TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İNFLİKSİMAB TEDAVİSİ ALAN ANKİLOZAN SPONDİLİT VE ROMATOİD ARTRİT HASTALARINDA İLACA KARŞI ANTİKOR GELİŞİMİ, İNFLİKSİMAB DÜZEYLERİNİN KLİNİK PARAMETRELER VE OKSİDATİF DURUM İLE İLİŞKİSİ

Dr. Melek PALA AKDOĞAN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ

ANKARA
2022

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İNFLİKSİMAB TEDAVİSİ ALAN ANKİLOZAN SPONDİLİT VE ROMATOİD ARTRİT HASTALARINDA İLACA KARŞI ANTİKOR GELİŞİMİ, İNFLİKSİMAB DÜZEYLERİNİN KLİNİK PARAMETRELER VE OKSİDATİF DURUM İLE İLİŞKİSİ

Dr. Melek PALA AKDOĞAN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ

Bu tez, Ankara üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 20B0230004 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
2022

T.C ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESI DEKANLIĞI'NA,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum **"İnfliksimab tedavisi alan ankilozan spondilit ve romatoid artrit hastalarında ilaca karşı antikor gelişimi, infliksimab düzeylerinin klinik parametreler ve oksidatif durum ile ilişkisi"** başlıklı tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımca yapılmış olup, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 29 Nisan 2019 tarihinde, 08-630-19 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Dr. Melek Pala Akdoğan
Tarih:
İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Gönderim Tarihi: 23-May-2022 09:44AM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1842297818
Dosya adı: Melek_Pala_Akdogan_Tez-Turnitin.docx (316.35K)
Kelime sayısı: 18172
Karakter sayısı: 129129

İnfliksimab Tedavisi Alan Ankilozan Spondilit Ve Romatoid Artrit Hastalarında İlaca Karşı Antikor Gelişimi, İnfliksimab Düzeylerinin Klinik Parametreler Ve Oksidatif Durum İle İlişkisi

ORİJİNALLİK RAPORU

%13	%12	%4	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	**:** Melek PALA AKDOĞAN	**Sınav tarihi:**
Anabilim/Bilim Dalı	**:** Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	**:** Prof Dr. Aslıhan GÜRBÜZ	22 / 06/ 2022

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER			
Tezin Başlığı: İnfliksimab Tedavisi Alan Ankilozan Spondilit Ve Romatoid Artrit Hastalarında İlaca Karşı Antikor Gelişimi, İnfliksimab Düzeylerinin Klinik Parametreler Ve Oksidatif Durum İle İlişkisi			
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi	
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1	☐ 2	☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Serenay ELGÜN ÜLKAR
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof Dr. Hatice PAŞAOĞLU
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimi aldığım süre boyunca, tez çalışmalarım ve akademik çalışmalarım sırasında karşılaştığım her türlü zorlukta, rehberliğini, bilgi birikimini, tecrübelerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Aslıhan Gürbüz'e

Eğitimim boyunca her zaman tecrübe ve bilgilerine başvurduğum değerli hocalarım Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. H. Serdar Öztürk'e, Sayın Prof. Dr. İlker Durak'a, Sayın Prof. Dr. Serenay Elgün Ülkar'a, Sayın Prof. Dr. Erdinç Devrim'e, Sayın Prof. Dr. Berrin İmge Ergüder'e ve Sayın Doç.Dr. Özlem Doğan'a;

Tez çalışmamın yürütülmesinde bilgi, emek ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Aşkın Ateş ve Dr. Serdar Sezer'e, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Servisinde görevli doktor ve çalışanlarına;

Tıp fakültesinin ilk yıllarında, mesleğimizin değerini, gereklerini öğreten ve yol gösteren, çok kıymetli rahmetli hocam Prof. Dr. M. Oğuz Güç'e,

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve Anabilim Dalımızın değerli çalışanlarına;

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbni Sina ve Cebeci Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarlarının değerli çalışanlarına;

Tıpta uzmanlık eğitimim boyunca destek olan eşim, Ortopedi ve Travmatoloji Uzmanı Doç. Dr. Mutlu Akdoğan'a, kıymetli anneme, babama ve çocuklarım Eylül ve Deniz'e;

Saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Melek PALA AKDOĞAN

Ankara, 2022

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan ii
Özgünlük Raporu iii
Kabul Onay Sayfası iv
Önsöz v
İçindekiler vi
Simgeler ve Kısaltmalar viii
Şekiller Dizini xi
Tablolar Dizini xii

1. ÖZET 1
2. ABSTRACT 3
3. GİRİŞ ve AMAÇ 5
4. GENEL BİLGİLER 8
4.1. Ankilozan Spondilit 8
4.1.1. Ankilozan Spondilit Etyoloji ve Epidemiyoloji 8
4.1.2. Ankilozan Spondilit Patogenez 8
4.1.3. Ankilozan Spondilitte Klinik Belirti ve Bulgular 9
4.1.4. Ankilozan Spondilitte Laboratuvar Bulguları 10
4.1.5. Ankilozan Spondilit Tanı 11
4.1.6 Ankilozan Spondilitte Hastalık Aktivitesinin Değerlendirilmesi 12
4.1.7. Ankilozan Spondilit Tedavi 13
4.2. Romatoid Artrit 14
4.2.1. Romatoid Artrit 14
4.2.2. Romatoid Artrit Tanı ve Sınıflandırma 15
4.2.3. Romatoid Artrit Epidemiyoloji ve Genetik 16
4.2.4. Romatoid Artrit Patoloji ve Patogenez 17
4.2.5. Romatoid Artrit Tedavi 18
4.3. Tümör Nekroz Faktörü 19
4.3.1. Tümör Nekroz Faktörü 19
4.3.2. TNFα İnhibisyonu 22
4.3.3. TNF İnhibitörlerinin Monoklonal Antikor Yapısı ve Terminolojisi 23
4.3.4. TNFα İnhibitörlerine Karşı Oluşan Antikorlar 24
4.4. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Oksidatif Stres 25

4.4.1. Oksijen Toksisitesi ve Serbest Radikal Hasarı 25
4.4.3. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu 25
4.4.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Özellikleri 26
4.4.5. Hücrede Reaktif Oksijen Türlerinin Başlıca Kaynakları 27
4.4.6. Hücresel Bileşenlerle Oksijen Radikal Reaksiyonları 27
4.4.4. Nitrik Oksit ve Reaktif Nitrojen - Oksijen Türleri 29
4.4.5. Oksijen Toksisitesine Karşı Hücresel Savunmalar 30
4.4.6. Oksidatif Stres 34
4.4.6.1. Oksidatif Belirteçler 36
4.4.7. Ksantin Oksidaz 37
5. GEREÇ VE YÖNTEM 39
5.1 Gönüllü Seçimi, Hasta Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizi 39
5.2. Çalışmada Kullanılan Gereçler 40
5.3. Ölçümü Yapılan Parametlere Ait Yöntemler 41
5.3.1. İnfliksimab Düzeyi Ölçüm Yöntemi 41
5.3.2. İnfliksimab Antikor Ölçüm Yöntemi 41
5.3.3 Malondialdehit (MDA) Miktarı Ölçüm Yöntemi 42
5.3.4. Katalaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi 43
5.3.5. Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi 44
5.3.6. Ksantin Oksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi 45
5.3.7. Verilerin İstatiksel Açıdan Değerlendirilmesi 46
6. BULGULAR 47
7. TARTIŞMA 54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 64
7. KAYNAKLAR 66
8. EKLER 81
Ek-1: BASDAI Skorlama Formu 81
Ek-2: BASFI Skorlama Formu 82
Ek-3: DAS28 Skorlama Formu 83

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA : Askorbik Asit

ANA : Anti Nükleer Antikor

Anti-CCP : Anti Siklik Sitrüline Peptit Antikor

Anti-TB : Anti Tüberküloz

AS : Ankilozan Spondilit

ASAS : Assessments In Ankylosing Spondylitis

BASDAI : Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi

BASFI : Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi

BASMI : Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi

BK : Beyaz küre

CD4 : Yardımcı T Hücre

CD8 : Sitotoksik T Hücre

CRP : C- Reaktif Protein

D : Yoğunluk

DD : Death Domain

dk : Dakika

dL : Desilitre

DMARD : Hastalık-Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar

EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit

ELISA : "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay"

