati patofizyolojisinde yapısal hasar ile inflamasyonun nasıl bir etkileşimde olduğu önemli bir sorudur. SpA'da yapısal hasar iki farklı özellik ile karakterizedir. Bunlardan ilki eroziv kemik hasarı diğeri ise patolojik yeni kemik oluşumdur. Her iki özellik PsA'da olduğu gibi aynı anda görülebilmektedir. Kemik destrüksiyonu ve kıkırdak hasarı, RA'ya benzerlik gösterir. Ancak yeni kemik oluşumuna yön veren moleküler mekanizmalar özellikle proinflamatuvar sitokinler ile bu yolların etkileşimi tam olarak anlaşılammıştır (56).

2.1.5. Klinik Bulgular

Spondiloartrit grubu hastalıkların ortak özellikleri; aksiyel iskelette (sakroiliak eklemler ve omurga) inflamasyon, periferik artrit, entezit, daktilit, üveit, psöriazis ve

inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. Nadiren, akciğer ve kalp gibi diğer organlarda da tutulum olabilir (57).

2.1.5.1. Kas İskelet Sistemi Bulguları

Kronik bel ağrısı ve sertlik, göğüs kafesi ile omurga (kostavertebral ve kostatransvers eklemler) ile sternumu (kostasternal, manibriosternal ve sternoklavikular eklemler) birleştiren eklemlerde entezit ve eklem inflamasyonunun yol açtığı göğüs ağrısı, tendon, fasiya, bağlar veya eklem kapsülünün kemiğe yapışma yerlerinde inflamasyonla karakterize entezit, yorgunluk ve diğer eklem tutulumları kas iskelet sistemi bulgularındandır.

İnflamatuvar bel ağrısı büyük olasılıkla inflame olmuş SİE ve çevre bağlarından köken alan, künt, kolay edilemeyen ve dizin altına inmeyecek tarzda uyluk arka yüzüne yayılan şekilde görülür. Ağrı genellikle başlangıçta tek taraflı ve aralıklarla oluşurken hastalık ilerledikçe aylar içerisinde çift taraflı ve sürekli olma eğilimi taşır. Alt lomber bölgenin sertliği ve özellikle sabahları olan tutukluk önemli bulgulardır (58).

Entezitler üst ekstremiteden çok alt ekstremitelerde daha sıktır. Alt ekstremitenin sık entezit bölgeleri; aşil-kalkaneus yapışma bölgesi ve patellar tendon-patella yapışma bölgeleridir (59). İleri dönemlerde bu bölgelerde kemik spurları oluşabilir.

Kalça tutulumu AS'de özürüllüğü en fazla etkileyen ekstra-aksiyel tutulumlardandır. Kalça tutulumu juvenil başlangıçlı hastalarda daha sıktır ve bu hastalarda ileri dönemlerde kalça artroplastisi gereksinimi erişkin çağda başlayan AS'li hastalara göre daha sıktır (59, 60). Kalça ve omuz gibi kök eklemler dışında kalan periferik eklem tutulumu primer AS'de nispeten nadirdir. Hastaların yaklaşık üçte birinde periferik eklemlerde etkilenme olabilmektedir (61). Genellikle asimetric, monoartiküler veya oligoartiküler tutulum söz konusudur (62).

2.1.5.2. Eklem Dışı Bulgular

AS, eklem dışı belirtiler (EDB) olarak akut anterior üveit (AAÜ), psöriazis ve İBH prevalansının arttığı genetik, radyografik ve klinik özellikleri paylaşmaktadır.

İnflamatuvar sırt ağrısı olan hastalarda AAÜ, psöriazis ve İBH varlığının olması, SpA teşhisinin konulmasına yardımcı olabilir. Dahası, bir veya daha fazla EDB'nin varlığı, AS'nin prognozunu etkileyebilir (63, 64). Ayrıca, AS'li hastalarda EDB'ler tedavi kararını etkileyebilir.

Üveit; AS'nin, ReA'nın, PsA'nın ve İBH'nin hem yetişkinlerde hem de SpA'lı çocuklarda ortaya çıkan, sık görülen ekstraartiküler bir belirtisidir.

Üveit, HLA-B27 pozitifliği ve uzun süre hastalığı olan SpA'ların alt tipine göre değişen sıklıkta oluşur (AS'de %33, PsA'da %6-9, ReA'da %25, farklılaşmamış SpA'da %13 ve İBH'de %2-5). AS ile ilişkili üveit ani başlangıçlı olma eğilimindedir. SpA'daki üveit olgularının çoğu akut anterior üveitle ilişkilidir, ancak gözün posterior segmentinde de az sayıda üveit olgusu ortaya çıkmaktadır. İkinci olarak kistoid maküler ödem ve görme kaybı daha sık komplikasyona neden olur. Ancak çoğu hastada görme genellikle 2 ay içinde tam olarak düzelir (65).

AS'li hastalarda ayrıca kardiyovasküler riskin arttığı gösterilmiştir. Altta yatan kronik inflamatuvar süreç AS'de aterosklerotik riskin artmasında önemlidir. İletim bozuklukları ya da aort yetmezliği gibi kardiyovasküler sistem bulguları uzun süreli hastalığı olanların %1 ile %10'u arasında görülebilmektedir (66).

AS'nin diğer bir ekstra-artiküler bulgusu akciğer tutulumudur. AS'de pulmoner tutulum, radyografide benekli ve lineer opasiteler olarak görülen tüberkülozu taklit eden yavaş ilerleyen bilateral apikal fibrozis'den oluşur. Sıklıkla, daha sonra Aspergillus tarafından kolonize olan kaviteler gelişir. Daha önce yapılan bir çalışmada, AS'nin başlamasından on yıl sonra hastaların %1'inde bu akciğer lezyonlarının gözlemlendiği belirtilmiştir (67). İnterstisyel akciğer hastalığı ve göğüs duvarı hareketlerindeki kısıtlılığa bağlı restriktif tip akciğer hastalığı ve solunum yetmezliği görülebilmektedir. Ayrıca hastalarda uyku apnesi ve spontan pnömotoraks da gelişebilmektedir (68).

AS'li hastalarda böbrek bozukluğu insidansının %10-35 olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte AS'li hastalarda IgA (İmmunoglobulin A) nefropatisi görülebilmektedir (69). Amiloidoz, hastalığı aktif ve agresif seyreden, uzun süredir hastalığı olan, yaşlı hastalarda daha sık görülmektedir.

PsA dışlandığında SpA'lı hastaların yaklaşık %5-10'unda psöriazis görülmektedir. Eşlik eden psöriazis varlığında hastalarda daha fazla periferik eklem tutulumu saptanmaktadır (70).

AS'li hastalarda nörolojik tutulumlar genellikle omurganın kırık, dislokasyon, kauda ekina sendromu veya atlantoaksiyel subluksasyonla ilişkilidir. AS'de omurga kırıklarının önemi büyüktür. Vertebra kırıklarının 2. ve 3. dekadlarda pik yaptığı ve hastalık süresi arttıkça travmasız gelişen kırıkların da arttığı bildirilmektedir (70, 71). Spontan atlantoaksiyel subluksasyonlar, atlantookspital subluksasyonlar veya yukarı (vertikal) subluksasyonlar RA'ya benzer şekilde görülebilir. Spontan anterior atlantoaksiyel subluksasyonun periferik eklem tutulumu olanlarda daha sık olduğu vurgulanmıştır (72).

AS'li hastalarda kemik mineral yoğunluğunda (KMY) azalma hastalığın erken dönemlerinde ve özellikle de aktif AS'li hastalarda görülebilmektedir (73, 74). AS'de özellikle ilerleyen hastalıkla birlikte vertebra kırık riskinin arttığı bilinmektedir (75).

2.1.6. Fizik Muayene Bulguları

AS'nin erken tanısı için özellikle omurga ve SİE'leri kapsayan ayrıntılı bir fizik muayene yapılmalıdır. Erken döneminde tipik AS bulgularını gözlemek zor olmakla birlikte, lomber omurgadaki hareket kısıtlılığını ve sakroiliiti belirlemek olasıdır. Belin üç düzlemdeki hareketi de gözlemlenmelidir. Öne fleksiyon yer-parmak uzaklığı ölçülerek değerlendirilebilir, ancak kalça ekleminde kısıtlılık yoksa yer-parmak uzaklığı normal bulunabilecektir. Öne fleksiyonun değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer test Schober testidir. Günümüzde daha yaygın olarak kullanılan Modifiye Schober testinde ise lumbosakral bileşke hizasındaki Venüs gamzelerinin 5 cm altı ve 10 cm üstü olmak üzere toplam 15 cm'lik bir mesafe işaretlenir ve bu mesafede hastanın öne eğilmesi ile oluşan fark fleksiyon ölçümü olarak kabul edilir.

Hastalığın erken dönemlerinden itibaren göğüs ekspansiyonunda kısıtlanma saptanabilir. Yaş ve cins farklılıklarından etkilenme ile birlikte 5 cm'den az işe şüpheli, 2.5 cm'den az olması anormal kabul edilir (76).

Tüber iskiadikumlar, büyük trokanterler, spinöz çıkıntılar, kostokondral ve manibriosternal bileşkeler, iliak kanatlar, simfisis pubis, topuklar ve tibial tüberküllerde entezit nedeni ile palpasyonda hassasiyet saptanabilir (57). Entezis bölgeleri entezopati skorlama sistemlerindeki lokalizasyonlara göre palpasyonla muayene edilir (77).

Hastalığın ilerlemesi ile bazı postür bozuklukları ortaya çıkar. Anterofleksiyon postürü değerlendirilmesinde oksiput-duvar ve tragus-duvar mesafesi ölçümü AS'li hastanın izleminde kullanılan parametrelerdendir.

Hastalarda zaman içerisinde lomber lordoz düzleşir, torakal kifoz artar. Abdominal solunumun ön planda olması sebebi ile karın bombeleşir ve futbol topu karın görüntüsü ortaya çıkar. (78). Servikal omurganın da eklem hareket açıklığı değerlendirilmelidir; ekstansiyon, sağ ve sola rotasyon, lateral fleksiyon ve öne fleksiyon ölçülmelidir (79).

2.1.7. Laboratuvar Bulguları

AS hastaları için tanısal laboratuvar test yoktur. Hematolojik çalışmalar genellikle normaldir. Şiddetli hastalığı olan hastalarda, kronik hastalığı yansıtan hafif normositik-normokromik anemi olabilir. Beyaz kan hücre sayımı trombosit sayımı gibi normaldir. Yüksek hastalık aktivitesi olan hastalarda hafif trombositoz olabilir. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktive Protein (CRP) olguların yarısında yüksektir ve periferik hastalık aktivitesi ile ilişkili olma eğilimindedir (80). CRP/ESH'nin izole AS'de tahmini duyarlılığı %38-45 iken, yeni başlangıçlı AS'de %50'dir. Normal ESH ve CRP düzeyleri aktif hastalığın varlığını dışlayamaz. Bu nedenle hastalık aktivitesinde kullanımları kısıtlıdır. Yine de günümüzde CRP, Serum Amiloid A (SAA) ve IL-6 verilen tedaviye cevabın en iyi göstergeleridir ve yüksek CRP sakroiliit progresyonunun güçlü pozitif belirleyicisidir (81).

2.1.8. Görüntüleme

Direkt Radyografi

Sakroiliak eklem tutulumu (SİE) başta AS olmak üzere bütün SpA'larda görülebilen ortak bir bulgudur ve tanı için yol göstericidir (82). Özellikle AS ve farklılaşmamış SpA olgularında en sık rastlanan başlangıç bulgusu sakroiliittir. AS hastalarının tamamında sakroiliit görülür, ancak SİE tutulumu olmaksızın aksiyel tutulum olan hastalar da

nadiren bildirilmiştir (83). SİE’de yapısal değişiklik olan hastaların %95’ten fazlasında konvansiyonel radyografiler tanı koymak için oldukça duyarlıdır. Tipik sindesmofitlerin belirlenmesi de tanı için hastalarda yararlı olabilir. Sakroiliit genellikle çift taraflıdır ve en erken bulgulardan birisidir. (84).

Sakroiliit radyolojik olarak New York kriterlerine göre evrelendirilebilir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Sakroileitin New York Ölçütlerine Göre Derecelendirilmesi

Evre 0 (normal)	Değişiklik yok, eklem yüzeyleri net olarak seçilir, eklem aralıkları normal genişliktedir.
Evre 1 (şüpheli)	Şüpheli değişiklikler, hekim grade 2 sayılan değişikliklerin olup olmadığı konusunda kararsızdır.
Evre 2 (minimal)	Eklem yüzeyleri net seçilemez, eklem bulanıklaşmıştır, küçük erozyonlar ve hafif subkondral skleroz artışı vardır ve eklem aralığında daralma görülebilir.
Evre 3 (orta)	Eklem her iki yüzeyinde belirgin skleroz ve daha büyük erozyonlar, eklem aralığında daralma ve yer yer kemik köprüleşmeler
Evre 4 (şiddetli)	Ankiloz, eklemde tam füzyon

Entezit bulgusu olarak ligament ve tendon yapışma yerlerinde kemik erozyonları veya saçaklanmalar gözlenir. AS’de vertebralardaki tipik radyolojik görünüm kareleşmedir. Vertebraların normalde konkav olan yüzeylerindeki erozyon ve erozyon sonrası reaktif skleroz vertebraların kareleşmesine yol açar. Direkt grafidevertebra köşelerinin skleroz artışından kaynaklanan parlak beyaz görünümü Romanus lezyonları olarak adlandırılır. Anulus fibrozusun ve spinal ligamentlerin kalsifikasyonu ile vertebra cisimleri arasında sindesmofit olarak adlandırılan köprüler oluşur. AS’de görülen sindesmofitler İBH’ye eşlik eden SpA’da olduğu gibi bilateral ve simetrik olup, tutunma noktaları birbirini izleyen vertebra cisimlerinin üst ve alt kenarları arasındadır (marjinal sindesmofitler). (85). SİE’deki inflamasyondan ankiloza uzanan değişiklikler apofizer eklemlerde de oluşur ve radyografik olarak eklem aralığında düzensizlik, skleroz ve ankiloza saptanabilir. Ön-arka torakolomber grafilerde, çok seviyeli, simetrik sindesmofit oluşumu ve apofizer eklemlerin sklerozu sonucu ortaya çıkan bambu kamışı görünümü, apofizer eklemlerin sklerozu, eklem ligamentlerinin ve interspinöz ligamentlerin

kalsifikasyonu ile oluşan radyolojik görünüm ise üçlü ray belirtisi olarak adlandırılır(84).

Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Sakroiliak eklemden inflamasyona sekonder gelişen erozyon, subkondral skleroz, eklem aralığında daralma ve yeni kemik oluşumu gibi yapısal kemik değişikliklerini belirlemede oldukça etkili bir yöntemdir (86).

Kemik Sintigrafisi

İBA'sı olan bir hastada standart radyografiler normal ise sakroiliit tanısı için ilk tercih edilecek yöntem MRG olmalıdır. Ancak MRG'nin göreceli olarak pahalı olması ve tüm kliniklerde olmaması nedeni ile kemik sintigrafisi de bu amaçla kullanılabilir (87). Fakat bulguların spesifik olmaması ve yüksek radyasyon riski nedeniyle günümüzde sakroiliit tanısında kemik sintigrafisi pek tercih edilmemektedir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme

SİE'lerin görüntülenmesinde MRG çok kullanışlı bir modalitedir. Eklem kartilaj ve sinoviyal kısmı, eklem yüzey kırık yapısı, bağlar ve kapsülün yapışma yerleri çok iyi şekilde ayırt edilebilir. Sakral ve iliak kemik yüzeylerinde düşük sinyal yoğunluğuna sahip ince bir bant şeklinde subkondral kemiği görmek olasıdır.

SİE'de aktif inflamatuvar lezyonlar olarak tanımlanan değişikliklerden en önemlisi kemik iliği ödemi veya osteit. Bu değişiklik başka hastalıklarda da görülebilse de aktif sakroiliit için çok önemlidir. Kemik iliği ödemi yapısal hasarlarla (erozyonlar, subkondral skleroz) ile birlikte olabilmektedir. Sinovitin saptanmasında short-tau inversion recovery (STIR) sekanslar normal sinoviyal sıvıyla sinoviti ayırt etmede yetersiz kalırlar. Sinovit kontrastlı T1 ağırlıklı yağ baskılı sekanslarda kontrastlanmış hiperintens lezyonlar şeklinde ayırt edilebilir. Kemik iliği ödemi olmaksızın SİE'de sinovit çok nadir bir durum olup, tek başına aktif sakroiliiti tanımlamak için yeterli bir bulgu değildir.

ASAS çalışma grubu tarafından aksiyel SpA sınıflaması için MRG'de aktif sakroiliit tanımı belirlenmiştir. Buna göre; kemik iliği ödemi veya osteit, sinovit, entezit ve

kapsülit gibi aktif inflamatuvar lezyonlar SpA ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Aktif sakroiliit tanımı için sadece kemik iliği ödemi veya osteitis gereklidir. Eğer bir kesitte sadece bir aktif inflamatuvar lezyon var ise birbirini izleyen en az iki kesitte de gösterilmesi gereklidir. Ancak bir kesitte akut inflamatuvar lezyonlardan birden fazla mevcut ise bu kesit akut sakroiliit tanısı için yeterlidir (88).

