



T.C.

MERSİN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

**ANKİLOZAN SPONDİLİT' TE KAN MİKRO-RNA
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE HASTALIK
AKTİVİTESİ İLE FONKSİYONEL KAPASİTE
ARASINDAKİ İLİŞKİSİ**

Dr. Koray oğul

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali Biçer

Bu tez, BAP-TF DTB (KÇ) 2012-2 TU kodlu proje olarak

Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir

MERSİN-2013

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimlerini bizimle paylaŐan, bize hep daha iyisini öğretmeye uğraŐan, güler yüzleri ile çalışma ortamımızı güzelleŐtirmeye çalışın, iyi niyetlerini hep hissettiğim sayın hocalarım, Prof. Dr. GünŐah Őahin' e, Prof. Dr. Özlem Bölgen Çimen' e, tez danışmanım Prof. Dr. Ali Biçer' e, Prof. Dr. Nurgül Arıncı İncel' e, Doç. Dr. Melek Sezgin' e, çalışmalarımı farkında olmadan engelleyerek isteğimi arttıran canım aileme, tez çalışmalarında destek veren Serin Hanım, Ebru Biçer, Mesut Yılmaz' a, varlığıyla bölümdeki tek erkek olmamı engelleyen Evren YeŐildal' a, istatistiksel analizde yardımını esirgemeyen Gülhan Örekeci Hanım' a ve tüm çalışma arkadaşlarıma, teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Koray Çoğul

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	5
SUMMARY.....	7
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	9
2. GENEL BİLGİLER.....	11
2.1. Spondiloartropatiler	11
2.2. Ankilozan Spondilit	12
2.2.1. Epidemiyoloji.....	12
2.2.2. Genetik	12
2.2.3. Etiyoloji ve patogenez	12
2.2.4. Tanı Kriterleri	13
2.2.5. Klinik Belirtiler	16
2.2.6. Fizik Muayene Bulguları	18
2.2.7. Labaratuvar Bulguları	19
2.2.8. Radyolojik Görüntüleme Bulguları	19
2.2.9. Ayırıcı Tanı	21
2.2.10. Değerlendirme ve İzlem	21
2.2.11. Prognoz	23
2.2.12. Tedavi.....	23
2.3. Mikro RNA' lar	25
2.3.1. miRNA' nın biyogenez ve matürasyonu.....	26
2.3.2. İmmün sistem fonksiyonu ve gelişiminde miRNA' nın rolü.....	28
2.3.3. Doğal bağışıklık düzenlenmesinde miRNA' lar.....	28
2.3.4. Otoimmün hastalıklarda miRNA katılımı.....	31
3. MATERYAL VE METOD.....	32

4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
7. KAYNAKLAR.....	59
8. KISALTMALAR DİZİNİ.....	70
9. ŞEKİLLER ve GRAFİKLER DİZİNİ.....	71
10. TABLO LİSTESİ.....	72
11. EKLER.....	i
EK-1: BASDAİ.....	ii
EK-2: BASFİ.....	iii
EK-3: BASMİ.....	iiii

ÖZET

ANKİLOZAN SPONDİLİT' TE KAN MİKRO-RNA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE HASTALIK AKTİVİTESİ İLE FONKSİYONEL KAPASİTE ARASINDAKİ İLİŞKİSİ

Ankilozan spondilit (AS), HLA-B27 ile güçlü ilişkisi olan, aksiyel ve periferik eklemleri ve yumuşak dokuyu etkileyebilen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. AS immünogenetiğinin aydınlatılmasında birçok gelişme olmasına rağmen, hastalığın etiyolojisi henüz tam olarak ortaya konamamıştır.

Mikro RNA' lar (miRNA), apoptozis, hücre farklılaşması, hücre döngüsü ve bağışıklık fonksiyonları gibi hücresel süreçleri düzenleyen, kodlamayan RNA molekülleridir. miRNA' ların anormal ekspresyonları (upregülasyonu veya downregülasyonu), kanser, kalp-damar bozuklukları, şizofreni, kas-iskelet bozuklukları, akciğer hastalıkları, gelişim bozuklukları ve romatolojik hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların gelişimine yol açabilir. Yapılan bazı çalışmalarda, romatizmal hastalıklarla miRNA arasında bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır. Ancak, literatürde AS ile miRNA ilişkisini ortaya koyan çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmadaki amacımız, AS hastalarında bazı kan miRNA düzeylerini belirlemek ve hastalık patogenezindeki potansiyel etkilerini ortaya çıkarmaktır. Ayrıca, çalışmamızda kan miRNA düzeyleri ile hastalık aktivitesi ve fonksiyonel kapasite arasındaki korelasyonlar da araştırılmıştır.

Çalışmamıza Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Polikliniğine başvuran, Modifiye New-York veya The Assesment of Spondyloarthritis International Society (ASAS) tanı kriterlerini karşılayan 50 Ankilozan Spondilit tanılı hasta (hasta grubu) ile yaş ve cinsiyete uygun olarak eşlendirilen 42 sağlıklı gönüllü (kontrol grubu) toplam 92 olgu dahil edildi. Olgulara ait demografik özellikler kaydedildi. Hastaların kas-iskelet sistemi muayenesi tamamlandıktan sonra sırasıyla hastalık aktivitesini değerlendirmek için Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi (BASDAI), fonksiyonel kapasiteyi ortaya koymak amacıyla ise Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeks (BASFI) ve Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi (BASMI) skorları hesaplandı. miRNA' nın analizleri için tüm olgulardan kan örnekleri alındı ve ölçümler Yüksek Kapasiteli Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler sadece kan örneklerinde en fazla eksprese olan 19 miRNA için yapıldı.

Çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubu arasında kan miRNA ekspresyonları açısından anlamlı bir ilişki bulunmadı. Kan miRNA-16-5p, miRNA-451a, miRNA-320a, miRNA-126-3p, miRNA-17-5p, miRNA-146a-5p ve miRNA-223-3p ekspresyonunun hasta grubunda daha az olduğu saptandı. miR-194-5p' nin periferik başlangıçlı olan AS hastalarında daha fazla eksprese olduğu görüldü (p=0.016). Hasta grubunda BASDAI (p=0.046, r=0.283) ve BASFI (p=0.027, r=0.313) skorları ile kan miRNA-205-5p ekspresyonu arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı.

Sonuç olarak çalışmamızın bulguları AS hastalığı ile kan miRNA ekspresyonu arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını ortaya koymaktadır. Ancak sonuçlarımız kan miRNA-205-5p ekspresyonunun AS hastalarında hastalık aktivitesi ve fonksiyonel kapasite yönünden bir rol oynayabileceğini göstermektedir. AS ile miRNA' lar arasında olası bir ilişkinin ortaya konması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan Spondilit, BASDAI, Mikro RNA, miRNA-16-5p, miRNA-205-5p

SUMMARY

The Investigation Of Blood Micro-RNA Levels In Ankylosing Spondylitis And The Relationship Between Disease Activity And Functional Capacity

Ankylosing Spondylitis (AS) is a chronic inflammatory disease that is in strong correlation with HLA B27, which may affect axial and peripheral joints, and the soft tissue. Although there are several advancements in the clarification of the immunogenetics of AS, the etiology of the disease has not been fully elucidated.

Micro RNAs (miRNAs) are non-coding RNA molecules that regulate cellular processes, such as apoptosis, cell differentiation, cellular cycles and immunological functions. Abnormal expressions of miRNAs (upregulation or downregulation) may lead to the development of various disorders, like cancer, cardiovascular diseases, schizophrenia, musculoskeletal disorders, pulmonary diseases, developmental disorders and rheumatological diseases. The relationship between rheumatological disorders and miRNAs has been proven in some of the studies. However, there are limited numbers of studies that reveal the correlation of AS and miRNAs in the literature. Our objective of this study is to determine some of the blood miRNA levels, and to detect its potential effects on the disease pathogenesis in patients with AS. Furthermore, the correlations between blood miRNA levels and disease activity, and functional capacity have been also investigated.

Fifty patients (patient group), having fulfilled the modified New-York and The Assessment of Spondyloarthritis International Society (ASAS) criteria for AS, who have applied to the outpatient clinic of the Physical Medicine and Rehabilitation of Mersin University, School of Medicine and age and sex matched 42 healthy volunteers (control group), with a total of 92 subjects have been enrolled in the study. Demographical characteristics of the subjects have been recorded. After the musculoskeletal examination of the patients have been completed, the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) score for the evaluation of the disease activity and the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI) and the Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI) scores for the evaluation of the functional capacity have been calculated, respectively. Blood samples were taken from all subjects for the miRNA analysis and measurements were carried out by using high capacity real-

time Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Statistical analysis were performed for only 19 miRNAs, expressed in blood samples at most.

No significant relationship has been found between the patient and the control group in terms of blood miRNA expressions in our study. Blood expressions of miRNA-16-5p, miRNA-451a, miRNA-320a, miRNA-126-3p, miRNA-17-5p, miRNA-146a-5p ve miRNA-223-3p were found to be in low levels in patients group. The higher expression of miRNA-194-5p has been detected in those AS patiens having peripheral onset ($p=0.016$). Positive correlations between BASDAI ($p=0.046$, $r=0.283$) and BASFI ($p=0.027$, $r=0.313$) scores with the expression of miRNA-205-5p have been found in patient group.

In conclusion, the results of our study has revealed that there was no any relationship between AS and the blood expression of miRNA levels. However, our results indicate that the blood expression of miRNA-205-5p may play a role in terms of the disease activity and the functional capacity in AS patients. Further investigations have been essential to reveal the possible relationship between AS and miRNAs.

Key Words: Ankylosing Spondylitis, BASDAI, Mikro RNA, miRNA-16-5p, miRNA-205-5p

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Ankilozan Spondilit (AS), klinik tabloda bel ağrısı ve tutukluğun ön planda olduğu, radyolojik olarak spinal inflamasyon ve sakroiliit ile kendini gösteren, sakroiliak eklem tutulumu ve asimetrik periferik oligoartrit ile karakterize edilen ve seronegatif spondiloartropatilerin prototipi olarak kabul edildiği bir romatizmal hastalıktır¹. AS immünogenetiğinin aydınlatılmasında birçok gelişme olmasına rağmen, etiyolojisi henüz tam olarak ortaya konamamıştır. Bu nedenle tedaviler yetersiz kalmaktadır². AS tanısı bazen ancak yapısal deformiteler veya belirgin radyolojik değişiklikler oluştuğunda konabilmektedir³. Bu tür hastalarda erken tanı çok önemlidir⁴.

miRNA' lar ilk kez 1993 yılında keşfedilen, 20-22 nükleotid uzunluğunda, kodlamayan RNA molekülleridir⁵. mRNA' nın 3' çevrilmemiş bölgesine (UTR) bağlanarak, bazı alt gruplarını bozar veya translasyonu durdururlar⁶. miRNA; apoptozis, hücre farklılaşması, hücre döngüsü ve bağışıklık fonksiyonları gibi hücresel süreçleri düzenler. miRNA' ların otoimmünite ve bağışıklık fonksiyonlarına önemli bir etkisinin olduğu, yapılan hücre kültürü ve hayvan çalışmalarıyla giderek netleşmektedir⁷. Ayrıca, insan çalışmaları da, miRNA ekspresyonunun otoimmünite ve AS, Romatoid artrit (RA) ve Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) gibi çeşitli romatizmal hastalıklarda değişmiş olduğunu göstermektedir^{8,9}.

Bağışıklık sistemini etkileyen birçok otoimmün hastalıkta miRNA' ların rolü halen araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, otoimmünite ve romatizmal hastalıklarla miRNA arasında ilişki olduğu kanıtlanmıştır. Literatür araştırıldığında Ankilozan Spondilit ile miRNA ilişkisini ortaya koyan çok az sayıda çalışma vardır. Lai ve ark. yaptığı çalışmada sadece 5 hasta ve 5 sağlıklı kontrolden alınan kan örneklerinde miRNA ekspresyonları analiz edilmiştir. AS' li hastaların T hücrelerinde miR-16, miR-221 ve let-7i' nin kontrol grubuna göre daha fazla eksprese olduğunu, ayrıca miR-221 ve let-7i' nin the Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI) skoruyla pozitif olarak kolere olduğunu bulmuşlardır¹⁰. Ancak bu çalışmadaki mevcut olgu sayısı oldukça kısıtlıdır ve çalışmadaki bulgularla kesin bir değerlendirme yapılamaz. Huang ve ark. yaptığı diğer bir çalışmada ise 30 RA' lı hasta, 30 AS' li hasta ve 30 sağlıklı kontrolün periferik kan mononükleer hücrelerinde, miR-29a ekspresyon seviyeleri analiz edilmiş, bu üç gruptaki miR-29a ekspresyonları arasında anlamlı bir fark

bulunamamıştır¹¹. Bu araştırma ise spesifik olarak ankilozan spondilit hastalarına yönelik olmamıştır ve halen literatürde ankilozan spondilite yönelik kan miRNA ekspresyon düzeylerini ortaya koyan, geniş sayıda olguları içine alan, kontrollü, randomize bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmadaki amacımız, bir romatizmal hastalık olan AS' de, bazı kan miRNA'ların düzeylerinin belirlenmesiyle, herhangi bir miRNA' nın AS için spesifik bir gösterge olarak saptanması, hastalığın erken tanısına ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlanması, miRNA düzeylerinin hastalık aktivitesi ve fonksiyonel kapasiteyle olan ilişkisinin belirlenmesi ve miRNA' ların hastalık patogenezindeki potansiyel etkilerinin ortaya çıkarılmasının sağlanmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spondiloartropatiler

Spondiloartropatiler (SpA); artrit (aksiyel ve periferik) ve eklem dışı (üveit, entezit, sedef ve inflamatuvar barsak hastalığı (İBH)) tutulumunun olduğu ve bu bulguların birbiriyle ilişkili olduğu bir hastalık grubudur. Bu grup hastalıklar, ailesel birlikteliği, romatoid faktör yokluğu ve insan lökosit antijeni HLA-B27 ile olan ilişkisiyle karakterize edilmektedir¹².

SpA'lar;

- Ankilozan Spondilit
- Psoriyatik artrit
- Reaktif artrit
- Enteropatik artrit
- Juvenil SpA
- Sınıflandırılmayan SpA olarak sınıflandırılmaktadır¹².

Spondiloartropatilerin ortak özellikleri:

- Romatoid faktör negatifliği
- Subkutan nodül yokluğu
- Sakroiliit/ Spondilit
- İnflamatuvar periferik artrit
- Eklem dışı bulgular [Entesopati, Oküler inflamasyon, (konjunktivit, anterior üveit vb.) ürogenital veya g a s t r o i n t e s t i n a l enfeksiyonlar, deri değişiklikleri (psoriatik deri, tırnak değişiklikleri, eritema nodozum), ağız, intestinal ve ürogenital ülserasyonlar, tromboflebit, pyoderma gangrenozum]
- HLA B27 ile ilişkili ailesel yatkınlıktır¹³.

2.2. Ankilozan Spondilit

AS, klinik tabloda bel ağrısı ve tutukluğun hakim olduğu, radyolojik olarak spinal inflamasyon ve sakroiliit ile kendini gösteren, sakroiliak eklem tutulumu ve asimetrik periferik oligoartrit ile karakterize edilen seronegatif spondiloartropatilerin prototipi olarak kabul edilmektedir¹.

2.2.1 Epidemiyoloji

AS prevalansı beyaz ırkta % 0.5-1 arasındadır¹⁴. Japonlarda % 0.04 iken Haida Kızılderililerinde ise bu oran % 6 oranındadır. Türkiye' de AS prevalansı bilinmemekle birlikte % 0.5 sıklıkta olduğu tahmin edilerek yaklaşık 350 bin AS' li hasta olduğu söylenebilir. AS, 8-45 yaşlar arasında başlayabilir ve başlangıç genellikle 15-30 yaş arasındadır. Erkek/kadın oranı 3/1' dir¹⁵.

2.2.2. Genetik

AS patogenezinde çok sayıda HLA ve HLA dışı genler araştırılmış ve en çok HLA-B27 ile ilişki kurulmuştur¹⁶. HLA-B27 beyaz ırktan AS hastalarının % 90-95' inde pozitifdir¹⁷. HLA-B27, hücre içi protein yıkımıyla ortaya çıkan peptidleri, b2-mikroglobulin ile birlikte bağlamak suretiyle antijen sunan hücreler üzerinde sitotoksik T hücrelerine sunar¹⁸.

6. kromozom üzerinde bulunan Major histokompatibilite (MHC) genlerinde B27 dışında, beyazlarda B60 ve Japonlarda B39' un hastalık ile ilişkili olduğu bulunmuştur¹⁹.

MHC sınıf I molekülleri ile ilişkili A geni (MICA), ileri derecede polimorfizm gösteren, yapısal olarak HLA sınıf I moleküllerine benzeyen, fibroblast ve epitel hücrelerinde bulunan bir moleküldür. Sardinya' daki B27(-) AS' li olgularda MICA-A4 sıklığı artmıştır²⁰.

2.2.3. Etiyoloji ve patogenezi

AS' nin etiyojisi hala kesin olarak belirlenememiştir. Bununla birlikte HLA-B27 antijeni ile olan güçlü ilişki, hastalığın, genetik yatkınlığı olanlarda tetikleyici çevresel faktörlere karşı oluşan immün yanıtların sonucunda oluştuğunu düşündürmektedir²¹. AS' li hastalarda HLA-B27 (+)' liği % 90-95 iken, HLA-B27 (+)

beyaz ırkta AS prevalansı % 2-5' tir. HLA-B27 (+) AS' li hastaların HLA-B27 (+) 1. derece akrabalarında ise AS % 10-30 oranında görülmektedir^{22,23}.

AS sürecinde kas iskelet sisteminde; sinoviyal eklemler (apofizer ve sakroiliak), kartilajinöz eklemler (manubriosternal eklemler, intervertebral diskler ve simfisis pubis), entezis noktaları (ligament ve tendonların kemiğe yapışma bölgeleri), eklem kapsülleri ve ligamentöz yapılar etkilenir²⁴. İlk olarak etkilenen ve tipik bulgular oluşturan genellikle sakroiliak eklemlerdir. Subkondral kemikte düzensizlik, ardından yüzeyel erozyonlar ve fokal skleroz oluşur. Zamanla fibrozis, kalsifikasyon, interosseöz köprüleşme, ossifikasyon ve ankiloz gelişir. Tipik olarak sakroiliit bilateral ve simetriktir. Aksiyel iskelette; apofiziyel, diskovertebral, kostovertebral, kostotransvers eklemler ve paravertebral ligamentler etkilenir. Tutulum genellikle lomber bölgeden yukarıya doğrudur^{25,26}.

2.2. 4 Tanı Kriterleri

AS' nin prototip olduğu spondiloartropatiler grubunun radyolojik bulgusu tanıda yardımcı olan sakroiliittir.

Tanı ve sınıflandırmaya yönelik çeşitli kriterleri içine alan bazı klinik tanı setleri oluşturulmuş olup, bunlar Avrupa Spondiloartropati Çalışma Grubu (ESSG) kriterleri de dahil olmak üzere yıllar boyunca geliştirilmiştir²⁷. İlk olarak 1961'de Roma daha sonra 1966'da New York ve 1984' de Modifiye New York AS tanı kriterleri geliştirilmiştir. 1973 yılında ise Brewerton ve Schlosstein, HLAB27 ile hastalık ilişkisini göstermişlerdir²¹.

