

T.C.

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA ADMA ve
ENDOTEL FONKSİYONU

(UZMANLIK TEZİ)
DR.TURGUT AKTAŞ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. CEVVAL ULMAN

MANİSA 2010

T.C.

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA ADMA ve
ENDOTEL FONKSİYONU**

**(UZMANLIK TEZİ)
DR.TURGUT AKTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. CEVVAL ULMAN**

MANİSA 2010

ÖNSÖZ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince verdikleri destek ve katkılarından dolayı başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zeki ARI'ya, tez danışmanım ve bu çalışmamdaki en büyük destekçim Doç. Dr. Cevval ULMAN'a, değerli hocalarımdan Doç. Dr. Fatma TANELİ'ye, Doç. Dr. Ece ONUR'a, Doç. Dr. Ahmet VAR'a,

Yardımlarından dolayı Dahiliye Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Timur Pırıldar'a, Bilimsel Araştırma Projesi Komisyonu çalışanlarına,

1,5 yıl boyunca çalışmalarımızı uyumlu bir şekilde yürüttüğümüz Dr. Ferda Bozyiğit'e, Dr. Mehmet ÇALKAN'a, Dr. Ferhunde PULULAR'a, Dr. Soner ERDİN'e, Dr. Aysun BİLGİ'ye, Dr. Sezen IRMAK'a, Dr. Sema BİLGE'ye, Dr. Ceyhun GÖZÜKARA'ya,

Berber çalıştığım tüm teknisyen arkadaşlarıma, Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, birlikteliğimiz boyunca desteğini, anlayışını ve sevgisini esirgemeyen sevgili eşime ve kızlarıma, en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Turgut AKTAŞ
Manisa 2010

İÇİNDEKİLER

I.GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
II.1.ANKİLOZAN SPONDİLİT	3
II.1.1.EPİDEMİYOLOJİ	3
II.1.2.PATOLOJİ	3
II.1.3.PATOGENEZ	4
II.1.4.KLİNİK	4
II.1.5.LABORATUAR	5
II.1.6.RADİOGRAFİ	5
II.1.7.TANI KRİTERLERİ	5
II.1.8.TEDAVİ	5
II. 2.CRP	6
II. 3.OKSİDE-LDL	11
II. 4.ADMA	13
II. 5.LP-PLA2	16
II.6.DİĞERLERİ (Glikoz, Total kolesterol, HDL- Kolesterol, LDL-Kolesterol, Trigliserid, İnsülin)	17
III. GEREÇ VE YÖNTEMLER	18
III. 1. ARAÇ VE GEREÇ	18

III.2.YÖNTEM	19
III. 2.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması	19
III. 2.2. Çalışma Düzeni	19
III. 2.3 Kan Örneklerinin Alınması	19
III. 2.4. Biyokimyasal Analizler	19
III.2.4.1.Serum ADMA Tayini	20
III.2.4.2.Serum Ox-LDL Tayini	20
III.2.4.3.Serum Lp-PLA2 Tayini	20
III. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	22
IV. BULGULAR	23
V. TARTIŞMA	34
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
VII. ÖZET	40
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	41
IX. KAYNAKLAR	42

KISALTMALAR

AS :	Ankilozan Spondilit
ANTI-TNF:	Antitümör Nekrozis Faktör
ADMA:	Asimetrik Dimetil Arginin
ALP:	Alkale Fosfataz
BASFi:	Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi
BASDAI:	Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi
BKİ :	Beden Kütle İndeksi
CAD :	Koroner Arter Hastalığı
ESR:	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
Hs-CRP:	Yüksek Duyarlıklı C-Reaktif Protein
IL :	İnterlökin
ICAM :	Hücrelerarası Adezyon Molekülü
LDL:	Düşük Dansiteli Lipoprotein
Lp-PLA2:	Lipoprotein İle İlişkili Fosfolipaz A2
MCP :	Monosit Kemotaktik Protein
MRI :	Manyetik Rezonans
NMMA :	N-Monometil Arginin
NO:	Nitrik Oksit
SDMA :	Simetrik Dimetil Arginin
VCAM :	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü

I.GİRİŞ VE AMAÇ

Ankilozan Spondilit (AS) omurga ve sakroiliak eklemlerin etyolojisi bilinmeyen, kronik bir hastalıktır. Temelde vertebraları tutmakla beraber, diğer eklemleri de etkilemektedir. İnsan lenfosit antijeni-B27 (HLA-B27) (+) olan kişilerde hastalık daha sık olarak görülmektedir. İngiltere’de erkeklerde görülme sıklığı % 0,5, kadınlarda ise % 0,2 dir. Amerika da ise % 0,1 dir. Genellikle 20’li yaşlarda başlar, ancak belirtiler daha geç ortaya çıkabilmektedir. Hastalık erkeklerde 3/1 oranında daha sık olarak görülmektedir.

Tipik belirtiler şunlardır:

- 1-Haftalar veya aylar içinde yavaş yavaş artan bel ağrısı ve sertlik.
- 2-Gün içinde hareketle veya egzersizle azalan sabah sertliği veya ağrısı
- 3-Üç aydan daha fazla devam eden belirtiler
- 4-Özellikle erken dönemde kilo kaybı
- 5-Yorgunluk
- 6-Ateş ve gece terlemesi

Ankilozan spondilitte kalp hafif derecede etkilenmektedir. Kalp kapakları ve ileti sisteminde bozukluk ortaya çıkabilir, fakat genellikle hastalarda sorun yaratmamaktadır(1).

Ankilozan spondilitte hastanın yaşam süresi etkilenmemektedir. Daha çok yaşam kalitesini düşürerek şekil bozukluklarına neden olmaktadır. Hastaların çoğu iş hayatını sürdüren normal insanlardır. Çalışmamızda AS’li hastalarda endotel disfonksiyonunu değerlendirmek ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırmak amacıyla 45 hasta ve 30 sağlıklı kontrolde; Glikoz, trigliserid, kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-kolesterol), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-kolesterol), insülin, homeostatik model değerlendirme indeksi (HOMA indeksi), yüksek duyarlıklı C reaktif protein (hs-CRP), asimetrik dimetil arginin (ADMA), okside-düşük dansiteli lipoprotein (ox-LDL), lipoprotein ile ilişkili fosfolipaz A2 (Lp-PLA2) ve kanda aminoasit analiziyle arginin, sitrulin değerleri ölçülmüştür. Bu labaratuvar parametreleri hastalık fonksiyon indeksi olan Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi (BASFI), Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi (BASDAI), Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi (BASMI) ile karşılaştırılmıştır.

Nitrik oksit (NO) vazodilatör, antiagregan, antiadeziv, antiinflamatuvar bir madde olarak bilinmektedir. Aterosklerozun inflamatuvar bir olay olduğu kabul edilmektedir. NO miktarı azaldıkça, aterosklerozun hızlandığı diabetli ve kronik böbrek yetmezlikli hastalarda yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir. NO proteinlerdeki arginin rezidülerinden nitrik oksit sentaz (NOS) adlı enzim tarafından sentezlenmektedir. NOS vasküler endotelde bulunmaktadır. ADMA NOS enziminin kompetitif bir inhibitörüdür. Hiperglisemi, hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, hipertansiyon gibi vasküler endotelde disfonksiyona neden olan durumlarda NO miktarı azalırken, ADMA miktarları artmaktadır. ADMA da NO gibi arginininden sentezlenmektedir.

Lp-PLA2 inflamatuvar/ immün yanıtta görev alan monosit-makrofaj, T lenfositler ve mast hücreleri gibi birçok hücreler tarafından salgılanmaktadır. Lp-PLA2, ox-LDL'nin fosfolipitlerini hidrolize ederek lizofosfatidil kolin oluşumunu sağlamaktadır. Lizofosfatidil kolin T hücrelerinde fonksiyonel ve immün yanıtların artırılmasının yanı sıra, endotel hücre apoptozu ve adezyon moleküllerinin uyarılmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Makrofajlar tarafından kolesterolün absorbe edilebilmesi için LDL nin modifikasyonu gerekir. LDL modifikasyonu sırasında yeni bir reseptör oluşur. Bu reseptör 'asetil LDL' reseptörüdür. Makrofajlar bu reseptörleri tanıyarak ox-LDL'yi hızla absorbe etmekte ve köpük hücrelerine dönüşmektedirler.

Tezimizde amacımız AS'li hastalarda ADMA düzeylerini belirlemek, ADMA'nın aterosklerozun diğer markerları ve biyokimyasal parametreleriyle ilişkisini değerlendirmek ve ADMA ile AS hastalığının aktivitesi arasında bir korelasyon olup olmadığını incelemektir.

II. GENEL BİLGİLER

AS etyolojisi tam bilinmeyen inflamatuvar bir hastalıktır. Primer olarak aksial iskeleti etkilmektedir. Periferik eklemleri ve ekstraartiküler yapılar da etkilenebilir. Hastalık genellikle 2. ve 3. dekada başlar. Erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görülür. Spondiloartropatilerin prototipi olduğu düşünülmektedir.

II.1.1.EPIDEMİYOLOJİ:

AS HLA-B27 histokompatibilite antijeni ile çarpıcı bir korelasyon gösterir. Kuzey Amerika' da HLA-B27 prevalansı % 7 dir. HLA-B27 AS'li hastaların % 90'ında pozitif bulunmaktadır.HLA-B27 birlikteliği ile hastalığın ciddiyeti arasında korelasyon gözlenmemiştir.HLA- B27 pozitif kişilerin % 1-2 sinde AS bulunabilir. AS hastalarının birinci derece akrabalarında HLA-B27 prevalansı % 10-20 olarak bulunmuştur. Bu bulgular göstermektedir ki; hastalığın patogeneğinde çevresel ve genetik faktörlerin her ikisi de rol oynamaktadır. AS inflamatuvar barsak hastalıkları Ülseratif Kolit ve Crohn hastalığı ile güçlü bir birliktelik gösterir. AS ve inflamatuvar barsak hastalıklarının her ikisi de bulunan hastaların % 50-75'inde HLA-B27 pozitifdir (1).

II. 1. 2. PATOLOJİ:

Sacroileit genellikle AS'in en erken bulgusudur. Erken dönemde subkondral granülasyon dokusu lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, makrofajlar ve kondrositler içermektedir. Genellikle sakral kartilaj kalınlaşmadan önce iliak kartilaj incilir. İrregüler erozyonlar, eklemdede sklerozis, fibrokartilaj regenerasyonu ve son olarak da ossifikasyon derece derece gerçekleşir. Son olarak sakroiliak eklem total olarak oblitere olmaktadır. Bu progresyon radiyografik olarak görüntülenebilmektedir.

Omurga inflamatuvar granülasyon dokusunun başlangıç lezyonlarının olduğu yerdir. Vertebral kemik ve disk kırıkdağı halkasal fibrozisle birleşir. Dış anuler fiberler, kemik yapılar dönüşür ve sindesmofit adını alır. Enkondral ossifikasyon devamlıdır ve komşu vertebralar arasında köprüleşme ile sonuçlanır. Asendan progresyon 'bambu omurga' denen radyolojik görüntüye yol açar. Omurgadaki diğer lezyonlar diffüz osteoporoz, vertebral kemik erozyonları, kare vertebra, kemik disk sınırında destruksiyon ve erozyonlardır. Pannus tarafından kırıkdağlar erozyona uğratılır ve ankilozla sonuçlanır.

AS' deki periferik artrit, sinovial hiperplazi, lenfoid infiltrasyon, pannus formasyonu gösterebilir. Fakat romatoid artrit farklı olarak fibrin depositler, ülserler, plazma hücre plakları yoktur. AS'de subkondral granülasyon dokusunun ilerlemesi ile kırıkdağ erozyonları meydana gelir, bu olay romatoid artrit nadirdir.

Entezis, tendon ve ligamanların kemiklere yapışmasıdır ve AS'in yaygın bir patolojisidir. Özellikle omurga ve pelvislerde görülür. Enthesis kemikleşme geçirebilir.

Akut anterior üveit, AS' li hastaların % 20 sinde görülür. Akut anterior üveitte, tekrarlayan ataklar, inflamatuvar değişiklikler, vaskularite artışı, pigment yüklü makrofajlar görülür.

Aort yetmezliği vakaların küçük bir kısmında gelişebilir.

Mikroskopik inflamatuvar lezyonlar hastaların % 25-50 sinde kolon ve ileoçekal valvde görülebilir. Ig A nefropatisinin sıklığında artış da bildirilmiştir(1).

II. 1. 3. PATOGENEZ:

AS'in patolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Ankilozan spondilitin immun sistem aracılı bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Ig A düzeylerinin yükselmesi, akut faz reaktanlarının artması, inflamatuvar histoloji ve HLA-B27 ile birliktelik immun sistemin etkilendiğini düşündüren faktörlerdir. Tetiği çeken spesifik olaylar ve ekzojen ajanlar belirlenememiştir. Reaktif artrit ve inflamatuvar barsak hastalıkları ile birlikteliğin fazla olması enterik bakterilerin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Klebsiella gibi bazı enterik bakterilere karşı oluşan antikor titresinin yükselmesi AS'de yaygındır. HLA-B27 geni transfer edilmiş farelerde spontan olarak spondilit, kolit, periferik artrit ve diğer karakteristik lezyonlar gelişebilir (1).

II. 1. 4. KLİNİK:

40 yaşından sonra hastalığın ortaya çıkması nadirdir. Başlangıç semptomu genellikle ağrıdır. Başlangıç gizlidir, genellikle lomber ve gluteal bölgelerde ağrı vardır. Sırtta sabah katılığı buna eşlik eder. Sabah katılığı aktivite ile azalır, istirahatle artar. Hastalığın başlangıcından sonraki birkaç ay içinde ağrı persistan ve bilateral olur. Yaygın tutulan yerler costasternal eklemler, spinal, iliac, trochanter, ischial, tibial yapılardır. Omuz ve kalça eklemleri vakaların % 25-35'inde tutulur. Boyun ağrısı ve katılığı spinal bölgenin tutulduğunun işaretidir ve geç bir bulgudur. Bazı hastalarda yorgunluk, anoreksi, ateş, kilo kaybı ve gece terlemesi gibi konstitüsyonel semptomlar görülür.