Ultrasonografi

Son yıllarda SpA'lı hastalarda yumuşak doku tutulumunu değerlendirmede ultrasonografinin (USG) oldukça duyarlı ve non-invaziv bir görüntüleme yöntemi olduğu gösterilmiştir. USG aktif entezit, PsA'lı hastalarda distal interfalangeal eklem artrit ve daktiliti göstermede yararlıdır. SpA'lı hastalarda kalkaneal (plantar fasya ve aşil tendonu), diz (kuadriseps tendonu ve patellar tendonun proksimal ve distal yapışma yerleri), kalça (gluteus medius tendonu) ve dirsek entez (medial ve lateral epikondil tendonları) bölgeleri USG ile değerlendirilen ana bölgelerdir. USG'nin entezitin erken bulgularını saptamada MRG'den daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir (89).

2.1.9. Sınıflama Kriterleri

SpA grubu içerisindeki hastalıklar için sınıflandırma kriterleri önceden beri mevcuttur. 1961'de AS için ilk set kriterler Roma' da oluşturulmuştur. Daha sonra 1966'da Roma kriterlerinin duyarlılığının düşük olması ve radyografik sakroiliitin olmasını gerektiren New York kriterleri oluşturuldu. AS'lilerin akrabalarını ve kontrol grubunu da içeren bir çalışmada New York kriterlerine göre "dorsolomber geçişte veya belde ağrı veya ağrı hikayesinin" özgülüğü olmadığı için ayırt ettirici değeri olmadığı bulundu. Aynı çalışmada göğüs ekspansiyonunun 2.5 cm'in altında olmasının da duyarlılığı %15 bulundu. Bunun üzerine New York kriterleri 1984'de değiştirilerek, klinik kriterlere inflamatuvar bel ağrısı eklendi ve göğüs ekspansiyonu; cinsiyet ve yaşa göre normal değerlerin altında olarak değiştirildi (90). Modifiye New York kriterlerinin de erken aksiyal SpA'da duyarlılığının olmadığı, grade 2 sakroiliitte ise özgülüğünün sınırlı olduğu tespit edilmiştir (91).

Bu nedenlerden dolayı bu kriterler çok kısıtlayıcı ve erken tanı için uygun olmadığından ESSG 1991'de, SpA için "sakroiliitin radyografik kanıtı" na bağımlı olmayan yeni

sınıflandırma kriterlerini önerdi. Sakroiliit olmadan duyarlılığı %77, özgülüğü %89; sakroiliit ile birlikte duyarlılığı %86, özgülüğü ise %87 bulunmuştur (82).

ESSG kriterlerine paralel olarak 1990 yılında Amor ve arkadaşları sayısal değerlendirmeye sahip set kriter oluşturdu (92). Bu kriterler daha komplike ama entezopati, daktilit, üveit, HLA-B27 pozitifliği gibi sık görülen eklem dışı belirtileri de kapsadığı için, aksiyal ve/veya periferik eklem tutulumu olmayan ve bu nedenle ESSG kriterlerinin kapsamadığı hastaları tanımaya yarar (57, 93). Amor kriterlerinin duyarlılığı %85, özgülüğü ise %90 bulunmuştur (18). Amor ve ESSG kriterlerinin aksiyal ve periferik SpA ayırımını yapamaması ayrıca geliştirildiği dönemde MRG'nin yaygın kullanılmıyor olması bu kriterlerin önemli kısıtlılıklarındandır (21).

Bu nedenle 2004'te ASAS (The Assessment of SpondyloArthritis International Society) grubu, aksiyal ve periferik SpA sınıflandırması oluşturmak için yeni bir uluslararası proje başlattı ve 2009'da aksiyal SpA'ların erken tanısı için ASAS sınıflandırma kriterlerini yayınladı (Tablo 2.3). Bu kriterlere göre radyografi veya MRG ile tespit edilen sakroiliit belirleyici rol oynamaktadır. 2011 yılında ise ASAS topluluğu aksiyal iskelet yerine, ön planda periferik artrit, entezit, daktilit ile seyreden hasta grubu için periferik SpA sınıflama kriterlerini yayınladı (94) (Tablo 2.4). Ayrıca ASAS tarafından da sınıflandırma kriterlerinin bir ögesi olan inflamatuvar bel ağrısı (İBA) kriterleri geliştirildi (Tablo 2.5).

Tablo 2.3. ASAS Aksiyal SpA Kriterleri

Bel ağrısının süresi ≥ 3 ay ve başlangıç yaşı < 45 yaş olan hastalarda		
Görüntülemelerde Sakroileit ≥ 1 SpA bulgusu	veya	HLA-B27 pozitifliği ≥ 2 SpA bulgusu
SpA Bulguları		
Enflamatuvar bel ağrısı		Psöriazis
Artrit		Crohn/ Kolit
Entezit (topuk)		NSAİİ iyi yanıt
Üveit		SpA için aile öyküsü
Daktilit		HLA-B27
		Artmış CRP

Tablo 2.4. ASAS Periferik SpA Kriterleri

Artrit veya Entezit veya Daktilit	
+	
≥ 1 SpA bulgusu	≥ 2 SpA bulgusu
Üveit Psöriazis Crohn/ Kolit Öncül enfeksiyon HLA-B27 Görüntülemde sakroileit	Artrit Entezit Daktilit İnflamatuvar bel ağrısı (geçmişte) SpA için aile öyküsü

Tablo 2.5. ASAS İBA Kriterleri

- Ağrının 40 yaş altında başlaması
 - Sinsi başlangıç
 - Egzersizle düzelme
 - İstirahatle düzelme olmaması
 - Gece ağrısı (kalkmakla düzelme)
- *Bu 5 kriterden 4'ünün pozitif olması İBA olarak değerlendirilir.

2.1.10. Klinik Belirtilerin Değerlendirilmesi

Klinik belirtilerin belirlenmesi tanı koyma, tedavinin doğruluğu ve etkinliğinin değerlendirilmesi ve AS klinik çalışmalarında aynı dilin konuşulmasının önemi açısından AS'ye özgü birçok değerlendirme yöntemi geliştirilmiş ve yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 2.6) (95-97).

Tablo 2.6 Ankilozan Spondilite Özgü Değerlendirme Yöntemleri

ÖLÇEK	KISALTMA	DEĞERLENDİRME	AÇIKLAMA
Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi	BASDAI	Hastalık Aktivitesi	0-100 mm'lik vizüel analog skala üzerinde cevaplandırılması istenen 6 soru; yorgunluk, bel, boyun veya sırt ağrısı, diğer eklemlerde ağrı/şişlik dokunmaya veya basıya karşı hassasiyet, sabah tutukluğunun şiddeti, sabah tutukluğu süresidir.
Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite Skoru	ASDAS	Hastalık Aktivite skoru	10'luk numerik skala üzerinde cevaplandırılması istenen 4 soru; Sırt ağrısı Sabah tutukluğu Hastanın genel durumu Periferik ağrı/şişme Hastanın CRP'si veya ESH eklenerek yorumlanır.
Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi	BASFI	Fonksiyon	0-100 mm'lik vizüel analog skala üzerinde cevaplandırılması istenen basit günlük fonksiyonları içeren 10 sorudur.
Douglas Fonksiyonel İndeksi	DFI	Fonksiyon	Basit günlük fonksiyonları ne kadar zorlukla yapabildiklerini sorgulayan 20 sorudan oluşur.
Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi	BASMI	Fonksiyon Spinal mobilite	5 klinik ölçüm içerir ; Tragus duvar mesafesi Laterel gövde fleksiyonu Modifiye Schober Servikal rotasyon İntermalleoler mesafe
Bath Ankilozan Spondilit Radyolojik İndeksi	BASRI	Yapısal hasar	Omurganın X-ray değerlendirmesi

2.1.11. Tanı ve Ayırıcı Tanı

AS'de kesin tanı, klinik kriterlerin yanı sıra radyolojik olarak sakroiliitin saptanması ile konulur. Radyolojik sakroiliitin ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hastalıklar mevcuttur (Tablo 2.7).

Tablo 2.7. Sakroiliit Yapan Nedenler

1. Spondiloartropatiler; AS, ReA, PsA, İBH SpA, Akne ile ilişkili artrit veya SAPHO (sinovit, akne, püstüloz, hiperostoz ve osteit) sendromu
2. Enfeksiyöz; Piyojenik enfeksiyonlar, Tüberküloz, Sifiliz, Brusellozis, Whipple hastalığı
3. Diğerleri; Akut gut artrit, Kalsiyum pirofosfat hastalığı, Hiperparatiroidizm, Parapleji, Sarkoidoz

2.1.12. Tedavi

AS’de hastalığı tamamen ortadan kaldıracak bir tedavi olmamakla birlikte, mevcut tedavi modaliteleriyle hastalık iyi bir şekilde kontrol altında tutulabilmektedir. Asıl tedavi hedefi remisyon olarak tanımlanmıştır. Düşük hastalık aktivitesi ikinci hedef olarak kabul edilmektedir. AS tedavisinde amaç; ağrı, sertlik ve yorgunluğu azaltmak, düzgün postürü sağlamak ve korumak, fiziksel ve psikososyal fonksiyonelliği sağlamak olarak özetlenebilir (98, 99).

ASAS/EULAR ve “American College of Rheumatology” (ACR)/“Spondylitis Association of America” (SAA)/“Spondyloarthritis Research and Treatment Network” (SPARTAN) tarafından axSpA için tedavi önerileri yayınlanmıştır (Şekil 2.3) (100-102). 2016 yılında güncellenen ASAS/EULAR axSpA tedavi önerileri tablo 2.8’de gösterilmektedir.



Şekil 2.3. AS Tedavi Önerileri

NSAİİ, non-steroid anti-inflamatuvar ilaç; bDMARD, biological disease-modifying antirheumatic drug (biyolojik hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaç). (100)'ten değiştirilerek adapte edilmiştir.

Tablo 2.8. ASAS/EULAR Aksiyel SpA Tedavi Önerileri

- 1) Aksiyel SpA'lı hastaların tedavisi; hastalığın belirti ve bulgularına (aksiyel, periferik, eklem dışı bulgular) ve eşlik eden hastalıklar, psiko-sosyal faktörler gibi hasta özelliklerine göre bireyselleştirilmelidir.
- 2) Aksiyel SpA'lı hastaların izlemi; hasta tarafından bildirilen sonuçlar, klinik bulgular, laboratuvar testleri ve görüntülemeyi içermelidir. Semptomlar, hastalık şiddeti ve tedaviye göre kişisel bazda izlem sıklığına karar verilmelidir.
- 3) Tedavi, önceden belirlenmiş bir tedavi hedefine göre yönlendirilmelidir.
- 4) Hastalar aksiyel SpA hakkında bilgilendirilmeli ve düzenli olarak egzersiz yapmaları ve sigarayı bırakmaları konusunda cesaretlendirilmelidir. Fizik tedavi göz önünde bulundurulabilir.
- 5) Ağrı ve sertlikten yakınan hastalar fayda ve zararları hesaba katılarak, ilk basamak ilaç tedavisi olarak maksimum doza kadar bir NSAİİ kullanmalıdır. NSAİİ'lere iyi yanıt veren hastalarda sürekli kullanım tercih edilmektedir.
- 6) Parasetamol ve opioid veya opioid benzeri ilaçlar, daha önceki önerilen tedavilerin başarısızlığı, kontrendike olması ve/veya zayıf tolere edilmesi nedeni ile devam eden ağrıda göz önünde bulundurulabilir.
- 7) Kas-iskelet sistemi inflamasyonunun olduğu bölgeye lokal olarak glukokortikoid enjeksiyonu düşünülebilir. Aksiyel hastalığa sahip hastalar sistemik glukokortikoidler ile uzun süreli tedavi almamalıdır.
- 8) Tamamen aksiyel hastalığa sahip hastalar normalde konvansiyonel sentetik hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaçlar (disease-modifying antirheumatic drug, DMARD) ile tedavi edilmemelidir. Periferik artritli olan hastalarda sülfasalazin tedavisi düşünülebilir.
- 9) Konvansiyonel tedavilere rağmen yüksek hastalık aktivitesine sahip hastalarda biyolojik DMARD'lar düşünülebilir. Mevcut uygulama TNF inhibitörü tedavisi ile başlamaktır.
- 10) TNF inhibitörü tedavisi başarısızlığında; başka bir TNF inhibitörüne geçiş veya bir anti IL17 tedavisi düşünülmelidir.
- 11) Hasta uzun süreli remisyondaysa biyolojik DMARD'ın azaltılması düşünülebilir.
- 12) Dirençli ağrısı veya dizabilitesi olan ve yapısal hasarın radyografik kanıtı olan hastalarda yaştan bağımsız olarak total kalça artroplastisi düşünülmelidir. Ciddi deformitesi olan hastalarda özelleşmiş merkezlerde spinal düzeltici osteotomi düşünülebilir.
- 13) Hastalık seyrinde önemli bir değişiklik meydana gelirse, omurgada kırık gibi inflamasyon dışı nedenler akla gelmeli ve görüntülemeyi de içeren uygun değerlendirme yapılmalıdır.

2.1.12.1. İlaç Tedavisi

2.1.12.1.1. Semptom Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar

Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaçlar

AS tedavisinde NSAİİ'ler halen önemini korumaya devam eden semptom modifiye edici ajanlardır. NSAİİ'lere olumlu yanıt bel ağrısının inflamatuvar karakterde olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir ve birçok sınıflama kriterinde yer almıştır. NSAİİ'ler AS ve nr-axSpA'lı hastalarda benzer şekilde etkinliğe sahiptir. Hastalar çoğunlukla NSAİİ tedavisinin ilk 2 haftasında tedaviye cevap vermektedir. Etkinliğin değerlendirilmesinde; eğer kontrendike değilse en az 2 NSAİİ'nin tolere edilen maksimum dozda toplamda en az 4 hafta kullanılması önerilmektedir. NSAİİ'ler hastaların semptomlarına göre kullanılmalıdır. Hasta remisyondaysa kullanılan dozun azaltımı ya da ilaca ara verilmesi denenmelidir. NSAİİ'lerin AS'li hastalarda hastalığın erken döneminde kullanıldığında daha etkili olduğu görülmektedir (92).

Basit Analjezikler ve Antidepresanlar

Parasetamol ve opioidler gibi analjezikler; NSAİİ'ler, hastalık modifiye edici ajanlar veya biyolojik ajanların tolere edilemediği, kontrendike olduğu veya kullanılmadığı durumlarda devam eden ağrıyı azaltmada kullanılabilirler.

Kortikosteroidler

Sistemik kortikosteroidlerin, RA veya sistemik lupus eritematozusta dramatik ve önemli etkileri mevcutken AS tedavisi için bu etkilerden söz etmek pek olası değildir. Sistemik kortikosteroidlerle özellikle periferik artrit modifiye edildiğine dair kısıtlı veriler olsa da aksiyel tutulumun üzerinde pek etkinliği olmadığı açıktır. Sistemik kortikosteroidlerin etkinliği kısa dönem düzelmelerle sınırlıdır (103).

2.1.12.1.2. Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar (DMARD)

Hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaçlar RA tedavisinde belirleyici ilaçlar olmasına rağmen, AS tedavisinde yerleri oldukça sınırlıdır. Bu ilaçların kullanımında

aksiyel iskelet tutulumunda hastalığın ilerlemesini önleyemediği, periferik tutulumu olan hastalarda ise yararının sınırlı olduğu artık bilinmektedir (100).

Sülfasalazin (SSZ)'in SpA grubu hastalıklarda kullanımının altında yatan ana düşünce; bağırsaklarda görülen ve hastalığın eklem dışı yaygın bulgusu olarak düşünülen inflamasyona etkili olduğudur. Bu konuda yapılan çalışmalarda SSZ'in sadece ESH ve sabah tutukluğu üzerinde etkin olduğu fakat fiziksel fonksiyonlar, ağrı, entezit, spinal mobilite, hasta ve hekimin global değerlendirmesi gibi diğer parametrelerde yeterli etkinliği olmadığı görülmüştür (104). SSZ periferik artritli olan, nispeten hastalık süresi kısa ve yüksek ESH olan hastalarda bir seçenek olarak düşünülebilir. Ayrıca SSZ'in SpA ilişkili üveitlerde hem alevlenme sıklığının hem de üveit şiddetinin azalmasına etkisi olduğu bildirilmektedir (105). SSZ'in tedavi etkinliğine karar vermek için 4 aya kadar beklenebilir. Sonuç olarak, konvansiyonel DMARD'ların axSpA'da etkili olmadığı gösterilmiştir. ASAS/EULAR tarafından yalnızca aksiyel hastalığı olan hastalarda konvansiyonel DMARD kullanımı önerilmemektedir. SSZ periferik artritli olan hastalarda bir tedavi seçeneği olarak önerilmektedir (102).

2.1.12.1.3. Biyolojik Ajanlar

Biyolojik DMARD'lar, inflamasyonun özgün yollarını ve sinyallerini bloke ederler. Bu tedavi ajanları, romatizmal hastalıklarda inflamasyonun farklı noktalarında etkili olurlar. bDMARD'lar NSAİİ'leri ve non-farmakolojik yaklaşımları da içeren konvansiyonel tedavilere rağmen halen ısrarlı hastalık aktivitesi yüksek olan hastalarda düşünülmelidir (Tablo 2.9). Mevcut uygulama TNF-inhibitörü (TNFi) tedavisine başlamaktır (102).

