



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ANKİLOZAN SPONDİLİT HASTALARINDA SERUM s CTLA-4 İLE HASTALIK AKTİVASYONU ARASINDAKİ İLİŞKİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. SULTAN PINAR ÇETİNTEPE

DANIŞMAN
Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TPF 13011** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

AYDIN-2014

TEŞEKKÜR

İç hastalıklarının derin ve büyüğü dünyasında birlikte çalıştığım, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma olanağı bulduğum, her konuda bana yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. Taşkın Şentürk'e,

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gürhan Kadıköylü başta olmak üzere ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan değerli hocalarım Prof. Dr. Abdulvahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Ali Önder KARAOĞLU, Prof. Dr. Engin GÜNEY, Prof. Dr. M. Hadi YAŞA, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Prof. Dr. Sabri BARUTCA, Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK, Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU, Prof. Dr. Zahit BOLAMAN, Doç. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU, Yard. Doç. Dr. Adil COŞKUN ve Yard. Doç. Dr. Mediha AYHAN'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez konumla ilgili serolojik parametrelerin değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Neriman Aydın ve Dr. Rıfat Bülbül'e şükranlarımı sunarım.

Dr. Sultan Pınar Çetintepe

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ANKİLOZAN SPONDİLİT (AS).....	3
2.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji	3
2.1.2. Etiyoloji	3
a. Genetik Faktörler:.....	3
b. Cinsiyet ve Hormonlar:.....	4
c. Enfeksiyonlar:	4
d. Sigara:	5
2.1.3. Patoloji.....	5
2.1.4. Patogenez.....	5
2.1.5. Klinik.....	6
2.1.6. Tanı Kriterleri.....	7
2.1.7. BASDAİ	7
2.1.8. Laboratuvar.....	7
2.1.9. Radyolojik Bulgular	8
2.1.10. Tedavi	9
a. Fizyoterapi:	9
b. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ):.....	9
c. Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar (DMARD):	9
d. Kortikosteroidler:.....	10
e. Bifosfonatlar:.....	10

f. Biyolojik Ajanlar:	10
2.2. ROMATOİD ARTRİT (RA)	11
2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji	11
2.2.2. Genetik	12
2.2.3. Etyopatogeneze	12
2.2.4. Klinik	12
2.2.5. Laboratuvar	14
2.2.6. Radyolojik Bulgular	15
2.2.7. Tedavi	15
a. Nonsteroid Antiinflatuvar İlaçlar (NSAİİ):	15
b. Kortikosteroidler:	16
c. Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar (DMARD):	16
c.1. Hidroksiklorokin	16
c.2. Sülfasalazin	17
c.3. Azatiopürin	17
c.4. Metotreksat	17
c.5. Leflunomid	18
d. Biyolojik Ajanlar:	18
d.1. TNF- α İnhibitörleri	18
d.2. Anakinra	19
d.3. Abatasept	19
2.3. CTLA-4 (SİTOTOKSİK T LENFOSİT BAĞINTILI MOLEKÜL-4 = CD152).....	19
2.3.1. CTLA-4 Gen Yapısı.....	20
2.3.2. Otoimmün Hastalıklarda CTLA-4'ün Yeri	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. Hasta Seçimi	21

3.2. Serum soluble CTLA-4 Ölçümü	21
3.3. İstatiksel Analiz.....	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	32
6. ÖZET	36
7. ABSTRACT	37
8. KAYNAKLAR	38

TABLO LİSTESİ

Tablo- I. 2010 ACR/EULAR romatoid artrit klasifikasyon kriterleri (76).	13
Tablo- II. CTLA-4 (Human) ELISA Kit (Abnova, Taiwan) ticari kitinin parçaları.	22
Tablo- III. Grupların demografik özellikleri.	25
Tablo- IV. Hastalık süreleri.....	25
Tablo- V. Klinik bulgulara göre karşılaştırma: Ekstraartiküler tutulum.....	26
Tablo- VI. Klinik bulgulara göre karşılaştırma: AS hastalarında periferik artrit.....	26
Tablo- VII. Biyokimyasal bulgular.	27
Tablo- VIII. Grupların serum sCTLA-4 düzeyi.....	28
Tablo- IX. Biyokimyasal testlerin ve kliniğin birbiriyle korelasyonu.	30

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil- 1. CTLA-4 standart hazırlanması (www.abnova.com).....	23
Şekil- 2. Grupların ESR düzeyi karşılaştırması.....	28
Şekil- 3. Grupların CRP düzeyi karşılaştırması.....	29
Şekil- 4. Grupların sCTLA-4 düzeyi karşılaştırması.	29

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AS	Ankilozan spondilit
RA	Romatoid artrit
HLA-B27	Human lökosit antijen-B27
TNF- α	Tümör nekroz edici faktör - alfa
MHC	Major histokompatibilite kompleksi
CTLA-4	Sitotoksik T lenfosit bağıntılı molekül-4
SHP-2	SH2 içeren fosfatazlar
sCTLA-4	Serumda çözünen sitotoksik T lenfosit bağıntılı molekül-4
CRP	C-reaktif protein
ESH	Eritrosit sedimantasyon hızı
ERAP-1	Endoplazmik retikulum aminopeptidaz-1
PCR	Polimeraz zincir tepkimesi
IL-1	Interlökin-1
IL-6	Interlökin-6
TGF- β	Transforming Büyüme Faktör Beta
Th-17	T-helper 17
IL-17	Interlökin-17
ICAM-1	Hücreler arası adezyon molekülü-1
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-1
MMP-3	Matriks metalloproteinaz -3
Th2	T-helper 2
IL-4	Interlökin-4
ASAS	Ankilozan Spondilit Değerlendirme Uluslararası Çalışma Grubu
VEGF	Vasküler endotelial growth faktör
ALP	Alkalen fosfataz
IgA	İmmünglobulin A
RF	Romatoid faktör

Anti-CCP	Anti-siklik sitrülin peptit
NSA�	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
ANA	Anti-nükleer antikor
ELISA	Enzim bağlı immunosorban �l�m
BASDAI	Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi
EULAR	Avrupa romatizma derneėi
MRG	Magnetik rezonans görüntüleme
COX-2	Siklooksijenaz-2
MTX	Metotreksat
IL-12	İnterlökin 12
IL-23	İnterlökin 23
IL-1	İnterlökin 1
IFN-�	İnterferon gama
ACR/EULAR	American Collage of Rheumatology/ The European League Against Rheumatism
ACPA	Anti sitrüline protein antikorlar
ANCA	Antinötrofil sitoplazmik antikorlar
FDA	Food and Drug Administration
DMARD	Hastalık modifiye edici ilaçlar

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Seronegatif spondilartritler; özellikle aksiyel iskeleti etkileyen ve ilerleyici spinal ankiloza yol açan kronik inflamatuvar hastalıklardır. Hastalığın prototipi Ankilozan Spondilit'tir (AS). Diğer klinik tipleri Reaktif artrit, Psöriatik artrit, Enteropatik artrit ve Sınıflandırılmamış spondilartrittir (1). AS'de hastalık başlangıcı genellikle ikinci veya üçüncü dekadadır ve erkeklerde risk daha fazladır. Etnik gruplar içindeki prevalansı HLA (human lökosit antijen)-B27 geni sıklığıyla ilişkilidir, çünkü AS hastalarının %95'inde HLA-B27 pozitif olarak saptanır (2).

Ankilozan spondilit patogenezinin immünite ile ilişkili olduğu düşünülse de otoimmün olduğu konusunda net bir bilgi yoktur. İnflamasyon olan sakroiliak eklem CD4+ ve CD8+ T hücreleri ve makrofajlarla infiltre olurken, hastalığın erken evresinde artmış TNF (tümör nekroz edici faktör) – α seviyeleri de görülmektedir.

T hücre aktivasyonu antijen sunan hücreler tarafından oluşturulan iki sinyal sonucunda gerçekleşir. İlk sinyal MHC (major histokompatibilite kompleksi) ile birlikte sunulan antijenin T hücre reseptörleriyle bağlanması sonucunda gerçekleşirken, diğer kostimulator sinyalleri T hücrelerindeki CD28 ile antijen sunan hücrede bulunan ligandları B7.1 (CD 80) ve B7.2 (CD86) arasındaki etkileşim sağlar (3). Sitotoksik T lenfosit bağıntılı molekül-4 (CTLA-4, CD152), CD28'e homolog olup aktive T hücrelerinden salınır ve yüksek afiniteyle B7.1 ve B7.2'ye bağlanır. CTLA-4 özellikle CD3 ve CD28 üretilen yolaktaki aktivasyonu fosfataz SHP-2 (SH2 içeren fosfatazlar) üzerinden inhibe edilir (3,4). CTLA 4 tarafından sağlanan bu negatif sinyalle T hücre aktivasyonu baskılanır. Oaks ve arkadaşları (5) tarafından yapılan araştırmada CTLA-4 geninin alternatif kodladığı transmembran bölgeden yoksun bir protein olan ve çözülebilen özgün bir form olan sCTLA-4 (serumda çözünen sitotoksik T lenfosit bağıntılı molekül-4) ortaya çıkarılmıştır. Bu çözülebilir form CD4+ ve CD8+ T hücreleri, B hücreleri ve lenfoid organlarda bulunabilir ve CD80 ve CD86'ya bağlanabilir (6). Günümüz çalışmaları sCTLA-4 seviyesinin tiroidit, miyastenia gravis, sistemik lupus eritematozus ve sistemik sklerozda arttığını göstermiştir (7-9).

Toussierot ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, romatoid artritli hastalar ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, serum sCTLA-4 düzeyinde spondilartrit grubunda istatistiksel anlamlı bir yükselik saptanmıştır. Hatta aynı çalışmada sCTLA-4

düzeyiyle hastalığın klinik indeksi BASDAİ ve C-reaktif peptit seviyeleri arasında yüksek korelasyon gösterilmiştir (1).

Bizde bu çalışmamızda, serum sCTLA-4 düzeyinin AS'li hastalardaki immün bozukluğun saptanmasında bir belirleyici olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla, serum sCTLA-4 düzeyini ölçmek için periferik kandan ELISA yöntemiyle sCTLA-4 düzeyini ve hastalık aktivasyonunu değerlendirmek için eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeylerini inceledik. Ayrıca AS'li hastalarda hastalık aktivasyonunu değerlendirmek için BASDAİ (Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi) sınıflandırılmasını kullandık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ANKİLOZAN SPONDİLİT (AS)

2.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Ankilozan spondilit, spondilartritler grubu içerisinde HLA B-27 ile kuvvetli birliktelik gösteren kronik, inflamatuvar, sistemik bir hastalıktır. AS’de sakroileit, spinal inflamasyon ve entesit tipik tutulumlar olsa da, hastalık periferik eklemleri, gözü ve aortayı da etkileyebilmektedir (11).

AS, dünya üzerinde genel nüfusun yaklaşık olarak %0,5-1’ni etkiler. Erkeklerde kadınlardan 2-3 kat daha sık görülür. Ancak, AS’li hastalarda yapılan son çalışmalarda hastalık prevalansı açısından cinsiyet farkı olmadığı, fakat kadınlarda hastalığın daha ılımlı seyrettiği bildirilmiştir (12,13).

2.1.2. Etiyoloji

Ankilozan spondilitin etyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, genetik faktörler, immünolojik bozukluklar, hormonal nedenler ve enfeksiyonların etyolojik rolleri tartışılmaktadır (14).

a. Genetik Faktörler:

Ankilozan spondilitin genetik yapısı, hastalığın yüksek kalıtım oranı fark edilince araştırmalar için çekici olmuştur. AS hastalarının %95’i HLA-B27 geni taşımaktadır. Diğer açıdan bakıldığında ise HLA-B27 genine sahip olanların %5’inden azında AS gelişmektedir (11).

Sınıf 1 major histokompatibilite kompleks (MHC) alleli olan HLA-B27 ve ilişkili allellerin AS için temel genetik risk unsuru olduğu bilinmektedir. HLAB-27 ile AS ve diğer spondilartrit hastalık gelişimi arasındaki ilişki net olarak bulunamamıştır; fakat “artrojenik peptid” hipotezine göre HLA-B2705 gen ürünleri ile Klebsiella pneumonia’nın çeşitli komponentlerine karşı gelişen antikorlar arasında direkt çapraz tepkiler vardır. HLA62705’in yapısında Klebsiella’daki nitrogenaz redüktaza benzer 6 aminoasit vardır. AS’li hastalarda sağlıklılara kıyasla daha fazla anti-klebsiella antikorları saptanmaktadır (15). HLA’nın tüm

subtipleri AS ile ilişkili değildir, özellikle hastalıkla ilişkilendirilen subtipleri HLA-B2702*, HLA-B2704*, HLA-B2705*, HLA-B2706* olarak sayılabilir. HLA-B27 geni transfer edilmiş farelerde spontan olarak sakroileit, kolit, periferik artrit ve diğer karakteristik lezyonlar gelişebilir (16).

AS ve HLA-B27 arasında her ne kadar güçlü birliktelik olsa da yapılan çalışmalar, diğer birçok genin hastalığın predispozisyonunda ve fenotipinde etkili olduğunu göstermektedir (17). Ayrıca endoplazmik retikulum aminopeptidaz-1 (ERAP1) kodlayan kromozom 5q15 ve IL-23R kodlayan kromozom 1p31.3 genlerindeki polimorfizmin de AS ile ilişkili olduğu bulunmuştur (17,18).

b. Cinsiyet ve Hormonlar:

AS hastalarında hipotalamo-hipofizer-adrenal aks fonksiyonlarında belirgin olarak bozulma görülmez. Buna rağmen, ölçülen kortizol düzeyi normal iken sirkadiyen paternlerin bozulduğu saptanmıştır. Bu da nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar (NSAİİ) ve immunsupresif ilaçların yan etkisine bağlanmıştır.

AS, erkeklerde 3 kat daha fazla görülmektedir. Cinsiyet farkının nedeni bilinmemekle birlikte hormonların immün sistem üzerine etkisi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (19). Romatoid artrit (RA)'te gebelikte hastalık aktivitesi tüm trimesterlerde azalırken, AS'de son trimesterde azalmaktadır. AS'de postpartum alevlenme hastaların %60-90'ında 6 ay içinde gelişir (20).

c. Enfeksiyonlar:

AS etiyopatogenezinde araştırılan bakteriyel ajanlardan biri *Chlamydia trachomatis*'tir. 1953'te Romanus ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 114 AS hastanın 102'sinde kronik prostatit saptanmıştır. Bu çalışmalar nedeniyle, 1960 yılında kronik ürogenital enfeksiyonlar ve AS arasında kesin nedeni bulunamayan bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (21). Daha sonra yapılan araştırmalarda, AS hastalarının serolojik testlerinde artmış *C.trachomatis* kaynaklı ürogenital enfeksiyon tespit edilmiştir (22,23). Ancak diğer bir çalışmada ise, sağlıklı kontroller ve AS hastalarının idrar örneklerinde PCR (polimeraz zincir tepkimesi) ile *C.trachomatis* taranmış ve anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (24).

d. Sigara:

Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde AS hastalarında yapılan geniş ölçekli çalışmalarda sigara içmenin hastalık aktivitesini ve radyolojik progresyonu arttırdığı saptanmıştır, fakat bunun mekanizması henüz bilinmemektedir (25).