En yaygın ekstraartiküler bulgu akut anterior üveittir. Ataklar tipik olarak unilateraldir ve tekrarlama eğilimindedir. Gözde ağrı, fotofobi ve lakrimasyona neden olabilir. Aort yetmezliği bazı hastalarda kalp yetmezliğine neden olabilir. AS' li hastaların % 5-10'unda belirgin inflamatuvar barsak hastalığı gelişmektedir.

En spesifik bulgu spinal mobilitenin kaybıdır. Öne ve yana fleksiyon, lomber omurganın ekstansiyonu ve göğüs ekspansiyonu sınırlıdır. Hastalık alevlenmeler ve remisyonlarla gider. Kalça eklemının tutulması ve adolesan çağında hastalığın başlaması kötü prognoz kriterleridir.

Spinal hastalığın en ciddi komplikasyonu spinal fraktürdür, minör bir travma bile rigid ve osteoporotik omurgada fraktüre neden olabilir. Servikal omurga en sık olarak tutulur, bu kuadriplejiye neden olabilir. Aort yetmezliği ve kardiak ileti bozukluğu ilerlemiş vakalarda görülebilir (1).

II.1.5.LABORATUAR:

AS için diagnostik bir labaratuvar testi yoktur. HLA -B27 geni hastaların % 90 'ında mevcuttur. Pek çok hastada hastalığın aktif döneminde sedimentasyon ve CRP yükselir. Ciddi hastalığı olan bazı hastalarda ALP yüksekliği de görülebilir. Serum IgA düzeyleri yaygın olarak yüksektir. Romatoid faktör ve Antinükleer antikor negatiftir.

II.1.6.RADİOGRAFİ:

Radiografik olarak sacroileit AS'de genellikle mevcuttur.

II.1.7.TANI KRİTERLERİ:

1984' de New York tanı kriterleri tanımlanmıştır. Bu kriterler;

- 1-İnflamatuvar sırt ağrısı hikayesi
- 2-Lomber omurganın hareketinin sınırlanması
- 3-Göğüs ekspansiyonunun sınırlanması
- 4-Radiografik sacroileitis

Radiografik sacroileitis varlığında yukarıdaki kriterlerden birisinin daha varlığında AS tanısının konması için yeterli görülmektedir (1).

II.1.8.TEDAVİ:

AS için kesin bir tedavi yoktur. Tedavide birincil amaç egzersizle mevcut fonksiyonel postur ve hareketliliğin korunmasıdır.

Antiinflamatuvar ilaçlar sabah katılığı ve ağrı için etkilidir. Tedavi amacı ile, inflamasyonu ve periferik eklem semptomlarını azaltmakta etkili Sulfasalazine uygulanmaktadır. İntraartikuler ve intralezyonel glikokortikoidler de uygulanmaktadır (1).

II.2. C-Reaktif Protein (CRP)

CRP' nin Yapısı ve Biyolojik Özellikleri:

CRP, 120 kDa ağırlığında, non-kovalent bağlı beş özdeş alt birimden meydana gelen, pentraxin ailesinden bir prototip, bir akut faz proteindir. Bu yapı serum amiloid-A gibi diğer akut faz proteinleri ile yapısal benzerlik gösterir.

CRP; fosfokoline bağlanma spesifikliğı gösteren kalsiyum bağlayıcı bir akut faz proteindir. CRP, polivalan bir bağ ile birleştiğı zaman C1q ile başlayan klasik komplemen yolunu uyarır. CRP pnömokok hücre duvarı C-polisakkaridine bağlanma yeteneğı gösterir. CRP beş alt üniteden oluşan, pentraksin ailesine üye bir proteindir. Bu protein ailesinin özelliğı siklik pentamerlerden oluşmasıdır. Birbirine nonkovalent bağlarla bağlı glikozillenmemiş benzer beş alt üniteden oluşan, diskoid yapıda oldukça stabil bir proteindir. Proteolize oldukça dirençlidir (2). Akut faz yanıtında hızlıca yükselmesi, 24-48 saat içinde binlerce kat artabilmesi, hızla eski seviyelerine inmesi, diurnal varyasyon göstermemesi, yaş ve cinsiyet farkı gözetmemesi çarpıcı biyolojik özelliklerindedir (3).

Genetik:

İlgili gen,1. kromozom üzerinde bulunmakta olup; değişik CRP seviyelerine sahip 3 adet polimorfizm saptanmıştır. Henüz tanımlanmamış olsa da, genotip spesifik risk gruplaması, gelecekte kardiovasküler risk taşıyan kişilerin saptanmasında kullanılabileceğı öne sürülmektedir (3).

İşlev:

Birçok mikroorganizmanın kapsüler polisakkaridi ve çoğı biyolojik zarın yapısal bileşeni olan fosfokolin (Pch) ile kalsiyum aracılı bağlanma kapasitesine sahiptir. Kalsiyum aracılı bağlanma ile CRP-Ca-Pch kompleksi oluşur. CRP kompleksi C1q tarafından tanınır, C3 konvertaz oluşur ve böylece klasik kompleman yolu aktive olur. Klasik yolun aktivasyonu fosfokolin içeren mikroorganizmaların, ölü ve hasarlı konak hücrelerinin fagositozuna yol açar. CRP nin patogenleri tanınması, onların klasik kompleman yolu ve fagositik hücreler ile etkisiz hale getirilmesini sağlaması doğal konak savunma mekanizmasının ilk hattını oluşturur (3).

CRP' nin NO sentezini baskıladığı ve NOS m-RNA' sını destabilize ettiği bildirilmektedir (3).

CRP karaciğerde üretilen pentamerik bir akut faz proteindir. Hepatositler tarafından CRP sentezi, transkripsiyon evresinde interlökin-6 (IL-6) tarafından uyarılır ve bu uyarıya

interlökin-1b (IL-1b) artırıcı etki yapar. CRP nöronlar, aterosklerotik plaklar, monositler ve lenfositler tarafından gerçekleştirilen ekstrahepatik sentezinden de bahsedilmektedir. Bu bölgelerde sentezin nasıl kontrol edildiği iyi bilinmese de, plazma CRP düzeyine bu sentez yerlerinin de etkisi olmaktadır (4).

C-Reaktif Proteinin Metabolizması ve Fonksiyonları

CRP inflamasyonun klasik belirteçlerinden biri olan akut faz reaktanıdır. Normalde serum düzeyleri düşüktür. Ancak akut inflamasyon, infeksiyon, doku hasarı gibi durumlarda yükselir. İnflamasyon durumunda IL-1 tipi sitokinler aracılığıyla primer olarak karaciğerde sentezlenir (2).

Koroner kalp hastalığı, myokard infarktüsü, iskemik şok gibi kardiovasküler hastalıkların zemininde ateroskleroz gelişimi bildirilmiştir. Aterosklerozun endotelial inflamatuvar bir süreç olduğu bilinmektedir. Bu durumda da CRP yükseldiği gösterilmiştir (2). Amerikan Kalp Birliği CRP'yi kardiovasküler risk saptanmasında önermektedir (3).

Düşük risk: <1mg/L

Orta risk: 1-3mg/L

Yüksek risk: >3mg/L

Amerikan Kalp Birliği gelecekteki koroner kalp hastalığının saptanmasında, iki hafta arayla iki ölçüm yapıp bunların ortalamasının alınmasını önermektedir. CRP >10mg/L ise, asemptomatik inflamatuvar cevap veya subklinik enfeksiyon nedeniyle hatalı risk gruplamasına neden olmaması için iki hafta sonra testin tekrarlanmasını önermektedir (3).

CRP inflamasyonun spesifik olmayan bir biyokimyasal belirteçidir. Düzeyi akut inflamatuvar durumlarda veya doku hasarında geçici olarak 1000 kata kadar artmakta, kronik inflamatuvar olaylarda ise sürekli yüksek değerler izlenmektedir. Romatoid artrit, ankilozan spondilit, sistemik lupus, infektif endokardit gibi birçok klinik tabloda hastalık aktivitesini belirlemede kullanılmaktadır. Birçok çalışmada, CRP ve diğer inflamasyon belirteçlerinde yükselme ile seyreden kronik inflamatuvar ve otoimmün olaylarda kardiyovasküler riskin de arttığı görülmüştür. Majör cerrahi veya travmada ise CRP bir belirteç olarak önemini yitirmektedir; çünkü, bu gibi klinik durumlarda CRP düzeyleri 2-3 hafta kadar yüksek seyretmektedir (4).

Son yıllarda CRP'nin daha düşük serum düzeylerinin ölçülmesi sağlanmıştır. Buna yüksek sensitiviteye sahip CRP (hsCRP) denmektedir (2).

Fonksiyonel olarak CRP, vasküler hastalığın ilerlemesini de etkilemektedir. CRP inflamatuvar reaksiyonda birçok olayı aktive ettiği in vitro çalışmalar ile gösterilmiştir. İnsan

endotel hücrelerinde ise CRP, vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), hücreler arası adezyon molekülü (ICAM-1) ve E-selektin gibi hücre adezyon moleküllerinin ve monosit kemotaktik protein (MCP-1)'in ekspresyonunu sağlar. Bu uyarıcı etkiler IL-6'ya karşı antikor kullanıldığında oluşmamaktadır ki, bu da bize endotelin-1 ve IL-6'nın CRP'nin hücre düzeyindeki etkilerini gerçekleştirmede rolü olduğunu düşündürmektedir. CRP ox-LDL-kolesterole ve parsiyel olarak yıkıma uğramış LDL-kolesterole bağlanarak kompleman aktivasyonunu gerçekleştirir ve LDL-kolesterolün makrofajlar tarafından alınımı kolaylaştırır (4).

Diğer inflamatuvar belirteçler ile karşılaştırıldığında, CRP'nin kardiyovasküler hastalık riskini saptamadaki yeri daha belirgindir. Ayrıca, IL-6 ve benzeri sitokinlerde görülen sirkadiyan varyasyon veya fibrinojende görülen mevsimsel varyasyon CRP için geçerli değildir (4).

CRP düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle taze veya donmuş plazmada kolay ve ucuz olarak ölçülebilmektedir. Sağlıklı bireylerde normal sınırlar içinde kabul edilebilen CRP değerlerinin bile aterosklerotik vasküler hastalığın bağımsız bir belirleyicisi olabileceğinin gösterilmesi üzerine, subklinik inflamasyonu belirlemek için CRP tayininde yüksek duyarlılık yöntemleri uygulanmaya başlamıştır. Başlıcaları immünradyometrik, kemiluminesan immunometrik, immünnelometrik ve immünturbidimetrik yöntemler olan yüksek duyarlılık bu yöntemlerin sonuçları karşılaştırılabilir düzeydedir. Günümüzde vasküler risk ve prognoz belirlemeye yönelik çalışmalarda hs-CRP ölçümlerine başvurulmaktadır (4).

İnflamatuvar olaylar dışında, yaşam tarzı ve bilinen diğer bazı kardiyovasküler risk faktörleri hsCRP değerlerinde hafif artışlara neden olabilmektedir. Hs-CRP düzeyinde yaşla birlikte artış görülmesi, bu belirtecin yaşlı kişilerde öngördürücü değerini azalmaktadır. Yüksek kan basıncı değerleri ile ilişkili olduğundan, hs-CRP düzeyleri hipertansiyon gelişiminin de bir belirleyicisidir. Sigara içimi de yüksek hs-CRP değerlerine neden olabilmektedir. Fizik aktivite azlığı, yüksek proteinli diyet, kronik yorgunluk, alkol tüketimi ve depresif semptomlar hs-CRP değerlerinde hafif artışa yol açabilmektedir (4).

Obezite ile yüksek hs-CRP düzeyleri arasında ilişki olduğu saptanmıştır ki, bu bulgu adipositlerin IL-6 sentezlediği bilgisi ile uyumludur. NHANES çalışmasının (Third National Health and Nutrition Examination Survey) serum örneklerinde hs-CRP düzeyleri incelendiğinde, hs-CRP değerinin 2.2 mg/L üzerinde olma riski, normal vücut ağırlığına (beden kütle indeksi - BKİ <25 kg/m²) sahip bireylere göre, obez erkeklerde (≥30 kg/m²) 2.1 kat, obez kadınlarda ise 6.2 kat yüksek bulunmuştur (4).

NHANES çalışması verilerinin ek analizi, hs-CRP değerlerinin diyabet ile de ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ortalama hs-CRP değeri diyabet tanısı olmayanlarda 2.8 mg/L, bozulmuş glukoz toleransı olanlarda 3.2 mg/L, yeni tanıli diyabetiklerde 4.6 mg/L ve bilinen diyabeti olanlarda 4.2 mg/L bulunmuştur (4).

Tarihsel Süreçte Metodolojideki Gelişmeler:

CRP ilk olarak 1930'lu yıllarda nonspesifik bir akut faz reaktanı olarak tanımlanmış, uzun süre fazla ilgi görmemiştir. 1970'li yıllardan sonra, klasik kullanım alanı olan enfeksiyon ve inflamatuvar hastalıkların takibinde kullanmak için nefelometrik ve turbidometrik yöntemler geliştirilmiştir. 1990'lı yıllarda aterosklerozun inflamatuvar bir hastalık olduğu düşünölmeye başlandığında gözler tekrar CRP'ye çevrilmiştir. Koroner kalp hastalığı için risk sınıflandırılmasında kullanılan düzeyler (0-5mg/L) konvansiyonel CRP ölçüm yöntemleriyle ölçülememektedir. Bu düzeyleri ölçebilmek için üretici firmalar hs-CRP yi ölçen kitler piyasaya çıkarmışlardır. Mevcut hs-CRP yöntemlerinin ölçüm aralığı 0-10mg/L iken, konvansiyonel olanların saptama limiti >3-5mg/L dir. Diğer bir deyişle birincisinin ölçüm aralığı dar, ikincisinin saptama sınırı düşüktür. Bu nedenle klinik laboratuvarlarda hem koroner kalp hastalığı riskini saptayabilmek, hem de enfeksiyöz/enflamatuvar hastalıkların takibinde kullanmak için aynı anda iki farklı CRP ölçüm yöntemine de gereksinim vardır. Bu da maliyeti artırmaktadır (3).