Tablo 2.9. ASAS EULAR AxSpA'lı Hastalarda bDMARD Tedavisi Önerileri

1. Romatolog Tanılı axSpA
2. Yüksek CRP ve/veya MR ve/veya Radyografik Sakroiliit*
3. Standart Tedavi Başarısızlığı Tüm hastalar; -4 haftanın üzerinde en az 2 NSAİİ (toplamda) Periferik ağırlıklı tutulumu olan hastalar; -Uygun olanda tek lokal steroid enjeksiyonu -Terapötik bir SLZ denemesi
4. Yüksek hastalık aktivitesi: ASDAS \geq 2,1 veya BASDAI $>$ 4
5. Pozitif romatolog görüşü

*İnfliksımab ve IL-17 inhibitörü (IL-17i) için radyografik sakroiliit zorunludur.

Avrupa ülkeleri, ABD ve dünyanın diğer bölgelerinde 5 TNFi (infliksımab, etanersept, adalimumab, golimumab, sertolizumab) AS tedavisinde onaylıdır. Etanersept, adalimumab, golimumab ve sertolizumab Avrupa Birliği ve diğer pek çok ülkede aktif nr-axSpA tedavisinde onay almıştır. ABD’de ise henüz onay almamıştır (106). Avrupa İlaç Kurumu (European Medicines Agency (26))’nun onayı CRP pozitifliği ya da MRG’de SİE’de veya omurgada aktif inflamasyon varlığı gibi inflamasyonun objektif bulgularının görüldüğü hastalarla sınırlıdır. TNFi’nin kas iskelet sistemindeki etkileri benzerdir. Bununla birlikte eklem dışı bulgularındaki etkilerinde farklılıklar olabilmektedir. Monoklonal antikorlar (golimumab, infliksımab, adalimumab, sertolizumab,) İBH tedavisinde üveit rekürrensini önlemede (golimumab ile ilgili veri bulunmamakta) etkiliyken, etanersept üveit ile ilgili çelişkili sonuçlara neden olmuştur ve İBH’de etkili değildir. Etanersept, psöriatik cilt tutulumunda diğer TNFi’ne göre daha az etkili gibi görünmektedir (102).

TNFi’leri dışında farklı bir bDMARD sınıfı olan IL-17 yolu inhibisyonu da kullanılmaya başlanmıştır. IL-17i’lerinden sadece sekukinumab onaylanmıştır. Bugüne kadar sadece radyografik axSpA’da IL-17i ile ilgili veriler mevcuttur ve nr-axSpA’lı hastalarda veriler hala eksiktir.

Aktif İBH hastalarında IL-17i tedavisinden kaçınılmalıdır, çünkü Crohn hastalığında plaseboya kıyasla sekukinumab etkili olmamış ve daha olumsuz olaylarla sonuçlanmıştır (107).

ASAS ve EULAR bDMARD’ların etkililiğinin ne zaman ve nasıl değerlendirileceğini ve hangi durumlarda devam edilmesi gerektiğini gösteren önerilerde bulunmuştur (102) (Şekil 2.4).

En az 12 hafta tedaviden sonra bDMARD'lara devam etmeyi düşünün



ASDAS \geq 1.1 iyileşme veya BASDAI \geq 2 iyileşme (0-10) *

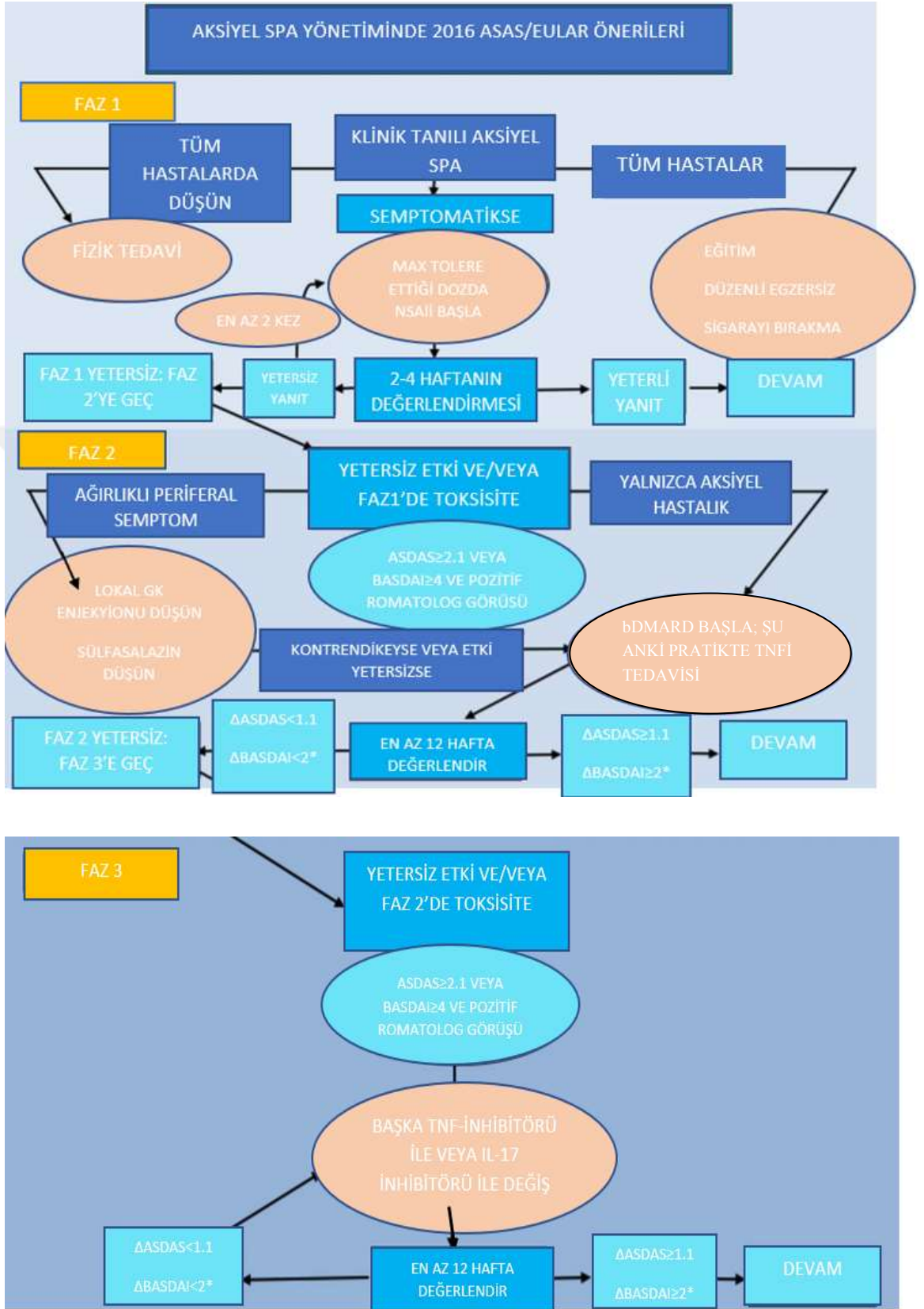
*ASDAS veya BASDAI kullanılabilir, ancak her hasta için aynı ölçüt kullanılmalıdır.



Pozitif Romatolog Devam Görüşü

Şekil 2.4. ASAS/EULAR'ın bDMARD'ların Devamı İçin Önerileri

Diğer bir öneri ise; TNFi ile tedavisi başarısız olursa başka bir TNFi'ye veya IL-17i tedavisine geçmektir. Veriler, ikinci bir TNFi'nin (ilk TNFi'nin başarısızlığından sonra) etkin olduğunu, ancak etkinlik düzeyinin birinci TNFi'den düşük olabileceğini düşündürmektedir (108). Tedavinin çeşitli aşamaları ASAS/EULAR önerileri ile grafiksel bir gösterimle özetlenmiştir (Şekil 2.5) (102).



Şekil 2.5. AxSpA Yönetiminde 2016 ASAS/EULAR Önerileri

2.2. DNA hasarı

Genetik bilginin taşınması ve kalıtımını sağlayan DNA, kolayca zarar görebilen bir molekül olup üzerinde bazı faktörlere bağlı olarak devamlı olarak hasar oluşmaktadır. Bu hasarlar DNA tamir sistemleri tarafından tamir edilmekle birlikte, hasarın çok fazla olduğu veya tamir sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda DNA'da oluşan hasarlar, hücre ölümüne kadar varan çeşitli sonuçlara neden olur. DNA hasarının kanser, yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, dejeneratif hastalıklar ve immün sistem hastalıkları gibi doku fonksiyonlarının bozulması ile meydana gelen bir çok hastalığın etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (109, 110).

Hücrelerde DNA'da meydana gelen hasarlar; Ames testi, *in vivo* memeli eritrosit mikronükleus (MN) testi, *in vivo* memeli fare kemik iliği kromozom aberasyon testi, *in vitro* memeli hücre gen mutasyon testi, bakteri kullanarak yapılan geri mutasyon testleri ile belirlenmektedir. Memeli periferik kan hücrelerindeki DNA'da meydana gelen hasarın ve genotoksik etkilerin sitogenetik açıdan araştırılmasında *in vivo* ve *in vitro* olarak kullanılabilen genotoksisite yöntemleri arasında; kromozom aberasyon (KA:CA), kardeş kromatid değişimi (Sister Chromatid Exchange; KKD), γ -H2AX fokus, komet ve sitokinez bloke mikronükleus (CBMN) yöntemleri sıralanabilir (111, 112).

2.3. Sitokinez Bloke Mikronükleus (CBMN) Yöntemi

İlk olarak MN oluşumu William Henry Howell ve Justin Marie Jolly tarafından eritrositlerde tanımlanmıştır. Bundan dolayı Howell-Jolly cisimciği adı da verilmektedir. Bu yöntemin lenfositlerde ve diğer hücrelerde kullanılması ise Fenech ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (113, 114).

MN; hücrelerin mitoz bölünmesi sırasında meydana gelen, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom parçalarından köken alan oluşumlardır. MN sayısındaki artma, farklı ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin dolaylı olarak bir göstergesidir. Anöploidide sebep olan ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iç iplikçiklerinde fonksiyonel bozukluklara yol açarak ve klastojenler ise kromozomal kırıklar oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunurlar (115, 116).

MN testi, sitogenetik harabiyetin saptanması, kromozom analizine göre daha basit olarak uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücrenin incelenebilmesi ve istatistiksel açıdan daha anlamlı sonuçların alınabilmesi gibi avantajları ile yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmuştur (117).

Son yıllarda yapılan The International Human Micronucleus (HUMN) databaz analizi gibi çalışmaların sonucunda MN yöntemi, doğruluk açısından, genom hasarı gibi patolojik durumların araştırılmasında güvenilir bir yöntem olması ile, periferik kan lenfositlerinde MN frekansının kanser riskini belirlenmesinde bir biyomarkır olarak kullanılabilmesi kabul edilmiştir (118, 119).

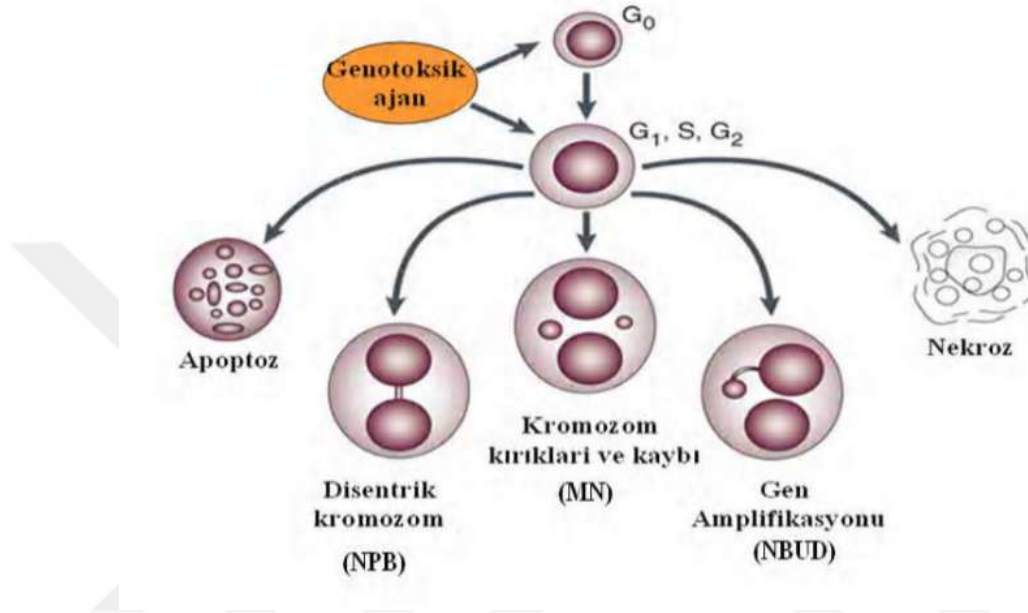
Aynı zamanda çalışmalarda Romatoid Artrit (RA), Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF, Familial Mediterranean Fever), Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), Skleroderma (SSc) gibi birçok kronik inflamatuvar hastalıkların tanısında MN testinin biyobelirteç olarak kullanılabilmesi, bazı hastalıklarda hastalık aktivite parametresi olabileceği düşünülmüştür (5, 8, 120).

CBMN yöntemi; orijinal olarak *Helminthosporium dematioideum* isimli mantardan elde edilen bir mikotoksin olan sitokalazin-B'nin (Cyt-B) kullanılmasıyla geliştirilmiş olup, hücre bölünmesinin sitokinez evresinde aktin filamentlerinin durdurulması ve dolayısıyla sitokinezi bloke edilmiş bi-nükleer (BN) hücrelerin elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir. Cyt-B, bu etkisini de aktin filamentlerin ucuna bağlanarak, aktinin polimerize olmasını önleyerek gösterir (121, 122).

CBMN yöntemi, kromozomal hasarın, genomik karasızlığın ve kanser riskinin bir göstergesi olarak kullanılan bir genotoksisite yöntemidir. CBMN yöntemi daha sonra, Fenech tarafından CBMN sitom (CBMN-cyt) yöntemi olarak geliştirilmiştir. CBMN-cyt yöntemi ile eş zamanlı olarak; kromozom instabilitesi/genom hasarı, hücre çoğalması ve hücre ölümü belirlenebilmektedir. Kısacası aynı hücrelerde;

- DNA hasarını belirlemek için; kromozom kırıkları ve/veya kromozom kayıplarını (anöploidi) gösteren MN'lar; gen amplifikasyonlarını gösteren nükleer tomurcuk (nuclear buds; NBUD)'lar; hatalı DNA tamirlerini ve/veya telomer uç birleşmelerinin sonucu oluşan disentrik kromozomları gösteren nükleoplazmik köprü (nucleoplasmic bridges; NPB)'ler skorlanır.

- Hücre çoğalmasını belirlemek için; mono-nükleer, bi-nükleer, multi-nükleer hücreler skorlanarak, hücre çoğalma oranları hesaplanır.
- Hücre ölümünü belirlemek için; apoptotik ve nekrotik hücreler skorlanır (Şekil 2.6) (114, 123).



Şekil 2.6. Çeşitli Sitotoksik ve Genotoksik Ajanlara Maruz Kaldıktan Sonra, Kültüre Edilmiş Sitokinez-Bloke Hücrelerdeki Genom Hasarı ve Hücre Ölümü (114)

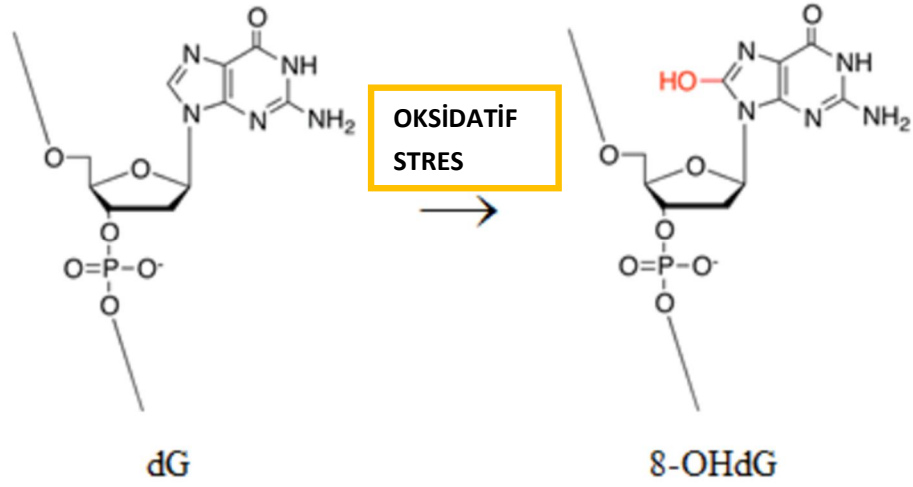
2.4. Oksidatif Stres

Organizmalarda serbest radikallerin oluşma hızı ile bunların ortamdan elimine edilme hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak isimlendirilir. Oksidatif dengenin sağlanması ile organizma, serbest radikallerden etkilenmez. Bu radikallerin oluşma hızında artma ya da elimine edilme hızında bir düşme olduğu durumda, denge bozulur. Bu durum, oksidatif stres olarak isimlendirilir, prooksidanlar ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengede prooksidanların artması ile ortaya çıkar (124).