Uluslararası Spondiloartrit Derneği (ASAS), uluslararası çalışma grubunda, yapısal değişiklikler omurgada gelişmeden önce SpA' nın tanınmasını sağlayacak yeni bir dizi tanı kriterleri önermiştir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) değişiklikleri yeni sınıflandırma kriterlerine dahil edilmiştir ve erken aksiyel SpA tanısında önemli bir araç olarak kabul edilmiştir²⁸. Bu kriterler hem aksiyel SpA, hem de periferik SpA için geliştirilmiştir. Radyolojik bulguların yokluğunda, hastanın HLA-B27 pozitifliği ve SpA' nın karakteristik özelliklerinden ikisi varsa SpA tanısı konur. Diğer yandan, çok uzun sürecek olan tipik radyolojik değişiklikler gelişmeden MR görüntülemeyle sakroiliitin gösterilmesi erken tanıyı sağlar. Bu ölçütlerin diğer bir avantajı da önceki

mevcut setler ile karşılaştırıldığında, sınıflandırılmayan SpA' sını olan hastalarda uygulanabilir olmasıdır. ASAS kriterlerinin duyarlılığı % 79.5, özgüllüğü % 83.3' tür²⁹.

Ankilozan Spondilit için Modifiye New York Kriterleri:

1. Klinik Kriterler:

- Egzersiz ile düzelen ve istirahat ile geçmeyen 3 aydan daha uzun süreli bel ağrısı ve tutukluk.
- Lomber omurga hareketlerinin sagittal ve frontal planlarda kısıtlanması.
- Göğüs ekspansiyonunda yaş ve cinsiyet için normal değerlere göre azalma.

2. Radyolojik Kriter:

- İki taraflı evre 2-4 veya tek taraflı evre 3-4 sakroiliit.

Radyolojik kriter eşliğinde en az 1 klinik kriter varlığında kesin ankilozan spondilit

tanısı konur²⁸.

Aksiyal Spondiloartrit için ASAS Sınıflama Kriterleri:

Bel ağrısının süresi ≥ 3 ay ve başlangıç yaşı < 45 olan hastalarda;

Görüntülemelerde sakroiliit $+ \geq 1$ SpA bulgusu veya HLA-B27 $+ \geq 2$ SpA bulgusu

SpA bulgusu:

- İnflamatuar bel ağrısı
- Artrit
- Entezit (topuk)
- Üveit
- Daktilit
- Psoriyazis
- Crohn/kolit
- NSAİİ 'lere iyi yanıt

•SpA için aile öyküsü

•HLA-B27

•CRP yüksekliği

Görüntüleme de sakroiliit:

•MRG' de SpA ile ilişkili aktif (akut) inflamasyon

•Modifiye New York kriterlerine göre kesin radyografik sakroiliit

Aksiyal Spondiloartritler için ASAS Sınıflama Kriterlerinde Kullanılan Değişkenlerin Tanımlamaları:

İnflamatuvar bel ağrısı: 5 parametreden 4'u mevcut ise:

1. Başlangıç yaşı < 40 yaş
2. Sinsi başlangıç
3. Egzersizle düzelme
4. İstirahat ile düzelme olmaması
5. Gece ağrısı (kalkmakla düzelme)

Artrit: Hekim tarafından tanı konulmuş geçmiş veya halen mevcut aktif sinovit

Aile öyküsü: Aşağıdakilerden herhangi birisinin birinci veya ikinci derece akrabalarında olması: 1. Ankilozan spondilit, 2. Psöriyazis, 3. Üveit, 4. Reaktif artrit, 5. İnflamatuvar barsak hastalığı.

Psoriyazis: Hekim tarafından tanı konulmuş geçmiş veya halen mevcut psoriyazis

İnflamatuvar barsak hastalığı: Hekim tarafından tanı konulmuş geçmiş veya halen mevcut Crohn/Ülseratif kolit

Daktilit: Hekim tarafından tanı konulmuş geçmiş veya halen mevcut daktilit

Entezit: Topuk enteziti: Aşil tendon veya plantar fasyanın kalkaneusa yapışma yerinde muayene ile spontan ağrı veya hassasiyetin geçmişte olmuş veya halen mevcut olması

Anterior üveit: Oftalmolog tarafından tanı konulmuş, geçmiş veya halen mevcut anterior üveit

NSAİİ iyi yanıt: Tam doz NSAİİ alımından 24-48 saat sonra bel ağrısının tamamen düzelmesi veya azalması

HLA-B27: Pozitif sonuç

Artmış CRP: CRP' yi arttıran diğer nedenler dışlandığında bel ağrısı ile beraber CRP yüksekliği

X-Ray' de sakroiliit: Modifiye New York kriterlerine göre çift taraflı evre 2-4, tek taraflı 3-4 sakroiliit

MRG' de sakroiliit: Kesin kemik iliği ödemi/osteoit ile birlikte olan sakroiliak eklemlerin akut inflamatuvar lezyonları^{29,30}.

2.2.5. Klinik Belirtiler

Kas İskelet Sistemi Tutulumu:

AS' li hastaların çoğunda bel ağrısı ve tutukluk ilk belirtidir. Bel ağrısı sinsi başlangıçlıdır ve giderek artar. Tutukluk ise sabah yataktan kalkınca veya istirahat sonrası olur. Hastanın bu şikayetleri egzersizle ve hareketle azalır. Bazı hastalar tutuklukla ağrıyı ayırt edemez²¹.

Entezit; kostasternal bileşkeler, spinöz çıkıntılar, iliak kanatlar, büyük trokanterler , tüber iskiadikumlar, tibial tüberküller ve topuklarda inflamasyon ve ağrıya neden olur. Juvenil başlangıçlı AS' de aksiyel tutulumdan önce entezit ve oligoartrit gelişebilir²¹.

Kostavertebral eklem ve torakal omurga tutulumu bazen plöritik tarzda sırt ve göğüs ağrısına neden olabilir²¹.

Omuz ve kalça eklemlerinin tutulumu hastaların %35' inde görülür, hastaların %15' inde ilk bulgu olabilir. Özellikle kalça tutulumu ciddi bir sakatlık nedenidir. Sıklıkla diz eklemine tekrarlayan efüzyon, %10 oranında temporomandibular eklem tutulumu görülebilir²¹.

Eklem Dışı Tutulum:

Hastalığın başlangıç döneminde; yorgunluk, uyku bozukluğu, iştahsızlık, kilo kaybı ve subfebril ateş gibi bulgular görülebilir³¹.

Göz tutulumu: AS' nin en sık görülen eklem dışı bulgusu akut anterior üveittir. HLAB27 (+) hastalarda üveit daha sık görülmektedir³². Genellikle aynı zamanda tek göz etkilenir ve ataklar arasında uzun süre vardır. Tipik bulgular ani başlangıçlı ağrı, kızarıklık ve fotofobidir. İnflamasyon kontrol altına alınmazsa pupiller ve lens disfonksiyonu olur, kalıcı körlük nadirdir³³.

Kardiyovasküler tutulum: Genellikle yaşla ve hastalık süresi ile ilişkili, hastalık aktivitesi ile ilişkisiz olarak meydana gelir. Kardiyak tutulum riski, 10 yıllık hastalık süresinden sonra % 2 ve 30 yıllık hastalık süresi sonrası ise % 12 olarak belirlenmiştir. En sık; asendan aortit, aortik kapak yetmezliği, ileti anormallikleri, kardiyomegali ve perikardit görülür. Nadir görülen kardiyak bulgular; asendan aortanın anevrizması, amiloidoz, perikardit ve perikardiyal efüzyondur. Kardiyak tutulumlu hastaların büyük çoğunluğu HLA-B27 pozitifdir³⁴.

Pulmoner tutulum: AS; göğüs duvarında fiksasyon, göğüs ekspansiyonunda kısıtlanma ve akciğer parankim hastalıklarına neden olabilir. Akciğerdeki esas değişiklikler apikal fibrobüllöz değişiklikler, interstisyel akciğer hastalığı, plevral kalınlaşma ve efüzyondur^{35,36}. Apikal fibrobüllöz hastalık, AS' de çok sık görülmeyen bir ekstraspinal komplikasyon olmasına karşın en fazla görülen pulmoner komplikasyondur. Genellikle asemptomatiktir, daha çok bilateraldir ya da tek taraflı olabilir³⁷.

Böbrek tutulumu: Spondiloartropatili hastaların % 1-3' ünde ortaya çıkan sekonder amiloidoz, nefrotik sendroma neden olabilir. Ayrıca Ig A nefropatisi ile antiromatizmal ilaç ve steroid olmayan antiinflamatuvar ilaç kullanımına bağlı nefropati görülebilir²¹.

Barsak tutulumu: Hastaların % 60' ında terminal ileum ve kolonda, etyopatogenezle ilişkili olabileceği düşünülen asemptomatik mukozal inflamatuvar lezyonlar görülebilir³⁸.

Nörolojik tutulum: Ankilozan spondilitli hastalarda nörolojik semptomlar ender olarak görülmektedir. Bu semptomlar daha çok vertebral fraktür, atlantoaksiyal subluksasyon, kauda ekina sendromu ile ilişkili olup, sinir kökü lezyonları, spinal kord kompresyonu, spinal kord iskemisi, araknoidit ve monofazik miyelopatiji içermektedir. Ayrıca bazı

AS'li hastalarda Multiple Skleroz benzeri semptom ve bulguların görülmesi, bu iki hastalığın birlikteliği üzerinde durulmasına neden olmuştur³⁹. Ankilozan spondilitte, vertebral diskler, ligamentlerdeki kemikleşme sonucu omurga elastikiyetini ve darbeyi emme yeteneğini kaybeder. Düşük enerjili bir yüklenme bile omurgada kolaylıkla kırık oluşturabilir⁴⁰. Kauda ekuina sendromu genellikle yavaş gelişir, lomber ve sakral duyu kaybı olur, alt ekstremitelerde kuvvetsizlik ve ağrı, üriner ve rektal sfinkter tonus kaybı ile karakterizedir^{21,31}.

2.2.6. Fizik Muayene Bulguları

AS' nin tanı ve takibinde sakroiliak eklemleri ve tüm omurgayı içeren ayrıntılı bir kas iskelet sistemi muayenesi yapılmalıdır. Sakroiliak eklem değerlendirmesinde sakroiliak ve pelvik kompresyon, Gaenslen, Mennel ve Faber testleri yapılabilir. Sakroiliit varlığına rağmen bu testler negatif olabilir ve sakroiliit için spesifik değildirler³¹.

Erken dönemde spinal mobilitedeki azalma, kemik ankilozdan daha çok aksiyel iskeletin inflamasyonuna eşlik eden paravertebral kas hassasiyeti ve tutukluğuna bağlıdır²¹.

AS hastalarında spinal mobilite Modifiye Schober Testi ile değerlendirilir. Bu test için Spina İliaka Posterior Superior (Venüs gamzeleri) hizasının 5 cm altı ve 10 cm üstü işaretlenir. Hasta dizlerini bükmeden öne doğru eğilir, işaretlenen bu 15 cm' lik mesafede oluşan farkın tespit edilmesiyle ölçüm gerçekleştirilir. 5 cm' den az miktardaki artış, spinal mobilitede azalmayı gösterir⁴¹.

Ayrıca, dizler ekstansiyondayken hastanın mümkün olabildiğince öne eğilmesi istenerek yapılan 'el parmak zemin mesafesinin' ölçümü ile de spinal mobilite değerlendirilebilir. Servikal omurganın tutulumu, 'çene göğüs mesafesi' ya da 'tragus duvar mesafesi' ölçümü ile saptanabilir. Hastalık ilerledikçe tüm düzlemlerde spinal mobilite progresif olarak azalır ve postür bozuklukları ortaya çıkar. Lumbal lordoz düzleşir, torakal kifoz artar. Eğer kalça eklemleri de tutulmuşsa zaman içerisinde fleksiyon kontraktürleri gelişir^{21,31}.

Göğüs ekspansiyonu, 4. interkostal aralık seviyesinden yapılan göğüs çevresi ölçümüyle belirlenir, yaş ve cinsiyet faktörlerinden etkilenmekle birlikte inspiyum ve ekspiyum sırasındaki farkın 5 cm altında olması anlamlıdır⁴².

2.2.7. Labaratuvar Bulguları

Hastalarda eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), CRP ve diğer akut faz reaktanları artmış olabilir ancak her zaman hastalık aktivasyonu ile ilişkili değildir. Serum Ig A düzeyi genellikle diğer akut faz reaktanları ile korele şekilde hafif-orta derecede artmış bulunur. Kompleman düzeyleri normal veya artmıştır. Romatoid faktör (RF) ve antinükleer antikor (ANA) değerleri sağlıklı populasyonla aynıdır. İnflamasyon derecesi ile ilişkili olarak trombosit sayısında hafif artış, hafif normokrom-normositer anemi görülebilir. Bazı hastalarda alkelen fosfataz ve kreatinin kinaz seviyelerinde hafif yükselme olabilir ancak önemi bilinmemektedir³⁸.

Periferik tutulumda eklemlerin sinoviyal sıvı analizi diğer inflamatuvar artritlerde olduğu gibidir. Renal tutulum varsa böbrek fonksiyon testleri ve idrar tetkiki etkilenebilir²¹.

HLA-B27, %90 hastada pozitifdir ve bu hastalarda akut anterior üveit ve spondilitik kalp hastalığı oranları daha yüksektir³¹.

Solunum fonksiyon testlerinde vital kapasite ve total akciğer kapasitesinde azalma, rezidüel akciğer kapasitesi ve fonksiyonel rezidüel kapasitede artış görülür, hava akım ölçümleri ve difüzyon testleri normaldir²¹.

2.2.8. Radyolojik Görüntüleme

AS' de sakroiliak eklem tutulumu genellikle bilateral ve simetriktrir. Erken dönemde kıkırdak, sinovya ve subkondral kemik rezorbsiyonu ile eklem aralığında bulanıklaşma, subkondral kemiğin rezorbsiyonu ile eklem aralığında genişleme görülür. Hastalık ilerledikçe önce iliak, sonra sakral tarafta erozyonlar gelişir. Zamanla; fibrozis, kalsifikasyon, kemik köprüler ve sonunda ossifikasyon ve ankiloz gelişir. Sakroiliit tanısı için ön-arka pelvis grafisi ilk seçenektir. Sakroiliak eklemler, pelvisin frontal düzlemle 30° lik açı ile görüntülendiği Ferguson grafisi ile değerlendirilmelidir⁴³.

Entezit bulgusu olarak ligament ve tendon yapışma noktalarında kemik erozyonları ve saçaklanma gözlenir⁴³.

AS'de tipik radyolojik görünüm omurlardaki kareleşmedir. Vertebral kemiklerin konkav yüzeylerindeki erozyon ve sonrasındaki reaktif skleroz kareleşmeye yol açar. Vertebral kemiklerin köşelerindeki skleroz artışı parlak beyaz görünümü ile Romanus

lezyonu olarak tanımlanır. Anulus fibrozusun ve spinal ligamentlerin kalsifikasyonu ile vertebral cisimler arasında sindesmofit olarak adlandırılan köprüler oluşur. AS' de görülen sindesmofitler enteropatik spondilitte olduğu gibi bilateral ve simetrik olup birbirini izleyen omur cisimlerinin üst ve alt kenarları arasındadır (marjinal sindesmofitler). Sakroiliak eklemlerdeki inflamasyondan ankilozlaşan değişiklikler apofizer eklemlerde de oluşur ve radyografik olarak eklem aralığında düzensizlik, skleroz ve ankiloz saptanabilir. Ön-arka torakolomber grafide, çok seviyeli, simetrik sindesmofit oluşumu ve apofizer eklemlerin ankilozu sonucu ortaya çıkan radyolojik görünüm bambu kamışı görünümü, apofizer eklemlerin sklerozu, eklem ligamentlerinin ve interspinöz ligamentlerin kalifikasyonu ile oluşan radyolojik görünüm ise üçlü ray belirtisi olarak adlandırılır⁴³.

Kalça ve omuz tutulumu, eklem aralığında simetrik ve konsantrik daralma, subkondral kemiğin düzensizliği ve sklerozu, eklem yüzeyinin dış kenarlarında osteofit oluşumu ve geç dönemde eklem ankilozu şeklinde görüntülenebilir⁴³.

AS' nin geç dönemlerinde spinal osteoporoz da sıklıkla görülür⁴³.

AS hastalarında nadiren RA' dakine benzer radyolojik bulgular veren atlantookspital subluksasyon gelişebilir. Klinik durumu iyi olan bir hastada ani gelişen bir ağrının ortaya çıkması spinal kırığı düşündürmelidir. Direkt grafide bir bulgu saptanamazsa kemik sintigrafisinde lokal aktivite artışı bu tanıyı destekleyebilir. Yeni ortaya çıkan, şiddetli, lokalize edilebilen omurga ağrısında Anderson lezyonu olarak adlandırılan steril spondilodiskit de düşünülmelidir. Grafide disk aralığında azalma ve düzensiz dansite artışı, komşu omurlardan birinde destrüktif lezyon beklenen bulgulardır. Sintigrafide lokal aktivite artışı saptanırken MRG ile diskite tanısı konabilir. Ancak mutlaka infeksiyöz diskite veya osteomyelit ayırıcı tanısı yapılmalıdır⁴³.

Sakroiliitin New-York Ölçütlerine Göre Derecelendirilmesi:

Evre 0: Normal, SIE normal görünümde

Evre 1: Kuşkulu, özgül olmayan değişimler var

Evre 2: Minimal sakroiliit, eklem kenarında hafif skleroz, minimal erozyon, eklem aralığında yalancı genişleme

Evre 3: Orta derecede sakroiliit, eklem her iki kenarında kesin skleroz, kenar

netliğinin kaybolması, bulanık görünüm, erozyonlar, eklem aralığında daralma

Evre 4: Ankiloz, eklemde tam füzyon

Konvansiyonel düz radyografi halen inflamatuvar bel ağrısı olan hastalarda ilk seçenek olmasına karşın bu tekniğin sakroiliak inflamasyonun erken evrelerinde duyarlılığı yoktur. Böyle olgularda intravenöz gadalinyum dietilenetriyaminepentaasetik asit enjeksiyonu sonrası T1 ağırlıklı sekans ile elde edilen dinamik MRG ve Kısa tau inversiyon geri elde etme (short tau inversion recovery-STIR) sekansları gibi yağ doyurucu teknikler, AS' nin aktif döneminde sık görülen bir bulgu olan kemik iliği ödemi saptamada ve sakroiliitin erken evrelerini göstermede çok duyarlıdır. STIR görüntüleme Gd-DTPA sekanslarından daha ucuzdur ve neredeyse onun kadar iyi sonuç verir⁴³.

Erozyonlar, kırık ve ankiloz gibi kemik değişikliklerini saptamakta BT' nin MRG' ye üstün olduğu kabul edilir ancak kırıkdağın görüntülenmesinde MRG daha iyidir³⁴.

2.2.9. Ayırıcı Tanı

Ayırıcı tanıda diğer sakroiliit nedenleri düşünülmelidir. Seronegatif spondilartropatiler, pyojenik enfeksiyonlar (tüberküloz, brusella gibi enfeksiyöz sakroiliit nedenleri) ekarte edilmelidir. Hiperparatiroidi, parapleji ve sarkoidozun sakroiliite neden olabileceği akılda tutulmalıdır. Difüz idiopatik skeletal hiperosteozis (DISH) daha geç başlaması, büyük, geniş ligamentöz ossifikasyonlar bulunması, sakroiliit olmaması ve HLA-B27 ile ilişkisinin bulunmaması ile AS'den ayrılabilir. Uzun süreli retinoid kullanımı DISH benzeri tablo yapabilir⁴⁴.

2.2.10. Ankilozan Spondilite Değerlendirme ve İzlem

AS' de ağrı ve tutukluk Vizüel Analog Skalası (VAS) ile değerlendirilir. Spinal mobilite en sık; oksiput-duvar, tragus-duvar uzaklığı, modifiye Schober testi, el-yer uzaklığı ve göğüs ekspansiyonu testleriyle değerlendirilir. Spinal mobilite değerlendirme yöntemleri arasında en yüksek geçerlilik, güvenilirlik, tekrarlanabilirlik ve değişime duyarlılık özelliği bulunan Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi (BASMI) sık kullanılmaktadır⁴⁵.