2.1.3. Patoloji

Sakroileit AS'nin en erken bulgusudur. Erken dönemde subkondral granülasyon dokusu lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, makrofajlar ve kondrositler içermektedir. Düzensiz kenarlı erozyonlar, eklemde skleroz, fibrokartilaj rejenerasyonu ve ossifikasyon gerçekleşir. Son olarak sakroiliak eklem total olarak oblitere olmaktadır.

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, AS hastalarının sakroiliak eklemlerinden yapılan açık biyopsi sonuçlarında, CD3+ T hücreleri ve CD68+ makrofajlarının baskın hücre olduğu gözlenmiştir. TNF- α , interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) inflamatuvar doku ve çevresinde saptanmıştır. Transforming büyüme faktör beta (TGF-beta) ise ilerlemiş olgularda bulunmuş (26). Diğer bir çalışmada ise, T-helper 17 (Th17) yolağındaki sitokinleri üreten interlökin 17 (IL-17)+ nötrofillerin subkondral kemikte sayıca fazla olduğu tespit edilmiştir (27).

2.1.4. Patogenez

AS'nin patogenezinin immün bağıntılı olduğu düşünülse de otoimmünite ile ilişkili olduğuna dair bir kanıt yoktur. Anti-TNF ajanlarla etkin tedavi AS immünpatogenezinde TNF- α 'nın önemini işaret etmektedir. Diğer önemli bulgu da Th17 T hücreleri ve sitokinlerinin hastalıktaki öncelikli yeridir.

AS'de görülen periferik sinovit nötrofil, CD68 ve CD163 eksprese eden makrofajlar, CD4+ve CD8+ T hücreleri ve B hücreleri ile karakterizedir. Hücre içinde ICAM-1 (hücreler arası adezyonmolekülü-1), VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü-1), MMP-3 (matriks metalloproteinaz -3) üretimi artmıştır (28).

AS hastalarında HLA-B27 pozitif veya negatif kontrollere göre T helper 2 (Th2) sitokini olan interlökin-4 (IL-4) açısından bir fark olmamasına rağmen IL-10+/CD8+T hücre yüzdesi daha yüksektir. Kontrollerle karşılaştırıldığında, AS hastalarının kolon lamina propia

lenfositlerinde de benzer bulgular mevcut olup, AS'nin Th2 sitokin yanıtında bozulmayla karakterize olduğunu ortaya koymaktadır (29).

2.1.5. Klinik

AS geç adölesan veya erken erişkinlerde görülür; ortalama yaş 23 olup 40 yaş üzerinde %5 oranında gözlenir. AS'nin karakteristik bulgusu inflamatuvar karakterde bel ağrısıdır. Bu ağrı sinsî karakterde olup 3 aydan uzun süren kalça ağrısı şeklinde ortaya çıkmaktadır. İnflamatuvar karakterli bel ağrısına 30 dk ve üzerinde seyreden sabah tutukluğu eşlik etmekte, ağrı NSAİİ ile hafiflerken istirahat ile artmaktadır (30-33).

Son yapılan çalışmalarda 3 aydan uzun süren,

- i) inflamatuvar karakterde bel ağrısı,
- ii) 30 dk süren sabah tutukluğu olması,
- iii) hareketle ağrıların hafiflemesi,
- iv) gecenin ikinci yarısında bel ağrısıyla uyanmak.

Yukarıdaki 4 klinik kriterden 2'si eşlik ettiğinde duyarlılık %70,3, özgünlük %81,2 olduğu saptanmıştır (34).

Hastalık ilerledikçe spinal hareketlilikte azalma, lomber ve servikal lordozda kayıp ve omurgada kifotik lezyonlar gelişmektedir. Bu hareket kısıtlılığı başlangıçta aksiyel inflamasyona bağlı olsa da zaman içinde ligamentlerde ossifikasyon, sakroiliak eklemlerde ankiloz saptanır (33,35).

Omuz ve kalça eklem tutulumu %25-35 oranında genellikle sinsî ve bilateralidir. Periferik eklem tutulumu ise %30'un üzerinde hastada gözlenir ve genellikle asimetriktir. Özellikle yaşlı hasta gruplarında ateş, halsizlik gibi bulgular ön planda olabilir (30,33).

Fizik muayene inflamatuvar sürecin göstergesidir. En spesifik bulgu spinal hareketliliğin kaybıdır. Öne ve yana fleksiyon, lomber omurganın ekstansiyonu ve göğüs ekspansiyonu sınırlıdır (30,32,34).

Entesopati, AS'nin karakteristik bulgularından biridir. En çok etkilenen bölgeler aşil tendonu ve plantar fasiyal insersiyonlardır. Bunun dışında osteoporoz, vertebral fraktür, spondilodiskit, psödoartroz, kauda equina sendromu, sekonder amiloidoz görülen diğer komplikasyonlardır (35-40).

En sık görülen 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 gelişmekte, %50 hastada ise subklinik barsak inflamasyonu saptanmaktadır (35,36).

2.1.6. Tanı Kriterleri

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

- En az 3 ay süreli, egzersizle düzelen, istirahatla düzelmeyen bel ağrısı,
- Lomber omurga hareketlerinin sagittal ve frontal planlarda kısıtlanması,
- Göğüs ekspansiyonunun azalması,
- Bilateral grade 2-4 veya unilateral grade 3-4 sakroileit.

Tanı için radyolojik olarak sakroileit varlığı ile birlikte 3 klinik kriterden birinin pozitifliği gerekmektedir (41,42).

2.1.7. BASDAİ

AS tanılı hastalarda hastalık aktivitesinin subjektif puanlamasını amaçlar. Bu sistem 1994 yılında görsel analog şemalarıyla tasarlanmıştır. İçerik olarak bel ağrısı düzeyi, yorgunluk, periferik eklem ağrısı, lokalize hassasiyet, sabah tutukluğunun uzunluk ve yaygınlığı sorgulanmaktadır. Görsel analog şema 0-10 arasında “yok” veya “çok şiddetli” olarak ayrılmıştır. Sabah tutukluğu 0-2 saat veya daha uzun olarak belirtilmiştir. AS hastalarında hastalık aktivitesinin BASDAİ ile belirlenmesi Ankilozan Spondilit Değerlendirme Uluslararası Çalışma Grubu (ASAS) tarafından onaylanmıştır. Klinik kullanımda özellikle anti-TNF tedavisine cevabın değerlendirilmesinde tercih edilmektedir (43).

2.1.8. Laboratuvar

AS için tanısal bir laboratuvar testi yoktur. İnflamasyonun değerlendirilmesinde genellikle ESH ve CRP'den faydalanılır, fakat bu testler AS hastalarının %50'sinden azında normal değerinden yüksektir. AS hastasında ESH ve CRP yüksekliği olması hastalık

aktivasyonu lehine olsa da spesifik bir test olmadığından klinik korelasyon gereklidir (44). AS’de birçok potansiyel biyomarkerler üzerinde çalışılmaktadır. Bunlar serum matriks metalloproteinaz-3 (sMMP-3), serum IL-6, serum vasküler endotelial growth faktör (VEGF), serum kartilaj glikoprotein-39, serum C2C neoepitop, serum agregan 846 epitop, idrar piridinolin ve deoksipiridinolin ve idrar C-terminal telopeptit-1’i içerir (45,46). Bunlardan bazıları tanısal belirleyici olarak çalışılmakta, bir kısmının ise AS hastalık aktivitesine bağlı doku yıkımı sonucu olduğu düşünülmektedir.

HLA-B27 geni hastaların %95’inde mevcuttur. Hastalarda kronik hastalık anemisi görülebilir. Aktif hastalığı olanlarda serum alkalen fosfataz (ALP) değerleri artmıştır. Serum immünglobulin A (IgA) artışı yaygın görülen bulgudur. Romatoid faktör (RF), anti-siklik sitrulin peptit (anti-CCP) ve anti-nükleer antikor (ANA), eşlik eden bir hastalık olmadıkça veya anti-TNF tedavi sonrası oluşması dışında genellikle negatiftir. AS hastalarında periferik eklemlerdeki eklem sıvısı nonspesifik inflamatuvar karakterdir (35,36).

2.1.9. Radyolojik Bulgular

Standard sakroiliak grafide saptanabilen subkondral kemikte erozyon ve skleroz en erken bulgulardır. Lezyonlardaki ilerleme genellikle simetriktrir. Sakroileitte radyolojik değerlendirme eklem kenarlarının flulaşması, jukstraartiküler skleroz, eroziv değışiklikler ve daralma derecesine göre;

- i) Grade 1: normal,
- ii) Grade 2:kuşkulu,
- iii) Grade 3: minimal,
- iv) Grade 4: orta dereceli sakroileit, ve
- v) Grade 5: ankiloz olarak yapılmaktadır.

Hastalık lomber lordozda ve torakal kifozda artışa neden olmaktadır. Anulus fibrozusun yüzeysel tabakasının ossifikasyonu ve vertebra köşelerinde oluşan sindesmofitler nedeniyle “bambu kamışı” görünümü direkt grafide saptanabilmektedir (47).

Sakroileit tanısı için magnetik rezonans görüntüleme (MRG) en uygun görüntüleme yöntemidir. MRG direkt grafide normal sakroiliak görünümü olan pre-radyografik AS hastalarının saptanmasında yardımcı olabilir. Aktif sakroileit bulgularından olan kemik iliğı ödemi T-2 sekansı ve gadolinyum sonrası T-1 sekansında; kemik erozyonları, sklerozis, ankiloz ve periartiküler yağ birikimi gibi kronik hastalık bulguları ise T-1

sekansında saptanmaktadır. Aksiyel AS hastalarında MRG sensitivitesi %70, spesifikliği %75 olarak bulunmuştur (47,48).

Bilgisayarlı tomografi kemik iliği ödemi saptayamaz, fakat kemik erozyonlarını ve eklem aralığı değişikliklerinin gözlenmesinde MRG'dan daha üstündür. Ayrıca klastrofobi, metalik implant gibi MRG'ın kontrendike olduğu durumlarda tercih edilebilir (49).

2.1.10. Tedavi

AS için tam kür sağlayan tedavi henüz yoktur. Tedavide birincil amaç egzersizle mevcut postür ve hareketliliğin korunmasıdır.

a. Fizyoterapi:

Tüm hastalarda vurgulanması gereken temel noktadır. AS hastalarında fizyoterapinin yararlı etkileri vardır; fakat hangi spesifik tedavi protokolüyle devam edilmesi gerektiği net değildir (50). Çoğu hasta, hidroterapiden fayda gördüğünü belirtmektedir (51).

b. Nonsteroid Antiinflatuvar İlaçlar (NSAİİ):

Randomize kontrollü çalışmalarda plasebo ile karşılaştırıldığında AS hastalarında spinal ağrı, periferik eklem ağrısında azalma ve fonksiyonda iyileşme olduğu gösterilmiştir (52). Spesifik siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri ve NSAİİ arasında etkinlik olarak fark yoktur. Düzenli NSAİİ kullanımının AS'nin radyolojik progresyonunu engellediği bazı çalışmalarda saptanmıştır. Hangi NSAİİ kullanılacağı ise hastanın gastrointestinal ve kardiyovasküler sistem hastalık durumuna göre belirlenebilir. NSAİİ kontrendike olduğu durumlarda parasetamol ve opioidler başlanabilir (53).

c. Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar (DMARD):

Sulfasalazin'in AS hastalarında kullanımı ile ilgili yapılan çok merkezli randomize kontrollü çalışma sonucunda periferik eklem şikayetleri ve sabah tutukluğu üzerine etkinliği saptanmış, ancak spinal hareketlilik ve entesopati açısından fayda görülememiştir (54). Sulfasalazin 2-3/gr/gün dozunda başlanır.

RA'lı hastalarda etkin olmasından yola çıkılarak metotreksat (MTX) AS hastalarında kullanılmaktadır. İlacın AS hastalarında klinik etkilerini anlamlandıracak çok az kontrollü çalışma yapılmıştır. AS'de metotreksatın aksiyel hastalığın gidişatını değiştirdiğine dair bir kanıt elde edilememiştir (50). Metotreksat dozu oral kullanımda 7,5 mg/haftadan 25 mg/haftaya kadar arttırılabilir. Bir folik asit antagonisti olan MTX tedavisi sırasında folik asit desteği önerilmektedir.

d. Kortikosteroidler:

Spondilartritlerde sık kullanılan intraartiküler steroidlere olan yanıt, RA'dakinin aksine anlamlı ve uzun süreli olmamaktadır. Sakroiliak eklemlere kortikosteroid enjeksiyonu genellikle görüntüleme eşliğinde yapılır (floroskopi veya bilgisayarlı tomografi ile). Ağır semptomatik alevlenmelerde sistemik kortikosteroidler (oral veya intravenöz bolus protokolüyle) kullanılmıştır; ancak etkinliği gösteren kontrollü çalışmalar yoktur. Amaç semptomatik kontrol sağlandığında dozu hızla azaltmaktır (53,54).

e. Bifosfonatlar:

Oral bifosfonatlar AS hastalarında osteoporoza bağlı kırığın önlenmesinde kullanılmaktadır. Bifosfanatlar aynı zamanda hastalık aktivitesi üzerinde etkili olabilecek antiinflamatuvar etkinliğe de sahiptirler. Bazı çalışmalarda pamindronatın anlamlı klinik iyileşmeye katkısı saptanmıştır (51, 55, 56).

f. Biyolojik Ajanlar:

Spondilartritlerin patogeneğinde immün modülatör sitokinlerin rolü tartışmalı olmuştur. Bazı çalışmalarda TNF- α üretiminin göreceli bozukluğu ile ilişkili genetik polimorfizm, AS duyarlılık markeri olarak belirlenmiştir. Şu anda AS tedavisinde kullanılan biyolojik ajanlar; İnfliximab (şimerik TNF inhibitörü), Etanercept (füzyon protein TNF inhibitörü), Adalimumab (insan TNF inhibitörü), Golimumab (insan TNF inhibitörü), Rituximab (anti-CD20), Ustekinumab (insan IL-12 ve IL-23 inhibitörü), Anakinra (IL-1 inhibitörü)'dır (57).