Preanalitik Değişkenler:

Sigara CRP'yi yükseltirken, ekzersiz CRP'yi düşürmektedir. Açlık tokluk durumu CRP düzeylerini etkilememektedir. Ancak tokluk durumu nefelometrik ve turbidometrik yöntemleri etkileyeceğinden, açlık daha uygundur (3). Serum örneği diurnal varyasyon göstermediği için her zaman alınabilir (3). Serum veya plazma her ikisi de kullanılabilir (3).

Analitik Ölçüm Yöntemleri:

CRP' nin 3 farklı ölçüm yöntemi vardır:

1-Konvansiyonel CRP: Klasik olarak enfeksiyon hastalıkları, doku hasarı ve enflamatuvar hastalıkların takibinde kullanılan, ancak koroner kalp hastalıkları ve serebrovaskuler hastalıkların risk saptanmasında kullanılamayan, saptama sınırı > 3-5mg/L olan yöntemlerdir.

2-Hs-CRP: Sağlıklı kişilerdeki inflamasyonu gösterebilen ve koroner kalp hastalığı riskinin öngörülmesinde kullanılabilen, saptama sınırı < 1mg/L olan duyarlılığı yüksek yöntemlerdir.

3-Kardiyak CRP: Duyarlılığı hsCRP gibi olan ancak klinik çalışmalar ile kardiyak risk sınıflandırmasında kullanılabilen onaylanmış yöntemlerdir. Şu ana kadar Amerika’da FDA onayını yalnızca nefelometrik ‘Dade-Behring BN II’ yöntemi almıştır (3).

CRP Sonuçlarının Yorumlanması:

1-Normal referans aralık <5mg /L

2-Koroner kalp hastalığı (KKH) risk gruplaması: Düşük <1 mg/L
Orta 3-5 mg/L
Yüksek >5 mg/L

3- Enfeksiyon, enflamasyon, otoimmün hastalıklar, yanık, sepsis vb.: >10 mg/L

4- Hafif enflamasyon ve viral enfeksiyonlarda: 10-40 mg/L

5- Aktif enflamasyon ve bakteriyel enfeksiyonlarda: 40-200 mg/L

5- Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlarda ve yanıklarda: >200 mg/L

olarak sınıflanabilir.

II.3.Okside-Düşük Dansiteli Lipoprotein (Ox-LDL)

Plazma kolesterol düzeyleri 160-180mg/dl’yi geçtiğinde ateroskleroz komplikasyonları gelişmeye başlamaktadır. Ateroskleroz koroner arter hastalığı (CAD) ortaya çıkıncaya kadar yavaş ve subklinik seyir gösterir. Kolesterol düzeyi < 150 mg/dl ise, CAD riski oldukça düşer (5). Aterosklerozdaki erken lezyon ‘yağlı çizgilenme’dir. Bu lezyonun altındaki patolojide temel hücreler makrofajlardır. Bu makrofajlar, monositlerden gelişmektedir (6). Makrofajlar tarafından kolesterolün absorbe edilebilmesi için, LDL’ nin modifikasyonu gerekmektedir (7). Bu fikri ilk öne süren kişiler Goldstein ve Brown adlı araştırmacılar (8). Bu araştırmacılar makrofajlar tarafından LDL’ nin absorbe edilebilmesi için, yeni bir reseptörün oluştuğunu göstermişlerdir. Bu reseptöre de ‘asetil LDL’ reseptörü ismini vermişlerdir. LDL’ nin diğer bir modifiye formu da malondialdehit konjugat LDL reseptörü olarak adlandırılmıştır (9). Endotel ve düz kas hücre kültürleri LDL ile inkübe edildiğinde, LDL’nin okside olduğu ve makrofajlar tarafından çok daha hızlı bir şekilde absorbe edildiği görülmüştür (10). Ox-LDL’ nin de endotel ve düz kas hücrelerine sitotoksik olduğu bulunmuştur. Makrofajlar LDL’yi absorbe ettiğinde, köpük hücrelerine dönüşmektedirler (11). Düz kas ve endotel hücreleri, makrofajlar, ağır metal iyonları (Cu gibi) LDL’yi okside edebilir. Ek olarak lipoksigenaz adlı enzim de LDL’yi okside edebilir.

Özellikle lipoksigenazlar içinde en önemlisi 15-lipoksigenazlardır (12). Reaktif oksijen türleri (süper oksit anyonlar gibi) de LDL' yi okside edebilir. Bunlar özellikle düz kas hücreleri tarafından ortama salınır ve LDL oksidasyonu başlar (13). LDL oksidasyonu bir kez başladıktan sonra zincirleme bir reaksiyona yol açmaktadır. Ortamdaki lipoperoksitlerin sayısı artar ve yağ asitlerindeki çift bağlar yeniden düzenlenir. Ortamda düşük düzeyde Cu iyonları bulunduğunda LDL oksidatif modifikasyona uğrar. EDTA gibi metal şelatörler Cu bağlayarak oksidasyona engel olmaktadır. Oksidatif modifikasyonda lesitin lizolesitine dönüşür. Lp-PLA2 adlı enzim bu reaksiyonu katalize eder (14). Lp-PLA2 ELİSA testiyle çalışılmaktadır. Lp-PLA2 aktif bir fosfolipazdır, plazmada LDL'ye bağlanır. Lp-PLA2 lisofosfatidilkolin üretimini artırarak ox-LDL oluşumunu artırır. Ox-LDL'yi aşırı miktarda absorbe eden makrofajlar, köpük hücrelerine dönüşmektedir. Köpük hücreleri de subendotelial alanda birikmektedirler. Bu şekilde ateroskleroza katkıda bulunmaktadır. Fosfolipaz A2' nin inhibitörleri lizolesitin üretimini ve lizin residülerinin üretimini bloke eder ve LDL'nin modifikasyonunu tamamen önler (6). Yağ asiti parçalarının çoğalması, aldehidler ve ketonlar gibi ara ürünler oluşmasına yol açar. Bu ürünler yüksek derecede reaktif moleküllerdir. Aldehidler ve ketonlar, fosfolipidler ve apoB ile kompleks yaparlar (13). Lizin rezidülerindeki artış LDL reseptörlerini azaltırken, asetil LDL reseptörlerinde artışa yol açar. Asetil LDL reseptörleri makrofajlar tarafından tanınır. Makrofajlardaki asetil LDL reseptörleri apoB'nin modifiye parçalarını tanıyarak, fagositozu kolaylaştırırlar (15). Lizin rezidülerinin ortaya çıkması fibroblastlar tarafından LDL'nin absorbe edilmesini azaltır, makrofajlar tarafından ox-LDL'nin fagositozunu artırır (16). Gerçekte plazmada da LDL oksidatif modifikasyona uğrar, ama bu çok sınırlıdır. Asıl oksidatif modifikasyon intimaya giren LDL'ye intimadaki hücreler tarafından yapılır (17). Makrofajlar normal LDL'yi kolayca parçalayabilirken, ox-LDL'yi parçalayamazlar ve ox-LDL birikimine neden olurlar (18).

Ox-LDL'nin Potansiyel Aterogenez Mekanizmaları:

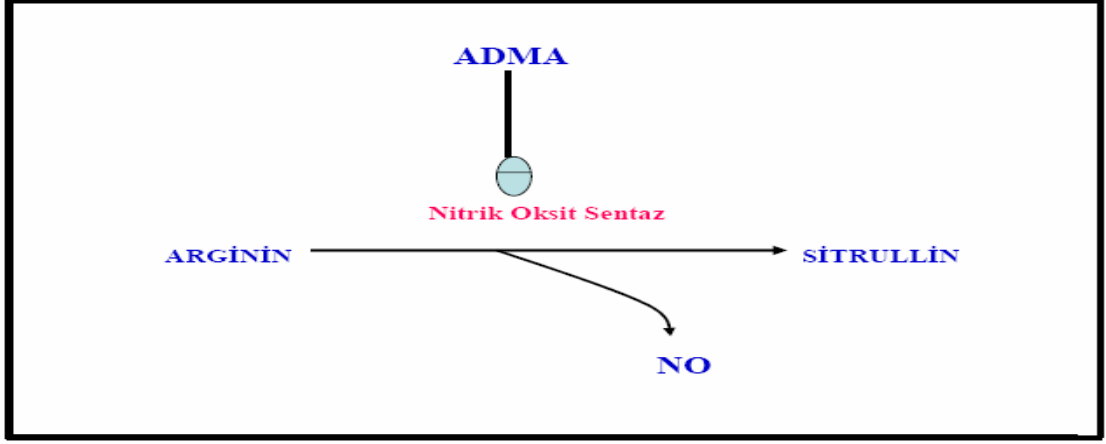
- 1-Kolesterol esterlerinin artışı, makrofajların absorpsiyonunda artışa yol açar.
- 2-Dolaşan monositler için kemotaktir.
- 3-Doku makrofajlarının motilitesini inhibe eder.
- 4-Sitotoksiktir.
- 5-Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1) ve koloni stimulan faktör ile komşu hücreleri etkileyerek, gen değişiklikleri yapabilir.
- 6-İmünogeniktir, otoantikör oluşumuna neden olabilir.
- 7-Koagülasyon faktörlerinde değişiklik yapabilir.
- 8-Koroner arterlerin vazomotor özelliklerinde değişiklikler yapabilir.

Yukarıda görüldüğü gibi ox-LDL dolaşımdaki monositler için kemotaktir. Özellikle de ox-LDL'deki lizolesitin önemli kemotaktik bileşiklerdendir. Bu durumda çok sayıda monosit subintimal bölgede toplanır. Bu monositler daha sonra makrofajlara dönüşür. Makrofaj sayısı arttıkça daha fazla LDL'yi okside ederler. Böylece zararlı bir siklus oluşur. Normal bir doku yaralanmasında da, makrofajlar o bölgeye göç ederler. Doku onarımından sonra o bölgeyi terk ederler. Oysa burada ox-LDL makrofajların mobilitesini inhibe ederek, subintimal bölgeden çıkmalarına engel olur (16). Ek olarak ox-LDL subintimal bölgedeki hücrelere sitotoksiktir. Minimal ox-LDL bile, endotelial hücrelere toksik etki göstererek, bu hücrelerin yüzey moleküllerinde değişiklik yaparak, monositlerin göç etmesine neden olurlar (16). Ox-LDL'ye karşı antikörler oluşur. Oysa doğal LDL'ye karşı oluşmaz. Böylece subendotel alanda antigen-antikör kompleksleri oluşur. Bu olay daha güçlü bir immün cevaba neden olur (19).

II.4.Asimetrik Dimetil Arginin (ADMA)

Son yıllarda ADMA'nın artışı hipertansiyon, hiperkolesteremi, diabetes mellitus, sigara gibi koroner arter risk belirteçlerinden kabul edilmektedir. Plazma ADMA düzeyi 1.75 µmol/L 'nin üzeri eşik değer olarak belirlenmiştir. Plazma ADMA düzeylerinin 2.35 katı yükselmesi ise koroner arter hastalığı açısından yüksek riski düşündürmektedir (20).

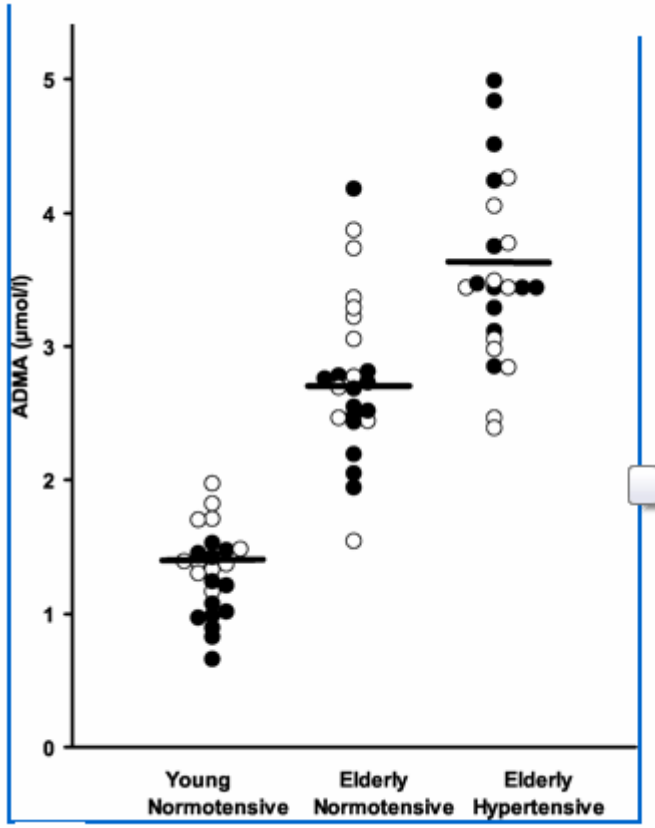
ADMA endojen NOS enziminin inhibitörüdür. NOS'un vücuttaki fonksiyonu, L-arginin'den NO sentezini sağlamasıdır (20). Vasküler endotelde gerçekleşen bu reaksiyonda ADMA, NOS aktivitesini inhibe ederek L-argininin hücre içine alınımını engeller (20).



Şekil 1. Arginin Metabolizması

NO vazodilatasyon yapar, ayrıca trombosit agregasyonu, lökosit migrasyonu, hücrel adezyon ve vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eder. NO'nun fonksiyonu; vasküler homeostazın sağlanmasıdır. Ortamda NO azaldığında, endotel homeostaz vazokonstriksiyon lehine bozulur ve endotelyal disfonksiyonu başlar. NO' in azalması MCP-1 artışına neden olur. MCP-1 monositlerin endotelde toplanmasına ve lipid yüklü makrofajlara dönüşmesine neden olur (21).