ESH : Eritrosit Sedimentasyon Hızı

g : Gram

GSH : İndirgenmiş Glutatyon

GSH-Px : Glutatyon Peroksidaz

GSSG : Yükseltgenmiş Glutatyon

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

HLA : Human Lökosit Antijen

HRP : 'Horse Radish' Peroksidaz

IBH : İnflamatuar Barsak Hastalığı

IgA : İmmünglobulin A

IL ; İnterlökin

IU : İnternasyonel Ünite

KAT : Katalaz

L : Litre

LDL : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LPO : Lipit Peroksidasyonu

M : Molar

MDA : Malondialdehit

mg : Miligram

mIU : Mili-İnternasyonel Ünite

mL : Mililitre

Mm : Milimolar

Mmol : Milimol

MPO : Myeloperoksidaz

N : Normal

N : Numune

Nf-Kb : Nüklear Faktör Kappa-B

ng : Nanogram

NO : Nitrik Oksit

NO_2 : Nitrojen Dioksit

NOS : Nitrik Oksit Sentaz

NSAİİ : Non Steroid Anti-İnflamatuar İlaç

O_2 : Moleküler Oksijen

$O_2^{\cdot}$: Süperoksit

$O_2^{\cdot -}$: Süperoksit radikali

$O_2^1 \Sigma g+$: Singlet oksijen radikali

$O_2^1 \Delta g$: Singlet oksijen

O_2NOO^- : Peroksinitrat

O_2NOOH : Peroksinitrik asit

OD : Optik Dansite

$OH^{\cdot}$: Hidroksil radikali

$ONOO^-$: Peroksinitrit

$ONOOCO_2^-$: Nitrozoperoksikarbonat

ONOOH : Peroksinitröz asit

RA : Romatoid Artrit

RF : Romatoid Faktör

RNOT : Reaktif Nitrojen Oksijen Türleri

$RO^{\cdot}$: Alkoksil Radikali

$RO_2^{\cdot}$	**:**	Peroksil Radikali
ROT	**:**	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	**:**	Süperoksit Dismutaz
Spa	**:**	Spondiloartropati
SS	**:**	Standart Sapma
TBA	**:**	Tiyobarbitürik Asit
TBARS	**:**	TBA ile tepkimeye giren maddeler
TCA	**:**	Trikloroasetik asit
TGF- β	**:**	Transforming Growth Faktor β
TNF-α	**:**	Tümör Nekrozis Faktör-α
v/v	**:**	Hacim/hacim
VAS	**:**	Vizüel Analog Skala
w/v	**:**	Ağrlık/hacim
XO	**:**	Ksantin Oksidaz
µM	**:**	Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Serbest radikal katalizli lipid peroksidasyonu mekanizması 37
Şekil 6.1. BASDAI skoru ile MDA düzeyleri arasındaki ilişki 52
Şekil 6.2. BASDAI skoru ile GSHPx aktiviteleri arasındaki ilişki 52

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Modifiye New York kriterleri (1984) 11
Tablo 4.2. Romatoid Artrit ACR/EULAR Sınıflama Kriterleri..... 15
Tablo 4.3. DAS28 Skoruna göre Romatoid artrit hastalığının evreleri..... 16
Tablo 4.4. Reaktif Oksijen Türleri; Serbest Radikaller ve Radikal Olmayanlar 27
Tablo 5.1. MDA ölçümünde kullanılan deney protokolü 42
Tablo 5.2. Glutatyon Peroksidaz aktivitesi ölçüm yöntemine ait protokol..... 44
Tablo 5.3. Ksantin Oksidaz aktivitesi ölçüm yöntemine ait protokol..... 45
Tablo 6.1. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, infliksimab kullanım süresi, infliksimab düzeyi, CRP ve ESH düzeyleri ile ilişkisi..... 47
Tablo 6.2. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların BASDAI skoru ile ilişkisi..... 48
Tablo 6.3. BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan spondilit hastalarının BASFI skorları ile ilişkisi 49
Tablo 6.4. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, Ksantin oksidaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması 49
Tablo 6.5. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, MDA düzeyleri ile GSHPx ve Katalaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması 50
Tablo 6.6. BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan Spondilit hastalarının, Ksantin oksidaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması 50
Tablo 6.7. BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan Spondilit hastalarının, MDA düzeyleri ile GSHPx ve Katalaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması 51
Tablo 6.8. Ankilozan Spondilit hastalarında BASDAI skoru ile MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki..... 51
Tablo 6.9. Ankilozan Spondilit ve Romatoid artrit hastalarında CRP düzeyleri ile MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki..... 53
Tablo 6.10. Ankilozan Spondilit ve Romatoid artrit hastalarında ESH düzeyleri ile MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki..... 53