AS tedavisinde en çok kullanılan biyolojik ajanlar TNF inhibitörleri olan biyolojik ajanlardır. Bunlardan etanercept TNF reseptör füzyon proteinidir ve TNF- α 'ya bağlanarak

TNF- α 'nın reseptörlerine bağlanmasını bloke eder. Adalimumab, golimumab ve infliksimab ise TNF- α 'ya yönelik monoklonal antikordur (58). Randomize kontrollü çalışmalarda AS'de görülen spinal ağrı ve periferik eklem hastalığında tüm ajanlar etkili bulunmuştur (59,60). Bu ilaçlar klinik etkilenimde hızlı ve anlamlı değişiklik yaptıkları gibi, MRG ile gösterilen spinal inflamasyonda azalma sağlarlar (58,61). TNF inhibitörleri ile yapılan bir çalışmada 10 yıllık hastalık tanısı olan hastaların %35'inde remisyonu sağladığı gösterilmiştir.

TNF inhibitör tedavisini kesmek uzun süreli hastalığı olanlarda hızlı relapsa neden olmaktadır (62). Erken AS hastalarında TNF inhibitör tedavisi remisyonu sağlayabilir. Erken tanı bu anlamda önemli olup geç TNF inhibitör tedavisi başlanan AS hastalarında tedavinin ömür boyu sürdürülmesi gerekebilmektedir (63). TNF- α blokerlerinin ciddi enfeksiyon riski ve latent tüberkülozun reaktivasyonu gibi yan etkileri bulunmaktadır (63,64). Uzun dönemde lenfoma veya solid organ malignitelerini predispoze etmesi de olası görülmektedir. Diğer yan etkileri, demiyelizan hastalık, lupus-benzeri sendrom, konjestif kalp yetmezliği bulgularını kötüleştirilmesi ve lokal yan etkilerdir (57).

Abatacept T-hücre kostimulasyon modulatörüdür ve T lenfosit aktivasyonunu önleyerek etki eder (65,66). Abatecept, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa'da 2005 yılından beri anti-TNF ve DMARD tedavisine cevapsız RA olgularında kullanılmaktadır. Özellikle erken RA hastalarında etkinliği ispatlanmıştır (67,68). İlacın uzun dönem etkinliği ve güvenliği 10 mg/kg dozunda sağlanmıştır (69). Aynı zamanda diğer TNF- α blokerlerinden fayda görmemiş olan hastalarda kullanılabilmektedir (70).

2.2. ROMATOİD ARTRİT (RA)

2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Romatoid artrit, primer olarak sinoviyal dokuları hedef alan etiyolojisi bilinmeyen kronik sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Romatoid artrit yaşam beklentisini kısaltır ve etkilenen hastaların çoğunda yaşam kalitesini anlamlı olarak bozar.

RA, tüm dünyada dikkat çekici bir uyumla erişkinler arasında yaklaşık %0,5-1'lik bir sıklıkla görülür. Tam olarak bilinmeyen nedenlerle kadınlarda prevalans erkeklere oranla 2-3 kat daha fazladır. Kadınlarda RA insidansı yaşla artar ve 45 yaşından sonra plato çizer (71).

2.2.2. Genetik

MHC Sınıf 1 ve 2 ürünleri ile birlikte T hücrelerine antijenik peptidleri sunan sistemi sağlayan bir gen bölgesidir. RA' de bu genlerin HLA-DR4 ve HLA-DR1 haplotipleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. RA epitopunu kodlayan HLA-DR1'in 67'den 74. aminoasit pozisyonunu içeren kısa bir bölgedir. Bu genler sadece hastalığın başlaması ile değil, aynı zamanda seyri ve şiddeti ile ilgilidir (72).

HLA kompleksi dışındaki genler de suçlanmaktadır. Bunlar T hücrelerindeki antijen reseptörünün ekspresyonunu ve immünglobulinin hem hafif hem de ağır zincirlerini kontrol eden genlerdir. Ayrıca TNF- α ve IL-10 genlerindeki polimorfizmler ve kromozom 3 (3q13)'teki bir bölge de RA ile ilişkili bulunmuştur (73).

2.2.3. Etyopatogenezi

RA'da dokudaki inflamatuvar süreç CD+4 T hücre aktivasyonu ile başlamaktadır. Aktive olan bu hücreler interferon γ (IFN- γ) ve IL-2 gibi sitokinler salgılayarak diğer T lenfosit hücrelerini, makrofaj ve fibroblastları uyarır. Aktive olan makrofajlardan IL-1 ve TNF- α salgılanır (74).

RA etyopatogenezi otoantijen varlığı ve buna karşı oluşan otoantikorlarla beraber yeni tedavi prensipleri, ilginin önceden bir T hücre hastalığı olarak bilinen RA'da B hücreleri üzerine çekilmesine sebep olmuştur. Özellikle B hücrelerinin yok edilmesine yönelik Rituksimab tedavisinin başarısı B hücrelerinin RA'daki rolünü artırmaktadır.

Otoantikor oluşumunun hastalıktan önce başlaması ve bir prelinik otoimmünite safhası olması hastalığın sadece otoantikorlarla başlaması için yeterli değildir. Çevresel faktörler de RA hastalığının tetiklenmesinde etkilidir. Bunlardan birisi de son yıllarda yapılan çalışmalarda saptanan sigara etkisidir. HLA-DRB1 ile anti-CCP antikoru geliştiğine dair yapılan çalışmalarda sigaranın etkisi akciğerlerde oluşturduğu doku hasarıdır (75).

2.2.4. Klinik

RA'lı pek çok hasta haftalar veya aylar içinde çok sayıda eklemde sinsi başlayan ağrı, sertlik ve şişme ile başvurur. RA'nın eklem bulgularına yorgunluk, düşük derecede ateş ve kilo kaybı gibi sistemik bulgular eşlik edebilir. Tipik olarak semptomlar elin küçük eklemlerinde (proksimal interfalangeal ve metatarsofalangeal) başlar. RA'nın önemli bir

özelliği distal interfalangeal ve ayak parmaklarının küçük eklemlerini tutmamasıdır. Sabah tutukluğu inflamatuvar artritlerin karakteristik bulgusudur. RA'lı hastalar sabah saatlerinde veya uzun istirahat sonrası günün en zor anlarını yaşarlar. Çok yönlü bir hastalık olan RA tanısını kolaylaştırmak ve bir standartta bağlamak amacıyla 2010 yılında ACR/EULAR (The American Collage of Rheumatology/The European League Against Rheumatism) tarafından belirlenmiş klasifikasyon kriterleri mevcuttur (76). İlgili kriterler Tablo- I'de özetlenmektedir.

Tablo- I. 2010 ACR/EULAR romatoid artrit klasifikasyon kriterleri (76).

A- Eklem Tutulumu	Tutulan Eklem Sayısı	Eklem Tipi	Skor	Eklem tutulumu; görüntüleme yöntemleri ile de doğrulan sinovit bulguları ile muayenede şişlik ve hassasiyet olarak tanımlanmaktadır. Küçük eklemler: Metakarpofalangeal, proksimal interfalangeal eklem, 2-5 metatarsofalangeal eklem, el bileği, başparmak interfalangeal eklemi. Büyük eklemler: Omuz, dirsek, kalça, diz ve ayak bilekleri.
	1	Büyük eklem	0	
	2-10	Büyük eklem	1	
	1-3	Küçük eklem (±büyük eklem)	2	
	4-10	Küçük eklem	3	
	>10	Eklem (1 küçük eklem)	5	
B-Seroloji	Test Sonucu		Skor	En az bir test sonucu sınıflama için şarttır. o Negatif: Laboratuvar üst sınırının altında, o Zayıf pozitif: Laboratuvar üst sınırının 3 katından az, o Kuvvetli pozitif: Laboratuvar üst sınırının 3 katından fazla.
	Negatif RF ve negatif ACPA		0	
	Düşük titrede pozitif RF veya ACPA		2	
	Yüksek titrede pozitif RF veya ACPA		3	
	*ACPA: Anti sitrülüne protein antikorlar			
C-Akut Faz				Sınıflama için en az 1 test sonucu

Reaktanları	Test Sonucu	Skor	gereklidir.
	Normal CRP ve normal ESR	0	
	Anormal CRP veya anormal ESR	1	
D-Semptom Süresi	Süre	Skor	
	6 haftadan az	0	
	6 haftadan fazla	1	

Hastanın RA tanısı alabilmesi için A-B-C-D kategorilerinde toplam skoru 6/10 olmalıdır.

2.2.5. Laboratuvar

Anemi aktif RA'lı hastalarda yaygın bir bulgudur. Çoğunlukla normokrom normositer anemi vardır. Eritropoetin düzeyi artmıştır; fakat kemik iliğinin eritropoetine verdiği yanıt azalmıştır. Hastalık aktivitesi ile trombosit sayısı arasında belirgin bir ilişki söz konusudur. Trombosit sayısı hemoglobinin düzeyine ters, lökositoya ve RF titresine paralel olarak yüksektir (77,78).

Eritrosit sedimentasyon hızı genellikle hastalık aktivitesi ile bağlantılı olarak artış gösterir ve tedaviye cevabın iyi bir göstergesidir (79). CRP'nin hastalık aktivitesini belirlemede ESH'den daha duyarlı olduğu kabul edilmiştir (80). Aktiviteyi belirleyen en uygun indikatör olmasının yanı sıra inatçı yüksek seviyelerde seyretmesi eklem yıkımına ve eroziv hastalığa işaret eder, bu da daha erken ve agresif tedavinin başlatılmasını zorunlu kılar (81).

RA'da özellikle IgM ve IgA olmak üzere immünglobulinler artabilir. Romatoid faktör %70-80 oranında pozitifdir. RF pozitifliği nodüler ve ekstra-artiküler belirtilerin şiddetiyle koreledir (79). RF pozitifliği sağlıklı kişilerde %5 oranında, 65 yaşın üzerinde %10-20 oranında normalde de bulunabilir. Bu nedenle tarama testi olarak kullanılamaz (82).

Anti-CCP antikorları RA'lı hastaların yaklaşık %70'inde bulunur ve yüksek sensiviteye (%93-98) sahiptir, sıklıkla klinik hastalık tanısından önce saptanır ve agresif eroziv hastalıkla ilişkilidir. Antinükleer antikorlar (hastaların yaklaşık %30'unda) ve özellikle

perinükleer tip olmak üzere antinötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) (hastaların yaklaşık %30'unda) gibi çeşitli diğer otoantikorlar da görülebilir (83).

2.2.6. Radyolojik Bulgular

El ve ayak küçük eklemlerini çevreleyen yumuşak dokudaki diffüz şişlik hastalığın erken bulgularındandır. Romatoid nodüller, direk grafilerde nonkalsifiye, eksantirik yumuşak doku şişliği olarak görülür ve bazen komşu kemikte yapmış olduğu basıya bağlı erozyonlar tespit edilebilir.

Diğer bir radyolojik bulgu da pannusa bağlı eklem kıkırdığının yıkılması sonucunda oluşan eklem aralığı kaybıdır. Ankiloz ise en sık el ve ayak bileğinde görülür (80).

Çoğunlukla tendonlarda ve ligamentlerde bozulma ve laksisiteye bağlı olarak normal kasların çekme kuvveti nedeniyle deformiteler ve instabiliteler (düğme iliği ve kuğu boynu deformitesi, MKF eklemlerde ulnar deviasyonlar, MTF eklemlerinde fibular deviasyonlar) görülebilir (79).

2.2.7. Tedavi

Romatoid artritli hastalarda eklem erozyonu erken başlamaktadır. Hastalık süresi iki yıldan az olan hastaların %80'inde radyolojik eklem hasarı gözlenmiştir (84,85). Artriti saptanmış uzun etkili antiromatizmal ilaç (DMARD) tedavisi hemen başlanmış hastalar ile DMARD tedavisi sadece birkaç ay ertelenmiş hastalar arasında yapılan karşılaştırmalarda, DMARD tedavisini olabildiğince çabuk başlanmış olmanın radyolojik progresyonu yavaşlatmada ve hastanın fonksiyonel kapasitesini iyileştirmede etkili olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (86,87). Bu bilgiler ışığında, DMARD tedavisi RA tanı kriterlerini karşılamış olan veya RA şüphesi olan hastalara olabildiğince erken başlanmalıdır ve ilk 2 yıllık süredeki “pencere dönemi” diye tabir ettiğimiz süreç çok iyi değerlendirilmelidir. Bu doğrultuda hastada ilk 3 ay çok sıkı takip yapılmalı ve maksimum 6 aya kadar düşük hastalık aktivitesi veya remisyona sokmak amaçlanmalıdır (88).

a. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ):

Kısa yarı ömrü olan asetil salisik asit, diklofenak, ibuprofen, indometazin, ketoprofen ile uzun yarılanma ömrü olan piroksikam, tenoksikam gibi nonsteroid

antiinflamatuvar ilaçların (NSAİİ) kullanımı, en sık tercih edilen ve hem analjezik hem de antiinflamatuvar etkisinden dolayı belki de RA'da en etkili olan yardımcı tedavi şeklidir (89). Siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimlerini inhibe ederek prostoglandin oluşumunu bloke eder ve böylece terapötik etkilerini oluşturur (90). Ancak RA'da hastalığın seyrini değiştirebildikleri ya da eklem hasarını önleyebildikleri gösterilememiştir (91).

b. Kortikosteroidler:

Kortikosteroidler, inflamasyon semptomlarını hızlı bir şekilde azaltabildikleri için RA tedavisinde sıklıkla oral, intravenöz ve intraartiküler enjeksiyon şeklinde kullanılırlar. Düşük doz oral (<10 mg/gün prednizolon veya eşdeğeri diğer kortikosteroidler), pulse (100-1000 mg/gün intravenöz metil prednizolon) RA'nın aktif dönemlerinde semptomların giderilmesinde çok etkilidirler. RA'da düşük doz prednizolon, DMARD grubu ilaçların etkinliği ortaya çıkana kadar semptomatik amaçlı "köprü tedavisi" olarak kullanılmaktadır (91). Yan etki riskinin kullanılan dozla ilişkili olduğunu gösteren veriler sonucunda toksisiteyi azaltmak için düşük doz steroidlere meyil olmuştur. Düşük doz steroid tedavisi ile bile kutanöz atrofi, katarak, glokom ve hafif glukoz intoleransı bildirilmiştir. Diğer muhtemel yan etkiler miyopati, rebound etkisi, hipotalo-pitüiter-adrenal aks disfonksiyonu ve osteoporozdur. Düşük doz glukokortikoidin RA'nın radyolojik progresyonunu geciktirdiği ve DMARD'ların yan etkilerinin derecesinde azalma yaptığı saptanmıştır (92).

c. Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar (DMARD):

Hastalığı modifiye edici ilaçlar, eklem hasarını önleyebilme ve azaltabilme, eklem bütünlüğünü ve fonksiyonunu koruyabilme, RA'lı hastaların ekonomik üretkenliğini sürdürebilmesini sağlama gücüne sahiptir. En sık kullanılan ilaçlar hidroksiklorokin, sülfasalazin, metotreksat, leflunomid ve biyolojik ajanlardır. Daha az olarak azatiopirin, altın tuzları, D-penisilamin ve siklosporin kullanılır. Hastalık modifiye edici ilaçlar eklem semptom ve bulgularını kontrol altına alır, fonksiyonel durum ve yaşam kalitesinde değişiklik yapar, radyolojik erozyonların gelişmesini yavaşlatır (93).