Hastalık aktivitesini değerlendirmek üzere geliştirilen, geçerlilik ve güvenilirliği kanıtlanmış ve yaygın olarak kullanılan Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi (BASDAI) AS hastalarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu skala yorgunluk, spinal ve periferik eklem ağrısı, duyarlılık ve sabah katılığından oluşan 6 adet VAS ölçümünden oluşmaktadır⁴⁶. Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi (BASFI), işlevsel değerlendirme için geliştirilmiş bir ölçümdür ve AS hastalarında fonksiyonel kapasiteyi en iyi gösteren ölçeklerden biri olarak kabul edilmektedir⁴⁷.

AS' de entesopati değerlendirmesi; geçerli ve güvenilir bir entezis indeksi olarak tanımlanan Maastricht AS Entesit Skoru (MASES) ile yapılabilir. Bu ölçekte, 1 ve 7. kostokondral eklem, posterior ve anterior iliak spinalar, iliak krista, aşıl yapışma yeri çift taraflı olarak, ayrıca 5. lomber spinöz çıkıntının basmakla duyarlı olup olmadığı değerlendirilir⁴⁸.

AS hastalarında radyolojik değerlendirmeler genellikle geçerlilik ve güvenilirliği kanıtlanmış radyografik değerlendirme yöntemleri olan Bath Ankilozan Spondilit Radyoloji İndeksi (BASRI), Stoke Ankilozan Spondilit Omurga Skoru (SASSS) ve SASSS' nin modifiye bir biçimi olan Modifiye Stoke Ankilozan Spondilit Omurga Skoru (M-SASSS) ile değerlendirilmektedir. Yukarıda bahsedilen bu üç ölçek arasında değişime duyarlılıklarının karşılaştırıldığı bir çalışmada en uygun yöntemin M-SASSS olduğu saptanmıştır⁴⁹⁻⁵¹. SASSS, T12-L5 arasında yer alan 6 intervertebral aralıkta ön ve arka olmak üzere 0-3 arasında skorlanarak elde edilirken; M-SASSS, C2-T1 arasında sadece önde benzer biçimde skorlanır. Ancak omurga ve kalça radyografilerinin değerlendirilmesini temel alan BASRI ölçeği AS hastalarında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. MRG' de radyolojik değişiklik oluşmadan önce inflamasyonu gösterir^{52,53}.

AS hastalığının yaşam kalitesi üzerine etkileri genellikle, Sağlık Değerlendirme Anketi' nin (HAQ) spondiloartropatilerde kullanılmak üzere modifiye edilmiş biçimi olan Sağlık Değerlendirme Anketi –Spondiloartropati (HAQ-S) ölçeği, Nottingham Sağlık Profili (NHP) ölçeği, Kısa Form 36 (SF-36) ölçeği, EuroQoL, Ankilozan Spondilit Yaşam Kalitesi Anketi (ASQoL) ölçeği ile değerlendirilmektedir⁵⁴.

2.2.11. Prognoz

AS hastalarının çoğunluğunda prognoz iyi olmakla birlikte %10-20 oranında uzun süreli sakatlık olabilir. Prognoz; erken (16 yaş öncesi) ve şiddetli başlangıç, eklem dışı komplikasyonların varlığı, tedaviye başlandığı dönemdeki hastalık şiddeti, tedavinin uygunluğu ve hastanın tedaviye uyumu ile ilişkilidir. Erken kalça tutulumu ve servikal tutulum kötü prognoz göstergesidir. AS' li hastaların çoğu normal popülasyona eşit bir ömre sahiptir. Ölüm nedenleri içinde spinal kırıklar, cerrahi, kalp-damar tutulmuşu, tedavi komplikasyonları veya inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisi ile ilgili problemler sayılabilir⁵⁵.

2.2.12. Tedavi

Farmakolojik Tedavi:

Steroid olmayan anti inflamatuvar ilaçlar (SOAİİ)

SOAİİ' lerin, ağrı ve BASDAI dahil olmak üzere hastalık aktivitesi ölçütlerinde, omurgadaki yapısal hasarın ilerlemesinin inhibisyonunda etkili olduğu kanıtlanmıştır⁵⁶. Gastrointestinal yan etkileri de bu ajanların kullanımlarını kısıtlamaktadır⁵⁷.

Metotreksat (MTX)

AS tedavisinde MTX' in; BASFI, BASDAI, ağrı veya mobilite üzerinde herhangi bir yararı olduğunu destekleyecek hiçbir kanıt yoktur⁵⁸.

Sulfasalazin (SSZ)

SSZ' nin, ESH düşmesi ve sabah tutukluğunun azaltılmasında bazı faydalarının olduğu, ancak fiziksel fonksiyon, ağrı, spinal mobilite ve hastalık aktivitesi üzerine hiçbir faydası olmadığı gösterilmiştir⁵⁹.

Kortikosteroid (KS) ilaçlar

AS tedavisinde uzun süreli sistemik kortikosteroidlerin yeri bulunmamaktadır. Ancak refrakter AS' de yararlı olabilmektedir. Akut atakta pulse uygulamalar, geçici olarak ağrı ve kısıtlılığı rahatlatılabilir. Akut anterior üveit tedavisinde, göz içi damla ve enjeksiyon şeklinde lokal ve/veya oral tedavi gerekmektedir. Periferik eklem hastalığı veya entezopatinin lokal tedavisinde faydalı olabilir⁶⁰.

Anti Tumor Nekrosis Faktör Alfa (anti-TNF a) Tedavisi

Tumor nekrosis faktör α (TNF- α), peptit mediatör ailesinin bir üyesidir. İnflamatuvar durumlarda, temelde makrofajlar olmak üzere birçok hücre tarafından salgılanır. Apoptoziste önemli roller üstlenir, inflamatuvar ve immünregülatuar aktivitelere aracılık eder. Adezyon molekülerinin endotelial ekspresyonunu artırarak nötrofil, lenfosit ve monosit gibi hücrelerin inflamasyon alanına göç etmesini sağlar. Bu sitokin aynı zamanda proinflamatuvar rol üstlenen IL1, IL6, IL8, GM-CSF (granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör) ve diğer inflamasyon mediatörlerinin (prostoglandinler, lökotrienler, platelet aktive edici faktör) sentezini de uyarır. TNF- α , makrofaj ve fibroblastlardan, kırık ve doku hasarına sebep olan kollajenaz stromelin gibi matriks metalloproteinazların sentezlenmesini uyarır. Tüm bunlara ilave olarak TNF- α direk olarak ağrı, ateş ve kaşeksiye neden olabilir⁶¹.

Çalışmalar, AS'de TNF- α 'nın inflamasyonda rol oynayabileceğini göstermektedir⁶².

Aktif AS hastalarında yapılan klinik çalışmalarda anti-TNF tedavisinin, önemli güvenlik sorunları olmadan, kısa ve uzun süreli etkinliği gösterilmiştir. Günümüzde, dört farklı anti-TNF ajan (infliksimab, etanersept, adalimumab ve golimumab) onaylanarak AS tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. 2003 yılında Uluslararası Spondiloartrit Derneği (ASAS), 2006 ve 2009 yılında ASAS / EULAR (Romatizmaya Karşı Avrupa Ligi) yönetimi AS hastalarında anti-TNF ajanların kullanımı için önerilerde bulunmuştur⁶³.

Anti-TNF tedavisi kullanan hastalar; enfeksiyonlar (sepsis, tbc dahil), malignansiler (lenfoma gibi), hematolojik hastalıklar (anemi, pansitopeni), demiyelinizan hastalıklar ve nöropati, konjestif kalp hastalığı, otoantikör ve otoimmün cevap gelişimi ve hipersensitivite reaksiyonları açısından dikkatle izlenmelidir. Bu ilaçların yan etkileri kendi özelliklerinden çok ait oldukları sınıfa özgü olmakla birlikte, tüberküloz infliksimab tedavisinde, demiyelinizan hastalıklar etanersept tedavisinde daha çok görülebilir⁶⁴.

Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Yaklaşımları

AS rehabilitasyonunda amaç hastanın postürünün ve eklem hareket açıklığının korunması ve düzeltilmesidir. Erken tanı ve tedaviyle düzgün vücut pozisyonlaması ve

egzersizler; hastaların minimum deformiteyle yaşamalarını sağlar, yaşam kalitelerini artırır. Fizik tedavi modaliteleri, ağrının kontrolüne yardım etmek, egzersize toleransı artırmak ve egzersizlerin daha etkili yapılmasını sağlamak için kullanılabilir. Bu amaçla, yüzeysel ve derin sıcak ve soğuk tedavi modaliteleri, alçak ve orta frekanslı akımlar sıklıkla kullanılır. Eklem ve çevre dokulardaki inflamasyon, bunun neden olduğu kas spazmı, kontraktür ve eklem yapışıklığının tedavisinde yararlıdır. Derin ısıtıcılar eklem içi sıcaklığı yükseltirler, ligamentlerdeki gerilmeyi artırır. Özellikle ultrason kas spazmı ve ağrıyı azaltmada etkilidir. Aktif artritli hastalarda inflamasyonu artırabileceğinden dikkatli olunmalıdır⁶⁵.

AS tedavisinde manuplasyon; kırık, dislokasyon, subluksasyon, sinir veya kord kompresyonuna neden olabileceğinden kullanılmalıdır⁶⁵.

Masaj, kas spazmının çözülmesi, kan akımının artırılması ve egzersize hazırlık amacıyla kullanılabilir⁶⁵.

AS' li hastalar kaplıca tedavisinden fayda görebilir. Fizik tedavi ajanları ile birlikte su içi egzersiz ve yüzmenin bir arada olması, ayrıca çevre ve iş stresinden uzak olması hastanın rahatlamasını sağlar ve psikolojisini olumlu yönde etkiler⁶⁵.

Hastaların iş yaşamına adapte olabilmeleri için, çalışma koşulları ve çevresi postürüne uygun olacak şekilde yeniden düzenlenmelidir. Hastaya gün içinde birkaç kez yüzüstü yatarak istirahat etmesi önerilmelidir⁶⁵.

Enerjiyi korumak, ağrıyı azaltmak, fonksiyonların artmasını sağlamak amacıyla baston, koltuk değneği, tekerlekli iskemle kullanılabilir⁶⁵.

Egzersiz, AS tedavisinde çok önemlidir. Hastalığın başlangıcında itibaren yoğun eğitim programı uygulanmalı, ev egzersizleri düzenli olarak yapılmalıdır⁶⁶. Egzersiz; eklem hareket açıklığını korumak, kontraktür oluşumunu engellemek, oluşmuşsa ilerlemesini yavaşlatmak, göğüs kafesi hareketliliğini devam ettirmek, iyi bir postürü devam ettirmek, kısalmış kasları germek, kasları güçlendirmek ve fiziksel uyumu iyileştirmek için yapılır⁶⁶.

Uygun postür ve omurga hareketliliğinin sürdürülmesinde, sırt ekstansörleri kas gücünün artırılması çok önemlidir. Boyun, omuz, kalça için eklem hareket açıklığı ve kas güçlendirme egzersizleri, göğüs ekspanسیونunu sürdürmek için derin solunum

egzersizleri, akciğer kapasitesini artırmak için aerobik egzersizler önemlidir. Ayrıca zayıf olan abdominal kaslar da güçlendirilmelidir. Bu amaçlara ulaşmak için yüzme mükemmel bir spordur⁶⁵.

Aksiyel iskelet tutulumuna yönelik uygulanan rutin egzersizlerin yanı sıra AS' li hastalar için solunum sistemi fonksiyonlarını ve egzersiz kapasitesini arttırmaya yönelik kardiyopulmoner rehabilitasyon programlarının da oluşturulması gereklidir. Tüm bu egzersiz programlarının ana hedefi, hastayı mümkün olan en yüksek fonksiyonel kapasiteye ulaştırmaktır. Bu programlar solunum egzersizleri, ekstremite kaslarını kuvvetlendirme egzersizleri ve aerobik egzersizler içerecek şekilde düzenlenir^{67,68}.

2.3. Mikro RNA' lar

miRNA' lar ilk kez 1993 yılında keşfedilen, 20-22 nükleotid uzunluğunda, kodlamayan RNA molekülleridir⁵. mRNA' nın 3' çevrilmemiş bölgesine (UTR) bağlanarak, bazı alt gruplarını bozar veya translasyonu durdururlar⁶. İlk miRNA lin-4, nematod *Caenorhabditis Elegans*' ta tespit edildi⁶⁹. 7 yıl sonra *C. Elegans*' ta ikinci miRNA let-7 tanımlanmıştır ve sonra yeni miRNA' lar tanımlanmaya devam etmiştir⁷⁰. Şu ana kadar, farklı deneysel stratejiler ve güçlü hesaplama tahminleri kullanılarak, 142 türde 17.341 olgun miRNA tanımlanmıştır⁷¹. 2001 yılında insanlardaki ilk keşfinden beri bugüne kadar 1420' den fazla miRNA tanımlanmıştır⁷². miRNA' ların insan genomunun yaklaşık % 3' ünü teşkil ettiği tahmin edilmektedir⁷³. İnsan genlerinin % 30 ile % 92' si olasılıkla miRNA tarafından düzenlenir⁷⁴.

miRNA' ların; hücre farklılaşması, apoptoz, anti-viral savunma, bağışıklık hücrelerinin farklılaşması ve sağ kalımı, antikor üretimi ve inflamatuvar mediatör salınımı dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerin ve bağışıklık sisteminin fonksiyonunun gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. miRNA' ların insan fizyolojisindeki önemli rolüne dayalı olarak anormal ekspresyonları (upregülasyonu veya downregülasyonu); kanser, kalp-damar bozuklukları, şizofreni, kas-iskelet bozuklukları, akciğer hastalıkları ve gelişim bozuklukları gibi çeşitli hastalıkların gelişimine yol açabilir⁷².

2.3.1. miRNA' nın biyogenez ve matürasyonu

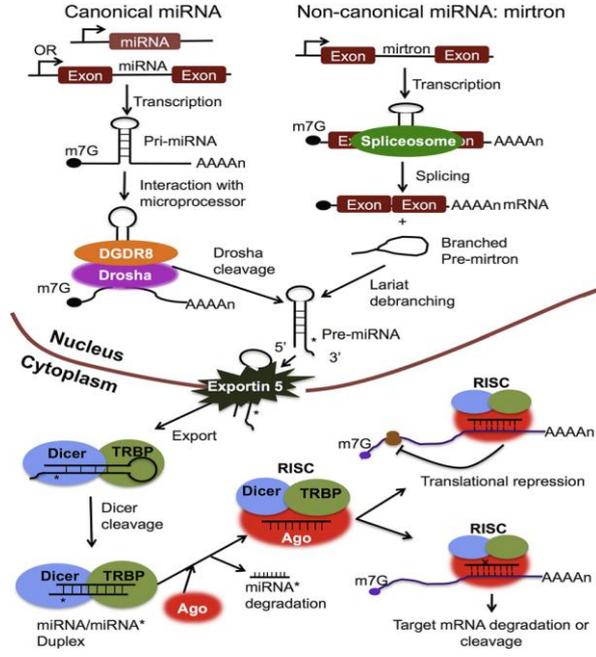
miRNA' lar ilk olarak, RNA polimeraz II tarafından, primer miRNA transkriptleri (primiRNA) olarak genomdan transkribe edilir. Bu yapı, kök bölgesinde

gelecekteki miRNA' yı barındıran, kısmen tamamlayıcı sekanslarıyla saç tokası görünümüne sahiptir. Kurallı miRNA biyogenezi yolağında pri-miRNA' lar, çekirdekte nükleer RNaz III enzimi, Drosha, çift sarmallı RNA bağlayıcı protein, DiGeorge sendromu kritik bölge protein 8 (DGCR8)' i kapsayan bir mikroişlemci kompleksi tarafından 70-100 nükleotidli prekürsör miRNA' ları (pre-miRNA) üretmek için parçalanır^{75,76}.

Pre-miRNA sonra, özellikle pre-miRNA molekül yapısını tanıyan exportin 5/RanGTP tarafından çekirdekten sitoplazmaya verilir. Sitoplazmadaki pre-miRNA, Dicer ve ortak protein TRBP (trans-activator RNA binding protein) tarafından 21 nükleotidli yolcu ve matür miRNA iplikçikleri içeren miRNA dublekslerine yarılr^{75,77}.

5' ucu termodinamik olarak daha az kararlı olan matür miRNA, ana bileşenleri Argonaute proteinleri (Ago) olan RNA-indüklenmiş susturma kompleksine (RISC) girerken yolcu miRNA iplikçığı parçalanır. miRNA ve hedef mRNA 3'-çevrilmemiş bölgeleri (3'-UTRs) arasındaki komplementer baz eşleşmesinin derecesine bağlı olarak, translasyonun baskılanması veya hedeflenen mRNA' nın bölünmesi yoluyla gen susturma indüklenir. Ago protein ailesinden sadece Ago2' nin mRNA' nın yarılmasına sebep olacak endonükleaz aktivitesi gösterdiği bilinmekte, diğer Ago proteinlerinin ise translasyonel baskıya aracılık ettiği düşünülmektedir⁷⁵.

Son zamanlarda, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* ve memelilerde, miRNA olgunlaşması için alternatif Drosha bağımsız bir yol bildirilmiştir^{78,79}. Alternatif, non-kanonik miRNA biyogenezi yolağında, mikroişlemci işlenmesinden bağımsız olarak "mirtronlar" olarak adlandırılan yeni bir sınıf miRNA öncüleri üretilir⁷⁶. Ancak, mirtronlar miRNA'ları nispeten az sayıda temsil eder, miRNA' ların çoğunluğu Drosha bağımlı yolak tarafından işlenir⁷⁷ (şekil-1).



Şekil 1. Kanonik ve non-kanonik miRNA yolları

RISC bir kez yüklendiğinde miRNA, mRNA'nın 3' UTR hedefine bağlanır. Bu bağlanma, co-translasyonel protein yıkımı, translasyonel uzamanın inhibisyonu, translasyonun erken sona ermesi ve translasyon başlama inhibisyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar aracılığıyla degradasyon ya da translasyonel baskı ile sonuçlanır⁸⁰.

2.3.2. İmmün sistem fonksiyonu ve gelişiminde miRNA'nın rolü

miRNA'lar, otoimmün hastalıklar ve kanser dahil olmak üzere birçok rahatsızlığı önlemede ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde hayati önem taşımaktadır. Son zamanlarda, miRNA'ların bağışıklık hücresi gelişimi gibi immün yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı belirgin hale gelmiştir. Bugün için nispeten az sayıda olan spesifik miRNA'lar bağışıklık sisteminde önemli bir düzenleyici olarak ortaya konmuştur⁸⁰.

2.3.3. Doğal bağışıklık düzenlenmesinde miRNA'lar

İmmün sistemin doğal bağışıklık sistemi; granülositler, monosit kökenli makrofajlar ve dendritik hücreleri içerir. Granülositler, periferik beyaz kan hücreleri olan nötrofillerin büyük bir yüzdesini oluşturur ve işgalci patojenlere karşı ilk hücrel

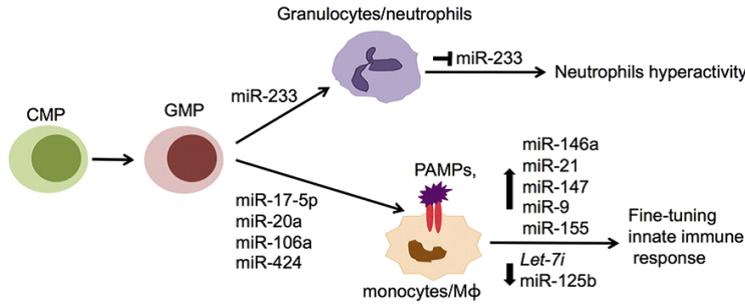
savunma çizgisi olarak kabul edilir. Monosit membranındaki Toll benzeri reseptörler (TLR), patojen ilişkili moleküler kalıplar (PAMPs) olarak adlandırılan mikrobiyal ürünleri tanır ve bağlanır. Böylece inflamatuvar yanıtların başlaması için sinyal yolağı tetiklenir^{81,82}. TLR sinyalizasyonu, negatif düzenleyicilerin farklı sınıfları tarafından, kuvvetli inflamasyonu önlemek için sıkıca in vivo olarak kontrol edilir⁸³. miRNA' lar, sadece doğal bağışıklık yanıtı düzenlemesini değil, aynı zamanda adaptif bağışıklık hücre gelişimini de düzenler ve böylece TLR sinyalleşmesinin negatif feedback düzenlemesine yeni bir katman ekler⁷⁶. Bir in vivo çalışmada mir-223, transkripsiyon faktörü olan miyosit spesifik genişletici faktör 2C' yi hedef alarak granülosit farklılaşmasının negatif bir düzenleyicisi olarak davrandığı gösterilmiştir⁸⁴. Monosit kökenli makrofajlar, doğal immün yanıtta kritik bir rol oynamaktadır. Monositopoezis; miR-17-5p, miR-20a, miR-106a, akut miyeloid lösemi-1 (Runt ilgili transkripsiyon faktörü 1 olarak da bilinen AML-1) ve makrofaj koloni uyarıcı faktör reseptöründen (M-CSFR) oluşan bir döngü tarafından kontrol edilir⁸⁵ (Şekil-2).