1. ÖZET

Amaç: Romatoid artrit (RA) ve Ankilozan spondilit (AS), toplumda sık görülen, kronik inflamatuar romatizmal hastalıklardandır. AS, çoğunlukla genç yaşlarda ortaya çıkar ve esas olarak omurgayı ve sakroiliak eklemleri etkiler. RA ise sıklıkla el-el bileği ve ayak-ayak bileğinin küçük eklemlerinde başlar. Sosyal hizmetler ve sağlık alanında yüksek harcamalara neden olmaları nedeniyle bu hastalıkların etyopatogenezini, biyolojik etkilerini ve en etkin tedavi stratejilerini araştırmak toplumsal ve ekonomik açıdan önemlidir.

Mevcut tedavi stratejileri semptomları hafifletmeye yönelik olup; yeni tanıyı takiben "Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar'' ile tedaviye başlanmakta olup bu ilaçlarla tedaviye rağmen hastalık aktivite skorları yüksek seyreden hastalara biyolojik ajan tedavileri uygulanmaktadır. Biyolojik ajanlar, inflamasyonun farklı noktalarında etkili olarak inflamasyonu indükleyen özgün yolakları ve sinyalleri inhibe etmektedirler. Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNFα); AS, RA ve başka birçok inflamatuvar hastalığın patogenezinde önemli rol oynayan proinflamatuar bir sitokindir. Son yıllarda romatizmal hastalıkların tedavisinde TNFα'nın biyolojik aktivitelerini nötralize eden anti-TNF ilaçlar kulanılmaya başlanmıştır. Bu ajanlara karşı gelişen otoantikorlar ilaç klirensini arttırmakta ve yetersiz ilaç düzeylerine neden olarak klinik yanıtta bozulmaya yol açabilmektedir.

Oksidatif stres, oksidan fazlalığı ve/veya antioksidan eksikliğinden kaynaklanır ve hücre ölümünü tetikleyen, ciddi metabolik disfonksiyona ve makromoleküler hasara yol açar. Bu oksidatif stres durumunda üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROT), RA ve AS gibi kronik inflamatuar hastalıkların etyolojisinde ve patogenezinde önemli rol oynadığına dair kanıtlar gösterilmiştir. Yine, farklı çalışmalar ROT'u, plazma TNFα seviyeleri ile artrit başlangıcı ve ilerlemesiyle ilişkilendirdiğinden, inflamatuar yanıt sırasında aktive nötrofiller tarafından üretilen ROT rolüne odaklanılmıştır. Bu sebeplerle, çalışmamızda TNFα inhibitörlerinden olan infliksimab tedavisi alan AS ve RA hastalarında, infliksimab düzeyi ölçümü, infliksimaba karşı antikor oluşumu, AS hastalarında hastalık aktivite skorları ile oksidan, antioksidan ve inflamatuar parametreler (CRP, ESH) arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma AÜTF İç Hastalıkları Romatoloji Kliniğinde, infliksimab tedavisi alan, RA ve AS tanılı, gönüllü hasta grubunda yapılmıştır. Hastalardan kan örnekleri bir sonraki infliksimab uygulamasından hemen önce alınmıştır. Hastaların aynı gün içinde ayrıntılı fizik muayenesi yapılıp, hastalık aktiviteleri skorlanmış ve rutin laboratuvar tetkikleri değerlendirilmiştir. Kan örneklerinde ELISA ile infliksimab ilaç düzeyi ve infliksimab antiilaç

antikor oluşumu incelenmiş ve laboratuvarımızda Malondialdehit düzeyi, Katalaz, Ksantin oksidaz ve Glutatyon peroksidaz aktiviteleri ölçülmüştür.