c.1. Hidroksiklorokin

Hidroksiklorokin eklem ağrısını, şişliğini ve fiziksel fonksiyonu iyileştirir ve radyografik progresyonu azaltır. Monoterapi olarak ancak hafif hastalığı olanlarla sınırlanmalıdır. Daha sıklıkla yardımcı tedavi olarak kullanılır. Alışılmış oral günlük doz 200-400 mg'dir (94). En önemli yan etkisi retinopatidir. En az 6 ayda bir görme alanı dahil, göz muayenesi ile retinal toksisitenin denetlenmesi gerekir (95).

c.2. Sülfasalazin

Sülfasalazin, salisilat ve sülfapiridin molekülünün kombinasyonudur. Sülfasalazin sıklıkla diğer DMARD'larla birlikte kullanılmaktadır (96). İlaça başlama dozu genellikle günde iki doz oral 500 mg şeklindedir, birer hafta ara ile 500 mg'lık artışla tedrici olarak günde 2-3 gr doza erişebilir. Sülfasalazinin etkinliği diğer uzun etkili olan Altın tuzları, D-penisilamin, Metotreksat ve Leflunomid'in etkinliğine eşdeğerdir. Etkisi genelde bir-iki ay içinde görülmeye başlar (95). Hafif şiddette hastalığı olan ve eklem radyografilerinde az oranda erozyonu olan hastalarda sülfasalazin monoterapi için özellikle tercih edilebilir (97).

c.3. Azatiopürin

RA'da 1,5-2,5 mg/kg/gün dozlarda, çoğu kez "steroidden sakınma ajanı" olarak tek başına veya kombinasyon biçiminde oral olarak kullanılır (90). Radyolojik progresyonda eşlik eden bir azalma sağlamaz. İmmünosupresif etkisi yanında nonspesifik antiinflamatuvar etkisi de vardır.

c.4. Metotreksat

Hem tek başına hem de diğer başka uzun etkili ilaçlarla birlikte RA tedavisinde en sık kullanılan ve genellikle de ilk seçilen ilaçtır (95). Metotreksat bir folik asit antagonistidir. Dihidrofolat redüktazı inhibe ederek, hücre proliferasyonunda önemli olan pürin metabolitlerinin sentezini azaltır (98). RA'da radyolojik erozyonların ilerlemesini yavaşlatmaktadır (99). Metotreksat dozu oral kullanımda 7,5 mg/haftadan 25 mg/haftaya kadar arttırılabilir. Lökosit sayısı 3500/mm³ altında ise, kreatinin 2 mg/dl'nin üzerinde veya kreatinin klirensi 60 ml/dk'nin altında ise veya transaminazlar yüksek veya bilinen karaciğer hastalığı var ise metotreksat verilmemelidir (100). En sık görülen yan etkileri iştahsızlık,

bulantı, kusma, ishal ve oral afttır. Günlük 1 mg folik asit ilave edilmesi yan etki oluşumunu azaltır (95).

c.5. Leflunomid

Pirimidin sentez inhibitörüdür. Yerleşik RA'lı hastalarda yapılan birebir çalışmalarda, metotreksat veya sülfasalazine sinoviti baskılamada ve radyografik progresyonu inhibe etmede eş etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (94). İdame dozu 20 mg/gündür. Etkisini birinci ayda göstermeye başlar. En önemli yan etkisi karaciğer üzerinedir. Hastaların %5-10'unda görülen karaciğer enzimlerinde yükselme genellikle doz azaltılınca veya ilaç kesilince normale döner (100). Metotreksat ve leflunomid birlikte kullanıldığında hepatotoksisite riskinin arttığına dair kanıt yoktur ve aktif RA tedavisinde kombinasyon başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (97).

d. Biyolojik Ajanlar:

d.1. TNF- α İnhibitörleri

Romatoid artrit, inflamatuvar cevabın oluşmasında ve bunun artarak devam etmesinde TNF- α merkezi rol oynar. RA'lı hastaların sinovyumlarında TNF- α ve TNF- α reseptörlerinin aşırı miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (101). Romatoid artrit tedavisinde 3 TNF- α inhibitörü (infliksimab, etanercept, adalimumab) FDA (Food and Drug Administration) tarafından AS tedavisinde kullanılmak üzere onaylıdır. Golimumab ise TNF- α inhibitörü olup sadece ülseratif kolitte FDA onayı olup, RA, AS ve psöriyatik artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Certalizumab pegol, insan TNF inhibitör monoklonal antikorun pegile Fab Fragmanıdır. Certalizumab pegol FDA tarafından psöriyatik artritte onaylıdır. Etanercept TNF reseptör füzyon proteinidir. TNF- α 'ya bağlanarak TNF- α 'nın reseptörlerine bağlanmasını bloke eder. Adalimumab ve İnflksimab ise TNF- α 'ya yönelik monoklonal antikorlardır. Üç TNF- α inhibitörünün her biri hastaların çoğunda RA'nın belirti ve semptomlarını azaltır ve olguların çoğunda kemik erozyonlarının progresyonunu durdurur. Ancak hiçbir hastalığın tam remisyonunu sağlamaz ve çoğu bireyde ilaç kesildikten birkaç hafta sonra eklem semptomları tekrarlar (97).

TNF- α ile kombinasyonda şu an klinik uygulamada ilk seçeneğin metotreksat olduğu, metotreksatın kontrendike olması durumunda leflunomidin yararlı bir alternatif

olduğu bildirilmiştir (102). TNF- α antagonistlerinin yan etkileri arasında enfeksiyonlara yatkınlık, tüberküloz reaktivasyonu, konjestif kalp yetmezliği, malignansiler, demiyelizan hastalıklar, deri erüpsiyonları yer almaktadır (103).

d.2. Anakinra

İnsan IL-1Ra'nın rekombinant bir formu olan Anakinra, IL-1 reseptörüne bağlanmada IL-1 ile yarışır ve IL-1'n etkisini antagonize eder. RA tedavisinde anti-TNF tedaviden klinik olarak daha az etkilidir; fakat kemik kaybının gelişimini geciktirebilir. Anakinra 100 mg/gün dozda derialtı enjeksiyonla uygulanır (104).

d.3. Abatasept

Abatasept, rekombinant bir CTLA-4Ig füzyon proteindir ve seçici olarak CD28:CD80/86 yolağını kırması üzerinden kostimülasyonu bloke eder, sonuçta T hücre aktivasyonu ve sonrasındaki çok sayıda efektör mekanizmaları baskılar. Abatasept tek başına veya metotreksat ile kombine olarak verildiğinde, anti-TNF tedavi ile rahatlamayan hastalar dahil aktif RA hastalarında etkili olduğu gösterilmiştir. Klinik çalışmalarda, klinik bulgu ve semptomlarda düzelme, radyolojik ilerlemede yavaşlama ve hasta işlevleri ile ağrıda düzelme bildirilmektedir (96). Abatasept 10 mg/kg dozda 0.-15.gün ve sonra ayda bir, 30 dakikadan daha uzun sürede, intravenöz infüzyonla uygulanır. Metoteksatla veya diğer sentetik DMARD'larla kombine verilir. Biyolojiklerle birlikte verildiğinde artan enfeksiyon oranı nedeniyle Anti-TNF veya IL-1 inhibitörleri ile birlikte uygulanmamalıdır.

2.3. CTLA-4 (SİTOTOKSİK T LENFOSİT BAĞINTILI MOLEKÜL-4 = CD152)

CTLA-4 (CD 152), aktive CD4+ ve CD8+ T hücreleri tarafından eksprese edilip CD28 gibi CD80 ve CD86 ligandlarına bağlanarak etki gösterir (105,106). CD28 bu ligandlar üzerinden T hücre yapımında ve uyarımında esansiyel kostimülasyon sağlarken, CTLA-4 T hücre fonksiyonunu baskılamaktadır (107,108). Çalışmalara göre, in vitro deneylerde anti-CTLA-4 antikorun Fab kısmını eklemek T hücre aktivasyonunu artırmakta iken, in vivo deneylerde ise süperantijen kaynaklı sitotoksisiteyi sağlamlaştırmaktadır (109). CTLA-4 geni susturulmuş farelerde spontan otoimmün hastalıklarda artış gözlenmiştir. Bunun gibi klinik

alışmalar CTLA-4 ve CD 80/86 etkileşiminin immün toleranstaki önemine ve otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkisine dikkat çekmektedir (110,111).

2.3.1. CTLA-4 Gen Yapısı

İnsan CTLA-4'un yerleştiği kromozom 2q33'tür. Her haploid genomda kromozomun tek kopyası bulunmaktadır ve 223 aminosidli bir prekürsör protein olarak kodlanır. Farelerdeki benzer şekilde, insanlarda da CTLA-4 ve CD28 moleküllerinin genin aynı parçasında bulunduğu gösterilmiştir. Bu genlerin arasında 25'ten 150 kilobaza kadar aralık vardır. CTLA-4 ve CD28 genleri ve ürünleri arasındaki çoklu benzerlikler, CTLA-4 ve CD28'in aynı gendeki duplikasyondan kaynaklandığını düşündürmektedir (2).

2.3.2. Otoimmün Hastalıklarda CTLA-4'ün Yeri

T hücre aktivasyonu antijen sunan hücreler (ASH) tarafından oluşturulan iki sinyal sonucunda gerçekleşir. İlk sinyal T hücre reseptörleriyle antijen ve MHC kompleksini bağlamayı gerçekleştirirken, diğer kostimülatör sinyal T hücrelerindeki CD28 ile ASH'de bulunan ligandları CD80 ve CD86 arasındaki etkileşimi sağlar (3). CTLA-4 (CD152), CD28'e homolog olup aktive T hücrelerinden salınır ve yüksek afiniteyle CD80 ve CD86'ya bağlanır. CTLA-4 özellikle CD3 ve CD28 üretilen yolaktaki aktivasyonu fosfataz SHP-2 (SH2 içeren fosfatazlar) üzerinden inhibe edilir (3,4). CTLA-4 tarafından sağlanan bu negatif sinyalle T hücre aktivasyonu engellenir.

Birçok deneysel model T hücrelerinin self antijenlerine karşı anerji oluşturdıklarını desteklemektedir. Farelerde yüksek düzeyde B7 molekülü eksprese ettirilirse bu farenin otoimmün reaksiyon geliştirdiği gösterilmiştir. Yine farelerde CTLA-4 molekülünün bloke edilmesi ile farenin kendi dokularına karşı immünite geliştirdiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar inhibitör bir reseptör olarak çalışan CTLA-4 molekülünün othereaktif T hücrelerinin kontrolünde görevli olduğunu işaret etmektedir. CTLA-4 molekül anormallikleri ile ilgili hastalıklar arasında otoimmün tiroid hastalıkları, tip 1 diyabet, addison hastalığı, myastenia graves, mutipl skleroz, sistemik lupus, romatoid artrit ve spondilartitler yer alır (1).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 12.10.2012 tarihinde onay aldıktan sonra, çalışmaya alınan tüm olguların yazılı onamları alındı. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları-Romatoloji kliniğinde takip edilen Ankilozan Spondilit(AS) tanılı 38 hasta, Romatoid Artrit (RA) tanılı 28 hasta ve 27 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Ankilozan spondilit hastaları Modifiye New York Kriterlerine göre seçildi ve BASDAİ > 3,2 olan, biyolojik tedavi almayan, NSAİİ, salazoprin ve metotreksat kullanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Romatoid artrit tanılı hastaları 1987 Amerika Romatoloji Topluluğu kriterlerine göre seçildi. Sağlıklı kontroller de romatolojik veya diğer bir ek hastalığı olmayan olgular alındı. Hastaların anamnezleri alınıp, fizik muayeneleri yapıldıktan sonra dosya bilgileri incelendi ve cinsiyet, yaş, tanı, tanı süresi gibi demografik özellikleri ve mevcut ANA, ESH, CRP değerleri kaydedildi.

Olgulardan alınan 5 cc kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları serum sCTLA-4 ölçülmek üzere ayrıştırıldı ve testler çalışılana kadar serumlar mikrobiyoloji laboratuvarında -80°C' de bekletildi.

3.2. Serum soluble CTLA-4 Ölçümü

Adnan Menderes Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarında saklanan serumlar, oda sıcaklığında (18-26°C) 30 dakika boyunca iyice çözüldükten sonra, ELISA yöntemiyle çalışıldı ve monoklonal antikor düzeyleri ölçüldü.

İnsan CTLA-4 tayini için araştırmamızda CTLA-4 (Human) ELISA Kit (Abnova, Taipei City, Taiwan) ticari kiti kullanılmıştır. Kit kantitatif sonuç veren sandwich ELISA yöntemini kullanmaktadır. CTLA-4'e spesifik monoklonal anti-human CTLA-4 antikoruna ile 96 kuyucuklu plaklar kaplanmıştır. Kitin parçaları Tablo- II'de gösterilmiştir.

Tablo- II. CTLA-4 (Human) ELISA Kit (Abnova, Taiwan) ticari kitinin parçaları.

	Miktar	Açıklama
CTLA-4 Plak	1 plak	CTLA-4'e karşı geliştirilmiş anti-human monoklonal antikor ile kaplanmış 96 kuyucuklu (8 kuyucuklu 12 strip)
CTLA-4 Standart	2 şişe	Çözünebilir 20 ng rekombinant insan CTLA-4
Biotin-Konjugat	1 şişe	100 µl biotinle konjuge edilmiş CTLA-4'e karşı geliştirilmiş monoklonal antikor
Streptavidin-HRP	1 şişe	150 µl
Sample dilüent	1 şişe	12 ml
Yıkama tamponu	1 şişe	50 ml, distile su ile 20 kat sulandırılarak kullanılır
Assay tampon	1 şişe	5 ml, distile su ile 20 kat sulandırılarak kullanılır
Substrat solüsyon	1 şişe	15 ml kromojen (tetrametilbenzidin)
Stop solüsyon	1 şişe	15 ml sülfürik asit
Mavi, kırmızı ve yeşil boya	1'er şişe	0,4'er ml

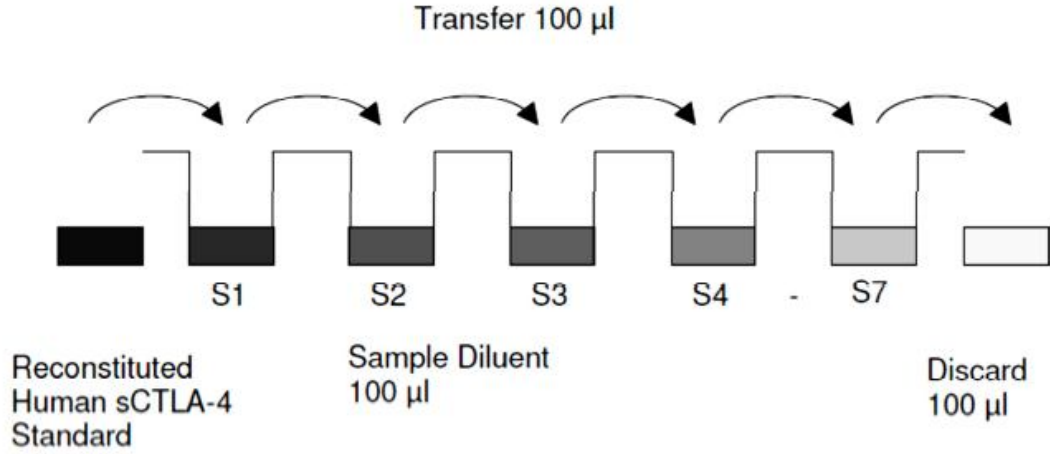
ELISA kitinde bulunan standart kalibratör dilüsyon tamponu, standartkonjugatlar, 96 kuyucuklu ELISA plağı ve diğer parçalar çalışmaya başlamadan en az 1 saat önce dolaptan çıkartılarak oda sıcaklığına gelmeleri beklenmiştir.