Organizmada metabolik reaksiyonlar oluşurken endojen olarak ve çevresel faktörlerin etkisiyle eksojen olarak serbest radikaller oluşabilmektedir (125). Oksidatif stres

durumunda reaktif oksijen türleri, proteinlere, lipidlere DNA ve RNA'lara zarar verebilir. Ancak DNA'daki hasarlar hücrede geri dönüşü mümkün olmayacak problemlere yol açabilir. Farklı mekanizmalar ile DNA'daki hasarlar, baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları (kromozom kırıkları), DNA-protein çapraz bağlanması gibi çeşitli lezyonlar şeklinde olabilmektedir (9). 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) bu hasara uğrayan bazlar arasında oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirteçidir. Çalışmalar idrar 8-OHdG'nin çeşitli kanserlerin, dejeneratif hastalıkların ve inflamatuvar hastalıkların risk değerlendirmesi için iyi bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir (14). İnflamasyon, patojenlere karşı doğal bir savunma mekanizmasıdır ve mikrobiyal ve viral enfeksiyonlar, alerjenlere maruz kalma, radyasyon ve toksik kimyasallar, otoimmün ve kronik hastalıklar, obezite, alkol tüketimi, tütün kullanımı, günümüzde yüksek kalorili diyet gibi birçok patojenik hastalık ile ilişkilidir. Yüksek ROS üretimi ile bağlantılı kronik hastalıkların birçoğu oksidatif strese ve çeşitli protein oksidasyonlarına yol açmaktadır (126). Ayrıca, protein oksidasyonunda; inflamatuvar sinyal moleküllerinin çok büyük bir kısmı ve peroksiredoksin 2 (PRDX2) inflamatuvar sinyal olarak kabul edilmiştir. İnflamatuvar uyarıcılar, her yerde bulunan bir redoks aktif hücre içi enzimi olan PRDX2'nin salınımını uyarır. Salınımından sonra redoks bağımlı bir inflamatuvar aracı olarak görev yapar ve TNF- α üretmek ve salgılamak için makrofajları aktive eder. Çalışmalarda, makrofajlardan gelen PRDX2 ve tioredoksinin (TRX), hücre yüzeyi reseptörlerinin redoks durumunu değiştirebildiği ve inflamatuvar yanıtın indüklenmesine izin verdiği böylece kronik inflamatuvar hastalıklarda potansiyel yeni bir terapötik hedef sağladığı sonucuna varılmıştır (11).

Modifiye bir baz olan 8-OHdG, DNA'da guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikalının bağlanması ile meydana gelir. DNA replikasyonu sırasında, G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilim artar ve DNA'yı tamir eden enzimler tarafından elimine edilmesi de yeni genetik hatalara neden olur (127). Bu yüzden 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan belirteci olarak kabul edilir ve oksidatif DNA hasarını belirlemek için kullanılan en yaygın yöntemlerden birisidir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. DNA'daki Oksidatif Hasarın Belirteci Olarak 8-OHdG Oluşumu (128)

Oksidatif DNA hasarının ölçümüne yönelik farklı yöntemler olmasına karşın, doğru ve kesin olarak ölçülmesi için genelde tercih edilen iki yöntem vardır;

- 1) Yüksek performanslı likit kromatografisi
- 2) Enzime bağlı immünosorban yöntemi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay; ELISA).

DNA hasar ürünlerinin spesifik tiplerinin kantitatif analizinde kullanılan immünoassay yöntem olan ELISA ile 8-OHdG boyanması monoklonal antikorlar kullanılır ve 8-OHdG seviyesi boyanmanın yoğunluğuna bağlı olarak ölçülür (129). ELISA'nın, özel bir laboratuvar donanımına ihtiyaç duyulmaması, kolay kullanılabilmesi, serum, plazma, idrar gibi birçok vücut sıvısında çalışılabilmesi ve yüksek miktarda veri sunabilmesi gibi avantajları vardır (130).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız 01 Kasım 2017 ile 01 Ocak 2019 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Bölümü'nde gerçekleştirildi. Polikliniğe başvuran kronik bel ağrılı hastalar, Modifiye New York kriterlerine göre değerlendirildi. Bu kriterlere göre AS tanısı konulan hastalar çalışmaya dahil edildi. Değerlendirme öncesinde hastalar ve kontroller çalışma hakkında bilgilendirilerek bilgilendirilmiş olur formları dolduruldu. Çalışma, Helsinki Bildirgesi'ne göre yürütüldü ve 10/10/2018 tarihli 2018/8 nolu yerel etik kurul onayı alındı, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinasyon birimi tarafından değerlendirildi ve desteklendi (TTU-2018-8485).

HASTA GÖNÜLLÜLERİN ARAŞTIRMAYA DÂHİL EDİLME KRİTERLERİ

- 1.** 18-65 yaş arası
- 2.** Modifiye New York kriterlerine göre AS tanısı alanlar
- 3.** Ek kronik hastalığı olmayanlar
- 4.** Herhangi bir ilaç kullanmıyor olmak

SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLERİN (KONTROL GRUBU) ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

1. 18-65 yaş arası sağlıklı olmak
2. Hasta gönüllülerle benzer yaş ve cinsiyette olup İBA öyküsü ve/veya artrit hikayesi olmayanlar
3. Herhangi bir ilaç kullanmıyor olmak

GÖNÜLLÜLERİN ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLMEME KRİTERLERİ

1. 18 yaşından küçük, 65 yaşından büyük olmak
2. Ek kronik hastalıklarının olması
3. Alkol, sigara kullanımı olan hastalar
4. HBV, HCV gibi viral hepatiti olan hastalar
5. Malignitesi olan hastalar
6. Aktif tüberkülozu olan hastalar
7. Akut enfeksiyonu olan hastalar
8. VKİ>30
9. Gebelik ve emzirme

3.2. Hastaların Değerlendirilmesi

Her hasta ve sağlıklı gönüllüler için standart bir olgu bildirim formu dolduruldu. Hastalar ve sağlıklı gönüllüler isim, soy isim, dosya numarası, yaş, cinsiyet, yaşadığı yer, telefon numaraları, sürekli kullandıkları ilaçlar, ailesel hastalıkları, diğer hastalıkları, alışkanlıkları, genotoksisite maruziyetleri, vücut kitle indeksleri (VKİ), boy, vücut ağırlığı, ekstra-artiküler tutulum yönünden sorgulandı. Ayrıca, hasta ve sağlıklı gönüllüler için mikronükleus bilgi formu dolduruldu. Bu formda; doğum yeri, meslek, sigara kullanımı (kaç adet/gün; kaç yıldır), kahve tüketimi (fincan/gün), çay tüketimi

(bardak/gün), alkol kullanımı, son 3 ayda kullandığı ilaçlar, sürekli kullandığı ilaçlar, başka ek hastalık, ailesinde ailesel başka hastalık, sürekli yediği farklı besin, uyguladığı diyet, kadınlarda menopoz/adet düzeni sorgulandı.

Doldurulan form bilgilerine göre, hasta ve kontrol kişilerden, az miktarda (1-3 fincan) çay içen, son altı ayda şiddetli enfeksiyon ya da viral hastalık geçirmeyen, herhangi bir ilaç kullanmayan, bilinen genotoksik kimyasal bir ajana maruz kalmamış olan, farklı bir beslenme alışkanlığı olmayan, hipertansiyon (regüle hipertansiyon hariç), diyabet (diyetle regüle diyabet hariç), kalp, kanser gibi herhangi bir hastalığı olmayan ve ailede de kanser öyküsü olmayan kişiler çalışmaya dahil edildi.

AS hasta grubunda; tam kan sayımı, ESH, CRP, HLA-B27, BASDAI, yeni tanı hastalar çalışmaya dahil edildiği için SİE direkt grafipleri ve gerek duyulan olgularda SİE MR gibi klinik, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri kullanıldı. Sağlıklı gönüllülerden ise; tam kan sayımı, ESH, CRP gibi laboratuvar testleri istendi.

Tam kan sayımı XN-9000 cihazı (Sysmex, Kobe, Japan) ile çalışıldı. ESH, Vision C cihazı (YhloBiotech, Shenzhen, China) ile ölçüldü. CRP ölçümleri Roche Cobas C 8000 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) orijinal kitler kullanılarak gerçekleştirildi. HLA-B27, Navios Flow Cytometer (Beckman Coulter, Indianapolis, United States) ile değerlendirildi.

3.3. CBMN-Cyt Yöntemi İçin Kan Örneklerin Toplanması ve Kültüre Edilmesi

Modifiye New York kriterlerini karşılayan yeni tanı AS'li hasta gönüllülerden ve sağlıklı gönüllülerden heparinle yıkanmış enjektörlere 4-5 ml (ya da heparinli 1 adet tüpe 4 ml) periferik kan örnekleri alındı. Alınan 4-5 ml kan örneklerinin ~0.4 ml'si, 5 ml'lik hücre kültür medyumunu içeren kültür tüplerine eklenerek 37 °C'lik etüvde 72 saatlik tam kan kültürü yapıldı. Her bir kişi için iki kültür tüpüne ekim yapıldı. CBMN-cyt yöntemine uygun olarak kültürün 44. saatinde 3µg/ml final konsantrasyonda sitokalazin-B eklendi ve bi-nükleer hücrelerin oluşması sağlandı. CBMN-cyt yöntemine uygun şekilde 72 saatlik kültür sonrası kültürler sonlandırıldı. Kültürler önce hipotonik solüsyonu (0.1 M KCL) ile muamele edildi. Sonra takiben kültürler iki kere de fiksatifle (3:1, metanol: glacial asetik asit) muamele edildi ve preparatlar hazırlandı. Her bir kişi için, bir kültür tüpünden 2 tane olmak üzere toplam 4 adet preparat hazırlandı.

Hazırlanan ve %6'lık giemsa ile boyanan preparatlar ışık mikroskopunda x40 büyütmede değerlendirildi. Her bir kişi için, 1000 binükleer hücre sayıldı. DNA hasarını belirlemek üzere, 1000 binükleer hücrede bulunan MN, NBUD ve NPB sayıları kaydedildi. Hücre çoğalmasını belirlemek üzere de 1000 mononükleer hücre sayılırken bulunan binükleer, multi nükleer hücreler skorlandı ve NBİ formülü kullanılarak nükleer bölünme indeksleri hesaplandı (114, 131, 132).

3.4. CBMN-cyt Yöntemi ile Hücreleri Tanımlama Kriterleri

Sitokinezi bloke edilmiş BN hücrelerde; MN, NPB ve NBUD frekanslarını değerlendirebilmek için, BN hücrelerin aşağıdaki kriterleri içermesi gereklidir;

- Hücreler iki çekirdekli olmalıdır.
- BN hücredeki iki çekirdeğin boyutu yaklaşık olarak aynı olmalı ve yoğun boyanmalıdır.
- BN hücredeki iki çekirdek, nükleoplazmik bir köprü ile bağlı olabilir. Bu nükleoplazmik köprü, çekirdek çapının 1/4'ünden büyük olmamalıdır.
- BN hücredeki iki çekirdek birbirine temas edebilir, ancak ideal olarak birbirinin üzerinde olmamalıdır. İki çekirdeği üst üste çıkmış olan bir hücre eğer her bir çekirdeğin çekirdek sınırları ayırt edilebiliyorsa sayılmalıdır.
- BN hücrenin sitoplazmik sınırı ya da zar yapısı bozulmamış olmalı ve komşu hücrelerin sitoplazmik sınırından açıkça ayırt edilebilir olmalıdır.

3.4.1. BN Hücrelerdeki DNA hasarı (MN, NPB ve NBUD) için değerlendirme kriterleri;

MN için kriterler:

MN'ler morfolojik olarak çekirdek ile aynı özellikte olup çekirdekten daha küçüktür. MN'leri skorlayabilmek için özellikler aşağıda belirtilmiştir (Şekil 3.1) (114, 123) ;

- a) İnsan lenfositlerindeki MN'lerin çapı, genellikle ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında olabilir.

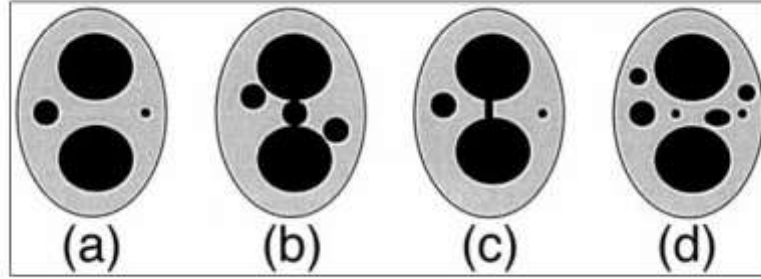
b) MN'ler kırılğan olmamalıdır ve böylece boyanmış partiküller gibi artefaktlardan kolayca ayırt edilebilir olmalıdır.

c) MN'ler ana çekirdekle birleşmiş veya bağlantılı olmamalıdır.

d) MN'ler ana çekirdeğe temas edebilir ancak üstüne binmiş olmamalıdır ve MN sınırı çekirdek sınırından ayırt edilebilir olmalıdır.

e) MN'ler genellikle ana çekirdekle aynı yoğunlukta boyanmalıdır, ana çekirdek bazen daha yoğun boyalı olabilir.

f) Hücrelerin 6 MN'den daha fazlasını içermemesi gerekir.



Şekil 3.1. BN Hücre İçindeki MN'lerin Morfolojik Görüntüleri. (a) MN'lerin çapı ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında olabilir; (b) BN hücreye temas eden ve üst üste binmemiş MN'ler; (c) İki MN içeren birbirine NPB ile bağlı BN hücre; (d) Farklı boyutlarda altı MN içeren BN hücre (123)

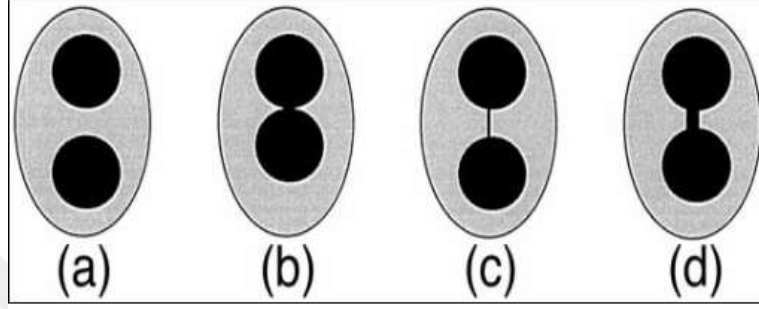
NPB sayma kriterleri

NPB'ler, BN hücrenin içinde çekirdek ile bağlantılı ve içerisinde DNA bulunan bir yapıdır. NPB'ler, yanlış tamir edilmiş DNA kırıklarının veya telomer uç birleşmelerinin sonucu ortaya çıkan disentrik kromozomlardan orijin alır. Bu sentromerler anafaz boyunca karşı kutuplara çekilir. NPB'leri skorlayabilmek için özellikler aşağıda belirtilmiştir (Şekil 3.2) (114, 123) ;

a) NPB'lerin genişliği çok önemlidir ancak hücredeki çekirdeğin boyutunun 1/4'ünü geçmemelidir.

b) NPB'ler aynı zamanda ana çekirdek ile aynı boyanma özelliklerine sahip olmalıdır.

- c) Bazen bir BN hücrede birden fazla NPB gözlenebilir.
- d) NPB içeren bir BN hücrede bir ya da daha fazla MN bulunabilir.
- e) Bir ya da daha fazla NPB içeren BN hücrede, MN bulunmayabilir.



Şekil 3.2. BN Hücre İçindeki NPB'nin Morfolojik Görüntüleri. (a) İdeal BN hücre; (b) Çekirdekleri birbirine değen BN hücre; (c) Dar bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre; (d) Geniş bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre (123).

NBUD sayma kriterleri

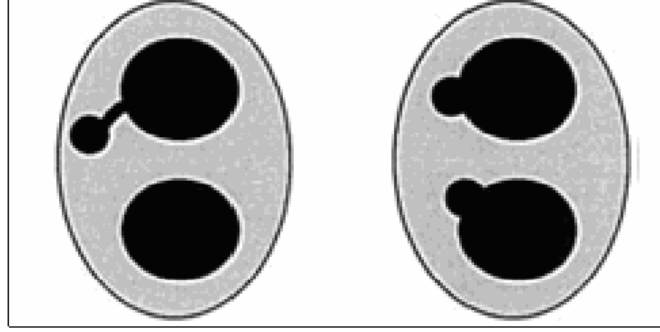
NBUD'ler, gen amplifikasyonunun ve DNA tamir komplekslerinin eliminasyonunun işaretidir. NBUD'leri skorlayabilmek için özellikler aşağıda belirtilmiştir (Şekil 3.3) (114, 123) ;

a) NBUD'ler, MN'lere benzer görünümündedir, ancak MN'dan farkı NBUD'un çapından daha dar bir köprü veya çok daha ince bir köprü ile çekirdeğe bağlı görünümde olmasıdır.

b) NBUD'ler, genellikle MN ile aynı boyanma yoğunluğuna sahiptir.

c) Nadiren NBUD'ler çekirdekle bitişik bir vakuol içinde yerleşmiş olarak görünebilir. Çekirdeğe değen bir MN'den NBUD'yi ayırt etmek zordur ancak genelde NBUD olarak kabul edilir.

Çekirdekte bir nükleer materyal çıkıntısı varsa ve çekirdekten açık bir ayrımı yoksa NBUD olarak kabul edilemez. Bu oluşumlara nükleer bleb (kabarık) adı verilir, fakat önemi bilinmemektedir.



Şekil 3.3. BN Hücre İçindeki NBUD'lerin Morfolojik Görüntüleri (123).