ADMA, argininin posttranslasyonel metilasyonunun ardından hidrolizi ile oluşur. ADMA klirensi böbrekler yolu ile olur. Böbrek yetmezliğinde, ADMA klirensinin azalması ile endotel vazodilatör disfonksiyonu başlamaktadır (20). ADMA'nın stereoizomeri Simetrik Dimetilarginin (SDMA) eşit miktarlarda olsa bile NO oluşum reaksiyonunu engellememektedir. Dimetil-arginin Dimetilaminohidrolaz (DDAH), ADMA'nın klirensinde görevlidir. DDAH ile ADMA, L-Sitrullin ve dimetilamine metabolize olur (22). İnvitro hiperglisemide bu enzimin aktivitesinin azalması vasküler düz kas tonusu ve endoteli bozar ve ADMA düzeylerinin artışına yol açar (23).



Şekil 2:ADMA düzeylerinin yaşla değişimi

Yaşlanan insanlarda Jan T. Kielstein ve arkadaşları ADMA düzeyinin arttığını göstermişlerdir. Plazma SDMA ve Arginin düzeylerinin ise yaşla değişmediği görülmüştür (24).

Antioksidanlar, ADMA yıkılımını hızlandırmaktadır. Medikal tedavide ADMA'yı azaltan ajanlar olarak; L-Arginin, folik asit, vitamin B6 ve B12 kullanılmaktadır. Ayrıca oksidan stresi azaltan egzersiz gibi diğer durumların da ADMA'yı azalttığı düşünülmektedir (25).

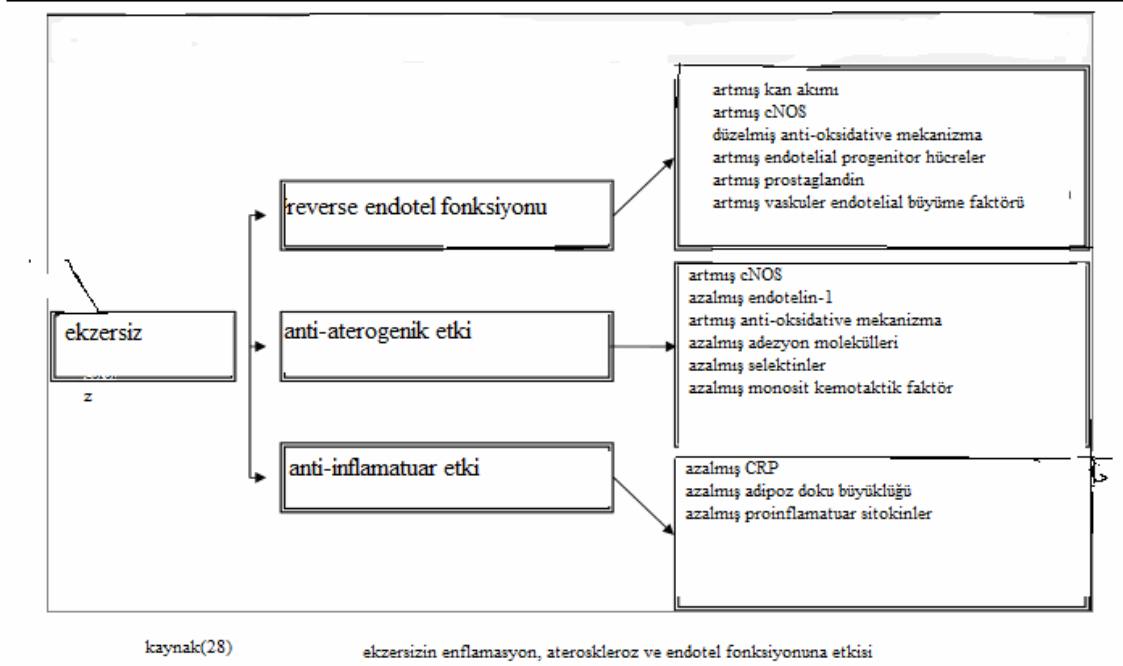
Erken romatoid artritli hastalarda, plazma ADMA düzeyleri yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar bu hastalarda ADMA düzeyi ile koroner kan akımı arasında negatif korelasyon bulmuşlardır (27).

Endotel ile ilgili yapılan son çalışmalarda Caveolin-1 adlı bir molekül bulunmuştur. Endotel hücrelerinin içinde bulunan Caveolin-1'in endotel hücrelerindeki NOS enziminin aktivitesinin düzenlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (21).

Endotelle ile ilgili yapılan son çalışmalarda kemik iliğinde primitif kemik iliği hücrelerinin olduğu ve bunlardan bazılarının endotelial progenitor hücreler olduğu belirlenmiştir. Bu hücrelerin endotel hücrelerine dönüşerek hasar gören endotelin onarımında önemli olduğu bulunmuştur. Dolaşımdaki endotelial progenitör hücrelerle endotel

disfonksiyonu arasında negatif korelasyon olduğu ve bunun kardiovasküler risk derecesi ile de ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır. Bu yüzden endotelial progenitör hücrelerin periferal iskemik damar hastalığı ve myokard hastalıklarında yeni bir tedavi şekli olabileceği düşünülmektedir (21).

Tablo:2 Egzersizin NOS aktivitesine etkisi aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

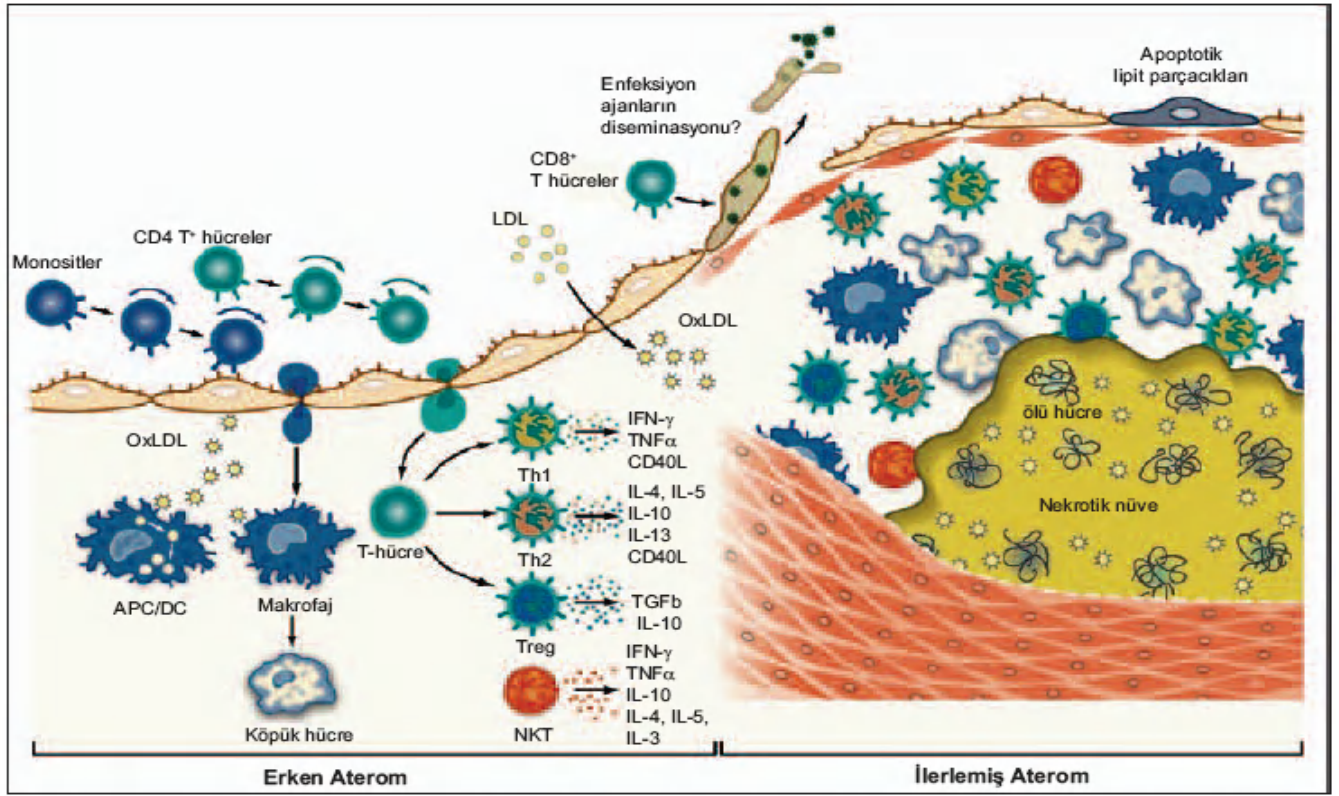


II.5.Lipoprotein ile İlişkili Fosfolipaz A2 (Lp-PLA2)

Lp-PLA2 inflamatuvar/ immün yanıtta görev alan monosit-makrofaj, T lenfositler ve mast hücreleri gibi birçok hücreler tarafından salgılanmaktadır. Lp-PLA2, ox-LDL'nin kesilip kısaltılmış fosfolipitlerini hidrolize ederek esterleşmemiş yağ asitleri ve lizofosfatidil kolin oluşumunu sağlamaktadır. Her iki madde de dolaşımdaki monositler ve aktif makrofajlar için kemoatraktan görevi görmektedir. Lizofosfatidil kolin, T hücrelerinde fonksiyonel ve immün yanıtların artırılmasının yanı sıra, endotel hücre apoptozu ve adezyon moleküllerinin uyarılmasında önemli bir rol oynamaktadır (29).

Lp-PLA2 terapötik girişimler için yeni bir hedef olabilir. Diyabetik /hiperkolesterolemik domuzlarda koroner arter Lp-PLA2 gen ekspresyonu ve ICAM-1, VCAM-1 ve vasküler inflamasyonun önemli bir aracısı olan NAD(P)H arasında önemli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Kolodgie ve arkadaşları insan koroner arter örneklerinde hassas ve rüptüre olmuş plaklarda nekrotik nüve içerisinde ve çevredeki makrofajlarda

Lp-PLA2'nin ekspresyonunun oldukça güçlü olduğunu göstermişler ve bu bulgunun Lp-PLA2'nin plak instabilitesinde muhtemel bir rol oynadığını düşündüğünü bildirmişlerdir. Klinik olarak artmış plazma Lp-PLA2 düzeyleri ile gelecekteki koroner olaylarla karşılaşma riski arasında bağımsız bir ilişki olduğu gösterilmiştir (29). Gerber ve arkadaşları bir myokard infarktüsünden hemen sonra ölçülen Lp-PLA2 düzeylerinin yüksek olmasının, artmış mortalite ile ilişkili olduğunu gösterirken, Koenig ve arkadaşları ise bir infarktüs sonrası 30 gün içerisinde ölçülmesi durumunda Lp-PLA2 düzeyleri ve aktivitesi ile tekrarlayan iskemik olaylar arasında bağımsız bir ilişki olduğunu bildirmektedir (30). May ve arkadaşları Lp-PLA2 düzeyleri ile koroner arter hastalığının varlığı arasında bir ilişki olduğunu ve bu ilişkinin CRP düzeyleri ve klinik risk faktörlerinin düzelmesi durumunda bile devam ettiğini göstermişlerdir (31). Halen devam eden çalışmalar Lp-PLA2 inhibitörlerinin terapötik potansiyellerine ışık tutacaktır (29).



Endotel aktivasyonundan sonra aterosklerotik lezyonlarda makrofaj ve T lenfositlerin toplanması ve aktivasyonu (solda). Zaman içerisinde makrofajlar köpük hücreye dönüşmekte ve apoptoza uğrayarak kolesterol kristalleri ve hücresel artıkların yerleştiği nekrotik bir nüve oluşmaktadır (sağda). Fibroz kapaktaki makrofajlar, T hücreleri ve mast hücreleri proteazlar üretebilmekte ve üstlerini kaplayan fibroz kapsülü bozabilmektedir.

Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, Volume 1 2006'dan Annual Reviews'in izni ile kullanılmıştır.
www.annualreviews.org

Şekil:3 Koroner arter hastalığının gelişiminde immun modülatör hücreler

II. 6. DİĞERLERİ: (Glikoz, Total kolesterol, HDL- Kolesterol, LDL-Kolesterol, Trigliserid, İnsülin)

Açlık kan şekeri normalde 110 mg/dl'nin altındadır. 110-125 mg/dl olduğunda bozuk glikoz tolerans testi denmektedir. 125 mg/dl'nin üzerindeki açlık glikoz değeri, 2 farklı ölçümde bulunduğu diabet teşhisi konulmaktadır. Trigliserid bitkisel ve hayvansal yağların ana bileşenidir. Kandaki trigliseridin % 80 ini çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL)'nin, % 15'i de düşük dansiteli lipoprotein (LDL) nin yapısında bulunmaktadır. Trigliserid düzeyi diyetten etkilendiği için serum trigliserid düzeyi 12 saatlik açlık sonrası alınan kan örneğinde bakılmalıdır. Hiperlipideminin değerlendirilmesinde kullanılır. Yüksek serum trigliserid düzeyi ile ateroskleroz ve buna bağlı koroner kalp hastalıkları ve inme arasında pozitif korelasyon olduğu bilinmektedir. Serum trigliserid düzeyinin 150 mg/dl'nin üzerindeki değerler diyet veya ilaç tedavisi gerektirebilir. 500 mg/dl'nin üzerindeki trigliserid düzeylerinde pankreatit gelişme riski vardır. 1000 mg/dl'nin üzerindeki trigliserid düzeyleri tip I ve tip V hiperlipidemilerde gözlenir.

Kolesterol hücre membranlarının, safra asitlerinin sentezi için kullanılır. Ayrıca aldosteron, testosteron, östrojen, progesteron gibi steroid hormonların sentezi için kullanılır.

Tablo:1

Total kolesterol düzeyi mg/dL	Yorum
<200	Düşük kalp hastalığı riski için arzulanan düzey
200-239	Sınırdaki yüksek risk
>240	Yüksek risk

LDL-kolesterolü direkt olarak ölçmek yerine, ekonomik nedenlerle aşağıdaki formülle hesaplanır. Bu formül trigliserid düzeyi >400mg/dl olduğunda geçerli değildir. Bulan kişinin adı ile Friedwald formülü olarak bilinir.