Doğal immün yanıtın düzenlenmesinde miRNA' ların önemi açıktır. Çeşitli miRNA' ların, PAMPs veya inflamatuvar sitokinlerin stimülasyonuna olan yanıtı dramatik olarak değiştirdiği gösterilmiştir⁷⁶.

Bir öncü çalışmada Taganov ve ark. Mir-146' nın insan monositik hücrelerinde, lipopolisakkarit (LPS) stimülasyonuna yanıt olarak hızla upregüle olduğunu ve tümör nekroz faktör reseptörü ilişkili faktör 6 (TRAF6) ve interlökin (IL) -1 reseptör ile ilişkili kinaz 1' i (IRAK-1) hedef alarak TLR sinyalleşmesinin negatif geri besleme regülatörü olarak görev yaptığını göstermişlerdir⁸⁶. MiR-146a ekspresyonunun, hücre içi TLR (TLR3, TLR7, TLR9) sinyalizasyonu tarafından değil, sadece hücre yüzey TLR (TLR2, TLR4, TLR5) sinyalizasyon tarafından indüklenebilir olması ilginçtir ve bu, miR-146a' nın viral patojenler için değil, bakteriyel patojenler için doğal immün yanıtın düzenlenmesinde kilit bir rol oynadığının göstergesidir⁷⁷. Mir-146a' nın yanı sıra, diğer başka miRNA' lar da TLR sinyal negatif düzenleyicisi olarak tespit edilmiştir. Mir-155 makrofajlarda, bakteriyel ve viral kökenli antijenlere cevaben, TLR2, TLR3, TLR4 veya TLR9 aktivasyonu ile indüklenmiştir⁷⁶.

Farklı bir çalışmada, miR-155' in TLR sinyalizasyon yolağındaki önemli bir adaptör protein olan miyeloid farklılaşması birincil yanıt proteini 88 (MyD88)' i hedefleyerek inflamasyonu downregüle ettiği gösterilmiştir. miR-21 ise LPS ile aktive

olmuş TLR4 sinyalizasyonunu sırasıyla, nükleer faktör kB (NF-kB) aktivasyonu ve IL-10 üretimini azaltan tümör supresör PDCD4' ü hedef olarak negatif yönde regüle etmiştir⁸⁷.



Şekil-2. Hücresel bağışıklıkta miRNA' ların rolü

Mikro RNA' ların doğal bağışıklıktaki düzenleyici rollerine ek olarak, adaptif bağışıklık yanıtları içinde de önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir⁸⁸. T ve B lenfositleri kazanılmış immüntenin önemli hücresel bileşenleridir. Çalışmalarda, lenfosit progenitörlerinde miRNA biyogenezinin bozulmasıyla T ve B lenfosit gelişiminin bozulduğu gösterilmiştir. T lenfosit erken evrelerinde Dicer' in koşullu kısıtlamasıyla miRNA sentezinin bozulması, timüs ve periferal lenfoid dokularda, T-hücre sayısı azalmasına, T-hücre gelişimi bozukluğuna ve anormal yardımcı T hücre (Th) farklılaşması ve sitokin üretimine neden olmuştur^{89,90}.

Erken B-hücrelerinde Dicer tüketilmesi pro-pre B hücre geçişinde tam bir blok ile sonuçlanmış, proapoptotik protein Bim' in miR-17-92 kaybı aracılığıyla baskılanması, antikor çeşitliliğinin kısmen etkilenmesine sebep olmuştur⁹¹.

miR-155, T ve B hücrelerinin her ikisinin de aktivasyonunda upregüle olur ve c-maf, Pu.1 ve aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (AID) dahil olmak üzere farklı genleri hedef olarak lenfosit homeostazı ve normal bağışıklık fonksiyonunu düzenler. miR-155 yoksun farelerde; Th1/Th2 oranında anormallik, T regülatör hücre sayısında azalma, Th2 sitokin üretiminde artış, germinal merkez yanıtlarında azalma ve plazma

hücreleri ve bellek hücrelerinin IgG sınıf geçişinde azalma ile T ve B bağışıklığında defekt vardır⁷⁶.

Lenfosit progenitörlerinde miR-17-92 ekspresyonu, T ve B lenfosit proliferasyonunda artış ve lenfoma gelişimi ile sonuçlanmıştır. miR-17-92 yitimi, pre-pro B geçişinde B-hücresi gelişimini inhibe etmiştir^{92,93}.

2007 yılında, Rodriguez ve ark. Pri-miR-155 eksik farelerde adaptif bağışıklık yanıtlarının azaldığını ve i.v. aşından sonra Salmonella typhimurium' a bağışıklık geliştirmedeğini buldu. Bu azalmış adaptif bağışıklık yanıtı, bozulmuş B ve T-hücre fonksiyonuna ve dendritik hücrelerin kusurlu antijen sunumuna bağlandı. Bu veriler göstermektedir ki miR-155, B ve T lenfositler ve dendritik hücrelerin normal işleyişi için gereklidir⁹⁴.

Thai ve ark. miR-155' in germinal merkez yanıtını düzenlediğini bildirdi. Başlangıçta, germinal merkez B hücrelerinin, normal germinal merkez yanıtı sırasında, miR-155 ekspresyonunu upregüle ettiğini gösterdiler. Bic/miR-155 eksik fareler kullanarak, miR-155'in sitokin üretim seviyesinde, en azından kısmen germinal merkezi yanıtını düzenlediğini belirlediler⁹⁵. Daha sonra 2007 yılında, miR-155' in immünglobulin (Ig) sınıfı dönüşmüş plazma hücrelerinin üretimini düzenlediği gösterilmiştir. Bu çalışmada, B hücrelerinin miR-155 eksikliğine bağlı olarak yüksek afiniteli IgG1 antikörlerini üretmede başarısız olduğu gösterilmiştir. miR-155 tarafından hedeflenen transkripsiyon faktörü Pu.1 over ekspresyonu, daha az IgG1 üretime yol açar. Pu.1' in miR-155 düzenlemesi, Ig sınıfı dönüşmüş plazma hücrelerinin normal üretiminden sorumlu olabilir⁹⁶. miR-223' in de granülopoezi düzenlediği gösterilmiştir⁹⁷.

2.3.4. Otoimmün hastalıklarda miRNA katılımı

miRNA' ların otoimmünite ve bağışıklık fonksiyonları için olan önemi hücre kültürü ve hayvan çalışmalarıyla giderek netleşmektedir. Bununla birlikte, miRNA disregulasyonunun insanlarda otoimmün hastalık patogenezinde bir rolü olup olmadığı henüz iyi anlaşılmiş değildir. Son zamanlardaki çalışmalar, özellikle RA ve SLE olmak üzere otoimmünite ve romatizmal hastalıklarda, miRNA regülasyonunun olası rollerini ortaya çıkarmıştır⁷⁷.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmamıza Nisan 2012- Aralık 2012 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Polikliniğine başvuran, Modifiye New-York veya ASAS tanı kriterlerini karşılayan toplam 50 Ankilozan Spondilit tanılı olgu hasta grubuna dahil edildi. Hasta grubu ile yaş ve cinsiyete uygun olarak eşlendirilen, sistemik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllüler kontrol grubunu oluşturdu. Çalışmadaki 50 Ankilozan Spondilitli hasta ve 42 kontrol grubu gönüllüleri için dışlanma kriterleri:

- 18 Yaş altı hastalar
- Başka bir inflamatuvar romatizmal hastalığı olanlar
- Malignitesi olan hastalar
- Sistemik bir enfeksiyonu olup genel durumu iyi olmayan hastalar
- Kognitif fonksiyon bozukluğu olanlar
- Psikoz rahatsızlığı olanlar idi.

Helsinki deklarasyonu gereklerine göre yapılan bu çalışma için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındıktan sonra, çalışmaya katılan tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onamları alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylere ait yaş, cinsiyet, boy, kilo; hasta grubu için öğrenim durumu, mesleği, medeni durumu, hastalığın süresi, sigara kullanımı, alkol tüketimi, ilaç kullanımı, hastalığın periferik ya da aksiyel başlangıçlı olduğu, TNF- α , DMARD veya SOAİİ kullanıp kullanmadığı ve eşlik eden diğer hastalık verileri kaydedildi. Hastaların rutin fizik muayene ve kas-iskelet sistemi muayenesi yapıldı. Hastaların ESH, CRP, tam kan sayımı, tam idrar tetkiki, rutin biyokimyasal laboratuvar incelemeleri (kc fonksiyon testleri, üre, kreatinin), kan ürik asit düzeyi ve HLA B27 sonuçları kaydedildi. Hastalarda radyolojik değerlendirmelerinde direkt radyografik yöntemlerden antero-posterior pelvis, lumbosakral ve servikal vertebra ile özellikle sakroiliak eklemlerin değerlendirilmesinde direkt radyografi ile beraber T1, T2 ve STIR sekanslarında uygulaması yapılan MRG de kullanılmıştır.

Hasta grubunda hastalık aktivitesi BASDAI ölçeği kullanılarak değerlendirildi. BASDAI; yorgunluk, spinal ağrı, eklem ağrısı/şişliği, lokalize olarak hassas bölgeler ve

sabah tutukluğu olmak üzere AS' nin 5 major semptomuyla ilişkili 6 sorudan oluşan, hastanın geçen haftadaki hastalık aktivitesini ölçen bir ankettir. Sabah tutukluğu, hem şiddeti hem de süresi bakımından ölçülür. Hastalardan geçen haftaki semptomlarının şiddetini derecelendirmesi istenir. Sorular 10 cm uzunluğundaki bir horizontal visüel analog skala (VAS) zerine işaret konarak yanıtlanır. Sabah tutukluğu üzerine sorulan iki sorunun ortalama skoru hesaplanır ve diğer sorularınkiyle toplanır. BASDAI skoru toplam değerin (0-50) 0-10' luk bir skalaya dönüştürülmesiyle elde edilir⁴⁶ (ek-1).

Hastaların fonksiyonel kapasitesi BASFI skalası kullanılarak hesaplama yapılmıştır. BASFI ile hastanın geçen haftaki fonksiyonel kapasitesi ölçülür. Bu indeks günlük aktivitelerle ilgili 8 soru ve hastanın günlük yaşamla başedebilme yeteneğini değerlendiren 2 sorudan oluşur. Hastalar belirtilen işleri yaparken ne derecede zorlandığını 10 cm' lik VAS üzerinde işaretler. 10 sorudan elde edilen skorun ortalamasının alınmasıyla 0-10 arasında değerşen toplam skor hesaplanır⁴⁷ (ek 2).

Çalışmamızda metrolojik parametrelerdeki değerşim BASMI indeksi ile değerlendirildi (Ek. 3). BASMI skalasının 5 klinik ölçümü vardır:

Tragus-duvar mesafesi: Hasta topuklarının üstünde, dizler birbirine paralel ve gergin, kalçalar duvar ile temas halinde, baş dik ve nötral pozisyonda iken tragus ve duvar arasında kalan mesafe mezura ile ölçülür.

Lomber fleksiyon: Hastanın Venüs ukuruna denk gelen spinöz çıkıntısı işaretlenir. Bu bileşkeden 5 cm alt ve 10 cm üstüne toplam 15 cm' lik mesafeye işaret konur ve hastanın dizleri ekstansiyonda iken yere değermesi hedeflenerek ne eğilmesi istenir. Bu mesafede oluşan fark fleksiyon ölçümü olarak kabul edilir.

Servikal rotasyon: Basit goniometrik ölçüm ile sağa ve sola olmak üzere boyun rotasyonu ölçülüp ortalaması alınır.

Lomber lateral fleksiyon: nc parmak ucunun lateral uyluk üzerindeki konumunun nötr konum ile tam yan fleksiyon durumu arasındaki farkı mezura ile ölçülür.

İntermalleolar aralık: Hasta ayakta dizler gergin veya supin pozisyonunda iken, her iki bacağına açabildiği kadar aması ve medial malleollar arası mesafenin bir mezura yardımı ile ölçümü şeklinde yapılır²⁰ (Ek. 3).

3.2. miRNA Analizi

3.2.1. miRNA Analizi İçin Plazma Eldesi

Çalışma gruplarından kan örnekleri 5 ml'lik % 7.5 EDTA' lı tüplere alındı. Kan örneği alındıktan sonra en az 5 kez yavaşça alt-üst edilerek karıştırıldı ve alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılarak plazmaları ayrıldı.

-Tüpler 4000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi (santrifüj de fren seçeneği varsa kapatılmalı, santrifüj kendi kendine ve yavaş yavaş durmalıdır).

-Santrifüj işlemi sonunda tüpler sarsılmadan dikkatlice santrifüjden çıkartıldı, yavaşça ve sarsmadan açıldı.

-Plazmanın en üst kısmından 200 µl lik pipetlerle 5 kez toplan 1000 µl olacak şekilde toplandı.

-Toplanan 1000 µl lik bu örnek 13000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve plazmanın en üst kısmından 200 µl lik kısım temiz bir eppendorf tüpüne konuldu. Bu işlem, alttaki hücresel kısım rahatsız edilmeden pipetle (DNase, RNase Free, filtreli pipet uçları) yapıldı. Aynı işlem diğer bir eppendorf tüpü için yapıldı (200 µl lik 2 örnek).

-Eppendorf tüpleri hastaya ait barkod etiketi ile etiketlendi (barkod etiketinin önce boş tarafı eppendorf tüpüne yapıştırılacak daha sonra yazılı taraf boş tarafın üzerine gelecek şekilde sarılarak yapıştırma işlemi tamamlandı).

-Bu şekilde ayrılan plazma örnekleri -80C'lik derin dondurucuda saklandı.

3.2.2. miRNA izolasyonu

miRNA' lar plazmadan miRNA izolasyon kiti (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) kullanılarak izole edildi. Elde edilen total RNA -80C' lik derin dondurucuda saklandı.

3.2.3. cDNA eldesi ve pre amplifikasyon

İzole edilen miRNA' lar Reverse Transcription kiti (Fluidigm, USA) kullanılarak cDNA' ya dönüştürüldü ve analiz gününe kadar -20°C' de saklandı.

3.2.4. Dynamic Array 96.96' nın Hazırlanması miRNA analizi

cDNA' lar Dynamic Arrayler üzerinde 760 miRNA için Yüksek kapasiteli Real-Time PCR sistemi (Fluidigm, Biomark, USA) kullanılarak analiz edildi.

Dynamic Array 96.96' nın Hazırlanması

Bir adet Dynamic Array 96.96 olarak paketini açıldı. Üst ve alt kısımlarında bulunan küçük hücrelere enjektörler içerisindeki Control Fluid' lar yüklendi (her hücreye 1 enjektör). Dynamic Array 96.96' yı IFC Controller' a yerleştirildi ve PRIME edildi. Bu işlem 20 dakika kadar sürmektedir, bu sırada aşağıdaki hazırlık yapıldı.

Örnek ve PCR Karışımının Hazırlanması

Aşağıdaki karışım 96 örnek için (95 cDNA örneği+1 Negatif kontrol) hazırlandı (aşağıdaki rakamlarda ölü hacimler hesaplanmıştır).

TaqMan Universal PCR Master Mix (No AmpErase UNG)	490.00 µl
GE Sample Loading Reagent (Fluidigm, PN 85000746)	49.00 µl
Toplam:	539.00 µl

-Temiz bir 8'li strip tüp alındı (0.2 ml) her bir kuyucuğuna 65 µl yukarıdaki karışımdan pipetlendi.

-Temiz bir 96 kuyuluk plate alındı ve yukarıdaki karışımdan 3.85 µl her bir kuyucuğa pipetlendi. Daha sonra 8 kanallı pipet ile 3.15 µl dilüe preamplifiye cDNA'lar alınarak karışım üzerine pipetlendi. 5-6 kez pipet kullanılarak karışım ile örnekler homojen bir şekilde karıştırıldı.10

-Bütün örnekler bu şekilde pipetlendikten ve karıştırıldıktan sonra Master mix+diluted PreAmplified cDNA'nın her birinden 5 µl olarak dikkatlice Dynamic Array 96.96 da SAMPLE şeklinde işaretli bölüme pipetlendi.

ASSAY Karışımının Hazırlanması

Çalışmaya başlamadan önce A ve B Assay plateleri, 30 µl DNase, RNase free su ve Assay Loading Reagent ile 1:1 olacak şekilde çözüldü.

Çözülen assaylerden 4.5 µl alınarak Dynamic Array 96.96 da ASSAY şeklinde işaretli bölüme pipetlendi.

Assay plate' i aynı gün içinde kullanılacaksa +4°C de aksi taktirde -20°C ye kaldırıldı. Dynamic Array 96.96 IFC Controller' a konularak LOAD programı çalıştırıldı.

miRNA TaqMan Dynamic Array Protocol

Load ve Mix işlemi bitince BioMark Data Collection software de Start a New Run a tıklandı. Bu arada BioMark üzerindeki ışıkların ikisininde yeşil olmasına dikkat edildi (Lambanın açılmış ve hazır olduğunu gösterir). Dynamic Array 96.96 BioMark'a koyuldu ve Load tuşuna tıklandı.

-Chip Run File ekranında This is a new chip run a tıklandı. Dosyayı nereye kaydedeceğimiz ve dosyanın isminin ne olacağı seçildi ve Next tuşuna tıklandı.

-Application, Reference and Probes ekranında Application bölümünde Gene Expression u, Passive Reference bölümünde ROX a ve Assay bölümünde ise Single Probe a tıklandı ve aşağıda açılan kısımdan FAM - MGB i seçildi ve Next tuşuna tıklandı.

-Protokol olarak GE 96.96 Standart V1 thermal protokolünü seçildi ve Auto Exposure un seçili olduğundan emin olundu ve Next tuşuna tıklandı.

-Start Run tuşuna tıklayarak çalışma başlatıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda hasta grubundan 50, kontrol grubundan 42 olmak üzere 92 deneğin kan sonuçlarında toplam 95 adet miRNA sonuçları elde edilmiş olup, literatüre göre romatizmal hastalıklarla ilişkisi gösterilen ve elde ettiğimiz sonuçlarda fazlaca eksprese olan 19 miRNA için istatistiksel analiz yapılmıştır.