Yıkama solüsyonu hazırlanması; 50 ml yıkama solüsyonu distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

Biotin konjugatı hazırlama; kullanılmadan en az 30 dakika önce assay tamponu ile 1/100 oranında dilüe edilerek hazırlanır.

Streptavidin-HRP: kullanılmadan en az 30 dakika önce assay tamponu ile 1/100 oranında dilüe edilerek hazırlanır.

Standart hazırlanması, Kite bulunan 20ng/ml konsantrasyonundaki standart solüsyondan 100µl alınmış ve 100µl sample dilüentle karıştırılmış ve 10 ng/ml konsantrasyonundaki Standart 1 (S1) edilmiştir. Bu işlem sonrası standartlar seri dilüsyonlar yardımıyla 5 ng/ml, 50 pg/ml, 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml, 0,64 ng/ml, 0,32 ng/ml, 0,16 ng/ml konsantrasyonuna ayarlanmıştır.



Şekil- 1. CTLA-4 standart hazırlanması (www.abnova.com).

CTLA-4 ELISA testinin aşamaları,

- 1- Her kuyucuğa 100 μ l assay dilüent eklendi
- 2- Kuyucuklara 100 μ l standart, örnek veya kontrol eklendi
- 3- Kuyucuklara 50 μ l biotin-konjugat eklendi
- 4- Oda ısısında, karanlık bir ortamda 2 saat inkübe edildi
- 5- Yıkama tamponuyla üç kez yıkandı
- 6- Her kuyucuğa 100 μ l streptavidin-HRP eklendi
- 7- Oda ısısında, karanlık bir ortamda 1 saat inkübe edildi
- 8- Yıkama tamponuyla üç kez yıkandı
- 9- Her kuyucuğa 100 μ l substrat solüsyonu eklendi
- 10- Oda ısında 10 dakika inkübe edildi
- 11- 100 μ l stop solüsyonu eklenir, 1 dakika beklendi
- 12- 450-510 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır.

Tüm bu işlemler TRITURUS Tam otomatik ELISA cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

3.3. İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, “Statistical Package for Social Sciences for Windows” version 19 [SPSS Inc; Chicago, IL, USA] paket programı kullanılarak yapıldı.

Kantitatif verilerin analizi için normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov Testi ile incelenmiş olup; normal dağılıma sahip değişkenlerin analizinde parametrik yöntemler, normal dağılıma sahip olmayan değişkenlerin analizinde nonparametrik yöntemler kullanılmıştır. Bağımsız grupların gruplar arası karşılaştırılmasında *Independent T* Testi ve Mann-Whitney U testleri, çoklu grupların karşılaştırılmasında Oneway-Anova ve Kruskal-Wallis Testleri, Post Hoc analizleri için Benferonni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ve LSD testleri kullanılmıştır. Kalitatif verilerin birbirleriyle olan korelasyonlarını incelemek için ise Kendall Tau-b testi kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Chi-Square ve Fisher’s Exact testleri kullanılmıştır. Kategorik veriler n ve yüzdelerle ifade edilmiştir. Veriler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup p değeri 0,05’ in altında anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları-Romatoloji polikliniğinde takipli ve bilgilendirilmiş hasta onayı alınmış Ankilozan spondilit tanılı 38 hasta, Romatoid artrit tanılı 28 hasta ve 27sağlıklı kontrol olgusu dahil edildi. Bu grupların demografik özellikleri Tablo- III'te belirtilmiştir.

Tablo- III. Grupların demografik özellikleri.

	AnkilozanSpondilit	Romatoid Artrit	Kontrol	P-Değeri
Olgu Sayısı	38	28	27	-
Yaş (Yıl)	39,37±12,11 (19-70)	58,32±13,88 (22-90)	54,89±12,94 (33-80)	<0,001
Cinsiyet				
Erkek(n/ %)	24 (%63,2)	5(%17,9)	2 (%7,4)	<0,001
Kadın (n/ %)	14 (%36,8)	23(%82,1)	25 (%92,6)	

Tablo- IV. Hastalık süreleri.

Hastalık Süresi	Gruplar		P-Değeri
	AS	RA	
Medyan	19,00	30,00	0,545
IQR*	78,00	48,50	

(Mann-Whitney U Test)

* IQR: Inter Quartile Range

Tablo- V. Klinik bulgulara göre karşılaştırma: Ekstraartiküler tutulum.

Ekstraartiküler		Gruplar		P-Değeri
		AS	RA	
Yok	N	35	26	1
	Satır %	57,4%	42,6%	
	Sütun %	92,1%	92,9%	
Var	N	3	2	
	Satır %	60,0%	40,0%	
	Sütun %	7,9%	7,1%	

(Fisher Exact Test)

AS ve RA hasta grupları arasında ekstraartiküler tutulum açısından istatistiksel farklılık saptanmadı ($p=1$).

Tablo- VI. Klinik bulgulara göre karşılaştırma: AS hastalarında periferik artrit.

Periferik Artrit		AS
Yok	N	33
	Satır %	100,0%
	Sütun %	86,8%
Var	N	5
	Satır %	100,0%
	Sütun %	13,2%

AS hastalarının 33 tanesinde (%86,8) periferik artrit izlenmezken, 5 tanesinde (%13,2) periferik artrit kliniği gözlemlendi.

Ankilozan spondilit hastalarının laboratuvar bulguları Tablo- VII’de gösterilmiştir.

Tablo- VII. Biyokimyasal bulgular.

		Gruplar			P-Değeri
		AS	RA	Kontrol	
RF	Medyan	0,50	30,29	0,50	<0,001
	IQR*	0,00	64,87	1,57	
	$P(AS-RA)<0,001$ $P(AS-Kontrol)=0,114$ $P(RA-Kontrol)<0,001$				
ESR	Medyan	35,00	52,00	32,00	0,01
	IQR*	28,00	33,00	22,00	
	$P(AS-RA)=0,026$ $P(AS-Kontrol)=0,535$ $P(RA-Kontrol)=0,003$				
CRP	Medyan	12,92	10,81	5,34	0,014
	IQR*	27,36	10,47	10,05	
	$P(AS-RA)=0,496$ $P(AS-Kontrol)=0,010$ $P(RA-Kontrol)=0,014$				

Kruskal-Wallis Test (Post Hoc Test: Benferonni Düzeltmeli Mann-Whitney U Test $\alpha=0,017$)

*IQR: Inter Quartile Range

RF düzeyi açısından RA lehine gruplar arasında istatistiksel fark saptandı ($p<0,001$).

Ankilozan spondilit, RA ve sağlıklı kontrol gruplarının CRP düzeyleri karşılaştırıldığında; CRP düzeyi AS grubu RA grubu arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0,496$). AS hasta grubunda ise sağlıklı kontrolden anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,010$). Aynı şekilde RA hasta grubunda sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,014$).

Gruplar ESH düzeyleri açısından karşılaştırıldığında medyan değer AS grubunda 35 mm/saat, RA'de 52 mm/saat ve sağlıklı kontrol grubunda 32 mm/saat saptandı. AS ile RA hasta grupları arasında RA lehine ESH yüksekliği saptandı ($p=0,026$).

Ankilozan spondilit hastalarının serum sCTLA-4 düzeyi sağlıklı kontrol ve RA hasta grubuna göre daha yüksek saptandı ve yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Sağlıklı kontrol grubu ile RA grubu arasında fark saptanmadı. Grupların serum sCTLA-4 düzeyleri ve p değeri Tablo- VIII'de gösterilmiştir.

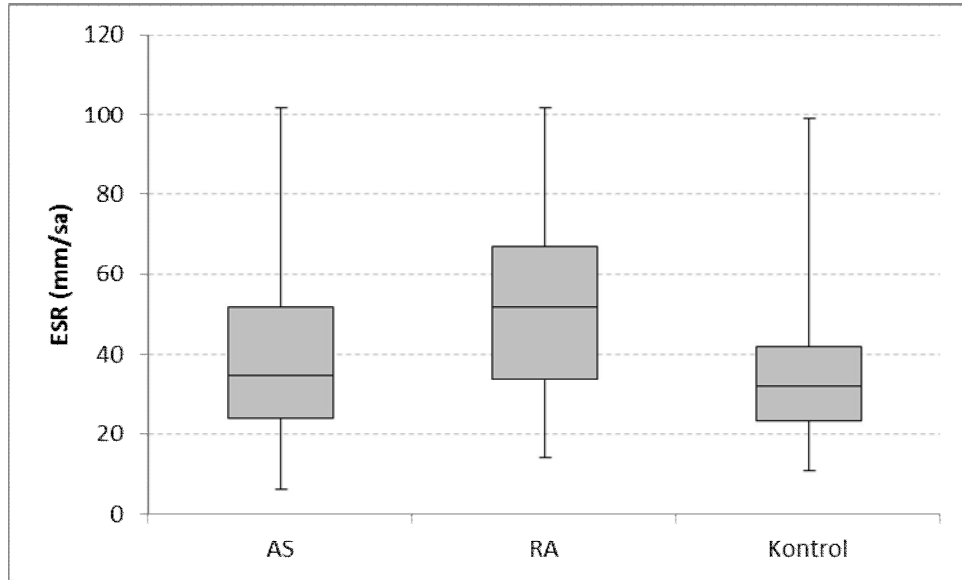
Tablo- VIII. Grupların serum sCTLA-4 düzeyi.

		Gruplar			<i>P</i> -Değeri
		AS	RA	Kontrol	
CTLA-4	Medyan	0,22	0,04	0,04	<0,001
	IQR [*]	0,09	0,01	0,03	
	<i>P</i> (AS-RA)<0,001 <i>P</i> (AS-Kontrol)<0,001 <i>P</i> (RA-Kontrol)=0,889				

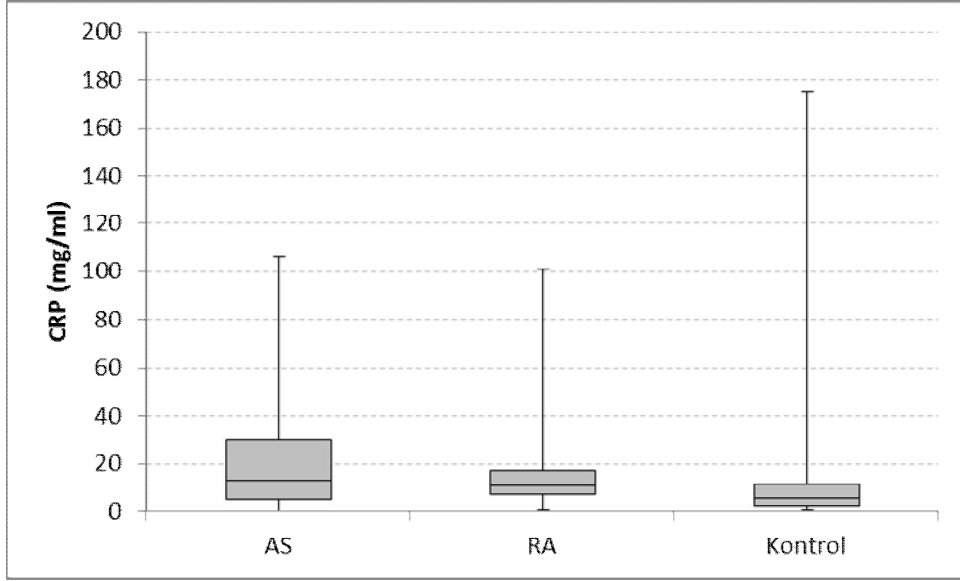
Kruskal-Wallis Test (Post Hoc Test: Benferonni Düzeltmeli Mann-Whitney U Test, $\alpha=0,017$)

*IQR: Inter Quartile Range

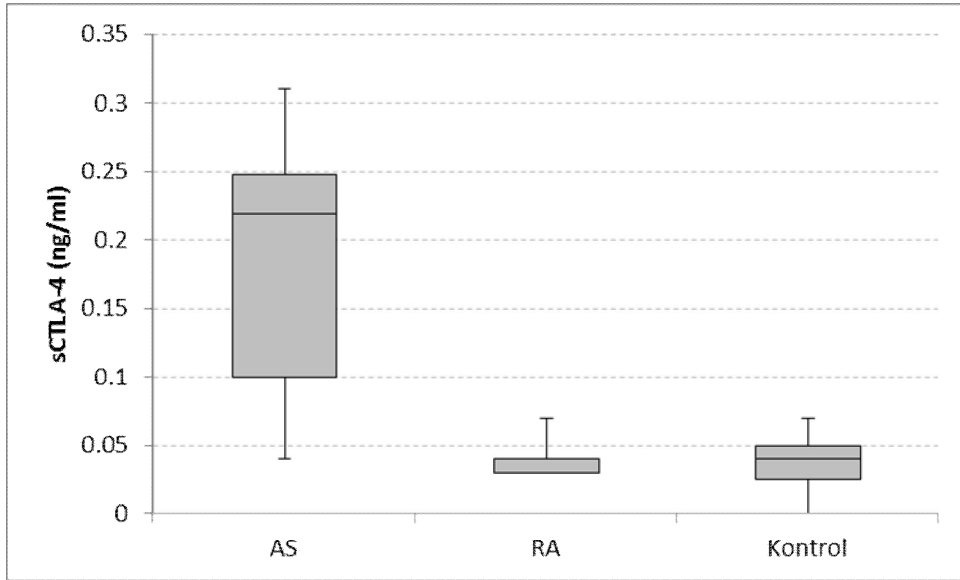
Tablo- VII ve Tablo- VIII’de listelenen biyokimyasal bulguların AS, RA ve kontrol grupları arası görsel karşılaştırması Şekil- 2, Şekil- 3 ve Şekil- 4’te sunulmaktadır.



Şekil- 2. Grupların ESR düzeyi karşılaştırması.