Hesaplanan LDL-kolesterol= Total kolesterol – HDL-kolesterol - (Trigliserid/5)
HDL-kolesterol normalde kadınlarda >50 mg/dl erkeklerde >40 mg/dl olmalıdır. Periferden karaciğere kolesterol taşır. HDL-kolesterolün yüksek olması ateroskleroz riskini azaltır. HDL-kolesterolün yükselmesi için zeytinyağı ağırlıklı diyet ve egzersiz önerilmektedir.

İnsülin, pankreasın B hücrelerinde sentezlenir. 51 aminoasitten oluşur. A ve B olmak üzere iki zincir içerir. Bu zincirler arasında disülfid bağları vardır. Proinsülin olarak sentezlenir, daha sonra insüline dönüşür. Proinsülinde C-peptid de bulunur. İnsülin/C-peptid oranı 1 dir. C-peptid anti-insülin antikorlarının insülin tayinini engellediği durumlarda insülin miktarı tayininde kullanılır. İnsülin salgılanmasını artıran en önemli etken glikozdur

III. GEREÇ VE YÖNTEMLER

III. 1. ARAÇ VE GEREÇ

Santrifüj	Hettich Rotina 35 R/Soğutmalı (Almanya)
Otomatik pipetler	Biohit (Finlandiya)- İsolab (Almanya)
Derin dondurucu	Nuaire Ultralow Freezer (-80°C) (ABD)
Elisa okuyucu	BioRead, Spectra II (Avusturya)
Otoanalizör	Beckman Coulter DXC 800 otoanalizörü (ABD) Immulate 2000 analizörü (DPC IMMULİTE 2000 LA, CA, ABD)

III.2.YÖNTEM:

III.2.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Kontrol ve hasta gruplarımız aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

Hasta Grubu (Grup 1); Ankilozan Spondilitli Hastaların=45

Kontrol Grup (Grup 2): Sağlıklı 25 yaşından büyük kişiler=30

III.2.2.Çalışma Düzeni

Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Dahiliye Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı ile birlikte yürütülmüştür.

Hasta grubumuz Romatoloji polikliniğinde belli sürelerle kontrole gelen Ankilozan Spondilit tanısı konmuş 45 hastadan, Kontrol grubumuz ise kontrol amacı ile gelen herhangi bir semptomu bulunmayan sağlıklı kişilerden oluşmaktadır.

III.2.3.Kan Örneklerinin Alınması

Tüm hasta grupları ve kontrol grubundan çalışma başlangıcında bir kez olmak üzere bir adet antikoagülan içermeyen tüpe 5 cc venöz kan örneği, bir de EDTA'lı tüpe plazma örneği için kan alındı. Tüm kanlar 5 dakika 3500 rpm de santrifüj edildi. Tüm örneklerden serum ve plazmaları ayrıldı. Serum örneklerinden rutinde çalışılan testler çalışıldı. Tüm örnekler endorf tüplerine porsiyonlara ayrılarak (-80) derecede en fazla 6 ay süre ile saklandı.

III.2.4.Biyokimyasal Analizler: Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında aşağıdaki testler yapılmıştır. Bunun için Bilimsel Araştırma Proje (BAP) kurulu ve Etik kuruldan gerekli izinler alınmıştır.

Glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol Beckman Coulter DXC 800 otoanalizöründe(Beckman Coulter Ireland Inc, Mervue Buiness Park , Mervue Galway, Ireland) enzimatik endpoint yöntemle;

İnsülin, hs-CRP immulite 2000 analizöründe (DPC IMMULİTE 2000 Los Angeles, CA, ABD) kemilüminesans immunometrik yöntemle

III.2.4.1.Serum ADMA tayini:

ADMA düzeyleri serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü. (DLD Hamburg, Almanya).

Standartlar, kontroller ve örnekler kuyucuklara pipetlendi. Daha sonra kitin içinde bulunan antikolar (detection antibody) tüm kuyucuklara pipetlendi. 18 saat 2-8° C' de inkübe edildi. Daha sonra yıkama işlemi yapıldı. Konjugat eklendi 1 saat orbital shakerda bekletildi. Tekrar yıkandı ve substrat eklendi.30 dakika orbital shakerda bekletildi.. Stop solüsyonu konarak işlem sonlandırıldı.

Çalışmamızda 0, 0.1, 0.3, 0.6, 1.0 ve 5.0 mikromol/L' lik standartlar kullanıldı. Kontroller konuldu. ELİSA okuyucuda 450 nm'de (referans dalga boyu 620) standart ve örneklerin absorbansları okutuldu. Kontrol serumu 0.44 µmol/L (referans değer: 0.24-0.58) olarak bulundu.

Referans değerler: 0,4-0,75 µmol/L(80-150 ng/ml)

Kitin en düşük tespit edilebilen değeri: 0,05 µmol/Ldir. Kitin prospektus bilgilerine göre Gün içi CVdeğerleri 0.66 µmol/L düzeyinde % 5,7dir. Günler arası CV, 2.26 µmol/L düzeyinde % 8,3dür.

III.2.4.2.Serum OX-LDL tayini:

Ox-LDL düzeyleri serumda ELİSA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü. (Biomedica, Wien, Avusturya) Plazma örnekleri 10 kez dilüe edildikten sonra kuyucuklara konuldu. Standartlar ve kontroller dilüe edilmeden konuldu. 2 saat oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra yıkandı ve konjugat konuldu. 1 saat inkübe edildi. Tekrar yıkandı ve substrat eklendi. Oda ısısında 30 dakika karanlıkta inkübe edildi. Stop solüsyonu eklenerek işlem sonlandırıldı. Çalışmamızda 0, 9, 27, 80, 250, 750 ng/ml lik standartlar kullanıldı.

450 nm' de (referans dalga boyu 620) ELİSA okuyucusunda okutuldu. Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpıldı.

Çalışılan kitin prospektüsündeki referans değerler; erkekler için 707±482 ng/ml ve kadınlar için 1111±1238 ng/ml

En düşük ölçülebilir değer: 0,8 ng/ml

Gün içi 490.3ng/ml düzeyinde CV: 4,0

Günler arası 393.5ng/ml düzeyinde CV : % 6.2

III.2.4.3. Serum Lp-PLA2 tayini:

Lp-PLA2 düzeyleri için serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit çalışıldı (USCNLIFE SCIENCE&TECHNOLOGY COLTD, Wuhan, CHINA).

Gerek standartlarda gerekse örneklerde herhangi bir renklenmenin olmadığı, ELISA okuyucusunda hiçbir sayısal değerin okunamadığı ve kitin çalışmadığı gözlemlendi. Lp-PLA2'ye ait bir sonuç elde edilememiştir.

III.3.İSTATİKSEL ANALİZ:

İstatistiksel analizler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Bölümünden Yrd. Doç. Dr. Timur Köse tarafından bir adet özel muayene ücreti ve fişi karşılığında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nda SPSS-18 programında yapıldı. Çalışmaya alınan olgularda, klinik bulgularına göre belirlenen BASDAI, BASMI, BASFI indeksleri ve biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişkiyi araştırmak için normal dağılım gösteren değişkenlere "Student *t* testi", normal dağılım göstermeyen değişkenlere ise Mann Whitney - U testi uygulandı. Parametreler arasındaki korelasyonlar için ise Spearman korelasyon testi uygulandı.

IV. BULGULAR

Bu çalışmaya Celal Bayar üniversitesi Dahiliye Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı'nda AS tanısı alan 45 hasta (Grup 1) hasta grubuna ve rutin kontrol amacı ile hastanemize gelen hastane çalışanı yakını veya sağlıklı hastane personelinden gönüllü olan 30 sağlıklı kontrol, (Grup 2) kontrol grubuna dahil edildi.

İki grubun cinsiyet ve yaş ortalamaları değerlendirildiğinde; çalışmaya katılan hasta grubundaki (Grup 1) 45 olgunun yaş ortalaması 42 ± 11.9 (19-65 yıl), kontrol grubundaki (Grup 2) 30 olgunun yaş ortalaması ise 37 ± 12.9 (23-77 yıl) bulundu. Çalışmaya alınan hasta grubundaki 45 kişini 29'u (% 60) erkek, 16'sı (% 40) kadın idi. Kontrol grubunda ise 30 kişinin 21'i (% 72.5) erkek, 9'u (%27.5) kız idi.

Tablo:3 Hasta kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Gruplar arası farklılık (p)*
Yaş	40.27 ± 11.94	40.53 ± 12.94	0.762
Cinsiyet-kız	16 (%40)	9 (%27.5)	Ns
Cinsiyet-erkek	29 (%60)	21 (%72.5)	Ns

Ns=Non-spesifik

Hasta grubunun (Grup1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) yaş ortalamaları karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.762$) (Tablo 1).

Hasta grubunun (Grup1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) cinsiyetleri karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

BİYOKİMYASAL

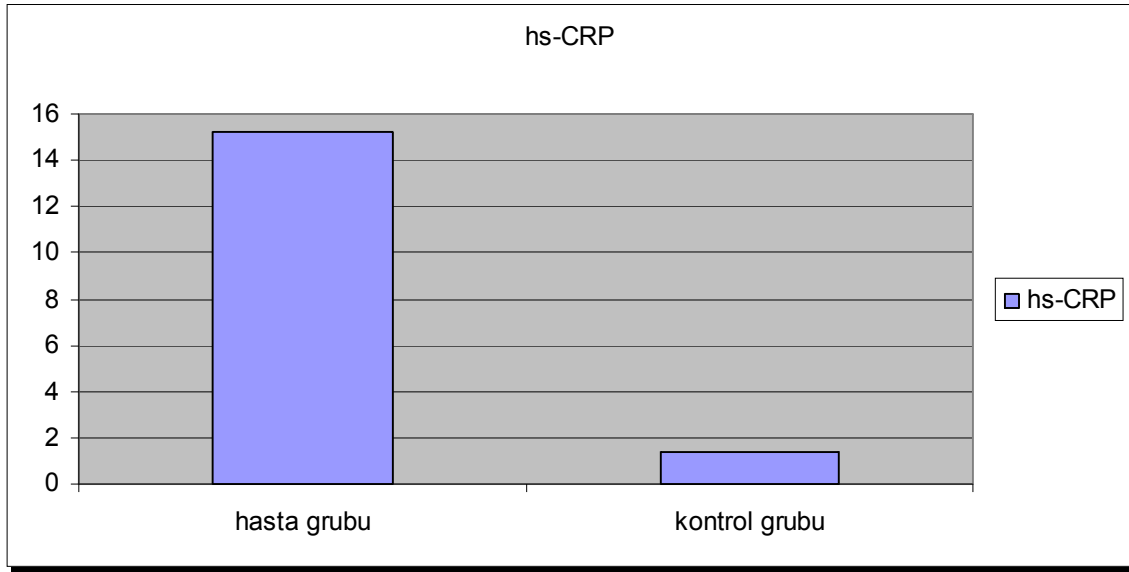
TESTLERİN GRUPLAR ARASINDA KARŞILAŞTIRILMASI

Tablo 4. Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) biyokimyasal testler yönünden karşılaştırılması

Biyokimyasal testler (Min-Maks)**	Hasta Grubu (Grup 1)	Kontrol Grubu (Grup 2)	Gruplar arası farklılık (p)*
Glikoz (mg/dl)	98.80±13.17 (75-134)	95.00±15.16 (75-161)	0.173
Kolesterol (mg/dl)	182.20 ±44.12 (72-252)	188.07± 29.10 (128-258)	0.559
Trigliserid (mg/dl)	99.27 ±56.61 (30-303)	135.33 ± 89.86 (22-329)	0.117
HDL (mg/dl)	42.16 ±15.07 (18-100)	43.70±13.69 (26-76)	0.615
LDL (mg/dl)	120.22 ± 37.75 (34-198)	117.27 ±27.25 (69-176)	0.812
İnsulin (µU/ml)	19.98 ± 38.81 (0.20-199)	10.95 ±7.19 (2-29.80)	0.556
HOMA	5.08 ±9.93 (0.4-52.55)	2.69 ± 2.28 (0.4-12.00)	0.721
Hs CRP(mg/dl)	15.23 ±23.77 (0.20-100)	1.40 ± 1.83 (0.20-9.28)	0.001*

*p<0.05

** Biyokimyasal testlerin Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.



Şekil 4. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında hs-CRP düzeyleri

Tablo 5: Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) ELİSA yöntemiyle çalışılan biyokimyasal testler yönünden karşılaştırılması

Biokimyasal testler	Hasta grubu	Kontrol grubu	Gruplar arası farklılık
ADMA (µmol/L)	0,452±0.20	0,486±0.17	0.304
Ox-LDL (ng/ml)	781.83± 1253.06	298.63± 260.88	0.131

*p<0.05

** Biyokimyasal testlerin Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

Çalışmamızda gruplar arasında ADMA ve ox-LDL yönünden fark bulunamadı.

Hasta ve kontrol grubumuz sigara içme bakımından istatistiksel anlamda farklı değildi.