İstatistiksel analizlerde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 11.5 (SPSS for Windows, Chicago, IL, USA) ve MedCalc®v11.0.1 paket programları kullanılmıştır. İstatistik anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında parametrelerin normal dağılıma uygunluk kontrolleri Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren gruplarda sürekli yapıdaki değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen gruplardaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ise medyan ve yüzdelik değerleri olarak belirtilmiştir. Kategorik yapıdaki değişkenler sayı ve yüzde değerler olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler açısından gruplar arasında ortalama farklılıkların değerlendirmesinde normal dağılım gösterenlerde Student-t testi

kullanılmışken, normal dağılım göstermeyenlerde nonparametrik Mann Whitney -U testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler açısından gruplar arasındaki ilişkilerin analizi ki kare testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki sürekli yapıda olan değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon katsayısı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Korelasyon katsayısı 0.4 ve üzeri olan değerler anlamlı olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Polikliniğine başvuran, Modifiye New-York veya ASAS tanı kriterlerini karşılayan 50 adet AS tanı hasta (%54.3) ve 42 sağlıklı gönüllünün (%45.7) demografik ve klinik özellikleri tablo 1' de gösterilmektedir. Hasta grubunda yaş ortalaması 41.54 ± 11.67 , kontrol grubunda 38.1 ± 9.14 idi. Hasta grubunda 14 kadın (%28), 36 erkek (%72), kontrol grubunda 13 kadın (%31), 29 erkek (%69) vardı. Vücut Kitle İndeksi (VKİ) ortalaması hasta grubunda 25.21 ± 3.33 , kontrol grubunda 26.30 ± 3.72 idi. İki grup arasında yaş, cinsiyet ve VKİ açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0,05$). Hasta grubunda HLA B27 pozitifliği oranı % 70 idi. Hastaların 20 tanesi Etanercept, İnfliksimab ya da Adalimumab olmak üzere bir anti-TNF ilaç kullanıyordu. Hasta grubunda bakılan BASDAI median değeri 3.9, BASFI median değeri 3.725, BASMI median değeri 3.5, CRP median değeri 6.71 idi. Hastalık süreleri ortalama 10 yıl idi. Hasta grubunda periferik başlangıç oranı % 16 idi.

Hasta grubundaki kişilerin eğitim durumları: 10 tanesi üniversite, 17 tanesi lise, 21 tanesi ilköğretim mezunu iken 2 tanesi okur yazar değildi.

Hasta ve gönüllü sağlıklılarından alınan kan örnekleriyle 95 adet miRNA' nın ekspresyon düzeyleri elde edilmiş ve en çok eksprese olanlar ile literatürde romatizmal hastalıklarla ilişkilendirilen 19 miRNA (miR-125-5p, miR-222-3p, miR-16-5p, miR-451a, miR-34a-5p, miR-194-5p, miR-25-3p, miR-17-5p, miR-146a-5p, miR-223-3p, miR-27a-3p, miR-223-5p, miR-203, miR-140-3p, miR-21-3p, miR-205-5p, miR-320a, miR-126-3p, Let-7c) istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Tablo 1. AS hastaları ve sağlıklı kontrollere ait demografik ve klinik veriler

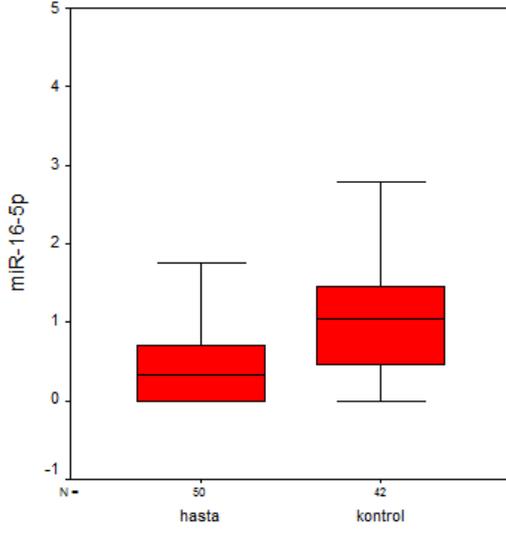
	AS Hastaları	Kontrol	p	
Yaş (ortalama ± SD)	41.54±11.67	38.21±9.14	0.137	
Cinsiyet (K/E)	14/36 (% 28/72)	13/29 (% 31/69)	0.757	
VKİ (ortalama ± SD)	25.21±3.33	26.30±3.72	0.144	
HLA B27 (+/-)	35/15 (% 70/30)	-		
Anti-TNF kullanımı (var/yok)	20/30 (% 40/60)	-		
Başlangıç (aksiyel/periferik)	42/8 (% 84/16)	-		
BASDAI (Med[Q1-Q3])	3.9[2.175-5.175]	-		
BASMI (Med[Q1-Q3])	3.5[1.0-6.0]	-		
BASFI (Med[Q1-Q3])	3.725[1.975-5.425]	-		
CRP (Med[Q1-Q3])	6.71[1.78-15.0]	-		
Hastalık süresi yıl(Med[Q1-Q3])	10.0[6.0-15.5]	-		
Toplam	N=50 (%54,3)	N=42 (%45.7)		

19 miRNA arasında, hasta grubunda kontrol grubuna göre, miR-16-5p' nin ($p<0,001$), miR-451a' nın ($p=0.017$), miR-320a' nın ($p=0.002$), miR-126-3p' nin ($p=0.002$), miR-17-5p' nin ($p=0.032$), miR-146a-5p' nın ($p=0.006$) ve miR-223-3p' nin ($p=0.002$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olduğu tespit edilmiştir (tablo 2).

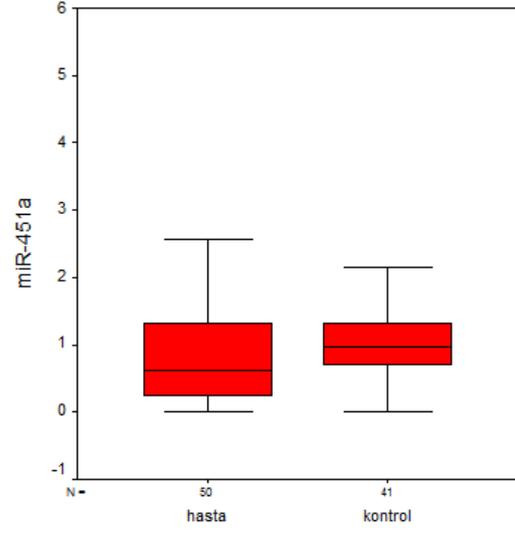
Tablo 2. Hasta ve kontrol gruplarında eksprese olan miRNA' ların karşılaştırılması

	Hasta Grubu Med[Q1-Q3]	Kontrol Grubu Med[Q1-Q3]	p
miR-125-5p	0.00[0.00-0.40]	0.00[0.00-0.189]	0.924
miR-222-3p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.27]	0.388
miR-16-5p	0.33[0.00-0.73]	1,05[0.45-1,47]	<0.001
miR-451a	0,62[0,23-1,34]	0,96[0.69-1,48]	0,017
miR-34a-5p	1,41[0.60-2,96]	0,94[0.52-1,93]	0,157
miR-194-5p	0,00[0.00-1,19]	0,00[0.00-1,04]	0,753
miR-25-3p	0,77[0.29-1,13]	0,90[0.46-1,69]	0,223
miR-17-5p	0,00[0.00-1,91]	0,36[0.00-1,21]	0,032
miR-146a-5p	0,25[0.00-0,89]	0,79[0.23-1,37]	0,006
miR-223-3p	0,11[0.00-1,37]	0,86[0.43-1,88]	0,006
miR-27a-3p	0,00[0.00-0,03]	0,00[0.00-0,27]	0,673
miR-223-5p	0,00[0.00-0,00]	0,00[0.00-0,00]	0,894
miR-203	0,00[0.00-0,00]	0,00[0.00-0,00]	0,653
miR-140-3p	0,00[0.00-0,35]	0,00[0.00-0,74]	0,149
miR-21-3p	0,00[0.00-0,04]	0,00[0.00-0,14]	0,733
miR-205-5p	0,00[0.00-0,00]	0,00[0.00-0,26]	0,364
miR-320a	0,00[0.00-0,55]	0,63[0.00-1,27]	0,002
miR-126-3p	0,38[0.00-1,14]	1,04[0,77-1,32]	0,002
Let-7c	0,00[0.00-0,00]	0,00[0.00-0,00]	0,879

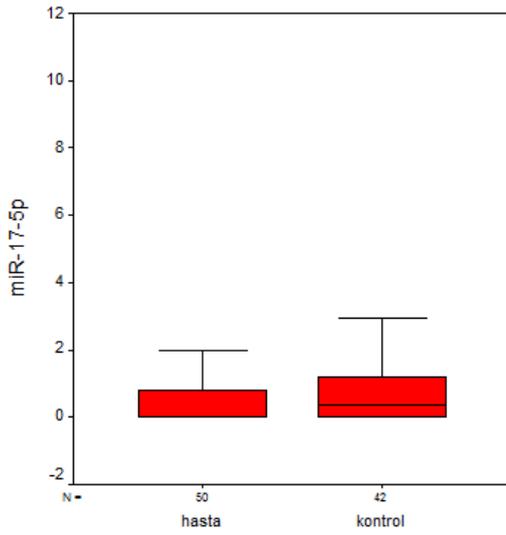
Bu miRNA' ların grafiksel gösterimleri grafik 1,2,3,4,5,6 ve 7 de şematize edilmiştir.



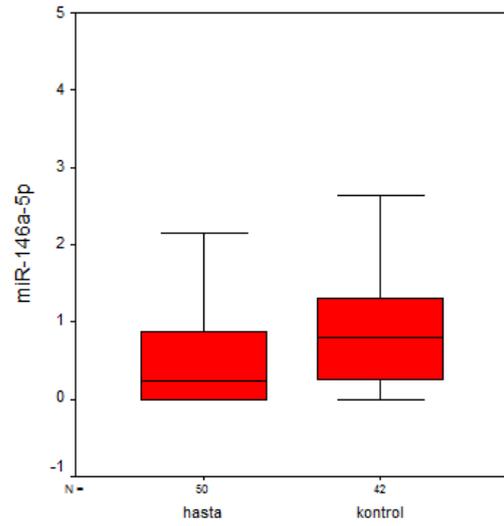
Grafik 1. miR16-5p ekspresyonları



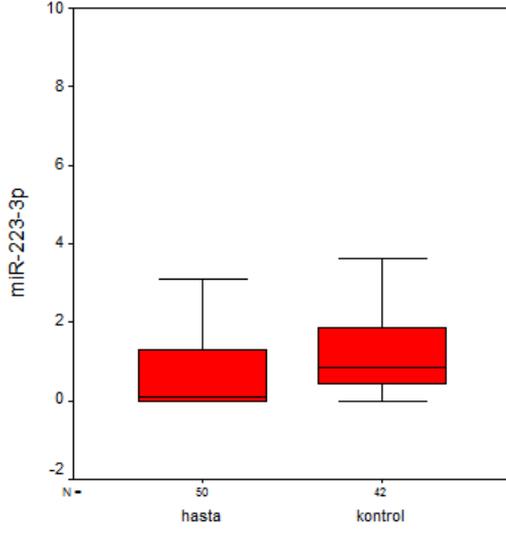
Grafik 2. miR451a ekspresyonları



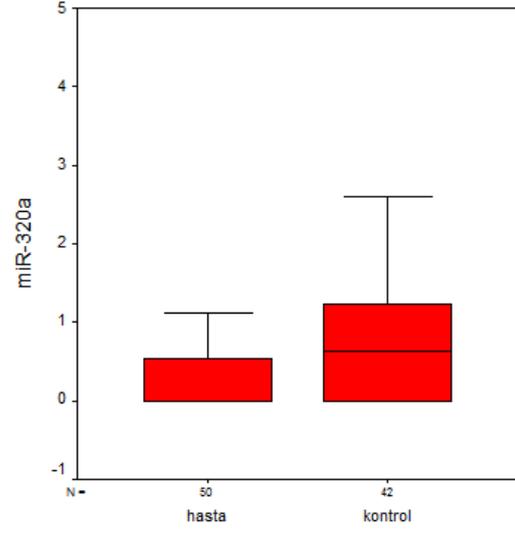
Grafik 3. miR-17-5p ekspresyonları



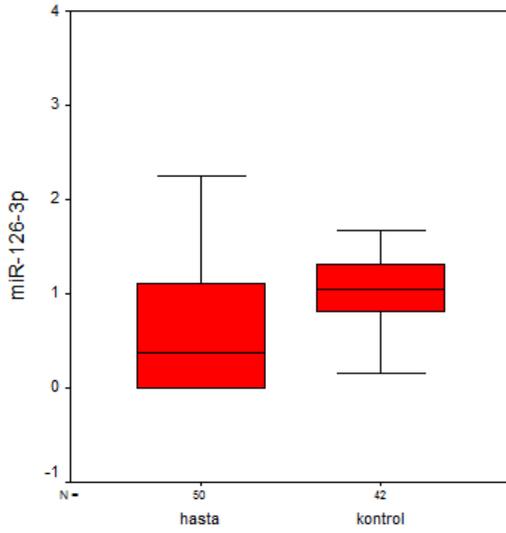
Grafik 4. miR-146a-5p ekspresyonları



Grafik 5. miR223-3p ekspresyonları



Grafik 6. miR-320a ekspresyonları

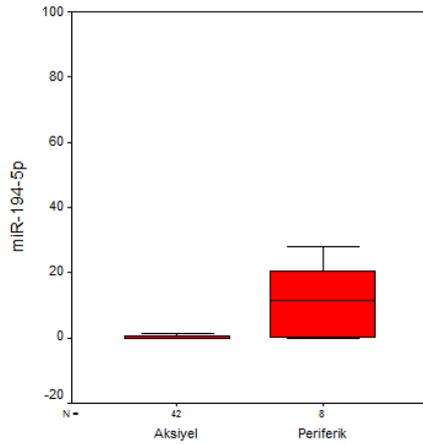


Grafik 7. miR-126-3p ekspresyonları

Hastalığın aksiyel ya da periferik başlangıçlı olması açısından miRNA düzeyleri incelendiğinde, sadece miR-194-5p' nin periferik başlangıçlı olanlarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ($p=0.016$) (tablo 3-Grafik 8).

Tablo 3. Aksiyel ve periferik tutulumda miRNA düzeyleri

Hastalık başlangıcı	Aksiyel Med[Q1-Q3]	Periferik Med[Q1-Q3]	p
miR-125-5p	0.00[0.00-0.40]	0.00[0.00-0.259]	0.846
miR-222-3p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0,866
miR-16-5p	0.37[0.00-0.72]	0.03[0.00-0.78]	0,668
miR-451a	0.69[0.29-1,46]	0.37[0.14-1,00]	0,302
miR-34a-5p	1,30[0.56-2,96]	1,85[1,15-4,43]	0,204
miR-194-5p	0.00[0.00-0.84]	11,32[0.13-24,30]	0,016
miR-25-3p	0.77[0.31-1,14]	0.66[0.15-1,08]	0,746
miR-17-5p	0.00[0.00-0.91]	0.00[0.00-1,57]	0,887
miR-146a-5p	0.19[0.00-0.84]	0.30[0.00-1,90]	0,458
miR-223-3p	0.16[0.00-1,67]	0.05[0.00-0.72]	0,442
miR-27a-3p	0.00[0.00-0.22]	0.00[0.00-0.00]	0,213
miR-223-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0,846
miR-203	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0,969
miR-140-3p	0.00[0.00-0.49]	0.00[0.00-0.00]	0,458
miR-21-3p	0.00[0.00-0.01]	0.00[0.00-3,53]	0,612
miR-205-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0,746
miR-320a	0.00[0.00-0.60]	0.00[0.00-0.51]	0,687
miR-126-3p	0,39[0.00-1,14]	0.13[0.00-1,58]	0,825
Let-7c	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0,612



Grafik 8. miR-194-5p aksiyel ve periferik tutulum farkları

HLA B27 (+) ve (-) olanlar arasında miRNA ekspresyonları istatistiksel olarak farklı değildi (tablo 4.4).

Tablo 4. HLA B27 ile miRNA arasındaki ilişki

HLA B27	HLA B27 (+) Med[Q1-Q3]	HLA B27 (-) Med[Q1-Q3]	p
miR-125-5p	0.00[0.00-0.19]	0.00[0.00-3.54]	0.295
miR-222-3p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.740
miR-16-5p	0.23[0.00-0.80]	0.45[0.00-0.71]	0.594
miR-451a	0.60[0.31-1.44]	0.64[0.22-1.13]	0.808
miR-34a-5p	1.42[0.62-3.00]	1.22[0.49-2.19]	0.568
miR-194-5p	0.00[0.00-1.12]	0.00[0.00-2.88]	0.897
miR-25-3p	0.79[0.40-1.15]	0.57[0.05-1.11]	0.223
miR-17-5p	0.00[0.00-0.68]	0.00[0.00-1.40]	0.443
miR-146a-5p	0.27[0.00-0.83]	0.15[0.00-1.16]	0.947
miR-223-3p	0.14[0.00-1.27]	0.09[0.00-2.11]	0.845
miR-27a-3p	0.00[0.00-0.21]	0.00[0.00-0.00]	0.582
miR-223-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.513
miR-203	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.851
miR-140-3p	0.00[0.00-0.28]	0.00[0.00-0.68]	0.462
miR-21-3p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.26]	0.403
miR-205-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.740
miR-320a	0.00[0.00-0.54]	0.39[0.00-0.68]	0.263
miR-126-3p	0.38[0.00-1.00]	0.37[0.00-1.25]	0.705
Let-7c	0.00[0.00-0.15]	0.00[0.00-0.00]	0.699

Anti-TNF kullananlarda ve kullanmayanlarda miRNA ekspresyonları istatistiksel olarak farklı değildi (tablo 5).

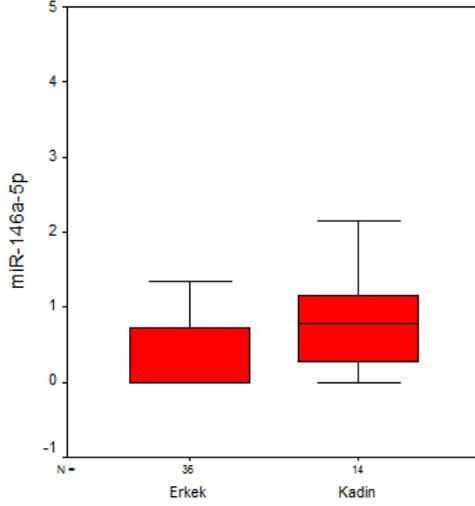
Tablo 5. Anti-TNF kullanımı ile miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki

Anti-TNF kullanımı	Kullanan Med[Q1-Q3]	Kullanmayan Med[Q1-Q3]	p
miR-125-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-3.41]	0.062
miR-222-3p	0.00[0.00-0.78]	0.00[0.00-0.00]	0.098
miR-16-5p	0.43[0.00-0.88]	0.16[0.00-0.69]	0.338
miR-451a	0.65[0.40-1.44]	0.59[0.13-1.34]	0.373
miR-34a-5p	1.43[0.58-2.76]	1.41[0.61-3.01]	0.729
miR-194-5p	0.00[0.00-5.16]	0.00[0.00-0.84]	0.440
miR-25-3p	0.89[0.47-1.63]	0.69[0.09-1.10]	0.127
miR-17-5p	0.00[0.00-1.66]	0.00[0.00-0.91]	0.981
miR-146a-5p	0.27[0.00-0.79]	0.19[0.00-0.95]	0.959
miR-223-3p	0.10[0.01-1.62]	0.13[0.00-1.36]	0.591
miR-27a-3p	0.00[0.00-0.34]	0.00[0.00-0.00]	0.459
miR-223-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.748
miR-203	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.587
miR-140-3p	0.00[0.00-0.30]	0.00[0.00-0.52]	0.861
miR-21-3p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.17]	0.355
miR-205-5p	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.595
miR-320a	0.21[0.00-0.65]	0.00[0.00-0.44]	0.196
miR-126-3p	0.36[0.00-1.38]	0.39[0.00-1.14]	0.777
Let-7c	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.287

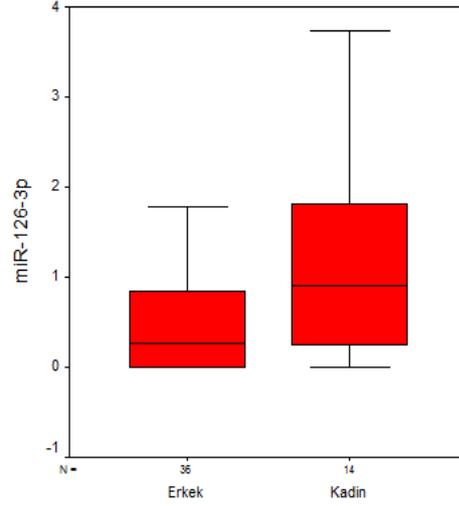
Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyetle miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, miR-146a-3p' nin ($p=0.011$) ve miR-126a-3p' nin ($p=0.040$) sadece hasta grubundaki kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla eksprese olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise ortalama olarak kadınlarda daha fazla eksprese olduğu görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (tablo 6- Grafik 9,10).