Şekil- 3. Grupların CRP düzeyi karşılaştırması.



Şekil- 4. Grupların sCTLA-4 düzeyi karşılaştırması.

- Ankilozan spondilit hastalarında sCTLA-4 düzeyi ile yaş ($r=-0,382$ $p=0,0$), hastalık süresi ($r=0,06$ $p=0,949$), BASDAİ ($r=0,115$ $p=0,370$), RF ($r=-0,342$ $p=0,0$), CRP ($r=0,136$ $p=0,067$) ve ESH ($r=-0,114$ $p=0,129$) değerleri arasında korelasyon saptanmamıştır.
- Ankilozan spondilit hastalarında hastalık süresine göre sCTLA-4 düzeyleri ($r=0,006$ $p=0,949$), yaş ($r=0,160$ $p=0,0$), RF düzeyleri ($r=0,099$ $p=0,287$), CRP düzeyleri ($r=0,128$ $p=0,138$) ve ESH ($r=0,017$ $p=0,846$) arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Ankilozan spondilit hastalarında sCTLA-4 düzeyi ile yaş ($r=-0,382$ $p=0,0$), hastalık süresi ($r=0,06$ $p=0,949$), BASDAİ ($r=0,115$ $p=0,370$), RF ($r=-0,342$ $p=0,0$), CRP ($r=0,136$ $p=0,067$) ve ESH ($r=-0,114$ $p=0,129$) değerleri arasında korelasyon saptanmamıştır.

- Ankilozan spondilit hastalarında hastalık süresine göre sCTLA-4 düzeyleri ($r=0,006$ $p=0,949$), yaş ($r=0,160$ $p=0,0$), RF düzeyleri ($r=0,099$ $p=0,287$), CRP düzeyleri ($r=0,128$ $p=0,138$) ve ESH ($r=0,017$ $p=0,846$) arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo- IX’da sunulan çapraz korelasyon analizi sonuçlarına göre şu çıkarımlar yapılabilmektedir:

- Ankilozan spondilit hastalarında sCTLA-4 düzeyi ile yaş ($r=-0,382$ $p=0,0$), hastalık süresi ($r=0,06$ $p=0,949$), BASDAİ ($r=0,115$ $p=0,370$), RF ($r=-0,342$ $p=0,0$), CRP ($r=0,136$ $p=0,067$) ve ESH ($r=-0,114$ $p=0,129$) değerleri arasında korelasyon saptanmamıştır.
- Ankilozan spondilit hastalarında hastalık süresine göre sCTLA-4 düzeyleri ($r=0,006$ $p=0,949$), yaş ($r=0,160$ $p=0,0$), RF düzeyleri ($r=0,099$ $p=0,287$), CRP düzeyleri ($r=0,128$ $p=0,138$) ve ESH ($r=0,017$ $p=0,846$) arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo- IX. Biyokimyasal testlerin ve kliniğin birbiriyle korelasyonu.

		RF	ESR	CRP	CTLA-4	Hastalık Süresi	BASDAİ
Yaşı	r	,249**	,203**	-,012	-,382**	,160	,000
	P-Değeri	,001	,005	,866	,000	,065	1,000
RF	r		,193*	,041	-,342**	,099	,197
	P-Değeri		,013	,593	,000	,287	,166
ESR	r			,310**	-,114	,017	,309*
	P-Değeri			,000	,129	,846	,012

CRP	r	,136	,128	,730**
	P-Değeri	,067	,138	,000
CTLA-4	r		,006	,115
	P-Değeri		,949	,370
Hastalık Süresi	r			,192
	P-Değeri			,123

(Kendall's Tau-b Test)

- Ankilozan spondilit hastalarında BASDAİ skoruna göre sCTLA-4 düzeyleri ($r=0,115$ $p=0,370$), RF düzeyi ($r=0,197$ $p=0,166$), CRP düzeyleri ($r=0,730$ $p=0,0$) ve hastalık süresi ($r=0,192$ $p=0,123$) arasında anlamlı fark saptanmamıştır.
- AS hastalarında BASDAİ skoru arttıkça ESH düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ($r=0,309$ $p=0,012$).
- AS hastalarının yaşı arttıkça ESH düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ($r=0,203$ $p=0,005$).
- AS hastalarının yaşı arttıkça RF düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ($r=0,249$ $p=0,001$).

5. TARTIŞMA

AS'nin etiyolojisi bilinmese de çevresel ve genetik faktörler tarafından tetiklenen otoimmün bir hastalık olduğu öngörülmektedir (112). Patogenetik mekanizmalar netliğe kavuşmasa da HLA-B27 ve AS arasındaki kuvvetli ilişki diğer hiçbir HLA ve hastalık arasında bulunmamaktadır. En favori hipotezlerden biri de belirli bir bakteriye karşı duyarlılaşan T hücre otoreaktivasyonu sonucunda eklem veya entezal kıkırdak ve bakteri kökenli peptidler arasındaki çapraz-reaksiyon sonucunda hastalık gelişimidir (113).

Koinhibitör moleküllerin negatif sinyallerindeki defekt otoreaktif lenfosit aktivitesinde bozukluk sonucunda otoimmun hastalıklara neden olabilmektedir. Bu kavram ilk olarak CTLA-4 eksik farelerde lenfosit hiperreaktivasyonu adıyla kanıtlanmıştır. CTLA-4 eksik fareler multiorgan lenfosit infiltrasyonu ile olan lenfoproliferatif hastalık sonucunda 3-4 haftada ölmüş (114,115). İnsanlarda CTLA-4 Graves hastalığı, otoimmün hipotiroidizm, tip 1 diyabetes mellitus, sistemik lupus eritematozus ve çölyak hastalığı gibi birçok otoimmün hastalıkla ilişkilendirilmektedir (116,117).

CTLA-4 T hücre fonksiyonunu negatif regüle eder (118,119). T hücresinde aktivasyon ve CD28-ligand ilişkisi arttığında CTLA-4 hücre yüzeyinde hızla artar. CTLA-4 ligand etkileşimi sonucunda T hücre erken aktivasyonu antagonize edilir, IL-2 üretimi azalır, hücre siklusu ilerleyişi inhibe olur, siklin üretimi ve T hücre reseptör sinyal geçişi azalır (120,121). Ayrıca, CTLA-4 T hücre aktivasyon ve fonksiyonunu baskılayan düzenleyici T hücrelerinde de saptanmıştır (122,123).

Toussier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, AS'li 165 hasta (immünsüpresif tedavi almamış), kontrol hasta grubu olarak 71 RA'lı hasta, 14 SLE'li ve 88 sağlıklı kontrolde, sCTLA-4 serum seviyeleri de dahil olmak üzere lenfosit intraselüler CTLA-4 düzeyleri, CTLA-4 mRNA düzeyleri, hastalık klinik bulguları ve hastalıklar kendi aralarındaki ilişki değerlendirilmiş (1). sCTLA-4 düzeyi AS ve RA grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. AS grubunda ise RA'dan istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. BASDAI hastalık indeksi artışı ile sCTLA-4 arasında pozitif ilişki saptanmıştır. sCTLA-4 düzeyi artışının değişmiş hücre içi genetik ekspresyonla değil, CTLA-4 transkript RNA eklenmiş formunun tercihli ekspresyonu sonucu elde edildiği ve RA'da saptanmadığı gözlenmiştir. Sonuç olarak AS'de sCTLA-4'ün hastalık aktivitesinin ölçen bir marker olması öngörülmüştür. Bizim çalışmamızda ise BASDAI ve sCTLA-4 düzeyi arasında anlamlı ilişki

saptanmamıştır. Toussiot ve arkadaşlarının çalışmasıyla karşılaştırıldığında, bu çalışmaya dahil edilen AS hastalarının hastalık süresinin (ortalama 9,2 yıl) bizim çalışmamızdaki hastalık süresinden (ortalama 19 ay) uzun olduğu gözlemlendi. Hasta grubu ESH değerlerimiz benzer olmasına rağmen CRP değerleri karşılaştırıldığında diğer çalışmada belirgin yükseklik mevcuttu. Her iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde sCTLA-4 düzeyi RA ve sağlıklı kontrole göre AS grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Ancak çalışmamızda hastalık aktivite indeksi ve sCTLA-4 düzeyi arasında ilişki bulunamamıştır. Belki de bu sonuçta BASDAİ hastalık indeksinin subjektif bir test olmasının da etkisi olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca laboratuvar değerlerimizdeki hasta grup farklılıkları iki çalışma arasında AS gruplarında aktivite değişkenliğine neden olabilir.

sCTLA-4 düzeyi ve sistemik skleroz hastalarında klinik ilişkisi konusunu araştıran diğer bir çalışma ise Sato ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadır (10). Bu çalışmada 32 diffüz sistemik skleroz (dSSc), 27 cilde sınırlı sistemik skleroz (SSc) ve 23 sistemik lupus eritematozus (SLE) hastasında serum sCTLA-4 düzeyi bakılmış. Çalışma sonucunda serum sCTLA-4 düzeyinin 16 dSSc hastasında sağlıklı kontrole göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek saptanmış. Bu bulguların aksine sCTLA-4 düzeyi SSc ve SLE'de normal bulunmuş. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmış. sCTLA-4 düzeyi yüksek saptanan SSc hastalarının hastalık süresi daha kısa olup el parmak pitting lezyonu, falanks kontraktürü, diffüz pigmentasyon, pulmoner fibrozis ve akciğer vital kapasite düşüklüğü görülme olasılığı daha yüksek bulunmuş. sCTLA-4 seviyeleri cilt fibrozis yaygınlığı, serum IgG seviyeleri ve anti-topomerez I antikor seviyesiyle pozitif korelasyon göstermiştir. Bu çalışmada sCTLA-4 düzeyi SSc aktivite ve yaygınlığı ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışma hasta grupları farklı olsa da, bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında hastaların ilk vizitte kan örneği alındığında herhangi bir ilaç kullanmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise anti-TNF kullananlar çalışmadan çıkarılmasına rağmen hastalarımızın büyük bir kısmı bir veya fazla DMARD tedavisi altındadır. Bu ilaçların kullanımının AS hastalarında sCTLA-4 düzeyi üzerine etkisi bilinmemekle birlikte hastalık aktivitesi üzerinde baskılayıcı etkisi mevcuttur.

Yukarıda değerlendirilen iki çalışmayı kendi çalışmamızla karşılaştırdığımızda, biz hastalık aktivitesi indeksi ile sCTLA-4 arasında anlamlı bir ilişki bulamadık. Bu farklı sonuçlar CTLA-4'ün polimorfizmi ve ırklar arası varyasyonlara bağlı olabileceğinden, genetik çalışmalarla birlikteliğe öncelik vermek daha doğru olabilir. Lee ve arkadaşlarının Taiwan'lı AS hastalarında CTLA-4 polimorfizmi ve sitokin genleri üzerine çalışmasında da vurguladığı

gibi AS hastalarında inflamasyonu denetleyen gen alleli değişken olabilmektedir (2). Ayrıca bu çalışmalardaki farklılıklara neden olarak kit ve cihazların aynı olmamasının da etkili olabileceği gözardı edilmemelidir.

Çalışmamızda ayrıca 28 RA hastasında da sCTLA-4 düzeyi değerlendirildi ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı. Literatürde RA hastaları ve sağlıklı kontrol hastalarında bu ko-stimülatör moleküle ek olarak sCD28, sCD80 ve sCD86 seviyeleri açısından karşılaştırılmalı çalışmalar mevcuttur (124). Bu çalışmada DAS28 hastalık aktivite indeksi ile sCTLA-4 düzeyi arasında anlamlı ve pozitif korelasyon saptanmıştır. Dahası, leflunomid gibi immün sistemi baskılayıcı ilaçlar sCTLA-4 ve diğer ko-stimülatör molekül serum düzeylerini düşürebilmektedir. Bu çalışma ile kendi çalışma sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda ise, RA kontrol grubumuzdaki hastalar ilaç kullanımı konusunda homojen olmayıp immün baskılayıcı ilaç kullananlar mevcuttur ve bu da sCTLA-4 düzeyinin düşüklüğünü açıklamaktadır.

Bizim çalışmamızda, AS ko-stimülatör düzeyi ile klinik ve laboratuvar parametreler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde, hastalarımızda molekül düzeyi düşük saptanmasından dolayı herhangi bir pozitif ya da negatif korelasyon saptanmamıştır. Bu düşük sCTLA-4 düzeyleri muhtemelen, daha önce belirtildiği gibi hastalığın genetik varyasyon özelliğine ve immünsüpresif tedavi almış olmaları nedeniyle meydana gelmiş olabilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz diğer bir sonuç ise, AS hastalarında BASDAİ skoruna göre sCTLA-4 düzeyleri, RF düzeyi, CRP düzeyleri ve hastalık süresi arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Sadece AS hastalarında BASDAİ skoru arttıkça ESH düzeyi anlamlı olarak artmaktadır. Hastalık aktivite indeksi ve bir inflamasyon belirteci olan ESH yüksekliği arasındaki pozitif korelasyon beklendiği gibi sonuçlanmıştır.

AS patogenezinde rol aldığı düşünülen sCTLA-4'ün dahil olduğu birçok molekül ve ko-stimülatörlerin otoimmünite üzerindeki etkileri ve klinik bulgularla ilişkilerinin olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır (125). Bizim çalışmamızın diğer çalışmalara göre farklılığı hasta sayısının kısıtlı olması ve genetik varyasyon analizi yapılamamış olmasıdır. Homojen olmayan immünsüpresif ilaç kullanımının da molekül düzeylerinin hastalık ile korelasyonunu etkilemiş olabileceği öngörülmüştür.

Çalışmamızın kısıtlılığını oluşturan nedenler arasında AS hastalarına geç tanı konulması, erken dönem aktif bulguları olan hastaların yakalanamaması, hasta ve kontrol grubu sayılarının nispeten az olması sayılabilir. Hastalık nadir görülmese de erken tanı

konulan, DMARD'a cevapsız hastalara anti-TNF başlanması nedeniyle uygun hasta toplamak çalışmanın zorluğunu oluşturmaktadır. Erken dönem hastalarda ilk vizitte serum ko-stimulatör ve klinik bulgularının tedavili ve tedavisiz randomize edilerek prospektif takibi yapılması şeklinde bir çalışmanın bu moleküllerin hastalığın patogenezinde yerinin daha iyi anlaşılmasının sağlayacağı kanısındayız. Bu şekilde tasarlanan bir çalışmanın, anti-TNF başlanma kolaylığı göz önüne alındığında çok merkezli olması uygun olabilir. Ayrıca ko-stimulatörlerdeki genetik farklılıklar ve ürünleri arasındaki ilişki klinik bulgularla korele bir şekilde çalışmaya dahil edilmelidir.