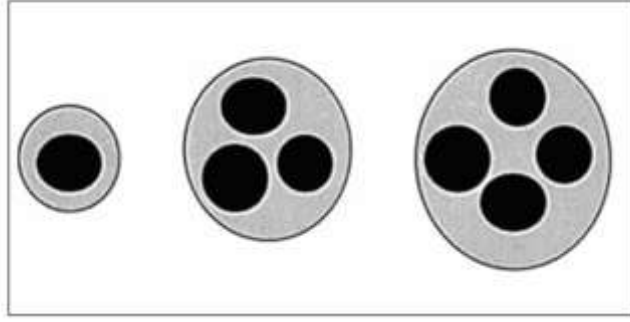
3.4.2. Sitostatik etkiler için, Bir- (mono-nükleer), iki- (bi-nükleer), üç- (trinükleer) ve dört- (tetra-nükleer) çekirdekli hücrelerin sayılma kriterleri;

Sitostatik etkileri ve mitotik bölünme oranını belirlemek için, mono-nükleer, bi-nükleer, tri-nükleer ve tetra-nükleer hücreler skorlanır. Nükleer bölünme oranı, nükleer bölünme indeksi (Nuclear division index; NBİ) formülü kullanılarak ve bir ve çok çekirdekli hücre sayıları skorlanarak hesaplanabilir. Bir ve çok çekirdekli hücreler aşağıdaki özellikleri içermelidir (114, 123) (Şekil 3.4) ;

a) Bir, iki, üç ve dört çekirdekli hücreler, bütünlüğünü koruyan bir sitoplazma içermeli ve normal çekirdek morfolojisi gösteren canlı hücreler olmalıdır. Bu hücreler, sırasıyla bir, iki, üç veya daha fazla çekirdek içerebilir.

b) Duruma göre iki çekirdekli veya çok çekirdekli hücreler bir veya daha fazla MN, NPB veya NBUD içerebilir veya içermeyebilir.

Nekrotik ve apoptotik hücreler canlı hücreler arasında sayılmazlar. Nadir olarak da, bazen hücre döngüsü zamanı normale göre çok kısa veya sitokinez blok zamanı çok uzun ise dört çekirdekten daha fazla çekirdek içeren hücreler gözlenebilir.



Şekil 3.4. Bir ve Çok (Üç ve Dört) Çekirdekli Hücrelerin Morfolojik Görüntüleri (123).

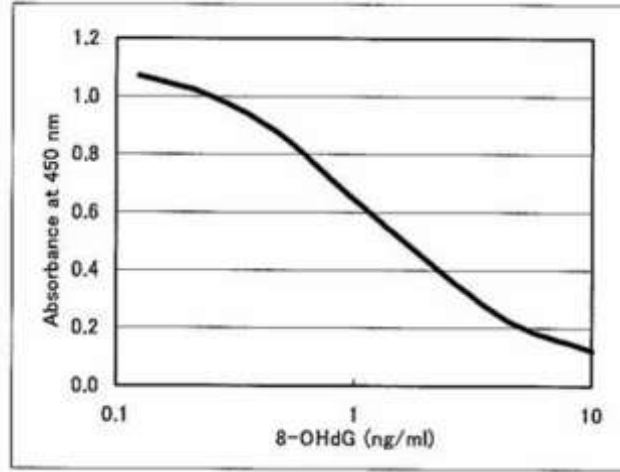
NBİ'nin hesaplanması

NBİ, canlı hücrelerin bölünebilme durumunun ölçümüne olanak sağlar. Bundan dolayı NBİ, hücrelerdeki sitostatik etkileri gösterir ve aynı zamanda lenfositlerdeki immun fonksiyonun belirteci olan mitojenik cevabın ölçümünü de sağlar. NBİ, Eastmond ve Tucker'ın metoduna göre hesaplanmaktadır (133). 1, 2, 3 ve 4 çekirdekli hücrelerin sıklığını belirlemek üzere 500 veya 1000 bir-çekirdekli canlı hücre sayılır ve NBİ: $(M1 + 2 M2 + 3 M3 + 4 M4 / N)$ formülü kullanılarak NBİ hesaplanır. M1-M4; 1-4 çekirdek içeren hücrelerin sayısını belirtir ve N, hesaplanan toplam canlı hücre sayısını belirtir (nekrotik ve apoptotik hücreler dahil edilmez). NBİ, lenfositlerin mitojenik yanıtı yanısıra çalışmada kullanılan çeşitli ajanların sitostatik etkilerinin değerlendirilmesinde kullanışlı bir parametredir. NBİ'nin en düşük değeri olasılıkla 1.0'dır. Sitokinez-blok periyodu süresince bölünme başarısız olursa ve bundan dolayı hücrelerin tamamı mononükleer kalırsa bu durum oluşabilir. Eğer tüm canlı hücreler bir nükleer bölünmeyi tamamlar ve bundan dolayı hücrelerin hepsi binükleer olursa NBİ değeri 2.0 olabilir. Eğer sitokinez-blok fazı boyunca birden fazla nükleer bölünmeyi tamamlayıp ve bundan dolayı 2'den fazla çekirdek içeren canlı hücrelerin oranı fazla olursa, NBİ değeri 2'den fazla olabilir (114).

3.5. 8-OHdG Seviyelerinin Belirlenmesi

Hasta ve kontrol kişilerden alınan kan örnekleri CBMN-cyt yöntemi için ekim yapıldıktan hemen sonra, 1500 g'de 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve 8-OHdG ölçümü yapılmaya kadar plazma örnekleri -80°C 'de depolandı. Plazma örneklerinde 8-OHdG ölçümü, ticari 8-OHdG ELISA kiti (IM-KOGHS040914E;

JaICA, Nikken SEIL Co., Ltd., Shizouka, Japan) kullanılarak yapıldı. Plate üzerinde standartların ve hasta kontrol kişilere ait plazma örneklerinin konulacağı kuyucuklar belirlendi. Kitte belirtilen protokole uygun olarak, plate üzerine plazma örnekleri eklendikten sonra, önce primer antikor, sonra sekonder antikor ile inkübe edildi. Daha sonra kromatik substrat ve renk değişimi reaksiyonunu durdurmak üzere de stop solüsyonu ilave edildi. Plazma örneklerinin 8-OHdG seviyeleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan Thermo Scientific Multiskan FC Microplate Photometer ELISA cihazı kullanılarak 450 nm'de absorbansları ölçüldü. Standart eğri, ELISA kiti içinde mevcut olan standartlardan elde edilen 8-OHdG seviyelerine göre belirlendi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Standart Eğri

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadaki istatistiksel analizler için SPSS (22.0) for windows programı kullanılarak yapıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan değişkenler için ortanca ve çeyrekler arası aralık (ÇAA) olarak %25-75 yüzdellik dilim değerleri kullanıldı. AS hastalarına ve kontrollere ait CBMN-cyt yöntemi parametreleri ve plazma 8-OHdG seviyeleri, istatistiksel olarak nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Ayrıca hasta ve kontrol kişilere ait CBMN-cyt yöntemi parametreleri ve plazma 8-OHdG seviyelerinin, yaş, VKİ, ESH, CRP, HLAB27 ve BASDAI değerleri ile ilişkisi de Spearman's rho korelasyon analizi ile değerlendirildi. *P* değeri <0.05 olduğunda anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma süresi boyunca yeni tanı konulmuş 60 AS hastasından, çalışmaya dahil edilme ve dışlama kriterlerine göre 25'i çalışmaya dahil edildi. İnflamatuvar bel ağrısı, gebelik, emzirme, ilaç kullanımı, obezite ($VKİ \geq 30$) ve artrit hikayesi olmayan hastane çalışanları ve hastane ziyaretçilerinden 25 sağlıklı gönüllü çalışmanın kontrol grubunu oluşturdu (Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Kişilerin Demografik Özellikleri

	Cinsiyet (Kadın)		Cinsiyet (Erkek)		P değeri
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
AS grubu (n=25)	18	%72,0	7	%28,0	0,550
Kontrol grubu (n=25)	15	%60	10	%40	
Tüm hastalar (n=50)	33	%66	17	%34	

AS: Ankilozan Spondilit

AS hastalarının yaş (yıl) ortalaması 35.00 (29.0-44.0), kontrol kişilerin yaş (yıl) ortalaması 34.00 (29.00-39.50)'dü. AS hastalarının VKİ (kg/m²) ortalaması 25.21 (22.87-26.99)'ydi. Kontrol kişilerin VKİ ortalaması 25.21 (23.30-26.92)'ydi. AS hastalarının BASDAI değeri ortalamaları 5.70 (4.55-6.80)'di. AS hastalarının sedimentasyon (mm/s) ortalamaları 14.0 (5.00- 21.00)'dü. Kontrol kişilerin sedimentasyon ortalamaları 7.00 (4.00-13.00)'ydi. AS hastalarının CRP (mg/L) ortalamaları 4.09 (1.09-7.64)'du. Kontrol kişilerin CRP ortalamaları 1.65 (0.39-2.07)'ti (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hasta ve Kontrol Kişilerin Bazal Değerleri

	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	P değeri *
	Median (ÇAA)	Median (ÇAA)	
Yaş (yıl)	35.00 (29.00- 44.00)	34.00 (29.00- 39.50)	0.854
VKİ (kg/m²)	25.21 (22.87- 26.99)	25.21 (23.30- 26.92)	0.915
BASDAI	5.70 (4.55- 6.80)	-	-
ESH (mm/s)	14.00 (5.00- 21.00)	7.00 (4.00- 13.00)	0.115
CRP (mg/L)	4.09 (1.09- 7.64)	1.65 (0.39- 2.07)	0.004

ÇAA: Çeyrekler Arası Aralık, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, BASDAI: Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi, Sedimentasyon: ESH, CRP: C-Reaktif Protein

* Mann-Whitney U test

AS hastası ve kontrollere ait MN'li BN hücre frekansı, NPB'li BN hücre frekansı, NBUD'li BN hücre frekansı, metafaz sayısı, BN hücre frekansı, NBİ değerleri ve 8-OHdG seviyeleri median- çeyrekler arası aralık olarak verilmiştir. Bu değerlerin istatistiksel olarak karşılaştırılması, nonparametrik testlerden Mann-Whitney U Testi kullanılarak yapılmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Hasta ve Kontrol Kişilere Ait CBMN-Cyt Yöntemi Parametreleri ve Oksidatif DNA Hasarı Sonuçları

	Hasta	Kontrol	<i>P</i> değeri*
	Median (ÇAA)	Median (ÇAA)	
MN'li BN Hücre Frekansı (%)	1.50 (1.10- 1.90)	0.60 (0.35-0.80)	<0.001
NPB'li BN Hücre Frekansı (%)	0.50 (0.30-1.00)	0.30 (0.20-0.70)	0.043
NBUD'li BN Hücre Frekansı (%)	0.40 (0.20-0.50)	0.20 (0.10-0.25)	0.001
Metafaz Sayısı (‰)	66.00 (37.50-102.00)	113.00 (83.50-146.00)	0.002
BN Hücre Frekansı (%)	20.30 (16.90-23.25)	29.30 (23.60-32.90)	<0.001
NBİ	1.18 (1.16-1.20)	1.24 (1.20-1.26)	<0.001
8-OHdG seviyesi (ng/mL)	1.93 (0.51- 2.29)	1.00 (0.71-1.62)	<0.001

ÇAA: Çeyrekler Arası Aralık, BN hücreler: Binükleer hücreler, MN: Mikronükleus, NPB: Nükleoplazmik köprü, NBUDs: Nükleer buds, NBİ: Nükleer bölünme indeksi

*Mann Whitney U testi

AS hastaları ve kontrol grubu kişilerin MN'li, NPB'li, NBUD'li BN hücre frekansları (%), Metafaz sayısı (‰), BN hücre frekansı (%), NBİ değerleri ve 8-OHdG seviyeleri (ng/mL) değerleri Mann-Whitney U Testi ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çalışmaya alınan AS hasta grubunda HLA-B27 (+) kişi sayısı 9 iken, HLA-B27 (-) kişi sayısı 16 idi. AS hastalarındaki HLAB27 (+) ve (-) açısından MN'li, NPB'li, NBUD'li BN hücre frekansları (%), metafaz sayısı (‰), BN hücre frekansı (%), NBİ değerleri ve 8-OHdG seviyeleri (ng/mL) median-çeyrekler arası aralık olarak verilmiş ve Mann-

Whitney U Testi ile karşılaştırılmıştır, ancak aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. HLA-B27 (+) ve HLA-B27 (-) Hasta Kişilere Ait CBMN-Cyt Yöntemi Parametreleri ve Oksidatif DNA Hasarı Sonuçları

	HLA-B27 (+)	HLA-B27 (-)	<i>P</i> Değeri*
	Median (ÇAA)	Median (ÇAA)	
MN’li BN Hücre Frekansı (%)	1.80 (1.50-2.15)	1.35 (1.00-1.87)	0.083
NPB’li BN Hücre Frekansı (%)	0.80 (0.50-1.40)	0.50 (0.20-0.85)	0.060
NBUD’li BN Hücre Frekansı (%)	0.40 (0.25-0.55)	0.30 (0.20-0.47)	0.285
Metafaz Sayısı (%)	37.00 (23.50-87.00)	79.50 (54.00-104.50)	0.070
BN Hücre Frekansı (%)	22.70 (15.30-34.95)	19.05 (17.10-22.50)	0.713
NBİ	1.19 (1.14-1.28)	1.17 (1.16-1.19)	0.690
8-OHdG seviyesi (ng/mL)	1.97 (1.34- 2.43)	1.86 (1.54-2.17)	0.651

ÇAA: Çeyrekler Arası Aralık, HLA-B27 (Human Leukocyte Antigen-B27), BN hücreler: Binükleer hücreler, MN: Mikronükleus, NPB: Nükleoplazmik köprü, NBUDs: Nükleer buds, NBİ: Nükleer bölünme indeksi

*Mann Whitney U testi

Hasta ve kontrol kişilere ait CBMN-cyt yöntemi parametreleri ve plazma 8-OHdG seviyeleri ile yaş, VKİ, BASDAI, sedimentasyon ve CRP değerleri arasındaki ilişkileri değerlendirmek için Spearman’s rho korelasyon analizi yapıldı.

Hasta grubunda yaş ile sedimentasyon ve CRP değerleri arasında ve VKİ ile sedimentasyon ve CRP değerleri arasında pozitif yönde orta derece korelasyon bulundu. Hasta grubunda sedimentasyon ile CRP değerleri arasında da pozitif yönde yüksek derece korelasyon bulundu (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Hasta Kişilerde Parametreler Arasındaki Korelasyon

Parametreler	<i>r</i>	<i>p</i>
Yaş-ESH	0.507	<0.05
Yaş-CRP	0.417	<0.05
VKİ-ESH	0.483	<0.05
VKİ-CRP	0.581	<0.01
ESH-CRP	0.653	<0.001

Kontrol grubunda ise yaş ile 8-OHdG seviyeleri arasında da negatif yönde orta derece ve VKİ ile CRP değerleri arasında pozitif yönde orta derece korelasyon bulundu (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Kontrol Kişilerde Parametreler Arasındaki Korelasyon

Parametreler	<i>r</i>	<i>p</i>
Yaş-8OHdG	-0.431	<0.05
VKİ-CRP	0.433	<0.05

5. TARTIŞMA

Bilindiği kadarı ile, AS'de DNA hasarı, mikronukleus ve benzer diğer DNA hasarı göstergeleri üzerine yapılmış literatürde çalışma yoktur. Bu alışma, AS hastalığının patogenezinde genom/DNA hasarını araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızda AS hastalarının patogenezinde genotoksik ve sitostatik etkiler, periferik kan lenfositlerinde, CBMN-cyt yöntemi ile araştırılmıştır. CBMN-cyt yöntemi parametreleri; sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırılarak, AS hastalığının patogenezinde genom hasarı ile ilişkisinin olup olmadığı değerlendirilmiştir.

İlginç olarak alışmamızda; AS hastalarında kontrol grubu kişilere göre MN'li, NPB'li, NBUD'li BN hücre frekansları (%) kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur bunun yanında metafaz sayısı (%), BN hücre frekansı (%), NBİ değerleri ise kontrollere göre düşük bulunmuştur. Daha önce genom/DNA hasarı belirteçleri alışılmayan AS hastalığı; Behçet ile benzer patogenezi ve klinik özelliklere sahiptir ve yapılan önceki iki çalışmada, sağlıklı kontrol grubuna göre MN frekansı yüksek olarak bulunmuş ve hastalık gelişiminde rol oynayabileceği düşünölmüştür (4, 5). Aynı zamanda daha önce yapılan çalışmalarda RA, Ailevi Akdeniz Ateşi, SLE (Sistemik Lupus Eritematozus), Skleroderma (SSc) gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda mikronökleus sitom testi ile bakılan parametrelerde; bu hastalıkların patogenezi üzerindeki rolüne, tanı konulurken biyobelirteç olarak kullanılabilirliğine, hastalık aktivitesi ile olan ilişkisine ve verilen immünsüpresif tedavi ile değerinde artış olup olmamasına bakılmıştır (4-6, 8).

Ramos-Remus ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada RA hastalarında MN testi kullanılarak MN değerlendirilmesi yapılmıştır (134). Bu alışmada; RA hastalarında

MN frekansının arttığını, MTX (Metotreksat) kullanımıyla MN frekansının değişmediğini, dolayısıyla genotoksisitenin MTX ile ilişkili olmayıp RA'nın kendisiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Folik asit takviyesi ise MN sayısını etkilememiştir. Bununla birlikte, RA'nın MN'yi indüklediği şeklindeki bulgularında Sjögren sendromu, klorokin ve NSAİİ kullanımı gibi, MN indüksiyonu ile de ilişkili olabilecek diğer faktörler analiz edilmemiştir. Bizim çalışmamızda MN indüksiyonu yapabilen ilaç kullanımı, ek kronik hastalık öyküsü dikkate alınmış ve buna göre hasta ve sağlıklı kontrol grubu seçilmiştir.