Tablo 6. Cinsiyet ile miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki

Cinsiyet	Erkek Med[Q1-Q3]	Kadın Med[Q1-Q3]	p
miR-125-5p Hasta	0.00[0.00-0.18]	0.00[0.00-3.55]	0.240
Kontrol	0.00[0.00-0.59]	0.00[0.00-0.57]	0.979
miR-222-3p Hasta	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.847
Kontrol	0.00[0.00-0.89]	0.00[0.00-0.00]	0.360
miR-16-5p Hasta	0.10[0.00-0.62]	0.53[0.17-0.91]	0.091
Kontrol	1.09[0.57-1.58]	0.71[0.30-1.08]	0.068
miR-451a Hasta	0.58[0.12-1.03]	0.94[0.50-1.67]	0.060
Kontrol	0.88[0.56-1.75]	1.13[0.83-1.31]	0.570
miR-34a-5p Hasta	1.41[0.53-2.86]	1.60[0.76-3.76]	0.463
Kontrol	0.95[0.38-1.62]	0.92[0.57-2.30]	0.454
miR-194-5p Hasta	0.00[0.00-1.09]	0.04[0.00-1.09]	0.399
Kontrol	0.30[0.00-2.25]	0.28[0.00-1.30]	0.851
miR-25-3p Hasta	0.59[0.24-1.15]	0.91[0.51-1.10]	0.462
Kontrol	0.93[0.33-1.81]	0.89[0.62-1.49]	0.957
miR-17-5p Hasta	0.00[0.00-0.50]	0.00[0.00-1.42]	0.321
Kontrol	0.57[0.00-1.44]	0.15[0.00-1.05]	0.554
miR-146a-5p Hasta	0.00[0.00-0.75]	0.79[0.26-1.16]	0.011
Kontrol	0.79[0.31-1.30]	0.83[0.24-1.56]	0.979
miR-223-3p Hasta	0.09[0.00-1.12]	0.52[0.00-2.40]	0.232
Kontrol	0.79[0.51-1.89]	1.08[0.13-1.81]	0.809
miR-27a-3p Hasta	0.00[0.00-0.19]	0.00[0.00-0.00]	0.387
Kontrol	0.00[0.00-0.64]	0.00[0.00-0.00]	0.185
miR-223-5p Hasta	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.504
Kontrol	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.727
miR-203 Hasta	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.528
Kontrol	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.872
miR-140-3p Hasta	0.00[0.00-0.21]	0.00[0.00-0.05]	0.521
Kontrol	0.00[0.00-0.98]	0.00[0.00-0.08]	0.129
miR-21-3p Hasta	0.00[0.00-0.04]	0.00[0.00-0.05]	0.978
Kontrol	0.00[0.00-0.00]	0.10[0.00-3.32]	0.072
miR-205-5p Hasta	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-1.14]	0.165
Kontrol	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-1.03]	0.389
miR-320a Hasta	0.00[0.00-0.52]	0.29[0.00-0.73]	0.311
Kontrol	0.76[0.41-1.35]	0.00[0.00-0.91]	0.077
miR-126-3p Hasta	0.27[0.00-0.35]	0.91[0.19-1.83]	0.040
Kontrol	1.02[0.74-1.33]	1.07[0.74-1.32]	1.000
Let-7c Hasta	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.648
Kontrol	0.00[0.00-0.00]	0.00[0.00-0.00]	0.914



Grafik 9. miR-146a-5p' nin cinsiyetle ilişkisi



Grafik 10. miR-126a-3p' nin cinsiyetle ilişkisi

Hasta grubu ve kontrol grubunun, yaş ve VKİ açısından karşılaştırılması sonucu; hasta grubunda miR-222-3p ile VKİ' nin ($p=0.027$, r değeri (spearman korelasyon katsayısı)= -0.312 (kontrol grubunda $0.22/-0.19$)), hasta grubunda miR-223-3p ile VKİ' nin ($p=0.048$, $r -0.281$ (kontrol grubunda $0.780/-0.044$)), kontrol grubunda miR-27a-3p ile VKİ' nin ($p=0.036$ $r=0.325$ (hasta grubunda $0.176/-0.194$)), kontrol grubunda miR-223-5p ile yaşın ($p=0.042$, $r = -0.315$ (hasta grubunda $0.096/-0.238$)), kontrol grubunda let-7c ile VKİ' nin ($p=0.028$, $r = 0.339$ (hasta grubunda $0,129/-0.218$)) istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu görülmüştür (tablo 7).

Tablo 7. Yaş ve VKİ ile miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki

Hasta grubu			Kontrol grubu		
		YAŞ	VKİ	YAŞ	VKİ
miR-125b-5p	r	0,014	0,146	0,010	-0,124
	p	0,923	0,312	0,948	0,434
miR-222-3p	r	-0,131	-0,312	0,026	-0,190
	p	0,366	0,027	0,872	0,227
miR-16-5p	r	-0,036	-0,029	-0,120	0,075
	p	0,806	0,842	0,449	0,639
miR-451a	r	-0,085	-0,010	-0,289	0,160
	p	0,556	0,945	0,067	0,319
miR-34a-5p	r	0,049	0,169	0,247	0,267
	p	0,736	0,241	0,115	0,088
miR-194-5p	r	0,081	0,144	-0,005	0,301
	p	0,576	0,318	0,974	0,053
miR-25-3p	r	-0,125	0,144	-0,041	0,227
	p	0,386	0,320	0,797	0,149
miR-17-5p	r	-0,141	-0,113	-0,299	-0,124
	p	0,328	0,435	0,054	0,435
miR-146a-5p	r	-0,113	0,055	-0,094	0,142
	p	0,433	0,703	0,553	0,368
miR-223-3p	r	-0,176	-0,281	-0,178	-0,044
	P	0,221	0,048	0,259	0,780
miR-27a-3p	r	0,016	-0,194	0,014	0,325
	p	0,910	0,176	0,930	0,036
miR-223-5p	r	-0,238	-0,056	-0,315	0,081
	p	0,096	0,702	0,042	0,608
miR-203	r	0,019	0,085	0,043	0,074
	p	0,895	0,558	0,787	0,640
miR-140-3p	r	-0,044	-0,006	-0,012	0,168
	p	0,760	0,969	0,939	0,287
miR-21-3p	r	-0,106	-0,020	-0,038	0,171
	p	0,465	0,892	0,810	0,278
miR-205-5p	r	0,009	0,070	0,124	0,129
	P	0,950	0,629	0,433	0,415
miR-320a	r	-0,058	0,034	-0,004	0,070
	p	0,690	0,816	0,981	0,661
miR-126-3p	r	0,046	-0,080	-0,193	0,117
	p	0,754	0,582	0,221	0,459
let-7c	r	-0,070	-0,218	0,202	0,339
	p	0,629	0,129	0,199	0,028

Tablo 8’ de gösterildiği üzere AS hastalarında miRNA ekspresyonu ile; BASDAI, BASMI, BASFI, ESH, CRP ve hastalık süreleri arasındaki ilişki incelendi. miR-21-3p, BASMI ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde negatif yönde ilişkili bulundu ($p= 0.036$, $r= - 0,298$). miR-205-5p’ nin, BASDAI ile ($p= 0.046$, $r= 0.283$) ve BASFI ile ($p= 0.027$ $r= 0.313$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde pozitif yönde ilişkili olduğu görülmüştür.

ESH, CRP ve hastalık süreleriyle miRNA ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (tablo 8).

Tablo 8. Hasta grubunda miRNA ile BASDAI, BASMI, BASFI, ESH, CRP ve hastalık süreleri arasındaki ilişki.

			BASDAI	BASMI	BASFI	ESH	CRP	Hastalık süresi
miR-125b-5p	r		0,002	0,077	-0,024	-0,034	0,032	0,102
	p		0,989	0,594	0,868	0,817	0,826	0,479
miR-222-3p	r		-0,130	-0,126	-0,136	-0,032	-0,171	-0,017
	p		0,368	0,382	0,345	0,827	0,235	0,907
miR-16-5p	r		-0,012	0,014	-0,093	-0,056	-0,053	0,039
	p		0,933	0,926	0,519	0,701	0,714	0,787
miR-451a	r		-0,028	0,175	-0,012	-0,160	0,020	0,105
	p		0,845	0,223	0,937	0,268	0,892	0,469
miR-34a-5p	r		-0,082	0,018	-0,066	0,172	0,080	-0,166
	p		0,571	0,903	0,651	0,232	0,582	0,250
miR-194-5p	r		-0,012	-0,078	-0,058	0,068	-0,107	-0,051
	p		0,933	0,592	0,691	0,641	0,459	0,726
miR-25-3p	r		-0,052	-0,014	-0,114	-0,263	-0,157	-0,149
	p		0,721	0,925	0,431	0,065	0,275	0,301
miR-17-5p	r		-0,095	-0,092	-0,124	-0,107	-0,144	0,023
	p		0,513	0,523	0,390	0,461	0,319	0,875
miR-146a-5p	r		0,091	-0,011	-0,024	-0,108	0,056	-0,169
	p		0,530	0,941	0,868	0,454	0,699	0,240
miR-223-3p	r		-0,046	0,016	-0,042	-0,092	-0,048	-0,068
	p		0,752	0,912	0,770	0,524	0,738	0,638
miR-27a-3p	r		0,014	0,125	0,002	-0,223	-0,101	0,011
	p		0,922	0,388	0,986	0,119	0,486	0,941
miR-223-5p	r		0,054	-0,109	0,106	-0,081	0,030	-0,126
	p		0,708	0,452	0,466	0,578	0,838	0,383
miR-203	r		0,135	0,171	0,241	0,063	0,213	0,020
	p		0,349	0,234	0,092	0,664	0,138	0,891
miR-140-3p	r		0,099	-0,078	-0,212	-0,163	-0,125	-0,064
	p		0,495	0,592	0,140	0,258	0,386	0,658
miR-21-3p	r		-0,071	-0,298	-0,219	0,067	-0,049	-0,101
	p		0,622	0,036	0,126	0,644	0,733	0,485
miR-205-5p	r		0,283	0,220	0,313	0,037	-0,022	0,119
	p		0,046	0,125	0,027	0,799	0,882	0,409
miR-320a	r		-0,123	0,031	-0,210	-0,155	-0,145	0,102
	p		0,395	0,833	0,143	0,281	0,316	0,479
miR-126-3p	r		0,048	-0,016	-0,029	0,099	-0,033	0,029
	p		0,742	0,911	0,843	0,496	0,820	0,843
let-7c	r		-0,006	0,042	-0,181	-0,176	-0,161	-0,048
	p		0,965	0,771	0,209	0,222	0,263	0,739

5. TARTIŞMA

Ankilozan spondilit, HLA-B27 ile güçlü ilişkisi olan, aksiyel ve periferik eklemleri ve yumuşak dokuyu etkileyebilen kronik inflamatuvar bir hastalıktır⁹⁸. T hücrelerinin regülasyon bozuklukları da AS' li hastalarda inflamatuvar olaylara katkıda bulunabilir⁹⁹. AS ile ilgili genetik çalışmalar T hücrelerinin AS immünopatogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir¹⁰⁰. Yapılan çalışmalarda AS hastalarının periferik kanlarında^{101,102} ve inflamatuvar eklemlerinde¹⁰³ disregüle CD4 + ve CD8 + T hücreleri bulunmuştur. Ayrıca AS hastalarının periferik kanlarından alınan örneklerde T-hücrelerinde hücre içi artmış nitrik oksit (NO) üretimi ve gecikmiş kalsiyum yanıtları gözlenmiştir¹⁰⁴.

miRNA' lar; hücre farklılaşması, apoptoz, anti-viral savunma, bağışıklık hücrelerinin farklılaşması ve sağkalımı, antikor üretimi ve inflamatuvar mediatör salınımı dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerin ve bağışıklık sisteminin fonksiyonunun gelişiminde önemli rolleri olan genetik ürünlerdir⁷². Lenfogenezis sırasında rutin ve rastgele şekilde oluşturulan otoreaktif T ve B hücreleri, lenfoid organ kademelerinde bulunan kontrol noktalarında susturulur. Bazı durumlarda, self-reaktif lenfositler kontrol noktalarından kaçarak otoimmün hastalıkların indüksiyonuna yol açar. miRNA' ların; immün homoeostaz ve normal bağışıklık fonksiyonunu korumadaki düzenleyici etkisi bozulduğunda otoimmün hastalıkların gelişimine yol açacağı düşünülebilir⁷⁶. miRNA' ların insan fizyolojisindeki önemli rolüne dayalı olarak anormal ekspresyonları (upregülasyonu veya downregülasyonu), kanser, kalp-damar bozuklukları, şizofreni, kas-iskelet bozuklukları, akciğer hastalıkları, gelişim bozuklukları ve romatolojik hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların gelişimine yol açabilir⁷².

Yapılan birçok çalışmada romatizmal hastalıklar ile miRNA' lar arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Bu çalışmalar genellikle RA⁸, OA¹⁰⁵, SLE¹⁰⁶ ve inflamatuvar barsak hastalıkları¹⁰⁷ ile miRNA arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalardır. Ancak literatür incelendiğinde, AS' de miRNA' ların rolünün araştırıldığı sadece iki çalışmaya rastlanmıştır. Lai ve ark. yaptığı çalışmada sadece 5 hasta ve 5 sağlıklı kontrolden alınan kan örneklerinde miRNA ekspresyonları analiz edilmiştir. AS' li hastaların T hücrelerinde miR-16, miR-221 ve let-7i' nin kontrol grubuna göre daha fazla eksprese olduğunu, ayrıca miR-221 ve let-7i' nin BASRI skoruyla pozitif olarak kolere

olduğunu bulmuşlardır¹⁰. Huang ve ark. yaptığı diğer bir çalışmada ise 30 RA' lı hasta, 30 AS' li hasta ve 30 sağlıklı kontrolün periferik kan mononükleer hücrelerinde, miR-29a ekspresyon seviyeleri analiz edilmiş, bu üç gruptaki miR-29a ekspresyonları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır¹¹.

Bizim çalışmamız, 50 Ankilozan Spondilitli hasta ve 42 sağlıklı gönüllüden alınan kan örnekleriyle yapılan, 19 adet miRNA' nın ekspresyonlarının incelendiği, geniş katılımlı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Çalışmamızda, 95 miRNA arasından, en çok eksprese olan ve literatürde romatizmal hastalıklarla ilişkisi gösterilen 19 miRNA (miR-125-5p, miR-222-3p, miR-16-5p, miR-451a, miR-34a-5p, miR-194-5p, miR-25-3p, miR-17-5p, miR-146a-5p, miR-223-3p, miR-27a-3p, miR-223-5p, miR-203, miR-140-3p, miR-21-3p, miR-205-5p, miR-320a, miR-126-3p, Let-7c) ele alınmıştır. Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde, hasta grubunda kontrol grubuna göre, miR-16-5p' nin ($p < 0,001$), miR-451a' nin ($p = 0,017$), miR-320a' nin ($p = 0,002$), miR-126-3p' nin ($p = 0,002$), miR-17-5p' nin ($p = 0,032$), miR-146a-5p' nin ($p = 0,006$) ve miR-223-3p' nin ($p = 0,002$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızın öncelikli amacı, miRNA' ların, AS' nin erken tanısında bir biyomarker olarak kullanılabilceğini göstermekti. Ancak mevcut veriler ışığında çalışmamızda biyomarker olarak gösterilebilecek herhangi spesifik bir miRNA ekspresyonuna rastlanmamıştır. İncelenen hiçbir miRNA ekspresyonu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edilmemiştir. Ancak, özellikle miR-16-5p başta olmak üzere, miR-451a, miR-320a, miR-126-3p, miR-17-5p, miR-146a-5p ve miR-223-3p' nin hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olması, bu miRNA' ların AS için koruyucu birer faktör olabileceğini düşündürmektedir. Diğer olasılık ise AS' nin veya tedavide kullanılan ajanların bu miRNA' ların ekspresyonunu azalttığı idi. Ancak, hasta grubunda anti-TNF kullanan ve kullanmayanlar arasında miRNA ekspresyonları açısından sonuçlar değerlendirildiğinde, anti-TNF kullanımının bu miRNA' lar üzerinde etki yaptığına dair bir kanıt bulunamamıştır. Ancak çalışmamızın kısıtlı sayıda denekle yapılmış olması sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Bu konuda ileride daha geniş hasta populasyonu ile farklı metodlar kullanılarak, randomize, kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda ekspresyon düzeylerini incelediğimiz miRNA' lardan biri olan miR-223' ün bağışıklık hücrelerinin kaderinin belirlenmesinde rolü olduğu ve nötrofil proliferasyonu ve aktivasyonu için bir düzenleyici olarak işlev gördüğü

bilinmektedir¹⁰⁸. Pulikkan ve ark. fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada, miR-223 eksikliğinin, nötrofil hiperaktivitesi nedeniyle inflamatuvar akciğer patolojisine neden olduğunu rapor etmişlerdir¹⁰⁹. Biz de çalışmamızda, bu literatür bilgilerine paralel olarak miR-223-3p' nin bir inflamatuvar hastalık olan AS' de daha az eksprese olduğunu gösterdik (p=0.006).

AS' de miRNA ekspresyonlarının değerlendirildiği Lai ve ark. yaptıkları çalışmada, AS' li hastaların T hücrelerinde miR-16, miR-221 ve let-7i' nin kontrol grubuna göre daha fazla eksprese olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada ayrıca, miR-221 ve let-7i' nin BASRI skoruyla pozitif olarak korele olduğunu bulmuşlardır¹⁰. Ancak, biz çalışmamıza hastalardaki BASRI skorunu dahil etmediğimizden dolayı let-7i ve miR-221 ile ilgili herhangi bir veri sunulamamaktadır. Çalışmamızda miR-16-5p ekspresyonu ile ilgili olarak ise kontrol grubunda hasta grubuna göre daha fazla eksprese olduğu tespit edilmiştir (p<0.001). Bu bulgu literatürde yer alan sonuçlar ile uyumlu değildi. Ancak Lai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya dahil edilen hasta sayısı oldukça kısıtlıdır (n=5) ve çalışma sonuçları hasta sayılarının artması ile değişiklik gösterebilir. Ayrıca, literatür incelendiğinde Ülseratif kolit ve Crohn hastalarında yapılan çalışmalarda Wu F ve arkadaşları miR-16 ve miR-21' in aktif doku biyopsi örneklerinde yüksek olarak eksprese olduğunu göstermeler de bu yüksekliği periferik kanda gösterememişlerdir¹⁰⁷.