Tablo6: Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) sigara içme yönünden karşılaştırılması

Biokimyasal testler	Hasta grubu	Kontrol grubu	Gruplar arası farklılık
Sigara içme	%51.4	%51.7	Ns

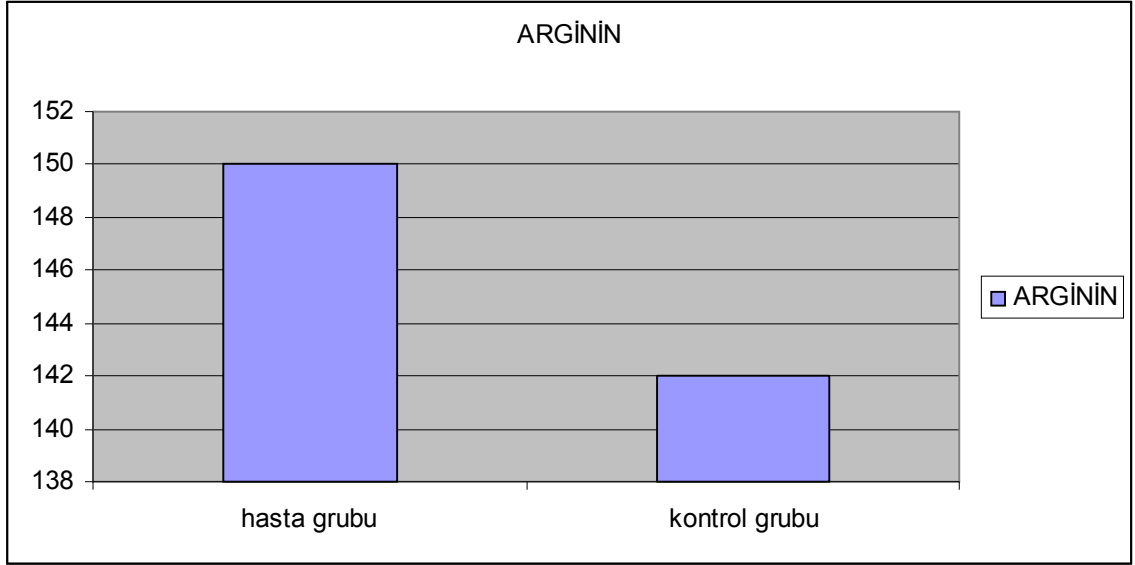
Ns: Nonspesifik

Tablo7: Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) serum aminoasit düzeyleri yönünden karşılaştırılması

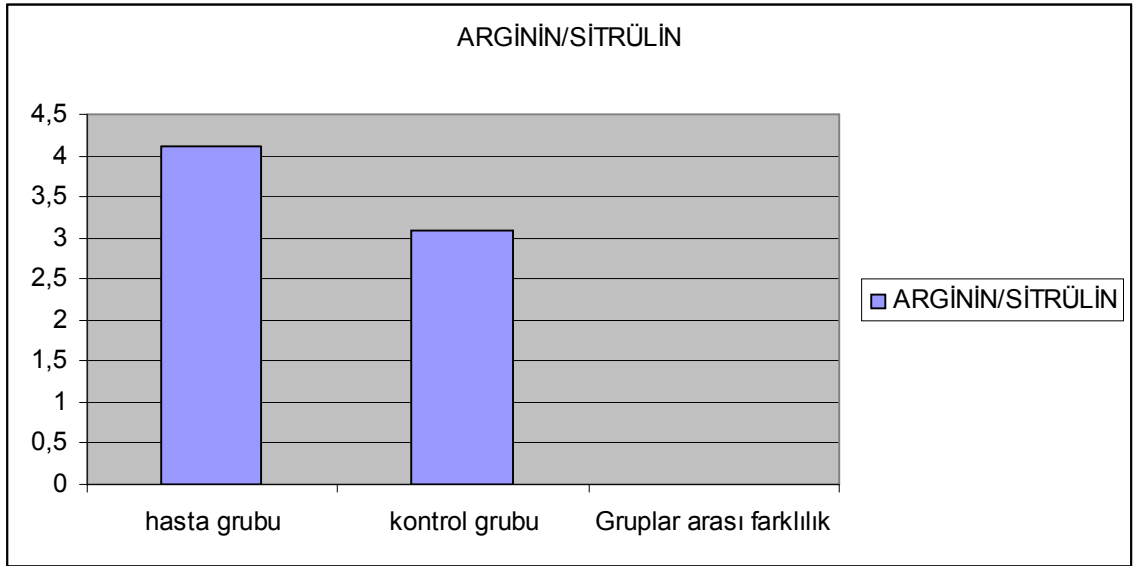
Aminoasitler (Min-maks)	Hasta Grubu n=45	Kontrol Grubu n=30	Gruplar arası farklılık (p)*
Arginin (µmol/L)	159.10 ± 46.40 (87-303)	128.47 ± 30.06 (90-212)	0.001*
Sitrulin (µmol/L)	38.89 ± 20.20 (8-88)	41.30± 16.81 (19-88)	0.322
Arginin/Sitrulin	5.11±3.04 (2.12-15.43)	3.53±1.61 (1.43-9.21)	0.004*

*p<0.05

** Biyokimyasal testlerin Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.



Şekil 5. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında serum Arginin düzeyleri



Şekil 6. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında serum arginin/sitruilin düzeyleri

Tablo8. Hasta (Grup1) ADMA ve sigara içme etkisi test sonuçları

Min-Maks**	Hasta Grubu (Grup1) Sigara içmeyen n=18	Hasta grubu (Grup1) Sigara içen n=19	p
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	0.45 \pm 0.22 (0.05-0.73)	0.44 \pm 0.19 (0.05-0.63)	0.131
	Kontrol grubu Sigara içmeyen n=14	Kontrol grubu Sigara içen n=15	
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	0.42 \pm 0.20 (0.05-0.65)	0.53 \pm 0.11 (0.24-0.67)	0.747

*p<0.05

** Biyokimyasal testlerin Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

BİYOKİMYASAL TESTLERİN BİRBİRLERİ İLE KORELASYONLARI

İstatistiksel analizlerde hasta ve kontrol gruplarımızda ayrı ayrı Spearman korelasyon testi uygulanmıştır.

Tablo 9. Hasta grubumuzda (Grup1) birbirleri ile anlamlı korelasyona sahip olan biyokimyasal testler

	(r)	(p)*
GLİKOZ-YAŞ	0.437	0.003
TRİGLİSERİD-KOLESTEROL	0.465	0.001
HDL –KOLESTEROL	-0.367	0.013
LDL-KOLESTEROL	0.883	0.001
İNSÜLİN-GLİKOZ	0.300	0.045
İNSÜLİN-TRİGLİSERİD	0.359	0.016
HOMA-GLİKOZ	0.414	0.005
HOMA-TRİGLİSERİD	0.355	0.017
SİTRULİN-YAŞ	0.389	0.008
SİTRULİN-HDL	0.333	0.025
ARGİNİN/SİTRÜLİN- HDL	-0.361	0.015
İNSÜLİN-HOMA	0.998	0.001
SİTRULİN-(HS-CRP)	-0.341	0.022
(HS-CRP)-ARGİNİN/SİTRÜLİN	0.406	0.006
SİTRULİN-ARGİNİN	-0.347	0.019
TRİGLİSERİD-LDL	0.328	0.028
TRİGLİSERİD-HOMA	0.355	0.017

Yaş arttıkça glikoz düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.437, p= 0.003)

Kolesterol arttıkça trigliserid düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.465, p=0.001)

HDL düzeyi arttıkça kolesterol düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır.(r= -0.367, p=0.013)

LDL düzeyi arttıkça kolesterol düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.883, p=0.001)

İnsülin düzeyi arttıkça glikoz düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.300, p=0.045)

İnsülin düzeyi arttıkça trigliserid düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.359, p=0.016)

HOMA düzeyi arttıkça glikoz düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.414, p=0.005)
HOMA düzeyi arttıkça trigliserid düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.355, p=0.017)
Yaş arttıkça sitrülün düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.389, p=0.008)
Sitrülün düzeyi arttıkça HDL düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.333, p=0.025)
Arginin/sitrülün oranı arttıkça HDL düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.361, p=0.015)
İnsülin düzeyi arttıkça HOMA düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.998, p=0.001)
Sitrülün düzeyi arttıkça hs-CRP düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.341, p=0.022)
Hs-CRP düzeyi arttıkça arginin/sitrülün oranı anlamlı olarak artmaktadır (r=0.406, p=0.006)
Sitrülün düzeyi arttıkça arginin düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.347, p=0.019)
Trigliserid düzeyi arttıkça LDL düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.328, p=0.028)
Trigliserid düzeyi arttıkça HOMA düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.355, p=0.017)

Tablo 10. Hasta grubumuzda (Grup1) klinik parametreler ile anlamlı korelasyona sahip olan biyokimyasal testler

	(r)	(p)*
BASDAI-LDL	-0.349	0.019
GLİKOZ-BASFI	-0.339	0.023
BASFI- ARGİNİN/SİTRÜLİN	0.321	0.032

BASDAI arttıkça LDL düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.349, p=0.019)
Glikoz arttıkça BASFI düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.339, P=0.023)
BASFI düzeyi arttıkça arginin/sitrülünoranı anlamlı olarak artmaktadır (r=0.321, p=0.032)

Tablo11. Kontrol Grubunda (Grup 2) birbirleri ile anlamlı korelasyona sahip olan biyokimyasal testler

	(r)	(p)*
YAŞ-GLİKOZ	0.426	0.019
YAŞ-KOLESTEROL	0.382	0.037
GLİKOZ-HOMA	0.403	0.027
TRİGLİSERİD-HDL	-0.631	0.001
TRİGLİSERİD –İNSÜLİN	0.625	0.001
TRİGLİSERİD-HOMA	0.634	0.001
KOLESTEROL-LDL	0.844	0.001
HDL-TRİGLİSERİD	-0.631	0.001
İNSÜLİN-TRİGLİSERİD	0.625	0.001
İNSÜLİN-HOMA	0.990	0.001
Hs-CRP-TRİGLİSERİD	0.460	0.010
SİTRÜLİN –YAŞ	0.445	0.014
ARGİNİN/SİTRÜLİN-YAŞ	-0.372	0.043
ARGİNİN/SİTRÜLİN-ADMA	-0.403	0.027

Yaş arttıkça glikoz düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.426, p= 0.019)
Yaş arttıkça kolesterol düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.382, p= 0.037)
Glikoz düzeyi arttıkça HOMA düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.403, p= 0.027)
Trigliserid düzeyi arttıkça HDL düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.631, p= 0.001)
Trigliserid düzeyi arttıkça insülin düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.625, p= 0.001)
Trigliserid düzeyi arttıkça HOMA düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.634, p= 0.001)
Kolesterol düzeyi arttıkça LDL düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.884, p= 0.001)
Trigliserid düzeyi arttıkça HDL düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.631, p= 0.001)
İnsülin düzeyi arttıkça trigliserid düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.625, p= 0.001)
İnsülin düzeyi arttıkça HOMA düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.990, p= 0.001)
Trigliserid düzeyi arttıkça hs-CRP düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.460, p= 0.10)
Yaş arttıkça sitrülün düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.445, p= 0.014)
Yaş arttıkça arginin/sitrülün oranı anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.372, p= 0.043)
Arginin/sitrülün oranı arttıkça ADMA düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.403, p= 0.027)

45 kişilik hasta grubundan sigara içme sorusuna cevap veren 37 kişilik grupta ve 29 kişilik kontrol grubunda sigara ile ADMA arasında ve sigara içme ile hs-CRP arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır.(p=0.513, p=0.627)

Tablo12. Hasta Grubunda (Grup 1) sigara içen ve içmeyenler arasında ADMA düzeylerinin karşılaştırılması

	Sigara içmeyen mean±SD n=18	Sigara içen mean±SD n=19	(p)*
ADMA (µmol/L)	0.455±0.23	0.450±0.19	0.513
Hs-CRP (mg/dl)	20.54±28.59	9.47±9.79	0.627

30 kişilik kontrol grubundan sigara içme sorusuna cevap veren 29 kişide sigara ile ADMA arasında ve sigara içme ile hs-CRP arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.150, p =0.114).

Tablo 13. Kontrol Grubunda (Grup 2) sigara içen ve içmeyenler arasında ADMA düzeylerinin karşılaştırılması

	Sigara içmeyen mean±SD n=18	Sigara içen mean±SD n=11	(p)*
ADMA (µmol/L)	0.420±0.21	0.539±0.12	0.150
Hs-CRP (mg/dl)	1.22±2.40	1.48±1.20	0.114

Tablo 14. Hasta grubunun (Grup 1) BASDAİ, BASFİ, BASMI sınıflamasına göre gruplandırılması

Klinik indekslere göre gruplandırma	Hasta ortalaması±SD
BASDAİ	6.12±1.25
BASMI	5.73±1.32
BASFİ	6.113±1.25

V.TARTIŞMA

AS'li hastalarda hastalığın aktif olduğunu tespit etmek için tek bir standart kriter yoktur. Hastalığın aktivitesinin değerlendirilmesi radyolojik değişiklikler, hastanın bildirdiği semptomlar, antiinflamatuvar ilaç verildiği zaman semptomlarda meydana gelen değişiklikler, hs-CRP ve eritrosit sedimentasyon oranındaki (ESR) değişiklikler, periferik eklem hastalığı, iritis ve pozitif sakroiliak test' e göre yapılır.

Thomas ve arkadaşları IgA ile 6 akut faz proteininin (CRP, haptoglobulin, alfa1-antitripsin, alfa1-antikimotripsin, seruloplazmin ve alfa 1-glikoprotein) AS'li hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (30). Aynı grup HLA-B27 (+) hastalarda serum CRP ve haptoglobulini hastalığın aktif döneminde daha yüksek olarak bulmuşlardır, fakat serum IgA düzeyleri yüksek bulunmamıştır. Buna zıt olarak HLA-B27 (-) hastalarda serum Ig A düzeyleri yüksek bulunmuş, fakat CRP ve haptoglobulin düzeylerinde değişiklik saptanmamıştır. Bu kanıtlar AS'li HLA-B27 (+) ve HLA-B27 (-) hastalıklarının patogenezinin farklı olduğunu düşündürmektedir. HLA-B27 (+) AS hastalığının, akut faz proteinlerinin yükseldiği sistemik inflamatuvar bir hastalık olduğu düşünülmektedir (30).

HLA-B27 (-) olup, serum Ig A düzeyleri yüksek hastalarda, barsak mukozasında Ig A'nın immun sistemin tetiğini çektiği ve bunun da zincirleme reaksiyona neden olduğu düşünülmektedir. Bu hastalarda, Ig A düzeyleri hastalık inaktif olduğunda daha yüksek, aktif olduğunda daha düşük bulunmuştur (30).