6. ÖZET

ANKİLOZAN SPONDİLİT PATOGENEZİNDE sCTLA-4'ÜN YERİ VE KLİNİK BULGULARLA İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç ve Hipotez: Ankilozan Spondilit T hücre aktivasyonunu da kapsayan anormal immün yanıt ile karakterizedir. CTLA-4 immün sistemi baskılasa da, birçok otoimmün hastalıkta serumda çözünebilen formu yüksek olarak saptanmıştır. Biz bu çalışmamızda sCTLA-4 serum düzeyleri ile Ankilozan Spondilit hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi saptamayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya AS'li 38 hasta, RA'lı 28 hasta ve 27 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubunda sCTLA-4 serum seviyelerine ELISA yöntemi ile bakıldı. Tüm olguların ESH, CRP ve demografik özellikleri kaydedildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: RA grubu ve sağlıklı gruba göre karşılaştırıldığında AS grubunda serum sCTLA-4 düzeyi yüksek bulundu ($p<0,001$). sCTLA-4 düzeyleri AS hastalık aktivitesiyle korele değildi ($p=0,370$). AS hastalarında ESH ve BASDAİ skoru arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,012$).

Sonuç: sCTLA-4 serum düzeylerinin AS hastalık patogenezindeki rolünü araştırdığımız çalışmamızda, hasta ve sağlıklı kontrol grupları ile AS hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptandı ($p<0,001$). AS hastalarında erken tanı önemlidir. Gelecekte hastalığa özgü laboratuvar tanı testlerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle erken evre AS hastalarının, sitokin seviyeleri ve klinik bulgular arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar gereklidir. AS hastalarında sCTLA-4 seviyeleri ile hastalık aktivasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanamamasına rağmen, bu sitokin seviyeleri AS'nin erken tanısında kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: sCTLA-4, sitokin, ankilozan spondilit

İletişim Adresi: karataypinar@yahoo.com

7. ABSTRACT

THE ROLE OF sCTLA-4 IN PATHOGENESIS OF ANKYLOSING SPONDYLITIS AND EVALUATION OF ITS RELATION WITH CLINICAL MANIFESTATIONS

Aim and Hypothesis: Ankylosing Spondylitis (AS) is characterized by abnormal immune responses including T cell activation. Although Cytotoxic T lymphocyte associated molecule-4 (CTLA-4) is involved in down-regulating immune responses, a soluble form of CTLA-4 (sCTLA-4) has been identified and was found at high levels in several autoimmune diseases. We aimed to determine the relation between the serum levels of sCTLA-4 and AS disease activity.

Methods: In this work, 38 AS patients, 28 RA patients and 27 healthy controls were studied. sCTLA-4 cytokine level for each patient was determined with the ELISA method. ESR, CRP and demographic characteristics were recorded for each patient group. Obtained experimental data were statistically compared.

Results: Compared to the RA group and healthy controls, high levels of sCTLA-4 were found in the AS group ($p<0,001$). Soluble CTLA-4 serum levels were not correlated with the clinical index of disease activity ($p=0,370$). A correlation was noted between the serum levels of ESH and BASDAI for the AS group ($p=0,012$).

Conclusion: Our study investigates the role of sCTLA-4 levels in the pathogenesis of AS, and establishes a statistically meaningful difference between the serum levels of sCTLA-4 in AS patients, and those in RA patients and healthy controls ($p<0,001$). Early diagnosis is important in AS patients, and disease-specific diagnostic tests are required for this purpose. Consequently, further research is needed to explore the relation between cytokine levels and clinical findings for the early-stage AS patients. While a meaningful relation was not observed between the sCTLA-4 levels and the disease activity in AS patients, nevertheless, these cytokine levels can be used for the early diagnosis of AS.

Key words: sCTLA-4, cytokine, Ankylosing Spondylitis

Communication address:karataypinar@yahoo.com

8. KAYNAKLAR

- 1) E. Toussiro, P. Saas, M. Deschamps, F. Pouthier, L. Perrot, S. Perruche, J. Chabod, P. Tiberghien, D. Wendling: Increased production of soluble CTLA-4 in patients with spondylarthropathies correlates with disease activity, *Arthritis Research & Therapy* 2009,11:R101 (doi:10.1186/ar2747).
- 2) W.-Y.Lee, Y.-H.Chang, M.-K. Lo , et al : Polymorphisms of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and cytokine genes in Taiwanese patients with ankylosing spondylitis, 2009 John Wiley&Sons *A/S Tissue Antigens* 75,119-126 (doi:10.1111/j.1399-0039.2009.*1411.x).
- 3) D.J. Lenschow, T.L. Walunas, J.A. Bluestone: CD28/B7 system of T cell costimulation. *Ann Rev Immunol* 1996; 14:233-58.
- 4) C.B. Thompson, J.P.Allison: The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. *Immunity* 1997; 7:445-50.
- 5) M.K. Oaks, K.M.Hallett, R.T.Penwell,E.C.Stauber, S.J.Warren, A.J.Tector: A native soluble form of CTLA-4.*Cell Immunol* 2000;201:144-53.
- 6) W.A.Teft, M.G Kirchhof, J.Madrenas: A molecular perspective of CTLA-4 function. *Annu Rev Immunol* 2006,24;65-97.
- 7) M.K.Oaks, K.M.Hallett: Cutting edge: a soluble form of CTLA-4 in patients with autoimmune thyroid disease. *J Immunol* 2000,164:5015-5018.
- 8) X.B.Wang, M. Kakuolidou, R.Giscombe, Q.Qui, D.R.Huang, R.Pirskanen, A.K.Lefvert: Abnormal expression of CTLA-4 by T cells from patients with myasthenia gravis: effect of an AT-rich sequence. *J Neuroimmunol* 2002,130:224-232.
- 9) M.F.Liu, C.R.Wang, P.C.Chen, L.L.Fung: Increased expression of soluble cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 molecule in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2003,57:568-572.
- 10) S.Sato,M.Fujimoto,M.Hasegawa,K.Komura,K.Yanaba,I.Hayakawa,T.Matsushita,K.Takehara:Serum soluble CTLA-4 levels are increased in diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Rheumatology* 2004,43;1261-1266.

- 11) G.Slobodin, I. Rosner, D. Rimar, N. Boulman, M. Rozenbaum, M. Odeh: Anklosing Spondylitis:Field in Progress.*IMAJ* 2012,14;763-767.
- 12) M.Rudwaleit, H.Haibel, X. Baraliakos, *et al*: The early disease stage in axial spondylarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Arthritis Rheum* 2009; 60:717-27.
- 13) G. Slobodin, I. Reyhan, N. Avshovich, *et al*: Recently diagnosed axial spondyloarthritis: gender differences and factors related to delay in diagnosis. *Clin Rheumatol* 2011; 30 (8):1075-80.
- 14) M. J Philip, Spondyloarthritis Update. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 2008;66(3):203-9.
- 15) H. Loch, E. Kihlstrom, F.D. Lindstrom: Reactive arthritis after salmonella among medical doctors: study of an outbreak. *J Rheumatol* 1993; 20:845-8.
- 16) J.D. Taurog: The mystery of HLA-B27: if it isn't one thing, it's another. *Arthritis Rheum* 2007;56:2478–81.
- 17) M.A. Brown: Genetics and the pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:318–323.
- 18) P.K. Gregersen, L.M. Olsson: Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:363–391.
- 19) R. Imrich, J. Rovensky, M. Zlnay, Z. Radikova, L. Macho, M. Vigas, J. Koska: Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2004;63:671–674.
- 20) E. Vinet, C. Pineau, C. Gordon, A.E. Clarke, S. Bernatsky: Anti-TNF therapy and pregnancy outcomes in women with inflammatory arthritis. *Expert Rev Clin Immunol* 2009 Jan;5(1):27-34.
- 21) Ankylosing spondylitis and urogenital infection. *Br Med J* 1960;1:865–6.
- 22) P.A.Csango, M.T. Upsahl, O. Romberg, L. Kornstad, I. Sarov: Chlamydia trachomatis serology in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 1987;6:384–90.
- 23) E. Kihlstrom, A. Gronberg, A. Bengtsson: Immunoblot analysis of antibody response to Chlamydia trachomatis in patients with reactive arthritis and ankylosing spondylitis. *Scand J Rheumatol* 1989;18:377–83.
- 24) M. van der Paardt, J.C.van Denderen, A.J. van den Brule, S.A. Morre, I.E. van der Horst-Bruinsma, P.D. Bezemer, *et al*: Prevalence of Chlamydia trachomatis in urine

- of male patients with ankylosing spondylitis is not increased. *Ann Rheum Dis* 2000;59:300–2.
- 25) H.Y. Chung, P. Machado, D. van der Heijde, M.A. D’Agostino, M. Dougados: Smokers in early axial spondyloarthritis have earlier disease onset, more disease activity, inflammation and damage, and poorer function and health related quality of life: results from the DESIR cohort. *Ann Rheum Dis* 2012; 71: 809-16.
 - 26) R.G. Francois, L. Neure, J. Sieper, J. Braun: Immunohistological examination of open sacroiliac biopsies of patients with ankylosing spondylitis: detection of tumor necrosis factor-alpha in two patients with early disease and transforming growth factor beta in three more advanced cases. *Ann RheumDis* 2006; 65:713-20.
 - 27) H. Appel, R. Maier, P. Wu, *et al*: Analysis of IL-17+ cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis Res Ther* 2011; 13:R95.
 - 28) D.L. Longo, D.L. Kasper, J.L. Jameson: The Spondyloarthritides Pathogenesis. *Harrison Internal Medicine*, 18th ed, 2012:2774.
 - 29) M. Rudwaleit, S. Siebert, Z. Yin,*et al*: Low T cell production of TNF-alpha and INF-gamma in ankylosing spondylitis: its relation to HLA-B27 and influence of the TNF-308 gene polymorphism. *Ann Rheum Dis* 2000;60:36-42.
 - 30) M. Khan: Update on Spondyloarthropathies. *Ann Intern Med* 2002;136:896–907.
 - 31) M. Rudwaleit, *et al*: Inflammatory Back Pain in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis & Rheumatism* 2006;54(2):569–578.
 - 32) M. Rudwaleit, M. Khan, J. Sieper: The Challenge of Diagnosis and Classification of Ankylosing Spondylitis. *Arthritis & Rheumatism* 2005;52(4):1000–1008.
 - 33) J. Sieper, J. Braun, M. Rudwaleit, A. Boonen, A. Zinch: Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis* 2002;61(sup iii):iii8–iii18.
 - 34) M. Rudwaleit M, *et al*: Inflammatory Back Pain in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis & Rheumatism* 2006;54(2):569–578.
 - 35) M. Khan: Update on Spondyloarthropathies. *Ann Intern Med* 2002;136:896–907.
 - 36) D. Kane, S. Pathare: Early Psoriatic Arthritis. *Rheum Dis Clin N Am* 2005;31:641–657.

- 37) O. Palm, *et al*: Prevalence of Ankylosing Spondylitis and Other Spondyloarthropathies Among Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Population Study (The IBSEN Study). *J Rheumatol* 2002;29:511–5.
- 38) M. Rudwaleit, D. van der Heijde, M. Khan, J. Braun, J. Sieper: How to Diagnose Axial Spondyloarthropathy Early. *Ann Rheum Dis* 2004;63:535–543.
- 39) J. Sieper, *et al*: Diagnosing Reactive Arthritis: Role of Clinical Setting in the Value of Serologic and Microbiologic Assays. *Arthritis & Rheumatism* 2002;46(2):319–327.
- 40) N. Turkcapar, *et al*: The prevalence of extraintestinal manifestations and HLA association in patients with inflammatory bowel disease. *Rheumatol Int* 2006;26:663–668.
- 41) J.M. Moll, V. Wright: New York clinical criteria for ankylosing spondylitis: a statistical evaluation. *Ann Rheum Dis* 1973;32:354-63.
- 42) S. van der Linden, H.A. Valkenburg, A. Cats: Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27:361-8.
- 43) A. Spoorenberg, A. van Tubergen, R. Landewé, M. Dougados, S. van der Linden, H. Mielants, H. van de Tempel, D. van der Heijde: Measuring disease activity in ankylosing spondylitis: patient and physician have different perspectives. *Rheumatology (Oxford)* 2005 Jun;44(6):789-95.
- 44) A. Spoorenberg, D. van der Heijde, E. de Klerk, M. Dougados, K. de Vlam, H. Mielants, *et al*: Relative value of the erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in assessment of disease activity in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1999;26:980–4.
- 45) D. van der Heijde, B. Dijkmans, P. Geusens, J. Sieper, K. DeWoody, P. Williamson, *et al*: Efficacy and safety of infliximab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, placebo-controlled trial (ASSERT). *Arthritis Rheum* 2005;52:582–91.
- 46) M-C. Park, S-W. Lee, S-T. Choi, Y-B. Park, S-K. Lee: Bone and cartilage turnover markers, bone mineral density, and radiographic damage in men with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2005;52(suppl):S641.
- 47) M. Rudwaleit M, D. van der Heijde, R. Landewe, *et al*: The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial

- spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *AnnRheum Dis* 2009; 68:777-83.
- 48) U. Weber, R.G. Lambert, M. Ostergaard, J. Hodler, S.J. Pedersen, W.P. Maksymowych: The diagnostic utility of magnetic resonance imaging in spondylarthritis: an international multicenter evaluation of one hundred eighty-seven subjects. *Arthritis Rheum* 2010; 62:3048-58.
 - 49) V. Devauchelle-Pensec, M.A. D'Agostino, J. Marion, *et al*: Computerized tomography scan facilitates the diagnosis of sacroiliitis in patients with suspected spondyloarthritis: Results of the ECHOSPA cohort. *Arthritis Rheum* 2012; 64:1412-19.
 - 50) H. Dagfinrud, T.K. Kvein, K. Hagen: Physiotherapy interventions for ankylosing spondylitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(4):CD002822.
 - 51) A.P. Cairns, S.A. Wright, A.J. Taggart, S.M. Coward, G.D. Wright: An open study of pulse pamidronate treatment in severe ankylosing spondylitis, and its effect on biochemical markers of bone turnover. *Ann Rheum Dis* 2005;64:338-9.
 - 52) J.Zochling, D. van der Heijde, M. Dougados, J. Braun: Current evidence for the management of ankylosing spondylitis: a systematic literature review for the ASAS/EULAR management recommendations in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2006;65:423-32.
 - 53) A. Wanders, D. Heijde, R. Landewe, J.M. Behier, A. Calin, I. Olivieri, *et al*: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2005;52:1756-65.
 - 54) J.Chen, C. Liu: Sulphasalazine for ankylosing spondylitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(2):CD004800.
 - 55) W.P. Maksymowych, G.S. Jhangri, A.A. Fitzgerald, S. LeClerq, P. Chiu, A. Yan, *et al*: A six-month randomised, controlled, double-blind, dose-response comparison of intravenous pamidronate (60 mg versus 10 mg) in the treatment of nonsteroidal anti-inflammatory drug-refractory ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2002;46:766-73.
 - 56) J.D. Gorman, K.E. Sack, J.C. Davis Jr: Treatment of ankylosing spondylitis by inhibition of tumour necrosis factor alpha. *N Engl J Med* 2002;346:1349-56.