Taganov ve ark. yaptıkları bir çalışmada miR-146' nın insan monositik hücrelerinde LPS stimülasyonuna yanıt olarak upregüle olduğunu ve tümör nekroz faktör reseptörü ilişkili faktör 6 (TRAF6) ve interlökin 1 (IL-1) reseptörü ile ilişkili kinaz 1 (IRAK1)' i hedef alarak TLR sinyalizasyonunu negatif olarak regüle ettiğini göstermişlerdir⁸⁶. Lu ve ark. farelerde T regülatör hücrelerinde miR-146a' nın seçici ablasyonunun immün toleransın arızasına ve otoimmün hastalıkların gelişmesine neden olduğunu göstermişlerdir¹¹⁰. Bu çalışmalar miR-146 ile otoimmünite arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. Pauley ve ark. yaptığı başka bir çalışmada RA hastalarının periferik kanlarında miR-146, miR-155 ve miR-16 düzeyleri upregüle olarak bulunmuştur¹¹¹. Jones ve ark. miR-146' nın osteoartritik kartilajda downregüle olduğunu göstermişlerdir¹¹². RA ile OA ve AS' nin kemik yapım ve yıkımındaki zıt patofizyolojik olaylar üzerinden gerçekleştiği düşünülürse, bizim çalışmamızda miR-146a' nın hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olması bu literatür bilgileriyle paralellik gösterdiği söylenebilir (p=0.006).

Monosit kökenli makrofajlar, immün yanıtlarda kritik bir rol oynamaktadır. Monositopoezis; miR-17-5p, miR-20a, miR-106a, AML-1' den oluşan bir devre döngüsü tarafından kontrol edilir. Monositopoezis sırasında, miR-17-5p, miR-20a, ve miR-106a ekspresyonu azalmıştır⁸⁴. SLE' de disregüle olan miR-146a, miR-17-5p ve miR-101a' nın otoimmünitenin gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir⁷⁶. Dai ve ark. SLE hastalarının periferik kanlarında mononükleer hücrelerde miR-17-5p' nin downregüle olduğunu göstermişlerdir¹¹³. Cox ve ark. yaptığı bir çalışmada miR-17-5p' nin MS hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında kan hücrelerinde daha az eksprese olduğunu göstermişlerdir¹⁰⁶. Bizim çalışmamızda da, miR-17-5p' nin, hastalarda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olduğu tespit edilmiştir (p=0.032). Çalışmamızdaki bu bulgu literatür bilgisi paralellik göstermektedir ve bulgular AS hastalarında miR-17-5p ile otoimmünite arasında bir ilişkinin olduğu görüşünü desteklemektedir.

Çalışmada incelemeye aldığımız bir diğer konu miR-320a ekspresyonu idi. Çalışmamızda, miR-320a ekspresyonunun hasta grubunda kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olduğu bulunmuştur (p=0.002). Literatürde miR-320a ekspresyonunun daha çok lupus nefritiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dai ve ark. yaptıkları bir çalışmada böbrek biyopsi dokusunda miR-320' nin daha fazla eksprese olduğunu göstermişlerdir¹⁰⁵. Çalışmamız AS ile miR-320a ekspresyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ilk çalışma özelliğindedir.

Çalışmamızda incelemeye aldığımız diğer miRNA ise miR-126a olmuştur. miR-126a ile ilgili olarak literatür araştırıldığında meme kanseri ile ilişkili olduğunu gösteren verilere ulaşılmaktadır. Tavazoie ve ark. yaptığı çalışmada miR-126 ve miR-335' i meme kanserinde metastaz süpresör olarak tanımlamışlar ve bu miRNA' ların ekspresyon kayıplarının primer meme kanserinde relapslarla birlikte olduğu gösterilmiştir¹¹⁴. Briefly ve ark. yaptığı çalışmada ise miR-126 ve miR-21 allerjik akciğer inflamasyonu ile ilişkili bulunmuştur¹¹⁵. Ancak romatizmal hastalıklarda miR-126a ekspresyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda miR-126-3p' nin kontrol grubuna göre hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olduğu sonucuna ulaştık (p=0.002).

VKİ ve miRNA ekspresyonları arasındaki ilişkiyi gösteren literatürde birçok çalışmaya rastlanmıştır ve aralarında değişken birçok bulgu mevcuttur. Langevin ve ark. miR-137' nin VKİ ile negatif olarak ilişkili olduğunu bulmuşlardır¹¹⁶. Meerson ve ark. ise miR-221' in VKİ ile pozitif olarak korele olduğu, miR-193a-3p ve miR193b-5p' nin negatif olarak korele olduğunu bulmuşlardır¹¹⁷. Çalışmamızda, hasta grubu ile kontrol grubunda, miRNA ekspresyonlarıyla VKİ' nin karşılaştırılması incelendiğinde, kontrol grubunda miR-27a-3p ile VKİ' nin pozitif olarak korele olduğu (p=0.036), kontrol grubunda let-7c ile VKİ' nin pozitif olarak korele olduğu (p=0.028), hasta grubunda miR-222-3p ile VKİ' nin negatif olarak korele olduğu (p=0.027), hasta grubunda miR-223-3p ile VKİ' nin negatif yönde korele olduğu (p=0.048) görülmüştür. Bunun nedeni olarak adipoz dokunun veya adipoz dokudan salgılanan birtakım lokal faktörlerin miRNA ekspresyonunu değiştirdiği düşünülebilir. Bu ilişkilerin daha iyi ortaya konması için geniş hasta grupları ile daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yaş ile miRNA ekspresyonları arasındaki ilişki incelendiğinde, hasta grubunda herhangi bir ilişkiye rastlanmazken, sadece kontrol grubunda miR-223-5p' nin yaş ile negatif olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu gözlenmiştir (p=0.042, r=-0.315).

Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyetle miRNA ekspresyonları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; miR-146a-3p' nin (p=0.011) ve miR-126a-3p' nin (p=0.040) sadece hasta grubunda kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla eksprese olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise, her ne kadar miR-146a-3p ve miR-126a-3p'nin ortalama olarak kadınlarda daha fazla eksprese olduğu görülse de, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak kontrol grubundaki kadın sayısının daha fazla sayıda olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmesi olasıdır. Literatür incelendiğinde, Dai ve ark. yaptığı bir çalışmada orşiektomi uygulanmış östrojenle tedavi edilen erkek farelerin splenositlerinde; miR-451, miR-486, miR-223, miR-148a, miR-18a ve miR-708' in upregüle olduğunu, miR-146a, miR-125a, miR-125b, miR-143, miR-145, let-7e, miR-126 ve miR-181a' nin downregüle olduğunu, ayrıca downregüle miR146a' nin ve upregüle miR-223' ün LPS ile aktifleşmiş splenositler içinde gelişmiş IFN γ üretimine katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Bu sonuca dayanarak östrojenin yeni bir immun modülasyon yolağının olabileceğini öngörmüşlerdir¹¹⁸. Çalışmamızın sonucunda bulduğumuz miR-146a-3p ve miR126a-3p' nin kadınlarda daha fazla eksprese olması, Dai ve ark. yaptığı çalışmanın sonuçları ile uyumlu olmadığı görülse de erkek farelerdeki östrojen tedavisi etkisiyle

insan hastalardaki doğal endojen östrojenin etkisi aynı olmayabilir. Bu konuda gönüllü olgularda daha ileri ve değişik metodlar içeren randomize, kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hastalığın aksiyel ya da periferik başlangıçlı olması açısından miRNA düzeyleri incelendiğinde, sadece miR-194-5p' nin periferik başlangıçlı olanlarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla eksprese olduğu tespit edildi ($p=0.016$). Ancak aksiyel başlangıçlı hastalarda ekspresyonu artan herhangi bir miRNA rastlanmamıştır. Bu bulgular ışığında miR-194-3p' nin, AS' nin periferik tutulumuna bir yatkınlık oluşturacağı veya periferik artrit durumlarında daha fazla eksprese olabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda AS hastaları arasında miRNA ekspresyonları ile HLA B27 pozitifliği açısından da değerlendirilmiştir. Her ne kadar çalışmaya dahil edilen AS hastası sınırlı olsa da, çalışmamızın sonucunda, AS hastalarında HLA B27 pozitifliği ile miRNA ekspresyonu arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır. Ayrıca çalışmamızda toplam hastalık süresi ile miRNA ekspresyonları arasındaki ilişki de incelenmiş ve aralarında herhangi bir istatistiksel ilişki bulunamamıştır.

Literatürde miR-21 ile ilgili çalışmalara bakıldığında SLE ile ilişkili olduğu, NF- κ B yoluyla LPS ile aktiveşen TLR sinyalizasyonu ile ilişkili olduğu ve T regülatör hücre gelişiminde önemi olduğu sonuçlarıyla karşılaşılmaktadır^{87,119,120}. Biz de çalışmamızda miR-21-3p' nin BASMI ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde negatif yönde ilişkili olduğu ($p= 0.036$, $r= - 0,298$) sonucuna ulaştık.

Çalışmamızın önemli amaçlarından birisi de hastalık aktivitesiyle miRNA ekspresyonları arasındaki ilişkiyi incelemektir. Hastalık aktivite göstergelerinden ESH ve CRP ile miRNA ekspresyonları arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı olan herhangi bir korelasyon saptanamamıştır. AS' de önemli hastalık aktivite göstergeleri olan BASDAI ve BASFI ise, çalışmamızda sadece miR-205-5p ile ilişkili bulunmuştur. miR-205-5p literatürde, prostat, meme ve mesane kanserleriyle ilişkilendirilmiştir¹²¹. Çalışmamızda miR-205-5p' nin, BASDAI ile ($p= 0.046$, $r= 0.283$) ve BASFI ile ($p= 0.027$ $r= 0.313$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde pozitif yönde ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

miR-155' in hücrel ve humoral bağışıklıkla ve başta RA olmak üzere bazı romatizmal hastalıklarla ilişkisini ortaya koyan literatürde birçok çalışma mevcuttur^{76,87}. miR-155, T ve B hücrelerinin her ikisinin de aktivasyonunda upregüle olur ve c-maf, Pu.1 ve aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (AID) dahil olmak üzere farklı genleri hedef alarak lenfosit homeostazı ve normal bağışıklık fonksiyonunu düzenler. miR-155 yoksun farelerde; Th1/Th2 oranında anormallik, T regülatör hücre sayısında azalma, Th2 sitokin üretiminde artış, germinal merkez yanıtlarında azalma ve plazma hücreleri ve bellek hücrelerinin IgG sınıf geçişinde azalma ile T ve B bağışıklığında defekt vardır⁷⁶. Çalışmamızda miR-155' in AS hastalarında eksprese olmadıkları saptanmıştır. Sağlıklı gönüllülerin olduğu kontrol grubuna bakıldığında, sadece 2 denekte eksprese olduğu görülmüştür, ancak bu iki olgu istatistiksel analize dahil edilmemiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda AS hastalığında biyomarker olarak kullanılabilen yüksek düzeyde eksprese olan herhangi bir miRNA bulunmamıştır. Ancak, miR-16-5p, miR-451a, miR-320a, miR-126-3p, miR-17-5p, miR-146a-5p ve miR-223-3p' nin hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az eksprese olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kontrol grubunda miR-27a-3p ve let-7c' nin VKİ ile pozitif olarak korele olduğu, hasta grubunda miR-222-3p ve miR-223-3p' nin VKİ ile negatif olarak korele olduğu, kontrol grubunda miR-223-5p' nin yaş ile negatif olarak ilişkili olduğu bulunmuştur. Hasta grubunda kadınlarda miR-146a-3p ve miR-126a-3p' nin daha fazla eksprese olduğu bulunmuştur. Hastalık başlangıcı açısından, miR-194-5p' nin periferik başlangıçlı olanlarda daha fazla eksprese olduğu bulunmuştur. BASDAI ve BASFI ile miR-205-5p arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda, Ankilozan Spondilit ile mikro RNA' lar arasındaki ilişkiyi daha açık şekilde ortaya konulması amacıyla daha fazla sayıda olguyu içeren farklı metodlarla beraber ileri randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ankilozan Spondilit, insanların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyebilen, epidemiyolojik ve sosyoekonomik sonuçlarıyla önemli sakatlıklara yol açabilecek bir klinik durumdur. Ankilozan Spondilit tedavisinin ekonomik maliyeti hem birey hem de toplum için daha da yüksek hale gelmektedir. Erken tanı ve tedavi ile hem bireyin yaşam kalitesi artacak hem de hastalığın toplumsal maliyeti düşecektir.

Mikro RNA' lar son yıllarda önemi gittikçe artan, birçok hastalıkta ve doğal fizyolojik süreçlerde rolü kanıtlanmış genetik ürünlerdir. Ankilozan Spondilit' le miRNA arasındaki ilişkinin tanımlanması, hem erken tanıyı sağlayabilecek hem de olası yeni immunolojik yolları aydınlayabilecektir.

Bizim çalışmamızda Ankilozan Spondilit tanısı almış Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon bölümüne başvuran 50 hasta ile 42 sağlıklı kontrolden alınan periferik kan örnekleri miRNA ekspresyonları açısından karşılaştırıldı. 7 adet miRNA' nın AS hastalarında daha az eksprese olduğu gözlemlendi. Sadece bir miRNA, hastalık aktivite indekslerinden BASDAI ve BASFI ile ilişkili bulundu. Çalışmamızda hasta grubunda hiçbir miRNA kontrol grubuna göre daha fazla eksprese olmamıştır. Bu nedenle, çalışma sonuçlarımız Ankilozan Spondilit' e spesifik bir miRNA ortaya koyamamıştır. Ancak, hastalardaki kan miRNA düzeylerinin kontrollere oranla daha düşük bulunması, miRNA' ların Ankilozan Spondilit için bir koruyucu faktör olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak; erken tanısı giderek daha önemli olan Ankilozan Spondilit hastalığının miRNA' lar ile olan ilişkisini aydınlatmak için daha çok sayıda ileri randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Jan Tore Gran, Gunnar Husby. HLA-B27 and spondyloarthritis: value for early diagnosis? *Journal of Medical Genetics* 1995;32:497-501.
2. Gürçay E, Ekşioğlu E, Yüzer S, Bal A, Çakıcı A. Ankilozan Spondilit Hastalarda İlaç Uyumunu ve Uyumsuzluğunu Etkileyen Faktörler. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*. 2006;52:163-167.
3. Yıldız H, İçağasıoğlu A, Reyhanoğlu S, Moral F, Güran S. Geç tanıli bir ankilozan spondilit olgusu. *Romatizma Dergisi*. 2003;3(18):159-164.
4. O'Shea F, Salonen D, Inman R. The challenge of early diagnosis in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 2007 Jan;34(1):5-7.
5. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75:843–854. [PubMed: 8252621].
6. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet* 2008;9:102–114. [PubMed: 18197166].
7. Kaleb M. Pauleya,b, Seunghee Chaa,b, and Edward K.L. Chanb MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases *J Autoimmun*. 2009 ; 32(3-4): 189–194. doi:10.1016/j.jaut.2009.02.012.
8. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, Detmar M, Gay S, Kyburz D. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:1001–1009. [PubMed: 18383392].
9. Lai NS et al. Aberrant Expression of microRNAs in T cells from Patients with Ankylosing Spondylitis Contributed to the Immunopathogenesis1 2013 British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology.
10. 108. Lai NS et al. Aberrant Expression of microRNAs in T cells from Patients with Ankylosing Spondylitis Contributed to the Immunopathogenesis1 2013 British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology.
11. 109. Huang J, Song G, Yin Z, Luo X, Ye Z. Elevated miR-29a expression is not correlated with disease activity index in PBMCs of patients with ankylosing spondylitis. *Modern Rheumatology* April 2013.

12. Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X, et al. The assessment of spondyloarthritis international society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2009 ; 68(Suppl 2) : ii1 – 44 .
13. Şendur Ö, Aydeniz A. Spondiloartropatilerin temel özellikleri ve ayırıcı tanı ve tedavisinin genel kriterleri. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; 2(2) : 31 – 35.
14. Gran JT, Husby G. Epidemiology of ankylosing spondylitis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, eds. *Rheumatology*. Mosby, Philadelphia, 2003:1153-9.
15. <http://www.ashad.org/icerikler.php?id=28> (erişim tarihi: 12.03.2013).
16. Maksymowych WP. Spondyloarthropathies: Etiology and pathogenesis of ankylosing spondylitis. In: Hochberg M, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, editors. *Rheumatology*. 3 ed. Philadelphia: Elsevier Limited; 2003. p. 1183-92.
17. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DCO, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HLA-B27. *Lancet* 1973;1;904-7.
18. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27(4):361-8.
19. Brown MA, Pile KD, Kennedy LG, Calin A, Darke C, Bell J, et al. HLA class I associations of ankylosing spondylitis in the white population in the United Kingdom. *Ann Rheum Dis* 1996;55(4):268-70.
20. Ricci-Vitiani L, Vacca A, Potolicchio I, Scarpa R, Bitti P, Sebastiani G, et al. MICA gene triplet repeat polymorphism in patients with HLA-B27 positive and negative ankylosing spondylitis from Sardinia. *JRheumatol* 2000;27(9):2193-7.
21. Arasıl T. Ankilozan spondilit. In: Beyazova M, Gökçe Kutsal Y, ed. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon*. Güneş Kitabevi, Ankara, 2000: 1577-91.
22. Maksymowych WP. Spondyloarthropathies: Etiology and pathogenesis of ankylosing spondylitis. In: Hochberg M, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, editors. *Rheumatology*. 3 ed. Philadelphia: Elsevier Limited; 2003. p. 1183-92.
23. Van der Linden SM, Valkenburg HA, deJong BM, et al. The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA B27 positive individuals. A comparison of relatives of spondylitis patients with the general population. *Arthritis Rheum* 1984;27:241-9.

24. Vernon-Roberts B. Ankylosing spondylitis: pathology. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, eds. Rheumatology. Mosby, Philadelphia, 2003:1205-10.
25. Dougados M. Treatment of spondyloarthropathies. Recent advances and prospects in Joint. Bone Spine 2001; 68:557-563.
26. Salonen DC, Brower AC. Seronegative spondyloarthropathies: imaging. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, eds. Rheumatology. Mosby, Philadelphia, 2003:1193-1204.
27. Michael Ehrenfeld Best Practice & Research Clinical Rheumatology 26 (2012) 135–145.
28. Van der Linden S et al. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. Ann Rheum Dis. 2009 Jun;68(6):777-83.
29. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewe R, et al. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. Ann Rheum Dis. 2009 Jun;68(6):777-83
30. Rudwaleit M, J. T. William. Classification criteria for psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis/axial spondyloarthritis. Best Practice & Research Clinical Rheumatology 24 (2010) 589–604.
31. Khan MA. Clinical features of ankylosing spondylitis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (eds.): Rheumatology. Mosby, Philadelphia, 2003:1161-81.
32. Khan MA, Braun WE, Kushner I. Comparison of clinical features of HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum 1977;20:909-12.
33. Patel SJ, Lundy DC. Ocular Manifestations of Autoimmune Disease. Am Fam Physician. 2002;66(6):991-998.
34. Özgöçmen S. Romatoloji El Kitabı. Ankilozan spondilit ve Spondiloartropatiler. Veri Medikal Yayıncılık 2008: 145-213.
35. Erdem CZ, Erdem LO, Tor M. Ankilozan Spondilitin Solunum Sistemi Tutulumu: Radyolojik Yaklaşım. Toraks Dergisi. 2005;6(1):73-76.