Sheehan ve arkadaşları AS'li olup ekstrapinal klinik bulguları (sinovit, üveit, kolit gibi) olan hastalarda ESR ve CRP'yi kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır (31).

Spoorenberg ve arkadaşları AS'li hastalarda yapılan bir başka çalışmada periferik artrit olsun veya olmasın hastalık aktivitesini göstermede ESR ve CRP'nin tam yeterli olmadığını vurgulamışlardır. Yani hastalık aktivitesini takip etmek için yeni biyomarkırlara ihtiyaç vardır (32). Bizim çalışmamızda ortaya çıkan hasta ve kontrol grubundaki yaş ile serum sitrülün düzeylerinin anlamlı olarak artışı, hasta grubunda hs-CRP düzeyi arttıkça sitrülün düzeyinin anlamlı olarak azalması, yine hasta grubunda sitrülün düzeyi artışının HDL düzeyi artışı ile birlikteliği ve hasta grubunda BASFI indeksinin artışının arg/sit oranı artışıyla korele olması, serum arginin ve sitrülün düzeylerinin hastanın klinik izleminde değerli parametreler olabileceğini düşündürdü.

AS'li hastaların genel durumu hakkında inflamatuvar markerlar, klinik semptom ve bulgular ve manyetik rezonans (MRI) tarafından saptanan inflamasyon bilgi verir. IL-6 (>7.38pg/ml) ve CRP (>1.5mg/dl) olan hastalarda, MRI tarafından saptanan spinal inflamasyonun daha fazla olduğu görülmüştür. Yüksek CRP düzeyi olan hastalarda BASDAI indeksi tarafından ölçülen hastalık aktivitesi daha fazla bulunmuştur. Hastalar ilaçla tedavi edildiğinde IL-6 ve CRP düzeylerinde düşme görülmüştür. Tedavi olan hastalarda MRI ve BASDAI skoruyla hastalık aktivitesi ölçülmüş ve düzelme gözlenmiştir. Yani IL-6 ve CRP deki düşme ile hastalık aktivitesindeki azalma paralel bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da hs-CRP düzeyleri hasta grubunda, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek düzeyde bulundu. Ayrıca hasta grubumuzda, kontrol grubuna kıyasla hs-CRP dışında arginin, ve arginin/sitrülin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek (sırasıyla p=0.001, p=0.001, p=0.004) bulundu.

Periferik arter hastalıklı ve kronik hiperhomosisteinemili hastalarda yüksek ADMA konsantrasyonlarının e-NOS'ı inhibe ederek kan akımını önemli derecede azalttığı bulunmuştur (33). ADMA NOS'ın 3 izoformunu da aşağı yukarı eşit oranda inhibe etmektedir. N-monometil arginin (NMMA) de NOS'ı ADMA'ya yakın derecede inhibe etmektedir (34). ADMA domuzlara ve insanların önkollarına infüze edildiği zaman kan basıncında yükselmelere, e-NOS'ın inhibe edilmesinden dolayı endotelial relaksasyonunda azalmaya neden olmaktadır. Renal yetmezlikli hastalarda ADMA birikimi olmakta, plazma ADMA seviyesi yükselmektedir (35). Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda yüksek plazma ADMA düzeyleri kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından önemli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yüksek ADMA düzeylerinin kardiyovasküler yeni bir risk faktörü olduğu da iddia edilmektedir (36).

Yüksek ADMA düzeylerine Romatoid Artrit, Behçet, Ailevi Akdeniz Ateşi, Sistemik Lupus Eritematosus ve Skleroderma'lı hastalarda da saptanmıştır. Ek olarak ADMA düzeyleri ile CRP düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptamışlardır. Anti-Tümör nekrozis faktör (Anti-TNF) tedavisi alan hastalarda ADMA düzeyleri normal bulunmuştur. Bu da araştırmacılara göre göstermektedir ki; anti-TNF tedavisi AS'li hastalarda vasküler fonksiyonlar için faydalı bir tedavi yöntemi olabilir (37).

Sarı ve arkadaşlarının AS'li hastalarda yaptığı çalışmada, hasta ve kontrol yaş grubu 36 ve 38 iken, bizim hasta ve kontrol grubu yaşlarımız 40.2 ve 40.5 idi. Sarı ve arkadaşları AS hasta ve kontrol grupları arasında sedimentasyon, hs-CRP ve ADMA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmuşlardır. Bu çalışmada hasta ve kontrol grupları arasında

hs-CRP, serum arginin düzeyleri ve serum arginin/sitrülinoranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, ADMA düzeyleri açısından gruplar arasında fark saptanmadı. Sarı ve arkadaşlarının hasta grubunun yaş olarak bizimkinden daha düşük olması bu farkı yaratmış olabilir.

Turgay Çelik ve arkadaşları pek çok çalışmada argininin nadiren ölçüldüğünü, oysa NOS fonksiyonunu göstermede arginin/ADMA oranının tek başına ADMA ölçümünden daha yararlı olabileceğini ileri sürmektedirler (38). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında ADMA düzeyleri açısından bir fark bulamadık, ancak arginin düzeyleri açısından istatistiki açıdan farklılık mevcuttu. Bu durum Turgay Çelik ve arkadaşlarının yaptığı öneriyi destekler nitelikte görünmektedir.

Bir çalışmada kan kolesterol seviyesinin yüksek olmasının eritrosit membranında aşırı lipit birikimine neden olduğu, eritrosit esnekliğini azalttığı ileri sürülmektedir. Bunun sonucu olarak eritrositler mikrosirkülasyondan rahatça geçememekte ve dolaşım bozukluğu meydana gelmektedir (39). Taro ve arkadaşları hiperkolesterolemi varlığında bozulan eritrosit membran esnekliğinin NO sentez yollarının aktivasyonu ile düzeldiğini göstermişlerdir (40). Bir başka çalışmada eritrosit membranındaki bu düzelmenin membran lipitleri dışında, eritrosit hücre içi metabolizmasında NO aracılı yolların etkili olduğunu göstermektedir (41).

Lamargue ve arkadaşları AS'li hastalarda kolon ve duodenum mukozasında inflamatuvar sürecin NOS enziminin isoformlarını uyardığını tespit etmişlerdir (42).

Partsch ve arkadaşları AS'li erkek hastalarda yaptıkları çalışmada plasmada aminoasit düzeylerini ölçmüşlerdir. Total aminoasit konsantrasyonlarına baktıklarında hasta ve kontrol grupları arasında fark bulamamışlardır. Arginin ve isolösin düzeylerini sırasıyla % 29, % 27 hasta grubunda daha fazla tespit etmişlerdir (43). Biz de arginini ve arginin/sitrülinoranını hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha fazla bulduk. Partsch ve arkadaşları yaşla Sitrülin arasında korelasyon bulmuşlardır (43). Bizde hem hasta grubunda, hem de kontrol grubunda yaşla Sitrülin arasında pozitif korelasyon bulduk. Partsch ve arkadaşları bu bulguların hastalığın tanısında yardımcı olabileceğini düşünmektedirler (43). Biz ise kendi araştırmamızın sonuçlarına bakarak serum arginin ve sitrülin düzeylerinin izlenmesinin, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında katkısının olabileceğini düşünmekteyiz.

Gündüz ve arkadaşları Romatoid Artritli kadın hastalarda lipit profiline bakmışlar ve hasta ile kontrol gruplarında total kolesterol, LDL- kolesterol ve trigliserid düzeyleri açısından istatistiksel olarak fark bulamamışlardır. Biz de hem bu lipit profilleri açısından, hem de ox-LDL açısından hasta ve kontrol grupları arasında fark bulamadık (44).

Koubaa ve arkadaşları tip 2 diabetli 86 kişiden oluşan hasta grubu ve 120 kişiden oluşan kontrol grubunda ox-LDL düzeylerine bakmışlardır. Sırasıyla 142.37±49.84 ng/ml ve 95.32±37.85 ng/ml şeklinde bulmuşlar ve istatistiksel olarak hasta grubunda daha yüksek değerler olduğunu görmüşlerdir (45). Biz ise hasta grubunda 781±83 ng/ml, kontrol grubunda ise 298±63 ng/ml bulduk. Hasta grubunda daha yüksek değerler bulunduğu halde, istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.131). Kurban ve arkadaşları 30 gönüllüye asetil salisilik asit (ASA) uygulamışlardır. ASA uyguladıkları 17 kişi bulunan Grup 1'e 100 mg, 13 kişi bulunan Grup 2'ye ise 150 mg vermişlerdir. ASA vermeden önce ox-LDL düzeylerini ölçmüşlerdir. Sırasıyla grup 1 ve 2 de 190.61±151.37 ng/ml, 187.94±176.75 ng/ml bulmuşlar. 1 ay sonra ve 2 ay sonra tekrar ölçmüşler ve sırasıyla 141.73±148.82 ng/ml, 174.99±159.79 ng/ml ve 116.29±129.18 ng/ml, 128.83±143.24 ng/ml bulmuşlardır. İstatistiksel olarak sadece Grup 2'nin 2. aydaki değeri anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak ASA tedavisinin 2 ay uygulandığında ox-LDL seviyesini önemli ölçüde düşürerek, aterosklerozun önlenmesine katkıda bulunduğunu belirtmektedirler (46).

Bizim çalışmamızda ox-LDL düzeyleri hasta ve kontrol gruplarımız arasında anlamlı fark bulunmadığı için, AS grubunda hastalık için ox-LDL bakmanın bir katkı sağlamıyacağını düşünmekteyiz.

VI. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmaya daha önceden AS tanısı konmuş 45 hastadan oluşan hasta grubu ve rutin kontrol amacı ile gelen 30 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu dahil edildi. Çalışmamızda amacımız hasta ve kontrol gruplarında ADMA, ox-LDL ve rutin biyokimyasal parametrelerin düzeylerini tespit etmek ve klinik indekslerle bu parametrelerin aralarındaki korelasyonları bulmaktır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) yaş ortalamaları karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.762$)

1. Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla hs-CRP, arginin düzeyleri ve arginin/sitrülin oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek (sırasıyla $p=0.001$, $p=0.001$, $p=0.004$) bulunmuştur.
2. BASDAI indeksi arttıkça LDL düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ($r= -0.349$, $p=0.019$).
3. BASFI indeksi arttıkça arginin/sitrülin oranı anlamlı olarak artmaktadır ($r= 0.321$, $p=0.032$).
4. BASFI indeksi arttıkça glikoz düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ($r= -0.339$, $p=0.023$).
5. Hasta ve kontrol grubunda yaş arttıkça sitrülin düzeyleri anlamlı olarak artmaktadır. (Sırasıyla $r=0.389$, $p=0.008$; ($r= 0.445$, $p= 0.014$).
6. Kontrol grubunda yaş arttıkça arginin/sitrülin oranı anlamlı olarak azalmaktadır ($r= -0.372$, $p= 0.043$).
7. Hasta grubunda hs-CRP düzeyi arttıkça sitrülin düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ($r= -0.341$, $p=0.022$).
8. Hasta grubunda hs-CRP düzeyi arttıkça arginin/sitrülin oranı anlamlı olarak artmaktadır ($r=0.406$, $p=0.006$).
9. Hasta grubunda sitrülin düzeyi arttıkça HDL düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ($r=0.333$, $p=0.025$).
10. Hasta grubunda arginin/sitrülin oranı arttıkça HDL düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ($r= -0.361$, $p=0.015$).
11. Hasta grubunda sitrülin düzeyi arttıkça arginin düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ($r= -0.347$, $p=0.019$).

12.Hasta ve kontrol grupları arasında ADMA ve ox-LDL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

13.Hasta grubunda (Grup 1) ve Kontrol grubunda (Grup 2) sigara içme ile ADMA ve hs-CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızın en önemli bulguları hasta ve kontrol grubunda yaşla serum sitrülün düzeyinin anlamlı olarak arttığını, hasta grubunda hs-CRP düzeyi arttıkça sitrülün düzeyinin anlamlı olarak azaldığının gösterilmesidir. Ayrıca yine hasta grubunda sitrülün düzeyi artışı HDL düzeyi artışı ile birlikte. Hasta grubunda BASFI indeksinin artışı arginin/sitrülün oranı artışı ile koreledir.

Sonuç olarak AS hastalarında BASFI indeksi ile arginin/sitrülün oranı korelasyonunun gösterilmesi, serum arginin ve sitrülün düzeylerinin hastanın klinik izleminde değerli parametreler olabileceğini düşündürmektedir.

Daha fazla hasta sayısı ile yapılacak olan çok sayıdaki çalışmalarla, konunun daha fazla aydınlatılabileceği de unutulmamalıdır.

ÖZET

ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA ADMA ve ENDOTEL FONKSİYONU

Giriş: AS etyolojisi bilinmeyen, endotelial disfonksiyon ile seyreden, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Bu çalışmanın amacı AS'li hastalarda ADMA metabolizmasında değişiklik olup olmadığını, ayrıca klinik indeksler ve laboratuvar parametreleri arasında korelasyonların mevcut olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal ve Metodlar: Celal Bayar Üniversitesi Romatoloji polikliniğinde AS tanısı almış 45 hasta (40.27±11.94 yaşında, 29 erkek/ 16 bayan) ve kontrol grubundaki 30 sağlıklı kişiden (40.53±12.94 yaşında; 21 erkek/9 bayan) toplanan serum örnekleri araştırmaya dahil edildi. Klasik kardiovasküler risk faktörleri bulunan kişiler çalışmaya dahil edilmedi. Açlık glikozu, serum lipidleri, hs-CRP, ADMA, ox-LDL, arginin, sitrülün düzeyleri ölçüldü. Hastaların BASDAI, BASFI, BASMI değerleri Romatoloji polikliniğinde tespit edildi. Serum ADMA ve ox-LDL düzeyleri ELİSA metodu ile ölçüldü. Verilerin istatistikleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalında SPSS programı (SPSS 18.0) ile hesaplandı. Gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi , korelasyonlar için ise Spearmann Korelasyon testi uygulandı.