Karaman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, RA'lı hastalarda ve sağlıklı kontrollerde periferik lenfosit kültürlerinde MN sıklığını test etmiş; yazarlar, MN ve BN hücrelerinin sayısının, kontrollere kıyasla RA'da anlamlı şekilde yüksek olduğunu bulmuşlardır (120).

Genetik lezyonların ve DNA hasarının RA'nın patogeneziinde bir etkisi olup olmadığını belirlemek amacıyla Karaman ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, RA'lı hastalarda komet testi ve MN oluşumu değerlendirilmiş ve ayrıca çalışmada RA'daki oksidatif stresin DNA hasarı ile bir ilişkisi olup olmadığını göstermek amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda; komet testi uzunluğu, MN frekansları ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin, hem aktif hem de inaktif dönemdeki hastalarda kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (120). Böylece, RA hastalarında artmış bir DNA hasarı olduğunu ve bu durumun RA patogeneziyle ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, AS hastalarında kromozomal DNA hasarının (MN, NPB ve NBUD frekanslarının) kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur.

Karaman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da Behçet hastalığı (BH) olan kişilerde kardeş kromatid değişimi ve MN frekansları değerlendirilmiş ve Behçet hastalığının aktif ve inaktif dönemlerinin her ikisinde de sağlıklı gönüllülere göre MN frekansı artmış bulunmuştur (4).

Hamurcu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Behçet hastalığı olan hastaların lenfositlerinde ve oral mukozalarındaki ekfoliyatif (dökülmüş) hücrelerinde MN sıklığı değerlendirilmiş ve her ikisinde de tedavi durumundan bağımsız olarak MN sıklığı

kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (5). Bu çalışmanın bulguları; BH'de genomik DNA hasarının arttığını ve bu hastalarda yetersiz bir DNA onarımı türü olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte; genetik değişikliklerin muhtemelen BH'de etkin olan immünopatolojik mekanizmada en azından ikincil bir rol oynayabileceğini ve primer DNA defekti tarafından belirlenmediğini saptamışlardır.

Severin ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada siklofosamid alan SLE hastaları ve SLE olmayıp herhangi bir tedavi almayan kontrol gruplarının periferik kan lenfositlerinde MN hücrelerinin sıklığı analiz edilmiş ve tedavi için siklofosamid alan SLE hastalarında kontrol grubuna göre yüksek MN frekansları bulunmuştu (6). Bu yüksek MN frekansı, tedavinin başlanmasından 48 saat sonra gözlenmişti.

Migliore ve arkadaşlarının SLE ve SSc hastalarında lenfositlerde spontan sitogenetik hasar sıklığını değerlendirmek amacıyla MN testini kullanarak yaptıkları bir çalışmada MN frekansının SLE ve kontrol grubu arasında farklı olmadığı ancak özellikle anti-sentromer antikoru (ACA) pozitif ve anti Sc170'i negatif olan SSc hastalarında ise anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (7).

Porciello ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada SSc'li 43 hasta, idiopatik raynaud fenomeni (RFn) olan 13 hasta ve şüpheli sekonder RFn olan 16 hastanın kültüre edilmiş periferik lenfositlerinde spontan kromozom hasarı (MN testi) yapılmış. Hastalar ayrıca ANA (Anti Nükleer Antikor), ACA veya Sc170 otoantikor varlığı açısından da sınıflandırılmış. SSc'li hastalarda ve sekonder RFn'li hastalarda kontrollerden daha yüksek MN frekansları saptanmış. Ayrıca, ACA pozitif hastaların, en yüksek MN frekansını gösterdiğini, böylelikle ACA'nın sitogenetik anomalilerin belirlenmesinde olası bir rol olduğunu düşünmüşler (135).

Al-Rawi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; SLE'li hastalar ile kontrol grubu alınmış ve her iki grupta hücrel ve nükleer anormallikleri ölçmek için bukkal mikronükleus sitom testi kullanılmış. SLE hastalarında kontrollere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek MN, NBUD, BN hücreler, bazal hücreler, yoğunlaştırılmış kromatin hücreleri, karyorrektil hücreler, piknotik hücreler ve karyolitik hücreler görülmüştür. SLE tanısında bukkal MN sitom tayin skoru > 4, en yüksek doğruluğa (%93.1), neredeyse mükemmel pozitif prediktif değere (ön olasılıkta % 50.1-%98.1 ve ön test olasılığında %90-%99.8), %87.9 duyarlılığa ve %98.3 özgüllüğe sahipti.

Sonuçta; SLE hastalarında DNA hasarı biyobelirteçleri, proliferatif potansiyel ve hücre ölümü önemli ölçüde artmış saptanmış ve bukkal mikronükleus sitom testi, klinisyenler için SLE gelişme riski yüksek olan bireyleri değerlendirmenin geçerli ve kolay bir yolu şeklinde sonuca bağlanmıştır (8). Bizim çalışmamızda da değerlendirilen AS hastalarındaki MN'li BN hücre frekansı (%), NPB'li BN hücre frekansı, NBUD'li BN hücre frekansı kontrollere göre anlamlı yüksek bulundu.

CBMN-cyt yöntemi; kromozomal anormalliklerin ölçümü için güçlü bir metoddur. CBMN-cyt yöntemi ile eş zamanlı olarak; kromozom instabilitesi/genom hasarı, hücre çoğalması ve hücre ölümü belirlenebilmektedir. Aynı hücrelerde; DNA hasarını belirlemek için; kromozom kırıkları ve/veya kromozom kayıplarını (anöploidi) gösteren MN'ler; gen amplifikasyonlarını gösteren NBUD'ler; hatalı DNA tamirlerini ve/veya telomer uç birleşmelerinin sonucu oluşan disentrik kromozomları gösteren NPB'ler skorlanıp, hücre çoğalmasını belirlemek için; mono-nükleer, bi-nükleer, multi-nükleer hücreler skorlanarak, hücre çoğalma oranları hesaplanabilmektedir.

Kromozom düzeyinde DNA hasarının incelenmesi genetik toksikolojinin önemli bir parçasıdır çünkü kromozomal mutasyon karsinogenezde önemli bir olaydır (136). Ekzojen veya endojen faktörlerden kaynaklanan herhangi bir genotoksik stres, kromozomal instabilitenin bir göstergesi olarak bir MN oluşumuna yol açar. Kromozomal hasarın ve MN oluşumunun birçok malignitenin patogenezinde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Araştırmalar, MN tahlilinin risk tahmininde, taramada, tanıda, prognozda ve kanserde tedavi-cevap göstergesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir (137). Son zamanlarda, büyük bir uluslararası kohort çalışması sağlıklı kontrollerdeki MN sıklığı ile kanser riski arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (138). MN analizleri, kromozom hasarını değerlendirmek için tercih edilen yöntemlerden biri olarak ortaya çıkmıştır, çünkü hem kromozom kaybı hem de kromozom kırılmasının güvenilir bir şekilde ölçülmesini sağlar (114). Biz de çalışmamızda AS hastaları ve kontrol grubu kişilerde MN, NPB, NBUD, BN hücre frekansları (%), Metafaz sayısı (%), BN hücre frekansı (%) ve NBI değerlerini çalıştık. Çalışmamızın sonucunda MN, NPB ve NBUD değerleri AS'li hastalarda kontrollere göre anlamlı yüksek bulundu.

Ayrıca insan dokularında oksidatif olarak modifiye edilmiş DNA miktarlarının artması, özellikle tümörlerde saptanmıştır (128). 8-OHdG oluşumunda DNA'ya yansıyan oksidatif hasar, önemli mutagenез ve kanserojendir (139). Hücrelerin yaşaması için oksidatif DNA modifikasyonuna aracılık etmek ve bunları ortadan kaldırmak/onarmak için birçok onarım enzim sistemi vardır. Onarılamayan oksidatif lezyonlar kansere neden olma riskini artırarak mutasyonlara neden olabilir (140). Çalışmamızda bulunan kontrollere göre AS hasta grubundaki artmış 8-OHdG seviyeleri kanser risk artışını gösterebilir. Fakat kanser çok basamaklı ve multifaktöriyel bir oluşum olduğu için yalnızca AS 'nin kendisinin kanser riski yaptığını söylemek zordur ve başka çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Her ne kadar AS'nin patogenezi tam olarak açıklığa kavuşturulmamış olsa da immün mekanizmaların AS'nin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Geçtiğimiz yıllarda araştırmacılar, bazı otoimmün hastalıkları olan bireylerde kanser riskinin arttığını bildiren çeşitli çalışmalarla malignite ve otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Örnek olarak, RA'da genel malignite %28 artmış risk ile ilişkili bulunmuştur (141). Yıllar boyunca, RA hematolojik ve solid maligniteler açısından artmış bir risk ile ilişkilendirilmiştir. DMARD tedavisi ve biyolojik tedavilerde de artmış bir kanser riski söz konusudur (142).

Retrospektif bir Kore kohort çalışmasında; ortalama 7.4 yıl takip süresi boyunca 2104 RA hastası takip edilmiş ve RA'lı hastalarda non-Hodgkin lenfomada artmış bir risk olduğu gösterilmiştir, fakat mide kanseri için daha düşük bir risk bulunmuştur (143). Benzer şekilde, 2003 ve 2012 yılları arasında 66.953 hasta yılından oluşan daha geniş çaplı bir Japon kohort veritabanı, erkeklerde rektum ve böbrek, kadınlarda mide ve rektum kanserlerinde ve hem erkeklerde hem de kadınlarda karaciğer kanserinde azalma olduğunu saptamıştır (144). Bununla birlikte, her iki cinsiyetteki RA hastalarında lenfoma riski anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, ancak RA'lı kadınlarda lösemi insidansı belirgin şekilde daha az bulunmuştur (145).

Literatüre bakıldığında Deng ve arkadaşlarının yaptığı bir sistematik derleme ve meta-analiz çalışmasında; AS'de malignite riski değerlendirilmiş, AS genel malignite riskinde %14'lük artış ile ilişkili bulunmuş ve kontrollere kıyasla, AS'li hastalar sindirim sistemi malignitesi, multipl miyelom ve lenfomalar için özel olarak artmış risk

altındadır denilmiştir. Alt grup analizinde de yüksek kalite kohort çalışmalarından elde edilen kanıtlara göre; Asya kökenli AS hastalarının genel olarak malignite açısından yüksek risk altında olduğu gösterilmiştir. Spesifik risk faktörlerini belirlemek ve tedavi etkilerini değerlendirmek için geniş çaplı uzun süreli çalışmalardan elde edilen bulguların doğrulanması gerektiğini düşünmüşler (146).

Daha önceki yapılan çalışmalarda MN sıklığı ve kanser arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştu. Bu sonuçlara göre ve literatürde AS'li hastalarda artmış kanser riski bulunduğu için çalışmamızda yüksek bulunan MN frekansı, NPB, NBUD değerleri AS'li hastalarda kanser riski açısından anlamlı olabilir.

Çalışmamızda bakılıp AS'li hastalarda kontrollere göre düşük bulunan metafaz sayısı (%), BN hücre frekansı (%), NBİ değerleri; hücre çoğalmasını (sitostazi) gösteren parametreler olup beklenen diğer parametreleri destekler şekilde yüksek bulunmasıydı. Daha önce Teng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Anhui popülasyonunda periferik kan lenfositlerinde CBMN yöntemi ile NBİ değerlerine bakılmış ve erkeklerin NBİ değerinin kadınlardan düşük olduğu, farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0.001$); halen sigara içenlerin NBİ değerlerinin sigara içmeyenlere göre daha düşük olduğu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve içki tüketen grupların NBİ'sinin, içmeyen nüfusunkinden düşük olduğunu ve farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptamışlar (147). Bizim çalışmamıza alınan AS'li hastaların sigara ve içki tüketmiyor olması ve AS'li grupta NBİ değerinin düşük bulunması Teng ve ark. nın yaptığı çalışma ile çelişmektedir. Bu nedenle bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiği açıktır.

Diğer çalışmalarda ayrıca kronik inflamatuvar hastalıkları olan bireylerden elde edilen serum, periferik lökositler ve/veya tümör dokularında oksidatif hasarların ölçümüne odaklanılmıştır, bunun nedeni; oksidatif stres durumunda reaktif oksijen türevleri (ROS) aşırı üretilirse veya antioksidan sistemler tarafından yetersiz şekilde uzaklaştırılırsa, bir dizi dejeneratif, neoplastik ve immün ya da inflamatuvar bozukluğun da dahil olduğu hücrel DNA, protein ve lipitlerde oksidatif hasara neden olurlar. ROS oluşumunun çeşitli inflamatuvar hastalıklarda arttığı ve dolayısıyla inflamasyonun potansiyel olarak DNA, lipit ve proteinlerde oksidatif hasara sebep olduğu gösterilmiştir (9, 10). Ayrıca

oksidatif stresin ER'de strese neden olarak UPR'ye sebep olduğu ve inflamatuvar yolları tetikleyebildiği saptanmıştır (12, 13).

8-OHdG; nükleer ve mitokondrial DNA'da, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin veya 8-okso-7,8-dihidro-2-deoksiguanozin (8-oksodG), serbest radikal kaynaklı oksidatif lezyonların baskın formlarından biridir ve bu nedenle oksidatif stres ve karsinogenez için bir biyobelirteç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Çalışmalar idrar 8-OHdG'nin çeşitli kanserlerin ve dejeneratif hastalıkların risk değerlendirmesi için iyi bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir (14). İnflamasyon, patojenlere karşı doğal bir savunma mekanizmasıdır ve mikrobiyal ve viral enfeksiyonlar, alerjenlere maruz kalma, radyasyon ve toksik kimyasallar, otoimmün ve kronik hastalıklar, obezite, alkol tüketimi, tütün kullanımı, günümüzde yüksek kalorili diyet gibi birçok patojenik hastalık ile ilişkilidir. Yüksek ROS üretimi ile bağlantılı kronik hastalıkların birçoğu oksidatif strese ve çeşitli protein oksidasyonlarına yol açmaktadır (126). Ayrıca, protein oksidasyonunda; inflamatuvar sinyal moleküllerinin çok büyük bir kısmı ve peroksiredoksin 2 (PRDX2) inflamatuvar sinyal olarak kabul edilmiştir. İnflamatuvar uyarıcılar, her yerde bulunan bir redoks aktif hücre içi enzimi olan PRDX2'nin salınımını uyarır. Salınımından sonra redoks bağımlı bir inflamatuvar aracı olarak görev yapar ve TNF- α üretmek ve salgılamak için makrofajları aktive eder. Çalışmalarda, makrofajlardan gelen PRDX2 ve tioredoksinin (TRX), hücre yüzeyi reseptörlerinin redoks durumunu değiştirebildiği ve inflamatuvar yanıtın indüklenmesine izin verdiği böylece kronik inflamatuvar hastalıklarda potansiyel yeni bir terapötik hedef sağladığı sonucuna varılmıştır (11). Bizim çalışmamızda da TNF- α ' ve UPR'nin hastalık patogenezinde rol oynadığı bir kronik inflamatuvar hastalık olan AS'de oksidatif DNA hasarını belirlemek için kullanılan en yaygın yöntemlerden birisi olan 8-OHdG seviyeleri kontrollerle karşılaştırılarak ölçülmüştür (148). Bunun sonucunda AS hastalarında kontrollere kıyasla 8-OHdG seviyeleri anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Bu durum bize oksidatif stres markırlarından biri olan 8-OHdG'nin AS hastalığının patogenezinde etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Başkol ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; RA'lı hastalarda protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu araştırılmış ve nötrofil aktivasyonunun ve oksidatif stres kaynağı oksidatif protein hasarının (OPD), malondialdehitin (MDA) belirteçleri olarak advanced

oxidation protein products (AOPP) ve total tiyol (T-SH) seviyeleri ölçülerek RA patogenezindeki önemi saptanmaya çalışılmış. Çalışmanın sonucunda; serum myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, AOPP, MDA ve tiyol düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş. Aktif ve inaktif RA grupları kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve her parametre arasında anlamlı fark saptanmış. Serum MPO aktivitesi, AOPP, MDA ve T-SH seviyeleri hem aktif hem de inaktif RA hastalarında kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuş. Çalışma sonucunda; yüksek MPO içeriği nedeniyle en önemli klorlu oksidan kaynağını oluşturan nötrofillerin, RA hastalarında oksidatif strese aracılık eden yeni bir proinflamatuvar bileşik sınıfı olarak görev yapan plazma AOPP oluşumunda rol oynayabileceğini ve lipid peroksidasyonunun RA'nın patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşünmüşler. Bununla birlikte, protein oksidasyonunun, RA'nın patogenezinde, lipid peroksidasyonuna benzer şekilde önemli bir rol oynamasının güçlü bir ihtimal olduğunu savunmuşlar (149).