- 57) A. Barr, A. Keat: Spondyloarthritides: evolving therapies. *Arthritis Research & Therapy* 2010, 12:221.
- 58) J. Braun, J. Brandt, J. Listing, A. Zink, R. Alten, W. Golder, E. Gromnica-Ihle, H. Kellner, A. Krause, M. Schneider, H. Sorensen, H. Zeidler, W. Thriene, J. Sieper: Treatment of active ankylosing spondylitis with infliximab: a randomised controlled multicentre trial. *Lancet* 2002, 359:1187-1193.
- 59) M. Rudwaleit, J. Listing, J. Brandt, J. Braun, J. Sieper: Prediction of a major clinical response (BASDAI 50) to tumour necrosis factor alpha blockers in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2004, 63:665-670.
- 60) J. Brandt, A. Khariouzov, J. Listing, H. Haibel, H. Sorensen, L. Grassnickel, M. Rudwaleit, J. Sieper, J. Braun: Six-month results of a double-blind, placebo-controlled trial of etanercept treatment in patients with active ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2003, 48:1667-1675.
- 61) A. Gottlieb, N.J. Korman, K.B. Gordon, S.R. Feldman, M. Lebwohl, J.Y. Koo, A.S. van Voorhees, C.A. Elmetts, C.L. Leonardi, K.R. Beutner, R. Bhushan, A. Menter: Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: section 2. Psoriatic arthritis: overview and guidelines of care for treatment with an emphasis on the biologics. *J Am Acad Dermatol* 2008, 58:851-864.
- 62) A. Boonen, T. Brinkhuizen, R. Landewe, D. van der Heijde, J.L. Severens: Impact of ankylosing spondylitis on sick leave, presenteeism and unpaid productivity, and estimation of the societal cost. *Ann Rheum Dis* 2010, 69:1123-1128.
- 63) W.P. Maksymowych, K.L. Gooch, R.L. Wong, H. Kupper, D. van der Heijde: Impact of age, sex, physical function, health-related quality of life, and treatment with adalimumab on work status and work productivity of patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2010, 37:385-392.
- 64) D. van der Heijde, C. Han, K. De Vlam, G. Burmester, F. van den Bosch, P. Williamson, M. Bala, J. Han, J. Braun: Infliximab improves productivity and reduces workday loss in patients with ankylosing spondylitis: results from a randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2006, 55:569-574.
- 65) P. Emery, P. Durez, M. Dougados, C.W. Legerton, J.C. Becker, G. Vratsanos, H.K. Genant, C. Peterfy, P. Mitra, S. Overfield, K. Qi, R. Westhovens: Impact of T-cell costimulation modulation in patients with undifferentiated inflammatory arthritis or

- very early rheumatoid arthritis: a clinical and imaging study of abatacept (the ADJUST trial). *Ann Rheum Dis* 2010, 69:510-516.
- 66) Orencia (Sbatacept): Summary of Product Characteristics [<http://www.medicines.org.uk/EMC/medicine/19714/SPC/ORENCIA+250+mg+powder+for+concentrate+for+solution+for+infusion/>].
 - 67) M. Schiff, L. Bessette: Evaluation of abatacept in biologic-naïve patients with active rheumatoid arthritis [includes some 2-year data from ATTEST trial]. *Clin Rheumatol* 2010, 29:583-591.
 - 68) M. Schiff, M. Keiserman, C. Coddington, S. Songcharoen, A. Berman, S. Nayiager, C. Saldate, R. Aranda, J.C. Becker, C. Zhao, M. Le Bars, M. Dougados: Two-year efficacy and safety in abatacept-treated patients with RA who received continuous therapy or switched from infliximab to abatacept: the ATTEST trial. *Ann Rheum Dis* 2009, 38:575.
 - 69) R. Westhovens, J. Kremer, L. Moreland, P. Emery, A. Russell, T. Li, R. Aranda, J.-C. Becker, K. Qi, M. Dougados: Safety and efficacy of the selective costimulation modulator abatacept in patients with rheumatoid arthritis receiving background methotrexate: a 5-year extended phase IIB study. *J Rheumatol* 2009, 36:736-742.
 - 70) M. Schiff, C. Pritchard, J.E. Huffstutter, V. Rodriguez-Valverde, P. Durez, X. Zhou, T. Li, K. Bahrt, S. Kelly, M. Le Bars, M.C. Genovese: The 6-month safety and efficacy of abatacept in patients with rheumatoid arthritis who underwent a washout after anti-tumour necrosis factor therapy or were directly switched to abatacept: the ARRIVE trial. *Ann Rheum Dis* 2009, 68:1708-1714.
 - 71) L. Goldman, D. Ausiello: Romatoid artrit. Cecil İç Hastalıkları ed 23, 2011:2004.
 - 72) T. Doan, R. Melvold, S. Viselli, C. Waltenbaugh: Romatoid Artrit Patogenezi. *Lipincott İmmünoloji* ed 1, 2013:192.
 - 73) S. Öncel, Ö. Peker, F. Göğüş: Romatoid Artritte Etiyopatogenezi, Klinik ve laboratuvar bulguları. Göksoy T (ed). *Romatizmal hastalıkların tanı ve tedavisi*, Yüce reklam/yayım/dağıtım A.Ş. İstanbul, 2002; 422-431, 436-449.
 - 74) G.S. Firestein: Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In S Ruddy et al.(eds). *Kelly's Textbook of Rheumatology*, 6th ed Philadelphia, W.B. Saunders 2001; 921-1000.
 - 75) E. Terzioğlu E: Romatoid Artritin etiyopatogenezi. *RAED dergisi*, Ek-2, 2009/1; 4-8.

- 76) L. Goldman, D. Ausiello: Romatoid artrit. *Cecil İç Hastalıkları* ed 23, 2011: 2006.
- 77) W.J. Koopman: Arthritis and Allied conditions. 13th ed, Pennsylvania, Williams and Wilkins, 1089-1102, 1997.
- 78) R.M. Hutchinson, P. Davis, M.I.V. Jayson: Thrombocytosis in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1983; 42: 545-54.
- 79) J. Baum, S.H. Zwiilich, M. Ziff: Laboratory Findings in Rheumatoid Arthritis. In: D.J. McCarty, W.J. Koopman (ed). *Arthritis and Allied conditions*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1993: 841-860.
- 80) S. Ruddy, E. Harris, C.B. Sledge: Kellys Textbook of Rheumatology. 6th ed London: Saunders B Company, 2001.
- 81) D.J. Gough, A. Huissoon, P. Perkins, *et al*: The acute phase and functions in early rheumatoid arthritis. *Rheumatol* 1997; 9-13.
- 82) P.E. Lipsky: Rheumatoid arthritis. In: *Harrisons principles of internal medicine*. A.S. Fauci, E. Braunwald (eds). 14th ed, USA, McGraw-Hill Companies, 1880-1888, 1998.
- 83) 76-L. Goldman, D. Ausiello: Romatoid artrit. In: *Cecil İç Hastalıkları kitabı*, ed 23, 2011: 2010-2012.
- 84) T.W. Huizinga, A. van der Helm-van Mil: A quantitative approach to early rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2011; 69: 116-21.
- 85) D. Aletaha, T. Neogi, A.J. Silman, *et al*: 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1580-8.
- 86) L.R. Lard, H. Visser, I. Speyer, *et al*: Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001; 111: 446-51.
- 87) C. Grigor, H. Capell, A. Stirling, *et al*: Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 263-9.
- 88) K.G. Saag, G.G. Teng, N.M. Patkar, *et al*: American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 762-84.

- 89) E.D. Haris Jr, R.C. Budd, G.S. Firestein, *et al*: Kelley's Textbook of Rheumatology. Çeviri ed: T.Arasıl, Bölüm Çeviri: K. Sivrioğlu, Bölüm: Romatoid Artrit Tedavisi. Kitap: *Kelley Romatoloji*. Güneş Kitabevi, Ankara 2006; ss1079-1100.
- 90) W.A. Katz, R. Rothenberg: Section 4: Treating the patient in pain. *J Clin Rheumatol* 2005;11 (2 Suppl):S16-27, discussion S27-28.
- 91) 2002 Update American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: *Arthritis Rheum* 2002;46:328-346.
- 92) O.A. Malysheva, M. Wahle, U. Wagner, *et al*: Low-dose prednisolone in rheumatoid arthritis: adverse effects of various disease modifying antirheumatic drugs. *J Rheumatol* 2008; 35(6):979-985.
- 93) American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the Management of Rheumatoid Arthritis 2002 Update. *Arthritis Rheum* 46:328-346, 2002.
- 94) J.T. Giles, J.M. Bathon: Management of rheumatoid arthritis: synovitis. In: M.C.Hochberg, A.J. Silman, J.S. Smolen, M. Weinblatt, M.H. Weisman (eds.) *Rheumatology* 4th ed. Mosby Elsevier Philadelphia; 2008; pp 887-896.
- 95) S. Yurdakul: Uzun etkili ilaçlar. Türkiye Klinikleri. *J Int Med Sci* 2006; 2(25):52-59.
- 96) A.M. Turkiewicz, L.W. Moreland: Romatoid artrit. In: S.J. Barlett (ed.) Çev. ed: A. Dinç A. *Romatizmal Hastalıklarda Klinik Tedavi* 2007; pp 157-166.
- 97) N.J. Zvaifler, M. Corr: Evaluation and Treatment of Rheumatoid Arthritis. In: W.J. Koopman, L.W. Moreland (eds.) *Arthritis and Allied Conditions*, 15th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005; pp 1249-1262.
- 98) J. Swierkot, J. Szechiński: Methotrexate in rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rep* 2006; 58(4):473-492.
- 99) A.T. Borchers, C.L. Keen, G.S. Cheema, M.E. Gershwin: The use of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 34 (1):465-83.
- 100) C. Top, H. Terekeci: Romatoid Artrit Tedavisinde Hastalığı Modifiye Eden Anti-Romatizmal İlaçlar. Türkiye Klinikleri. *J Med Sci* 2008; 28:387-398.
- 101) İ. Ertenli: Romatoid artritte yeni tedaviler. Türkiye Klinikleri. *J Int Med Sci* 2006; 2(25):60-64.

- 102) A. Strangfeld, F. Hierse, J. Kekow, *et al*: Comparative effectiveness of TNF α inhibitors in combination with either methotrexate or leflunomide. *Ann Rheum Dis* 2009; 68(12):1856-1862.
- 103) E. Ardişen, M.A. Güler: Biyolojik ajanların yan etkileri. *Dermatose* 2006; 5(3):174-180.
- 104) W.W. Chatnam: Traditional disease modifying antirheumatic drugs: gold compounds, Dpenicillamin, sulfasalazine and antimallarials. In: W.J. Kopman, L.W. Moreland (eds.) *Arthritis and Allied conditions*, 15th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005; pp915-944.
- 105) M. Feldmann, F.M. Brennan, R.N. Maini: Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 1996;14:397-440.
- 106) C.A. Chambers, J.P. Allison JP: Co-stimulation in T cell responses. *Curr Opin Immunol* 1997;9:396-404.
- 107) B. Salomon, J.A. Bluestone: Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annu Rev Immunol* 2001;19:225-52.
- 108) E.A. Greenfield, K.A. Nguyen, V.K. Kuchroo: CD28/B7 costimulation: a review. *Crit Rev Immunol* 1998;18:389-418.
- 109) P.S. Linsley, S.G. Nadler: The clinical utility of inhibiting CD28-mediated costimulation. *Immunol Rev* 2009; 229:307-21.
- 110) M.F. Liu, H. Kohsaka, H. Sakurai, M. Azuma, K. Okumura, I. Saito, *et al*: The presence of costimulatory molecules CD86 and CD28 in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum* 1996; 39:110-4.
- 111) H. Dong, S.E. Strome, E.L. Matteson, K.G. Moder, D.B. Flies, G. Zhu, *et al*: Costimulating aberrant T cell responses by B7-H1 autoantibodies in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2003;111:363-70.
- 112) M.A. Brown: Breakthroughs in genetic studies of ankylosing spondylitis. *Rheumatology*, vol. 47, no. 2, pp. 132–137, 2008.
- 113) M. Ramos, J.A. De Castro: HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthritis. *Tissue Antigens* 2002; 60:191–205.
- 114) E.A. Tivol, F. Borriello, A.N. Schweitzer, W.P. Lynch, J.A. Bluestone, A.H. Sharpe: Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue

- destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity*, vol. 3, no. 5, pp. 541–547, 1995.
- 115) P. Waterhouse, J.M. Penninger, E. Timms, *et al*: Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. *Science*, vol. 270, no. 5238, pp. 985–988, 1995.
 - 116) H. Ueda, J.M.M. Howson, L. Esposito, *et al*: Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature*, vol. 423, no. 6939, pp. 506–511, 2003.
 - 117) S. Popat, N. Hearle, J. Wixey, *et al*: Analysis of the CTLA4 gene in Swedish coeliac disease patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, vol. 37, no. 1, pp. 28–31, 2002.
 - 118) T.L. Walunas, *et al*: CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994; 1:405-413.
 - 119) T.L. Walunas, C.Y. Bakker, J.A. Bluestone: CTLA-4 ligation blocks CD-28-dependent T cell activation. *J Exp Med* 1996;183:2541-2550.
 - 120) F. Luhder, C. Chambers, J.P. Allison, C. Benoist, D. Mathis: Pinpointing when T cell costimulatory receptor CTLA-4 must be engaged to dampen diabetogenic T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:12204-12209.
 - 121) S. Chikuma, J.B. Imboden, J.A. Bluestone: Negative regulation of T cell receptor-lipid raft interaction by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 2003;197:129-135.
 - 122) Q. Tang, E.K. Boden, K.J. Henriksen, H. Bour-Jordan, M. Bi, J.A. Bluestone: Distinct roles of CTLA-4 and TGF-beta in CD4+CD25+ regulatory T cell function. *Eur J Immunol* 2004; 34:2996-3005.
 - 123) X. Tai, M. Cowan, L. Feigenbaum, A. Singer: CD28 costimulation of developing thymocytes induces Foxp3 expression and regulatory T cell differentiation independently of interleukin 2. *Nat Immunol* 2005; 6:152-162.
 - 124) J. Cao, L. Zou, P. Iuo, P. Chen, L. Zhang: Increased production of circulating soluble co-stimulatory molecules CTLA-4, CD28 and CD80 in patients with rheumatoid arthritis. *International Immunopharmacology* 2012;14:585-592.

- 125) N. Watanabe, H. Nakajima: Coinhibitory Molecules in Autoimmune Diseases. Hindawi Publishing Corporation *Clinical and Developmental Immunology* 2012; Article ID 269756, 7 pages doi:10.1155/2012/269756.