Bulgular: Hs-CRP ve arginin düzeyleri ile arginin/sitrülinoranı hasta grubunda istatistiksel olarak önemli oranda daha yüksek bulundu. Serum ADMA düzeylerinde gruplar arasında bir fark bulunamadı. Hs-CRP-sitrülin, sitrülin-HDL kolesterol, BASFI indeksi-arginin/sitrülinoranı, BASDAI-LDL düzeyleri arasında önemli korelasyonlar saptandı (sırasıyla; $r = -0.341$, $p = 0.022$; $r = 0.333$, $p = 0.025$; $r = 0.321$, $p = 0.032$; $r = -0.349$, $p = 0.019$).

Sonuçlar: Hs-CRP düzeylerindeki artışla, serum sitrülün düzeyleri arasında tespit edilen negatif korelasyon ve serum sitrülün düzeyleriyle HDL kolesterol düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon, AS hastalığı ile kardiovasküler risk faktörleri arasındaki ilişkiyi açıklayabilir. Diğer taraftan BASFI indeksi ve arginin/sitrülinoranı arasındaki korelasyon, arginin ve sitrülün düzeylerinin AS hastalığı sürecinde faydalı parametreler olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: AS, hs-CRP, arginine, sitrülüne, ADMA

ABSTRACT

ADMA and ENDOTHELIAL FUNCTION IN ANKYLOSING SPONDYLITIS

Introduction: Ankylosing spondylitis (AS) is a chronic inflammatory disease with unknown etiology. Endothelial dysfunction is present in AS. The aim of the present study was to investigate whether there are abnormalities in asymmetric dimethylarginine (ADMA) metabolism and to investigate the correlation of laboratory parameters with clinical indexes in AS patients.

Patients and Methods: Forty-five patients diagnosed with AS (Group 1) in the Internal Medicine Department of the Medical Faculty of Celal Bayar University were enrolled in the study. The control group (Group 2) consisted of 30 healthy volunteers. Subjects without any classical cardiovascular (CV) risk factors were studied. Fasting glucose, serum lipids, hsCRP, ADMA, ox-LDL, arginine and citrulline levels were determined. Patients were also evaluated with the BASMI, BASFI, and the BASDAI Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. ADMA and ox-LDL levels were measured with ELISA methods. The collected data were analyzed using the SPSS for Windows program (Version 18.0). For comparison between the groups Mann Whitney U test and for correlation analysis, Spearman's rank correlation coefficient were used.

Result: A total of 45 AS patients (40.27±11.94 years; 29M/16F) and 30 controls (40.53 ±12.94 years; 21M/9F) were studied. HsCRP, and arginine and arginine/citrulline were significantly increased in the patients group respectively (p=0.001, p=0.001, p=0.004). Serum ADMA levels did not differ between the groups (p>0.05). Correlation analysis yielded significant correlations between, hsCRP and citrullin, citrullin and HDL-cholesterol, BASFI index and arginine/citrulline ratio, BASDAI index and LDL levels respectively (r= -0.341, p=0.022, r=0.333, p=0.025, r= 0.321, p=0.032, r= -0.349, p=0.019).

Conclusion: The increased hs-CRP levels negatively correlating with serum citrulline levels and serum citrulline levels positively correlating with HDL cholesterol levels could define the link between the cardiovascular risk and AS. On the other hand, BASFI index and arginine/citrulline ratio correlations suggest that serum arginine and citrulline levels could be beneficial parameters in the duration of the disease.

Key Words: AS, hs-CRP, arginine, citrulline, ADMA

IX. KAYNAKLAR:

- 1-Joel D.Taurog, Peter E.Lipsky. Ankilozan Spondilit Harrison' s principles of internal medicine. Fourteenth Edition.1998. Volume 2.Sayfa(1904-1906)
- 2-Dr.Hülya Çeltik. Metabolik Sendrom.Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı. Edirne-2008
- 3 Ali Rıza Şişman,Tuncay Küme, Pınar Akan, Pınar Tuncel. C-Reaktif Protein: Klinik Önemi, Ölçüm Yöntemlerindeki Gelişmeler, Preanalitik ve Analitik Değişkenlikler. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir Türk Klinik Biyokimya Derg 2007; 5(1): 33-41
- 4- Aylin Yıldırım. Yeni bir risk faktörü olarak yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hsCRP) Türk Kardiyol Dern Arş 2005; 33:360-371
- 5- Steinberg D, Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? Circulation. 2002 Apr 30;105(17):2107-11.
- 6-Steinberg, D., and J. L. Witztum. Lipoproteins and atherogenesis: current concepts. JAMA (J. Am. Med. Assoc.).1990; 264:3047-3052.
- 7-Steinberg, D., S. Parthasarathy, T. E. Carew, J. D. Khoo, andJ. L. Witztum. Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. N. Engl. J. Med.1989; 320:915-924.
- 8- Goldstein, J. L., Y. K. Ho, S. K. Basu, and M. S. Brown. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. Proc. Natl. Acad. Sci.USA. 1979; 76:333-337.
- 9-Fogelman, A. M., J. S. Schechter, M. Hokom, J. S. Child, and P. A. Edwards. Malondialdehyde alteration of low density lipoprotein leads to cholesterol accumulation in human monocyte-macrophages. Proc. Natl. Acad. Sci.USA.1980; 77:2214-2218.
- 10-Henriksen, T., E. M. Mahoney, and D. Steinberg. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.1981; 78:6499-6503.
- 11-Morel, D. W., P. E. DiCorleto, and G. M. Chisolm. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. Arteriosclerosis.1980; 4:357-364.

- 12-Sparrow, C. P., S. Parthasarathy, and D. Steinberg. Enzymatic modification of low density lipoprotein by purified lipoxygenase plus phospholipase A2 mimics cell-mediated oxidative modification. *J. Lipid Res.*1998; 29:745-753.
- 13-Heinecke, J. W., H. Rosen, and A. Chait. Iron and copper promote modification of low-density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture. *J. Clin. Invest.*1987; 74:1890-1894.
- 14-Parthasarathy, S., and J. Barnett. Phospholipase A2 activity of low density lipoprotein: evidence for an intrinsic phospholipase A2 activity of apoprotein B-100. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*1990; 87:9741-9745.
- 15-Parthasarathy, S., L. G. Fong, D. Otero, and D. Steinberg. Recognition of solubilized apoproteins from delipidated, oxidized low density lipoprotein (LDL) by the acetyl-LDL receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987;84:537-540.
- 16-Berliner, J. A., M. C. Territo, A. Sevanian, S. Ramin, J. A. Kim, B. Bamshad, M. Esterson, and A. M. Fogelman. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J. Clin. Invest.*1990; 85:1260-1266.
- 17-Morel, D. W., and G. M. Chisolm. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J. Lipid Res.*1989; 30:1827-1834.
- 18-Sparrow, C. P., S. Parthasarathy, and D. Steinber. A macrophage receptor that recognizes oxidized LDL but not acetylated LDL. *J. Biol. Chem.*1989;264:2599-2604.
- 19- Palinski, W., S. Yli-Herttuala, M. E. Rosenfeld, S. W. Butler, S. A. Socher, S. Parthasarathy, L. K. Curtiss, and J. L. Witztum. Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low density lipoprotein. *Arteriosclerosis.* 1990;10:325-335.
- 20-Güler BUĞDAYCI, Erdinç SERİN. Asimetrik Dimetilarginin (ADMA) Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 2: 36-41
- 21-Endemann DH, Schiffrin E: Endothelial Dysfunction. *J Am Soc. Nephrol.* 2004;15:1983:92.
- 22-Gornik HL, Creager MA: Arginine, endothelial and vascular health. *J of Nutr.* 2004;134: 2880S-87S.
- 23-. Chauhan A, More RS, Mullins PA: Aging-associated endothelial dysfunction in humans is reversed by L-Arginine. *J Am Coll Cardiol.*1996; 28: 1796-1804.
- 24- Kielstein JT, Stefanie Mb, Frölich JC, Ritz E, Haller H, Fliser D: Asymmetric Dimethylarginine, blood pressure, and renal perfusion in elderly subjects. *Circulation.* 2003;107:1891-99.

- 25-Celermajer DS: Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Cardiol.*1997; 30: 325-333.
- 26- Jan T. Kielstein, MD; Stefanie M. Bode-Böger, MD, MPH; Jürgen C. Frölich, MD; Eberhard Ritz, MD; Hermann Haller, MD; Danilo Fliser, MD. Asymmetric Dimethylarginine, Blood Pressure, and Renal Perfusion in Elderly Subjects. *Circulation American Heart Association, Inc.* 2003;107:1891.).
- 27- Turiel M, Atzeni F, Tomasoni L, de Portu S, Delfino L, Bodini BD, Longhi M, Sitia S, Bianchi M, Ferrario P, Doria A, De Gennaro Colonna V, Sarzi-Puttini P. Non-invasive assessment of coronary flow reserve and ADMA levels: a case-control study of early rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Jul;48(7):834-9. Epub 2009 May22.
- 28-George S Metsios,1,2* Antonios Stavropoulos-Kalinoglou,1,2 Aamer Sandoo,2 Jet J.C.S. Veldhuijzen van Zanten,2 Tracey E Toms,2 Holly John,2 and George D Kitas2. Vascular Function and Inflammation in Rheumatoid Arthritis: the Role of Physical Activity. *Open Cardiovasc Med J.* 2010; 4: 89–96. Published online 2010 February 23.
- 29-Robert L. Wilensky ve Damir Hamamdžić. Hassas Plakların Moleküler Yapısı: İmmünomodülasyonun Potansiyel Terapötik Rolü. *Current Opinion In Cardiology. Türkiye Klinikleri Dergisi* 2008 ; Cilt: 3 / Sayı: 1.
- 30-Thomas L Reynolds, Muhammad A Khan, Sjef van der Linden, Ronald P Cleveland. Differences in HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis: study of clinical disease activity and concentrations of serum IgA, C reactive protein, and haptoglobin. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1991; 50: 154-157
- 31-Sheehan N J, Slavin B M, Donovan M P, Mount J N, Mathews J A. Lack of correlation between clinical disease activity and erythrocyte sedimentation rate, acute phase proteins or protease inhibitors in ankylosing spondylitis. *Br J Rheumatol* 1986; 25: 171-4.
- 32- Spoorenberg A, van der Heijde D, de Klerk E, Dougados M. Relative value of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in assessment of disease activity in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1999; 26(4): 980-4.
- 33-Karsten Sydow, Burkhard Hornig, Naoshi Arakawa, Stefanie M Bode-Böger, Dimitrios Tsikas, Thomas Münzel and Rainer H Böger. Endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease and chronic hyperhomocysteinemia: potential role of ADMA. *Vasc Med* 2004; 9: 93 DOI: 10.1191/1358863x04vm538oa
- 34-Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2032_37.

- 35-Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-75.
- 36-Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113-17.
- 37- Ismail Sari 1, Levent Kebapcilar 1, Ahmet Alacacioglu 1, Oktay Bilgir 1, Yasar Yildiz 1, Ali Taylan 2, Arif Yuksel 1 and Didem L. Kozaci 3. Increased Levels of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Patients with Ankylosing Spondylitis. (*Inter Med* 48: 1363-1368, 2009) (DOI: 10.2169/internalmedicine.48.2193)
- 38- Turgay Celik, Atila Iyisoy, Cagdas Yuksel, Bekim Jata. The beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors on serum asymmetric dimethylarginine levels in the patients with cardiovascular disease. *Gulhane Military Medical Academy, School of Medicine, Department of Cardiology, 06018 Etlik-Ankara, Turkey Sarikamis Army District Hospital, Department of Cardiology, Sarikamis, Turkey. International Journal of Cardiology* xx (2008) xxx-xxx. Received 16 June 2008; accepted 26 November 2008
- 39-Cooper RA. Abnormalities of cell membrane fluidity in the pathogenesis of disease. *N Engl J Med*, 1977; 297:371-377
- 40-Taro Kuwai and Junichi Hayashi. Nitric Oxide Pathway Activation and Impaired Red Blood Cell Deformability with Hypercholesterolemia. Department of General Medicine, School of Medicine, Kyorin University, Tokyo, Japan. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* Vol.13, No.6
- 41-Han TH, Pelling A, Jean TJ, Gimzewski JK and Liao JC: Erythrocyte nitric oxide transport reduced by a submembrane cytoskeletal barrier. *Biochim Biophys Acta*, 2005; 1723: 135-142
- 42-Lamargue D, Nhieu JT, Breban M, Bemerdeau C, Martin-Garcia N, Szepes Z, Delchier JC, Whittle B, Claudepierra P. Lymphocytic infiltration and expression of inducible nitric oxide synthase in human duodenal and colonic mucosa is a characteristic feature of ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 2003 Nov ;30 (11):2428-36
- 43-Partsch G, Eberl R. Plasma amino acids in ankylosing spondylitis. *Wien Klin Wochenschr*. 1977 Nov 11;89(21):733-5
- 44- Berrin Gündüz, Belgin Erhan, Seçil Hıncal Boriçi, Ayfle Nur Bardak, Zeynep Kılıç, Bora Akyürek. Romatoid Artritli Kadın Hastalarda Lipid Profili. Sağlık Bakanlığı İstanbul Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 1. Fizik Tedavi Kliniği, İstanbul, Türkiye. (*Romatizma* 2007; 22: 88-90)

45-N. Koubaa, A. Nakbi, M. Smaoui, N. Abid, R. Chaaba, M. Abid, M. Hammami.

Hyperhomocysteinemia and elevated ox-LDL in Tunisian type 2 diabetic patients: Role of genetic and dietary factors. *Clinical Biochemistry* 40 (2007) 1007–1014

46-Sevil Kurban, Idris Mehmetoglu. Effects of acetylsalicylic acid on serum paraoxonase activity, Ox-LDL, coenzyme Q10 and other oxidative stress markers in healthy volunteers. *Clinical Biochemistry* 43 (2010) 287–290