Literatüre bakıldığında daha önce Kırkcalı ve arkadaşlarının yaptığı Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF-Familial Mediterranean Fever) hastalarının polimorfonükleer lökosit (PMNL)'lerinde oksidatif DNA hasarı çalışması mevcuttur (150). Bu çalışmada 17 FMF hastası ve 10 kontrol kişinin PMNL'sinden DNA örnekleri izole edilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinde oksidatif olarak indüklenmiş DNA ürünlerinin seviyeleri sıvı kromatografi/kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometresi ile analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda; FMF hastalarının PMNL'lerinde istatistiksel olarak anlamlı seviyelerde mutajenik ve sitotoksik DNA lezyonlarının biriktiği saptanmıştır.

Güzel ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada FMF'li hastalarda akut faz cevabı ve oksidatif stres durumu değerlendirilmiş (151). FMF hastaları ve kontrol kişiler arasında 8-OHdG seviyelerinde ve FMF hastalarında atak ve remisyon dönemleri arasında 8-OHdG seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da AS'li hastalarda bakılan aktivasyon kriteri BASDAI ile 8-OHdG arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bulduğumuz bu sonuç; AS'deki inflamasyonda oksidatif hasar ürünleri dışında başka faktörlerin de aktif hastalıkta rolü olabileceğini akla getirmektedir.

Ishibashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek konsantrasyonda moleküler hidrojen içeren su tüketimi ile RA'lı hastalarda oksidatif stres ve hastalık aktivitesi değerlendirilmiş ve üriner 8-OHdG seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir ($p < 0.01$). Ayrıca H₂'nin RA'lı hastalarda oksidatif stresi etkili bir şekilde azalttığı ve RA semptomlarının yüksek H₂'li su ile belirgin şekilde düzeldiği saptanmıştır (152).

Broeder ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, RA'lı hastalarda insan anti-TNF alfa monoklonal antikorla tedavisi sırasında nötrofil göçü ve ROS üretimi değerlendirilmiştir (153). RA'lı hastalarda anti-TNF alfa tedavisinin lökositlerin inflamme eklemlere girişini hızlı bir şekilde azalttığı ancak nötrofil kemotaksisini ve ROS üretimini bozmadığı gösterilmiştir.

Seven ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, RA hastalarında kanda ve sinovyal sıvıda lipit, protein, DNA oksidasyonu ve antioksidan durumu ve oksidatif stres parametrelerinin hastalık aktivitesindeki etkileri değerlendirilmiştir (154). RA hastalarında lipid peroksidasyonu (tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ($p < 0.001$), lipit hidroperoksit ($p < 0.001$), konjuge dien ($p < 0.001$), karbonil ($p < 0.001$) ve 8-OHdG ($p < 0.01$) seviyeleri anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. RA hastalarında TBARS, lipit hidroperoksit, konjuge dien seviyeleri ve DAS aktivitesi arasında önemli pozitif korelasyonlar tespit edilmiştir. Bu çalışmada; lipid peroksidasyon göstergelerinin hastalık aktivitesini destekleyici belirteçler olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak; lipit, protein ve DNA oksidasyon belirteçlerinin ve bozulmuş antioksidan durumunun, RA'nın patogenezinde oksidatif stresin rolünü doğruladığını saptamışlar ve lipit peroksidasyon markırlarının, hastalık aktivitesi için belirleyici markırlar olarak görev yapabileceğini öne sürmüşlerdir. RA hastaları için yeni terapötik stratejilerde hem proteaz inhibe edici hem de serbest radikal temizleyici tedavilerin olması gerektiği savunulmuştur. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayı destekler şekilde romatizmal bir hastalık olan AS hastalarında kontrollere göre 8-OHdG seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur.

Sezer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Behçet hastalığında DNA hasarı ve diğer oksidatif stres parametrelerinin ilişkisi kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (155). DNA hasar markırı olan 8-OHdG seviyeleri BH grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuş. Ayrıca aktif ve inaktif

dönemdeki hastalar karşılaştırıldığında da aktif BH'de 8-OHdG belirgin yüksek bulunmuş. Bu sonuçlar inflamasyonun ciddiyeti ile DNA hasarı arasındaki ilişkiyi gösterebilir ve hastalığın aktivitesi hakkında fikir edinmek için yararlı bir belirteç olarak 8-OHdG kullanılabilir şeklinde yorumlanmış.

Çalışmamızda kontrol grubunda yaş ve 8-OHdG arasında negatif yönde orta derecede korelasyon bulunmuştur. Çalışmalarda; yaşlı insanların beyin, kalp ve karaciğer dokularında 8-OHdG düzeylerinde orta derecede artış olduğu saptanmıştır. Diyafram kası ve beyinde mitokondriyal DNA (mtDNA)'daki 8-OHdG'nin yaşın fonksiyonu olarak biriktiği saptanmıştır (156-158). Hayakawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 55 yaş altı deneklerde, mtDNA'daki 8-OHdG seviyesi, toplam deoksiguanozinin (dG) %0.02'sinin altındayken, 65 yaş üstü deneklerde, 8-OHdG seviyesi, yaşla birlikte artmıştır. 10 yılda % 0.25, 85 yaşında % 0.51'e ulaşmıştır (158). Çalışmamızda kontrol grubu yaş ortalaması 34.0 (29.0- 39.5) bulunmuş olup bulduğumuz bu sonuç kontrol grubunun yaş ortalamasının genç olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda bakılan AS'li 25 hastadaki HLA-B27 (+) / (-)'lik oranı; 9/16, HLAB27 (-)'liği ise %64 bulunmuştur. Chung ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, AS'li hastaların yaklaşık %10-20'si HLA-B27 taşımamakta ve nr-axSpA'ların incelenmesinde bu oran %40'a çıkmaktadır (33). Bizim çalışmamızda bulunan bu sonuç; çalışmaya alınan hasta grubu sayısının yetersiz olmasından kaynaklanabilir.

Çalışmamızda ayrıca AS hasta grubunda ailesinde de AS öyküsü olan 7 hastada bakılan MN'li, NPB'li, NBUD'li BN hücre frekansları (%), metafaz sayısı (%), BN hücre frekansı (%), NBİ değerleri ve 8-OHdG seviyeleri (ng/mL) değerleri ailesinde AS olmayan hasta grubu ile Mann-Whitney U Testi ile karşılaştırılmış, ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). Bu konuda daha büyük hasta grupları ile çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Yine çalışmaya alınan 25 AS hastasının 9'unun HLA-B27'si (+) ve 16'sının HLA-B27 (-) idi. HLA-B27 (+) ve (-) açısından MN'li, NPB'li, NBUD'li BN hücre frekansları (%), metafaz sayısı (%), BN hücre frekansı (%), NBİ değerleri ve 8-OHdG seviyeleri (ng/mL) değerleri Mann-Whitney U Testi ile karşılaştırılmış, ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). HLA-B27 (+)'liğinin genom/DNA hasarına

rolünün daha açık bir şekilde ortaya konması için hasta sayımız yetersizdir. Bununla ilgili yapılacak daha fazla sayıda çalışma bu konuyu aydınlatabilecektir.



6. SONUÇ

Bu çalışma, AS hastalarında MN'li, NPB'li ve NBUD'li BN hücre frekanslarının ve 8-OHdG seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı arttığı buna karşın metafaz sayılarının, BN hücre frekansının ve NBI oranlarının kontrol grubuna göre anlamlı azaldığını göstermiştir. Bu sonuç, diğer kronik inflamatuvar hastalıklar ile benzer şekilde, AS hastalığının patogeneğinde de genotoksisite ve oksidatif DNA hasarının etkili olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan; karsinogenezin erken dönemlerinde görülebilen MN, NPB ve NBUD'li BN hücre frekanslarındaki anormal değişiklikler, AS hastalarının erken dönem kanser riskini yansıtması açısından anlamlı olabilir. Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız AS'de Sitokinez Bloke MN sitom (CBMN-cyt) parametrelerini ve 8-OHdG seviyelerini araştıran ilk çalışmadır ve sonuçlarının daha kapsamlı çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Ozgocmen S,Khan MA. Current concept of spondyloarthritis: special emphasis on early referral and diagnosis. *Current rheumatology reports* 2012;14(5):409-414.
2. Hanson A,Brown MA. Genetics and the causes of ankylosing spondylitis. *Rheumatic Disease Clinics* 2017;43(3):401-414.
3. Simone D, Al Mossawi MH,Bowness P. Progress in our understanding of the pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Rheumatology* 2018;57(suppl_6):vi4-vi9.
4. Karaman A, Kadı M,Kara F. Sister chromatid exchange and micronucleus studies in patients with Behcet's disease. *Journal of Cutaneous Pathology* 2009;36(8):831-837.
5. Hamurcu Z, Dönmez-Altuntas H, Borlu M, Demirtas H,Asçioslu Ö. Micronucleus frequency in the oral mucosa and lymphocytes of patients with Behçet's disease. *Clinical and Experimental Dermatology: Experimental dermatology* 2005;30(5):565-569.
6. Severin E. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *Romanian journal of morphology and embryology= Revue roumaine de morphologie et embryologie* 1995;41(1-2):55-58.
7. Migliore L, Bevilacqua C,Scarpato R. Cytogenetic study and FISH analysis in lymphocytes of systemic lupus erythematosus (SLE) and systemic sclerosis (SS) patients. *Mutagenesis* 1999;14(2):227-231.
8. Al-Rawi ZS, Gorial FI, Tawfiq RF, et al. Brief Report: A Novel Application of Buccal Micronucleus Cytome Assay in Systemic Lupus Erythematosus: A Case–Control Study. *Arthritis & Rheumatology* 2014;66(10):2837-2841.
9. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M,Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal* 2003;17(10):1195-1214.

10. Dincer Y, Erzin Y, Himmetoglu S, Gunes KN, Bal K, Akcay T. Oxidative DNA damage and antioxidant activity in patients with inflammatory bowel disease. *Digestive diseases and sciences* 2007;52(7):1636-1641.
11. Salzano S, Checconi P, Hanschmann EM, et al. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2014;111(33):12157-12162.
12. Plaisance V, Brajkovic S, Tenenbaum M, et al. Endoplasmic reticulum stress links oxidative stress to impaired pancreatic beta-cell function caused by human oxidized LDL. *PLoS One* 2016;11(9):e0163046.
13. Chong W, Shastri M, Eri R. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious nexus implicated in bowel disease pathophysiology. *International journal of molecular sciences* 2017;18(4):771.
14. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of environmental science and health Part C* 2009;27(2):120-139.
15. Collantes E, Zarco P, Muñoz E, et al. Disease pattern of spondyloarthropathies in Spain: description of the first national registry (REGISPONSER). *Rheumatology* 2007;46(8):1309-1315.
16. Salvarani C, Fries W. Clinical features and epidemiology of spondyloarthritides associated with inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 2009;15(20):2449.
17. Tam LS, Gu J, Yu D. Pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Nature Reviews Rheumatology* 2010;6(7):399.
18. Braun J, Sieper J. Early diagnosis of spondyloarthritis. *Nature Reviews Rheumatology* 2006;2(10):536.
19. J Braun, Sieper J. Ankylosing spondylitis. *The Lancet* 2007;369(9570):1379-1390.
20. Rudwaleit M. New approaches to diagnosis and classification of axial and peripheral spondyloarthritis. *Current opinion in rheumatology* 2010;22(4):375-380.

21. Akgul O, Ozgocmen S. Classification criteria for spondyloarthropathies. *World journal of orthopedics* 2011;2(12):107.
22. Van Der LS, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism* 1984;27(4):361-368.
23. Raychaudhuri SP, Deodhar A. The classification and diagnostic criteria of ankylosing spondylitis. *Journal of Autoimmunity* 2014;48-49:128-133.
24. Gonzalez-Roces S, Alvarez MV, Gonzalez S, et al. HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue antigens* 1997;49(2):116-123.
25. Poddubnyy D, Sieper J. Similarities and differences between nonradiographic and radiographic axial spondyloarthritis: a clinical, epidemiological and therapeutic assessment. *Current opinion in rheumatology* 2014;26(4):377-383.
26. Gofton JP, Robinson HS, Trueman GE. Ankylosing spondylitis in a Canadian Indian population. *Annals of the rheumatic diseases* 1966;25(6):525.
27. Van Tubergen A. The changing clinical picture and epidemiology of spondyloarthritis. *Nature Reviews Rheumatology* 2015;11(2):110.
28. Sieper J, Poddubnyy D. Axial spondyloarthritis. *The Lancet* 2017;390(10089):73-84.
29. Brown MA, Laval SH, Brophy S, Calin A. Recurrence risk modelling of the genetic susceptibility to ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases* 2000;59(11):883-886.
30. Ellinghaus D, Jostins L, Spain SL, et al. Analysis of five chronic inflammatory diseases identifies 27 new associations and highlights disease-specific patterns at shared loci. *Nature genetics* 2016;48(5):510.
31. Khan MA. HLA-B27 and its subtypes in world populations. *Current opinion in rheumatology* 1995;7(4):263-269.
32. Caffrey Maeve FP, James DCO. Human lymphocyte antigen association in ankylosing spondylitis. *Nature* 1973;242(5393):121.
33. Chung HY, Machado P, Van Der Heijde D, D'Agostino MA, Dougados M. HLA-B27 positive patients differ from HLA-B27 negative patients in clinical presentation and imaging: results from the DESIR cohort of patients with recent

- onset axial spondyloarthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2011;70(11):1930-1936.
34. Rudwaleit M, Haibel H, Baraliakos X, et al. The early disease stage in axial spondylarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 2009;60(3):717-727.
 35. Chatzikyriakidou A, Voulgari PV, Drosos AA. What is the role of HLA-B27 in spondyloarthropathies? *Autoimmunity Reviews* 2011;10(8):464-468.
 36. Geirsson AJ, Kristjansson K, Gudbjornsson B. A strong familiarity of ankylosing spondylitis through several generations. *Annals of the rheumatic diseases* 2010;69(7):1346-1348.
 37. Khan MA. Update on spondyloarthropathies. *Annals of Internal Medicine* 2002;136(12):896-907.
 38. Granfors K, Märker-HE, De KF, Khan MA, Veys EM, Yu DTY. The cutting edge of spondylarthropathy research in the millennium. *Arthritis & Rheumatism* 2002;46(3):606-613.
 39. de Koning A, Schoones Jan W, van der Heijde D, van Gaalen Floris A. Pathophysiology of axial spondyloarthritis: Consensus and controversies. *European journal of clinical investigation* 2018;48(5):e12913.
 40. Taurog JD, Dorris ML, Satumira N, et al. Spondylarthritis in HLA-B27/human β 2-microglobulin-transgenic rats is not prevented by lack of CD8. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 2009;60(7):1977-1984.
 41. Kollnberger S, Chan A, Sun MY, et al. Interaction of HLA-B27 homodimers with KIR3DL1 and KIR3DL2, unlike HLA-B27 heterotrimers, is independent of the sequence of bound peptide. *European journal of immunology* 2007;37(5):1313-1322.
 42. Bowness P, Ridley A, Shaw J, et al. Th17 cells expressing KIR3DL2+ and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis. *The Journal of Immunology* 2011:1002653.

43. Jansen DTSL, Hameetman M, van Bergen J, et al. IL-17-producing CD4+ T cells are increased in early, active axial spondyloarthritis including patients without imaging abnormalities. *Rheumatology* 2014;54(4):728-735.
44. Asquith M, Elewaut D, Lin P, Rosenbaum JT. The role of the gut and microbes in the pathogenesis of spondyloarthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology* 2014;28(5):687-702.
45. Carter JD. Bacterial agents in spondyloarthritis: a destiny from diversity? *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2010;24(5):701-714.
46. Leirisalo-Repo M. Prognosis, course of disease, and treatment of the spondyloarthropathies. *Rheumatic diseases clinics of North America* 1998;24(4):737-51, viii.
47. Braun J, Bollow M, Neure L, et al. Use of immunohistologic and in situ hybridization techniques in the examination of sacroiliac joint biopsy specimens from patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 1995;38(4):499-505.
48. Smith JA, Märker HE, Colbert RA. Pathogenesis of ankylosing spondylitis: current concepts. *Best practice & research Clinical rheumatology* 2006;20(3):571-591.
49. Baeten D, Keyser FD. The histopathology of spondyloarthropathy. *Current molecular medicine* 2004;4(1):1-12.
50. Smith JA, Märker-Hermann E, Colbert RA. Pathogenesis of ankylosing spondylitis: current concepts. *Best practice & research Clinical rheumatology* 2006;20(3):571-591.
51. McGonagle D, Marzo-Ortega H, O'connor P, et al. Histological assessment of the early enthesitis lesion in spondyloarthropathy. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2002;61(6):534-537.
52. Appel H, Maier R, Wu P, et al. Analysis of IL-17+ cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis research & therapy* 2011;13(3):R95.