36. Şendur F, Karadağ F, Çildağ O, Başar A, Yıldırım T. Ankilozan Spondilitli Olgularda Akciğer Tutulumunun Akciğer Grafisi, Solunum Fonksiyon Testi ve Yüksek Rezolüsyonlu Bilgisayarlı Tomografi ile Araştırılması. *Toraks Dergisi*. 2001;2(1):50-52
37. Ünal A, Gülmez İ, Keleştimur F, Özesmi M. Ankilozan Spondilit ve Akciğer Tutulumu. *Türkiye Klinikleri J Med Res* 1991;9(6):450-4.
38. Khan MA. Seronegative spondyloarthropathies. C. Ankylosing spondylitis. In: Klippel JH, ed. *Primer on the rheumatic diseases*. 11th ed. Atlanta: Arthritis Foundation; 1997; p. 189-93.
39. Karatepe AG, Kaya T, Gedizoğlu M, Günaydın R, Ürper S. Ankilozan Spondilit ve Multipl Skleroz Birlikteliği: Olgu Sunumu. *Romatizma Dergisi*. 2006;21(3):114-117.
40. Calin A, Nakache JP, Gueguen A, Zeidler H, Mielants H, Dougados M. Defining disease activity in ankylosing spondylitis: is a combination of variables (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index) an appropriate instrument? *Rheumatology (Oxford)* 1999;38(9):878-82.
41. Macrae IF, Wright V. Measurement of back movement. *Ann Rheum Dis* 1969; 28: 584-9.
42. Moll JMH, Wright V. An objective clinical study of chest expansion. *Ann Rheum Dis* 1972;31:1-8.
43. Linden SVD, Heijde DVD, Braun J. Ankylosing Spondylitis. In: Harris ED, JR. *Kelleys text book of Rheumatology*. Seventh Edition, 2005 1125-1141.
44. Arnett FC. Ankylosing spondylitis. In: Koopman WJ(ed). *Arthritis and allied conditions. A textbook of rheumatology*. Baltimore: Williams and Wilkins 1997; 1197-1208.
45. Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SL, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol* 1994;21(9):1694-8.
46. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 1994;21(12):2286-91.
47. Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O'Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol* 1994;21(12):2281-5.

48. Heuft-Dorenbosch L, Spoorenberg A, van Tubergen A, Landewe R, van der Tempel H, Mielants H, et al. Assessment of enthesitis in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2003;62(2):127-32.
49. Aaverns HL, Oxtoby J, Taylor HG, Jones PW, Dziedzic K, Dawes PT. Radiological outcome in ankylosing spondylitis: use of the Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (SASSS). *Br J Rheumatol* 1996;35(4):373-6.
50. Wanders AJ, Landewe RB, Spoorenberg A, Dougados M, van der Linden S, Mielants H, et al. What is the most appropriate radiologic scoring method for ankylosing spondylitis? A comparison of the available methods based on the Outcome Measures in Rheumatology Clinical Trials filter. *Arthritis Rheum* 2004;50(8):2622-32.
51. MacKay K, Mack C, Brophy S, Calin A. The Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI): a new, validated approach to disease assessment. *Arthritis Rheum* 1998;41(12):2263-70.
52. Braun J, Baraliakos X, Golder W, Hermann KG, Listing J, Brandt J, et al. Analysing chronic spinal changes in ankylosing spondylitis: a systematic comparison of conventional x rays with magnetic resonance imaging using established and new scoring systems. *Ann Rheum Dis* 2004;63(9):1046-55.
53. D'Agostino MA, Said-Nahal R, Hacquard-Bouder C, Brasseur JL, Dougados M, Breban M. Assessment of peripheral enthesitis in the spondylarthropathies by ultrasonography combined with power Doppler: a cross-sectional study. *Arthritis Rheum* 2003;48(2):523-33.
54. Doward LC, Spoorenberg A, Cook SA, Whalley D, Helliwell PS, Kay LJ, et al. Development of the ASQoL: a quality of life instrument specific to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2003;62(1):20-6.
55. Kabasakal Y. Spondiloartritler. In: Doganavşargil E, Gümüşdiş G, ed. *Klinik Romatoloji El Kitabı*. Güven Kitabevi, izmir, 2003:501-539.
56. Rosaline van den Berg, Xenofon Baraliakos, Juergen Braun and De' sire' e van der Heijde First update of the current evidence for the management of ankylosing spondylitis with non-pharmacological treatment and non-biologic drugs: a systematic literature review for the ASAS/ EULAR management recommendations in ankylosing Spondylitis *Rheumatology Advance Access* published April 17, 2012.
57. Paulus HE. FDA arthritis advisory commite:serious gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs, etc. *Arthritis Rheum*. 1998;31:1450-1.

58. Haibel H, Brandt HC, Song IH et al. No efficacy of subcutaneous methotrexate in active ankylosing spondylitis: a 16-week open-label trial. *Ann Rheum Dis* 2007;66:419-21.
59. Chen J, Liu C. Sulfasalazine for ankylosing spondylitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;CD004800.
60. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, et al (eds): *Rheumatology volume 2*, third edition. Mosby 2003, 1145-223.
61. Tütüncü Z, Kavanaugh A. Antisitokin Tedaviler. In: Arasıl T (Ed). *Kelley Romatoloji*. Günes Kitapevi, Ankara, 2006: 940-50.
62. Gratacos J, Collado A, Filella X, Sanmarti R, et al. Serum cytokines (IL-6, TNF α , IL-1b and IFN γ) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 927-31.
63. Xenofon Baraliakos, Rosaline van den Berg, Jurgen Braun and Desire e vander Heijde Update of the literature review on treatment with biologics as a basis for the first update of the ASAS/EULAR management recommendations of ankylosing spondylitis *Rheumatology Advance Access published March 16, 2012*.
64. Braun JB, Sieper J, Breban M, Collantes-Estevez E, et al. Anti-tumor necrosis factor a therapy for ankylosing spondylitis: international experience. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(Suppl III):51-60.
65. Sözüay S, Seronegatif Spondiloartropatili Hastalara Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Yaklaşımları, *Immunoloji Romatoloji* 2004;4(1):72-76.
66. Dursun H, Özgül A, Tedavi edici egzersiler In: Oğuz H, edt. *Tıbbi Rehabilitasyon*. Chp.19.1995;296-323.
67. Moldover JR, Bartels MN. Cardiac rehabilitation. In: Braddom RL (ed): *Physical medicine and rehabilitation*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000:665-86.
68. Bach JR. Rehabilitation of the patient with respiratory dysfunction. In DeLisa JA: *Physical medicine and rehabilitation*. Lipincott W.W., Philadelphia, 2004: 1843-66.
69. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75:843-54.
70. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000;403:901-6.
71. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res* 2006;34:D140-4.

72. T. Tomankova, M. Petrek, J. Gallo- α & E. Kriegova. MicroRNAs: Emerging Regulators of Immune-Mediated Diseases *Scandinavian Journal of Immunology*. doi: 10.1111/j.1365-3083.2011.02650.x
73. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet* 2005;37:766–70
74. Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005;120:21–4.
75. C Yu, W-P Chen, X-H Wang. MicroRNA in Osteoarthritis. *The Journal of International Medical Research*. 2011; 39: 1 – 9.
76. Rujuan Dai, and S, Ansar Ahmed. MicroRNA, A new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation and autoimmune diseases. *Translational Research*. 2011;157:163–179.
77. Kaleb M. Pauley, Seunghee Cha, and Edward K.L. Chan. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2009 ; 32(3-4): 189–194. doi:10.1016/j.jaut.2009.02.012.
78. Berezikov E, Chung WJ, Willis J, Cuppen E, Lai EC. Mammalian mirtron genes. *Mol Cell* 2007;28:328–336. [PubMed: 17964270].
79. Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell* 2007;130:89–100. [PubMed: 17599402]
21. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature* 2007;448:83–86. [PubMed: 17589500].
80. Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. *Cell*. 2008;132:9–14.
81. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ* 2006;13:816–25.
82. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005;17:1–14.
83. Liew FY, Xu D, Brint EK, O’Neill LA. Negative regulation of toll-like receptor-mediated immune responses. *Nat Rev Immunol* 2005;5:446–58
84. Johnnidis JB, Harris MH, Wheeler RT, et al. Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by micro-RNA-223. *Nature* 2008;451:1125–9
85. Fontana L, Pelosi E, Greco P, et al. MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopoiesis through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation. *Nat Cell Biol* 2007;9:775–87.

86. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:12481–6.
87. . Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ, et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nat Immunol* 2010;11:141–7
88. Tam W. Identification and characterization of human BIC, a gene on chromosome 21 that encodes a noncoding RNA. *Gene* 2001;274:157–167. [PubMed: 11675008]
89. Cobb BS, Nesterova TB, Thompson E, et al. T cell lineage choice and differentiation in the absence of the RNase III enzyme Dicer. *J Exp Med* 2005;201:1367–73
90. Muljo SA, Ansel KM, Kanellopoulou C, Livingston DM, Rao A, Rajewsky K. Aberrant T cell differentiation in the absence of Dicer. *J Exp Med* 2005;202:261–9
91. Koralov SB, Muljo SA, Galler GR, et al. Dicer ablation affects antibody diversity and cell survival in the B lymphocyte lineage. *Cell* 2008;132:860–74
92. Xiao C, Srinivasan L, Calado DP, et al. Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17-92 expression in lymphocytes. *Nat Immunol* 2008;9:405–14
93. Ventura A, Young AG, Winslow MM, et al. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters. *Cell* 2008;132:875–86
94. Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, van Dongen S, Grocock RJ, Das PP, Miska EA, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* 2007;316:608–611. [PubMed: 17463290]
95. Thai TH, Calado DP, Casola S, Ansel KM, Xiao C, Xue Y, Murphy A, Frendewey D, Valenzuela D, Kutok JL, et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science*. 2007 Apr 27;316(5824):604-8
96. Vigorito E, Perks KL, breu-Goodger C, Bunting S, Xiang Z, Kohlhaas S, Das PP, Miska EA, Rodriguez A, Bradley A, et al. microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin classswitched plasma cells. *Immunity* 2007;27:847–859. [PubMed: 18055230]
97. Fazi F, Rosa A, Fatica A, Gelmetti V, De Marchis ML, Nervi C, Bozzoni I. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and

- C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. *Cell* 2005;123:819–831. [PubMed: 16325577].
98. McHugh K, Bowness P. The link between HLA-B27 and SpA – new ideas on an old problem. *Rheumatology (Oxf)* 2012;51:1529–39.
99. Braun J, Sieper J. Ankylosing spondylitis. *Lancet* 2007; 369:1379–90.
100. Reveille JD. The genetic basis of spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2011; 70 (Suppl. 1):i44–50
101. Boyle LH, Goodall JC, Opat SS, Gaston JS. The recognition of HLA-B27 by human CD4(+) T lymphocytes. *J Immunol* 2001; 167:2619–24.
102. Atagunduz P, Appel H, Kuon W et al. HLA-B27-restricted CD8+ T cell response to cartilage-derived self peptides in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52:892–901.
103. Baeten D, Kruithof E, Van den Bosch F et al. Immunomodulatory effects of anti-tumor necrosis factor alpha therapy on synovium in spondylarthropathy: histologic findings in eight patients from an open-label pilot study. *Arthritis Rheum* 2001; 44:186–95.
104. Szalay B, Mészáros G, Cseh Á et al. Adaptive immunity in ankylosing spondylitis: phenotype and functional alterations of T-cells before and during infliximab therapy. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: Article ID 808724.
105. Yu C, Chen W-P, Wang X-H. MicroRNA in Osteoarthritis, *The Journal of International Medical Research*, 2011; 39: 1 – 9.
106. Dai Y, Sui W, Lan H, Yan Q, Huang H, Huang Y. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in renal biopsies of lupus nephritis patients. *Rheumatol Int.* 2009;29:749-754.
107. Wu F, Zikusoka M, Trindade A, et al. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptid-2 alpha. *Gastroenterology.* 2008;135:1624-1635.
108. Tai-You Ha The Role of MicroRNAs in Regulatory T Cells and in the Immune Response IMMUNE NETWORK <http://www.ksimm.or.kr> Volume 11 Number 1 February 2011.
109. Pulikkan JA, Dengler V, Peramangalam PS, et al. Cell-cycle regulator E2F1 and microRNA-223 comprise an autoregulatory negative feedback loop in acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;115:1768–78.

110. Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, et al. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010;142:914–29.
111. Pauley KM, et al. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R101. [PubMed: 18759964].
112. Murphy CL, Brockbank SM, Needham MR, Read SJ, Newham P. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF-alpha and MMP13. *Osteoarthritis Cartilage* 17: 464–72, 2009.
113. Dai Y, Huang YS, Tang M et al. Microarray analysis of micro- RNA expression in peripheral blood cells of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2007;16:939–46.
114. Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, Gerald WL, Massagué J: Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 451:147-152, 2008.
115. Mattes J, Collison A, Plank M, Phipps S, Foster PS. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18704–9.
116. Langevin SM, Stone RA, Bunker CH, Grandis JR, Sobol RW, Taioli E. MicroRNA-137 promoter methylation in oral rinses from patients with squamous cell carcinoma of the head and neck is associated with gender and body mass index. *Carcinogenesis*. 2010 May;31(5):864-70. doi: 10.1093/carcin/bgq051. Epub 2010 Mar 2.
117. Meerson A, Traurig M, Ossowski V, Fleming JM, Mullins M, Baier LJ. Human adipose microRNA-221 is upregulated in obesity and affects fat metabolism downstream of leptin and TNF- α . *Diabetologia*. 2013 Jun 12. [Epub ahead of print].
118. Dai R, Phillips RA, Zhang Y, Khan D, Crasta O, Ahmed SA. Suppression of LPS-induced IFN γ and nitric oxide in splenic lymphocytes by select estrogen-regulated miRNA: A novel mechanism of immune modulation. *Blood* 2008;112:4591–7.
119. Pan W, Zhu S, Yuan M, et al. MicroRNA-21 and microRNA-148a contribute to DNA hypomethylation in lupus CD41T cells by directly and indirectly targeting DNA methyltransferase 1. *J Immunol* 2010;184:6773–81.
120. Rouas R, Fayyad-Kazan H, El Zein N, et al. Human natural Treg microRNA signature: role of microRNA-31 and microRNA-21 in FOXP3 expression. *Eur J Immunol* 2009;39:1608–18.

121. http://en.wikipedia.org/wiki/Mir-205#Role_of_miR-205_in_Cancer (erişim tarihi: 20.07.2013)

8. KISALTMALAR DİZİNİ

miRNA: Mikro RNA

AS: Ankilozan Spondilit

sPA: Spondiloartropati

mRNA: Messenger RNA

RA: Romatoid artrit

SLE : Sistemik Lupus Eritematozus

OA: Osteoartrit

CRP: C Reaktif Protein

ESH: Eritrosit Sedimentasyon Hızı

RF: Romatoid Faktör

ANA: Antinükleer Antikor

uSpA: Andiferansiye Spondiloartropati

DISH: Difüz İdiopatik Skeletal Hiperosteozis

VAS: Görsel Analog Ölçek

BASMI: Bath AS Metroloji İndeksi

BASDAI: Bath AS Hastalık Aktivite İndeksi

BASFI:Bath AS Fonksiyonel İndeksi

BASRI: Bath AS Radyoloji İndeksi

LPS: Lipopolisakkarit

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

NF-kB: Nükleer faktör kB

TLR: Toll Benzeri Reseptör

9. ŞEKİLLER ve GRAFİKLER DİZİNİ

9.1. Şekiller Dizini

Şekil 1. Kanonik ve non-kanonik miRNA yolakları.....	28
Şekil-2. Hücresel bağışıklıkta miRNA' ların rolü.....	30

9.2. Grafikler Dizini

Grafik 1. miR16-5p ekspresyonları.....	41
Grafik2. miR451a ekspresyonları.....	41
Grafik 3. miR-17-5p ekspresyonları.....	41
Grafik 4. miR-146a-5p ekspresyonları.....	41
Grafik 5. miR223-3p ekspresyonları.....	42
Grafik 6. miR-320a ekspresyonları	42
Grafik 7. miR-126-3p ekspresyonları.....	42
Grafik 8. miR-194-5p aksiyel ve periferik tutulum farkları.....	43
Grafik 9. miR-146a-5p' nin cinsiyetle ilişkisi.....	47
Grafik 10. miR-126a-3p' nin cinsiyetle ilişkisi	47

10. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. AS hastaları ve sağlıklı kontrollere ait demografik ve klinik veriler.....	39
Tablo 2. Hasta ve kontrol gruplarında eksprese olan miRNA'ların karşılaştırılması.....	40
Tablo 3. Aksiyel ve periferik tutulumda miRNA düzeyleri	43
Tablo 4. HLA B27 ile miRNA arasındaki ilişki.....	44
Tablo 5. Anti-TNF kullanımı ile miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki.....	45
Tablo 6. Cinsiyet ile miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki	46
Tablo 7. Yaş ve VKİ ile miRNA ekspresyonu arasındaki ilişki.....	48
Tablo 8. Hasta grubunda miRNA ile BASDAI, BASMI, BASFI, ESH, CRP ve hastalık süreleri arasındaki ilişki.....	50

11. EKLER

EK 1. BATH ANKİLOZAN SPONDİLİT HASTALIK AKTİVİTE İNDEKSİ (BASDAI)

Geçtiğimiz hafta ile ilgili olarak aşağıdaki her soruya yanıtınızı göstermek için , her bir çizgi üzerine işaret koyunuz.

1. Halsizlik / yorgunluk düzeyinizi genel olarak nasıl tanımlarsınız?

YOK 0 _____ 10 ÇOK ŞİDDETLİ

2. Ankilozanspondilite bağlı boyun , sırt,bel veya kalça ağrılarınızın düzeyini genel olarak nasıl tanımlarsınız?

YOK 0 _____ 10 ÇOK ŞİDDETLİ

3. Boyun,sırt, bel ve kalçalarınız dışındaki diğer eklemlerinizdeki ağrı/şişliğin düzeyini genel olarak nasıl tanımlarsınız?

YOK 0 _____ 10 ÇOK ŞİDDETLİ

4. Dokunmaya veya basıya karşı hassas olan bölgelerinizde duyduğunuz rahatsızlığın düzeyini genel olarak nasıl tanımlarsınız?

YOK 0 _____ 10 ÇOK ŞİDDETLİ

5. Uyandıktan sonra sabah tutukluğunuzun düzeyini genel olarak nasıl tanımlarsınız?

YOK 0 _____ 10 ÇOK ŞİDDETLİ

6. Uyandıktan sonra sabah tutukluğunuz ne kadar sürüyor?

• 1/2 saat 1 saat 1,5 saat 2 saat veya daha fazla

1 _____ I _____ I _____ I _____ I

BASDAI SKOR: 5 ve 6.sorular için ortalama skor, ilk dört skorla toplanır ve toplam skor beşe bölünür.

EK 2. BATH ANKİLOZAN SPONDİLİT FONKSİYONEL İNDEKS (BASFI)

Aşağıdaki aktiviteleri ne ölçüde ne ölçüde yapabileceğinizi göstermek için lütfen aşağıdaki çizgiler üzerinde işaret koyunuz.(son bir hafta için)

1. Çoraplarınızı (ya da külotlu çoraplarınızı) bir başkasının yardımı olmadan giyebiliyor musunuz ?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

2. Yardımcı bir araç olmadan yerde duran bir kalemi almak için belinizden aşağı doğru eğilebiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

3. Yüksek bir rafa başkasından yardım almadan ya da yardımcı bir araç olmadan uzanabiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

4. İskemleden ellerinizi kullanmadan veya yardım almadan kalkabiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

5. Yerde sırustü yatarken yardım almadan kalkabiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

6. Rahatsız olmadan ayakta 10 dakika desteksiz durabiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

7. Her basamağa bir adım atarak , merdiven trabzanı veya baston kullanmadan 12-15 basamak çıkabiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

8. Vücudunuzu döndürmeden omzunuzun üzerinden bakabiliyor musunuz ?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

9. Fizik tedavi egzersizleri, bahçe işleri , spor yababiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

10. Evde ya da iş yerinde , bir gün içindeki tüm aktivitelerinizi yapabiliyor musunuz?

KOLAY 0 _____ 10 İMKANSIZ

TOPLAM 100

TOPLAM /10 (BASFI SKOR)

EK 3. BASMI

	Hafif (0)	Orta (1)	Şiddetli (2)
Lomber lateral fleksiyon (cm)	> 10 cm	5-10 cm	< 5 cm
Tragus-duvar mesafesi (cm)	<15 cm	15-30 cm	> 30 cm
Lomber fleksiyon (modifiye Schober) (cm)	> 4 cm	2-4 cm	<2 cm
Maksimal intermalleolar mesafe (cm)	> 100 cm	70-100 cm	< 70 cm
Servikal rotasyon (°)	>70°	20-70°	< 20°

BASMI Skor, 5 ölçümün toplamıdır.