53. Sherlock JP, Joyce-Shaikh B, Turner SP, et al. IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR- γ t+ CD3+ CD4- CD8- enthesal resident T cells. *Nature medicine* 2012;18(7):1069.
54. Appel H, Maier R, Bleil J, et al. In Situ Analysis of Interleukin-23-and Interleukin-12-Positive Cells in the Spine of Patients With Ankylosing Spondylitis. *Arthritis & Rheumatism* 2013;65(6):1522-1529.
55. Jacques P, Lambrecht S, Verheugen E, et al. Proof of concept: enthesitis and new bone formation in spondyloarthritis are driven by mechanical strain and stromal cells. *Annals of the rheumatic diseases* 2014;73(2):437-445.
56. Hreggvidsdottir HS, Noordenbos T, Baeten DL. Inflammatory pathways in spondyloarthritis. *Molecular immunology* 2014;57(1):28-37.
57. Braun J, Sieper J. Ankylosing spondylitis. *The Lancet* 2007;369(9570):1379-1390.
58. Ozgocmen S, Bozgeyik Z, Kalcik M, Yildirim A. The value of sacroiliac pain provocation tests in early active sacroiliitis. *Clinical rheumatology* 2008;27(10):1275-1282.
59. Lehtinen A, Taavitsainen M, Leirisalo-Repo M. Sonographic analysis of enthesopathy in the lower extremities of patients with spondylarthropathy. *Clinical and experimental rheumatology* 1994;12(2):143-148.
60. Baek H, Shin KC, Lee YJ, et al. Juvenile onset ankylosing spondylitis (JAS) has less severe spinal disease course than adult onset ankylosing spondylitis (AAS): clinical comparison between JAS and AAS in Korea. *The Journal of rheumatology* 2002;29(8):1780-1785.
61. Ginsburg WW, Cohen MD. *Peripheral arthritis in ankylosing spondylitis. A review of 209 patients followed up for more than 20 years.* in *Mayo Clinic Proceedings*. 1983.
62. Khan MA. An overview of clinical spectrum and heterogeneity of spondyloarthropathies. *Rheumatic diseases clinics of North America* 1992;18(1):1-10.

63. de Groot V, Beckerman H, Lankhorst G, Bouter L. How to measure comorbidity: a critical review of available methods. *Journal of Clinical Epidemiology* 2004;57(3):323-323.
64. Brophy S, Pavy S, Lewis P, et al. Inflammatory eye, skin, and bowel disease in spondyloarthritis: genetic, phenotypic, and environmental factors. *The Journal of rheumatology* 2001;28(12):2667-2673.
65. D'Alessandro LP, Forster DJ, Rao NA. Anterior uveitis and hypopyon. *Transactions of the American Ophthalmological Society* 1991;89:303.
66. Bergfeldt L, Edhag O, Rajs J. HLA-B27-Associated heart disease: Clinicopathologic study of three cases. *The American journal of medicine* 1984;77(5):961-967.
67. Rosenow E, Strimlan CV, Muhm JR, Ferguson RH. *Pleuropulmonary manifestations of ankylosing spondylitis*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1977.
68. Momeni M, Taylor N, Tehrani M. Cardiopulmonary manifestations of ankylosing spondylitis. *International journal of rheumatology* 2011;2011.
69. Lai KN, Li PK, Hawkins B, Lai FM. IgA nephropathy associated with ankylosing spondylitis: occurrence in women as well as in men. *Annals of the rheumatic diseases* 1989;48(5):435.
70. El Maghraoui A. Extra-articular manifestations of ankylosing spondylitis: prevalence, characteristics and therapeutic implications. *European Journal of Internal Medicine* 2011;22(6):554-560.
71. Feldtkeller E, Vosse D, Geusens P, van der Linden S. Prevalence and annual incidence of vertebral fractures in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatology international* 2006;26(3):234-239.
72. Ramos RC, Gomez VA, Guzman GJL, et al. Frequency of atlantoaxial subluxation and neurologic involvement in patients with ankylosing spondylitis. *The Journal of rheumatology* 1995;22(11):2120-2125.
73. Lee YSL, Schlotzhauer T, Ott SM, et al. Skeletal Status of Men with Early and Late Ankylosing Spondylitis. *The American journal of medicine* 1997;103(3):233-241.

74. Gratacos J, Collado A, Pons F, et al. Significant loss of bone mass in patients with early, active ankylosing spondylitis: a followup study. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 1999;42(11):2319-2324.
75. Lange U, Kluge A, Strunk J, Teichmann J, Bachmann G. Ankylosing spondylitis and bone mineral density—what is the ideal tool for measurement? *Rheumatology international* 2005;26(2):115-120.
76. Bellamy N, *Musculoskeletal clinical metrology*. 1993: Kluwer Academic Publishers.
77. van der Horst-Bruinsma IE. Clinical aspects of ankylosing spondylitis. (eds), *Ankylosing Spondylitis* CRC Press, 2006. pp. 63-88.
78. Beyazova M, Kutsal YG. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. 2011;2(Ankilozan Spondilit):2249.
79. Imboden JB, Hellmann DB, Stone JH. Romatoloji Tanı ve Tedavi. 2014;3(Ankilozan Spondilit ve İnflamatuvar Barsak Hastalığının Artriti):161.
80. Ozgocmen S, Godekmerdan A, Ozkurt-Zengin F. Acute-phase response, clinical measures and disease activity in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 2007;74(3):249-253.
81. Ehrenfeld M. Spondyloarthropathies. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2012;26(1):135-145.
82. Dougados M, Linden SVD, Juhlin R, et al. The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 1991;34(10):1218-1227.
83. Khan MA, van Der Linden SM, Kushner I, Valkenburg HA, Cats A. Spondylitic disease without radiologic evidence of sacroiliitis in relatives of HLA-B27 positive ankylosing spondylitis patients. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 1985;28(1):40-43.
84. Resnick D. Ankylosing spondylitis. *Diagnosis of bone and joint disorders* 1995:1008-1074.

85. McEwen C, Ditata D, Lingg C, Porini A, Good A, Rankin T. Ankylosing spondylitis and spondylitis accompanying ulcerative colitis, regional enteritis, psoriasis and Reiter's disease. A comparative study. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 1971;14(3):291-318.
86. Guglielmi G, Scalzo G, Cascavilla A, Carotti M, Salaffi F, Grassi W. Imaging of the sacroiliac joint involvement in seronegative spondylarthropathies. *Clinical rheumatology* 2009;28(9):1007.
87. Braun J, Sieper J, Bollow M. Imaging of sacroiliitis. *Clinical rheumatology* 2000;19(1):51-57.
88. Rudwaleit M, Jurik AG, Hermann KGA, et al. Defining active sacroiliitis on magnetic resonance imaging (MRI) for classification of axial spondyloarthritis: a consensual approach by the ASAS/OMERACT MRI group. *Annals of the rheumatic diseases* 2009;68(10):1520-1527.
89. Kamel M, Eid H, Mansour R. Ultrasound detection of heel enthesitis: a comparison with magnetic resonance imaging. *The Journal of Rheumatology* 2003;30(4):774-778.
90. Van Der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism* 1984;27(4):361-368.
91. Van Tubergen A, Heuft-Dorenbosch L, Schulpen G, et al. Radiographic assessment of sacroiliitis by radiologists and rheumatologists: does training improve quality? *Annals of the Rheumatic Diseases* 2003;62(6):519-525.
92. Amor B, Dougados M, Lustrat V, et al. Are classification criteria for spondylarthropathy useful as diagnostic criteria? *Revue du rhumatisme (English ed.)* 1995;62(1):10-15.
93. Dougados M, Hochberg MC. Why is the concept of spondyloarthropathies important? *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2002;16(4):495-505.
94. Rudwaleit M, Van Der Heijde D, Landewe R, et al. The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Annals of the rheumatic diseases* 2011;70(1):25-31.

95. Zochling J. Assessment and treatment of ankylosing spondylitis: current status and future directions. *Current opinion in rheumatology* 2008;20(4):398-403.
96. Zochling J, Braun J. Assessment of ankylosing spondylitis. *Clinical and experimental rheumatology* 2005;23(5):S133.
97. Zochling J. Measures of symptoms and disease status in ankylosing spondylitis: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS), Ankylosing Spondylitis Quality of Life Scale (ASQoL), Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), Bath Ankylosing Spondylitis Global Score (BAS-G), Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI), Dougados Functional Index (DFI), and Health Assessment Questionnaire for the Spondylarthropathies (HAQ-S). *Arthritis care & research* 2011;63(S11):S47-S58.
98. Zochling J, van der Heijde D, Burgos VR, et al. ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2006;65(4):442-452.
99. Weisman MH, Reveille JD, van der Heijde D, *Ankylosing spondylitis and the spondyloarthropathies*. 2006: Elsevier Health Sciences.
100. Zochling J, van der Heijde D, Burgos-Vargas R, et al. ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2006;65(4):442-452.
101. Braun J, Van Den BR, Baraliakos X, et al. 2010 update of the ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases* 2011;70(6):896-904.
102. van der Heijde D, Ramiro S, Landewé R, et al. 2016 update of the ASAS-EULAR management recommendations for axial spondyloarthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2017:annrheumdis-2016-210770.
103. Richter MB, Woo P, Panayi GS, Trull A, Unger A, Shepherd P. The effects of intravenous pulse methylprednisolone on immunological and inflammatory processes in ankylosing spondylitis. *Clinical and experimental immunology* 1983;53(1):51.

104. Chen J,Liu C. Sulfasalazine for ankylosing spondylitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005;(2).
105. Conti F, Ceccarelli F, Marocchi E, et al. Switching tumour necrosis factor α antagonists in patients with ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis: an observational study over a 5-year period. *Annals of the rheumatic diseases* 2007;66(10):1393-1397.
106. Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the rheumatic diseases* 2014;73(3):492-509.
107. Hueber W, Sands BE, Lewitzk S, et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut* 2012;61(12):1693-1700.
108. Lie E, van der Heijde D, Uhlig T, et al. Effectiveness of switching between TNF inhibitors in ankylosing spondylitis: data from the NOR-DMARD register. *Annals of the rheumatic diseases* 2011;70(1):157-163.
109. Kilinc K,Kilinc A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Med. J* 2002;33(2):110-118.
110. Fidan AF. DNA Hasar Tespitinde Tek Hücre Jel Elektroforezi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Dergisi* 2008;8(1).
111. Fenech M,Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 1985;147(1-2):29-36.
112. Muranlı G,Dilek F. Kültürü yapılan insan lenfositlerinde triasulfuron'un genotoksik etkileri. 2006.
113. Sears DA,Udden MM. Howell-Jolly bodies: a brief historical review. *The American journal of the medical sciences* 2012;343(5):407-409.
114. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature protocols* 2007;2(5):1084.

115. Vanparys P, Vermeiren F, Sysmans M, Temmerman R. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutation Research Letters* 1990;244(2):95-103.
116. Demirel S, Zamani AG. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg* 2002;12(3):123-127.
117. Labay K, Ould-Elhkim M, Klés V, Guffroy M, Poul JM, Sanders P. Effects of griseofulvin in medium-term liver carcinogenesis assay and peripheral blood micronucleus test in rat. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis* 2001;21(6):441-451.
118. Bonassi S, Fenech M, Lando C, et al. HUMAN MicroNucleus project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environmental and molecular mutagenesis* 2001;37(1):31-45.
119. Fenech M, Holland N, Zeiger E, et al. The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells—past, present and future. *Mutagenesis* 2011;26(1):239-245.
120. Karaman A, Binici DN, Melikoğlu MA. Comet assay and analysis of micronucleus formation in patients with rheumatoid arthritis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2011;721(1):1-5.
121. Umegaki K, Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay in WIL2-NS cells: a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils. *Mutagenesis* 2000;15(3):261-269.
122. Tawn EJ, Whitehouse CA. Frequencies of chromosome aberrations in a control population determined by G banding. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2001;490(2):171-177.
123. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2003;534(1-2):65-75.

124. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox report* 2004;9(3):145-152.
125. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2007;39(1):44-84.
126. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 1997;272(33):20313-20316.
127. Luan Y, Suzuki T, Palanisamy R, et al. Potassium bromate treatment predominantly causes large deletions, but not GC> TA transversion in human cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2007;619(1-2):113-123.
128. Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 1997;387(3):147-163.
129. Yokus B, Cakir DÜ. İn vivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2002;22(5):535-543.
130. Cooke MS, Olinski R, Loft S. Measurement and meaning of oxidatively modified DNA lesions in urine. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2008;17(1):3-14.
131. Donmez-Altuntas H, Bitgen N. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity in the general population in Turkey by use of the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2012;748(1-2):1-7.
132. Donmez-Altuntas H, Bayram F, Bitgen N, Ata S, Hamurcu Z, Baskol G. Increased chromosomal and oxidative DNA damage in patients with multinodular goiter and their association with cancer. *International journal of endocrinology* 2017;2017.

133. Eastmond DA, Tucker JD. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochores antibody. *Environmental and molecular mutagenesis* 1989;13(1):34-43.
134. Ramos-Remus C, Dorazco-Barragan G, Aceves-Avila FJ, et al. Genotoxicity assessment using micronuclei assay in rheumatoid arthritis patients. *Clinical and experimental rheumatology* 2002;20(2):208-212.
135. Porciello G, Scarpato R, Ferri C, et al. Spontaneous chromosome damage (micronuclei) in systemic sclerosis and Raynaud's phenomenon. *The Journal of rheumatology* 2003;30(6):1244-1247.
136. Hayashi M. The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test—. *Genes and Environment* 2016;38(1):18.
137. Bhatia A, Kumar Y. Cancer cell micronucleus: an update on clinical and diagnostic applications. *Apmis* 2013;121(7):569-581.
138. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis* 2008;29(6):1178-1183.
139. Klungland A, Rosewell I, Hollenbach S, et al. Accumulation of premutagenic DNA lesions in mice defective in removal of oxidative base damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1999;96(23):13300-13305.
140. Poulsen HE, Prieme H, Loft S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *European Journal of Cancer Prevention* 1998;7(1):9-16.
141. Giat E, Ehrenfeld M, Shoenfeld Y. Cancer and autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews* 2017;16(10):1049-1057.
142. Anaya JM, Shoenfeld Y, Rojas-Villarraga A, Levy RA, Cervera R, *Autoimmunity: from bench to bedside*. 2013: El Rosario University Press.
143. Chang SH, Park JK, Lee YJ, et al. Comparison of cancer incidence among patients with rheumatic disease: a retrospective cohort study. *Arthritis research & therapy* 2014;16(4):428.

144. Hashimoto A, Chiba N, Tsuno H, et al. Incidence of malignancy and the risk of lymphoma in Japanese patients with rheumatoid arthritis compared to the general population. *The Journal of rheumatology* 2015;42(4):564-571.
145. Lin YC, Chou HW, Tsai WC, Yen JH, Chang SJ. The age–risk relationship of hematologic malignancies in patients with rheumatoid arthritis: a nationwide retrospective cohort study. *Clinical rheumatology* 2015;34(7):1195-1202.
146. Deng C, Li W, Fei Y, Li Y, Zhang F. Risk of malignancy in ankylosing spondylitis: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports* 2016;6:32063.
147. Teng JJ, Yang TJ, Ye L, Feng XQ, Zheng YX, Duan HW. Analysis on the nuclear division index of peripheral blood lymphocytes in the 281 general population of Anhui, China. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]* 2016;50(5):429-433.
148. Chen HI, Liou SH, Ho SF, et al. Oxidative DNA damage estimated by plasma 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG): influence of 4, 4'-methylenebis (2-chloroaniline) exposure and smoking. *Journal of occupational health* 2007;49(5):389-398.
149. Gül den Baskol, Hüseyin Demir, Mevlut Baskol, et al. Investigation of protein oxidation and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease* 2006;24(4):307-311.
150. Kirkali G, Tunca M, Genc S, Jaruga P, Dizdaroglu M. Oxidative DNA damage in polymorphonuclear leukocytes of patients with familial Mediterranean fever. *Free Radical Biology and Medicine* 2008;44(3):386-393.
151. Guzel S, Andican G, Seven A, et al. Acute phase response and oxidative stress status in familial Mediterranean fever (FMF). *Modern rheumatology* 2012;22(3):431-437.
152. Ishibashi T, Sato B, Rikitake M, et al. Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study. *Medical gas research* 2012;2(1):27.

153. den Broeder AA, Wanten GJA, Oyen WJG, Naber T, van Riel PLCM, Barrera P. Neutrophil migration and production of reactive oxygen species during treatment with a fully human anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology* 2003;30(2):232-237.
154. Seven A, Güzel S, Aslan M, Hamuryudan V. Lipid, protein, DNA oxidation and antioxidant status in rheumatoid arthritis. *Clinical biochemistry* 2008;41(7-8):538-543.
155. Sezer ED, Aksu K, Caglayan O, Keser G, Karabulut G, Ercan G. DNA damage and its relationship with other oxidative stress parameters in Behcet's disease. *Rheumatology international* 2012;32(1):217-222.
156. Mecocci P, MacGarvey U, Kaufman AE, et al. Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 1993;34(4):609-616.
157. Barja G. Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing research reviews* 2002;1(3):397-411.
158. Hayakawa M, Torii K, Sugiyama S, Tanaka M, Ozawa T. Age-associated accumulation of 8-hydroxydeoxyguanosine in mitochondrial DNA of human diaphragm. *Biochemical and biophysical research communications* 1991;179(2):1023-1029.

02 / 09 / 2019

TUTANAK

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Araştırma görevlilerimizden Dr.Funda KIRANATLIOĞLU FIRAT 02 / 09 / 2019 tarihinde yapılan "Ankilozan Spondilitli Hastalarda Sitom Yöntemi Kullanılarak Kromozom/ DNA Hasarının ve Hastalık Patogenezindeki Rolünün Araştırılması "konulu Tıpta Uzmanlık Tezi Değerlendirme Sınavında başarılı bulunmuştur.

İş bu tutanak tarafımızca imza altına alınmıştır.

Prof.Dr. Hüseyin DEMİR
Fiziksel Tıp ve Reh. Anabilim Dalı
Öğr. Üy

Prof.Dr. Mustafa ÇALIŞ
Fiziksel Tıp ve Reh. Anabilim Dalı
Başkanı.

Doç.Dr. Havva TALAY ÇALIŞ
Kayseri EAH Fizik Tedavi Kliniği
Öğ. Üy