Bulgular: İnfliksimaba karşı antikor saptanan hasta grubunda infliksimab ilaç düzeyleri, antikor saptanmayan gruba kıyasla daha düşük bulunmuştur.

İnfliksimaba karşı antikor saptanan AS hastalarında BASDAI skoru, antikor saptanmayan gruba kıyasla daha yüksek saptanmıştır.

AS hastalarında BASDAI ve BASFI skorları arasında pozitif korelasyon görülmüştür.

AS hastalarında BASDAI skoru ile MDA düzeyleri ve GSHPx aktiviteleri arasında pozitif lineer korelasyon saptanmıştır. Bulgularımız göstermeyi amaçladığımız şekilde olup literatür ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Sonuç: İnfliksimaba karşı antikor saptanan AS ve RA hastalarında ilaç düzeyleri muhtemelen ilaç klirensinin artmasına bağlı olarak daha düşük bulunmuştur. İnfliksimaba karşı antikor saptanan AS hastalarında BASDAI skoru ise muhtemelen ilacın tedavi etkinliğinin düşmesine bağlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Yüksek hastalık aktivitesi gösteren AS hastalarında, düşük hastalık aktivitesi gösteren hastalara kıyasla, etyopatogenezde rol alan oksidatif stres belirteçlerinden olan MDA düzeyi ile literatürde infliksimab tedavisiyle arttığı gözlenen ve antioksidan durumu gösteren GSHPx aktivitesi daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Romatoid artrit, Ankilozan spondilit, İnfliksimab, Anti ilaç antikoru, Oksidatif stres.

2. ABSTRACT

Aim: RA and AS are common chronic inflammatory rheumatic diseases. It is socially and economically important to investigate the most effective treatment strategies of these diseases.

Current treatment strategies are aimed to relieving symptoms; For this purpose following the new diagnosis, treatment with "DMARD" is started, and patients with high disease activity scores despite treatment with these drugs are treated with biologic agents. Biological agents inhibit specific pathways and signals that induce inflammation by acting at different points of inflammation. TNFα is a proinflammatory cytokine that plays an important role in the pathogenesis of AS and RA. In recent years, anti-TNF drugs that neutralize the biological activities of TNFα have been used in the treatment of rheumatic diseases. Autoantibodies developed against these agents increase drug clearance and cause inadequate drug levels, leading to deterioration in clinical response.

Oxidative stress results from oxidant excess and/or antioxidant deficiency and leads to severe metabolic dysfunction and macromolecular damage, triggering cell death. Evidence has been shown that ROS produced in this oxidative stress state play an important role in the etiology and pathogenesis of chronic inflammatory diseases such as RA and AS. Again, as different studies have associated ROS with plasma TNFα levels and the onset and progression of arthritis, the focus has been on the role of ROS produced by activated neutrophils during the inflammatory response. Our study aimed to examine the relationship between infliximab levels, antibody formation against to infliximab, disease activity scores and oxidant, antioxidant and inflammatory parameters (CRP, ESH) in AS patients receiving infliximab theraphy.

Materials and Methods: The study was conducted in a volunteer patient group of RA and AS, receiving infliximab theraphy, in the Rheumatology Department of AUMS. Blood samples were drawn from the patients just before the next administration of infliximab. Detailed physical examination of the patients was performed, disease activities were scored and routine laboratory tests were evaluated. We examined infliximab drug levels and infliximab antidrug antibody formation by ELISA in blood samples and measured Malondialdehyde level, Catalase, XO and GSHPx activities in our laboratory.

Results: We found that infliximab drug levels were lower in patients with antidrug antibodies compared to the group without antibodies.

We found a higher BASDAI score in AS patients with antidrug antibodies compared to the group without antibodies.

We found a positive correlation between BASDAI and BASFI scores in AS patients.

We found a positive linear correlation between BASDAI score and MDA levels and GSHPx activities in AS patients. Our findings were as we aimed to show and were found to be compatible with the literature.

Conclusion: In patients with AS and RA who had antidrug antibodies, drug levels were lower, probably due to increased drug clearance. The BASDAI score was higher in AS patients who had antidrug antibodies, probably due to the decreased efficacy of the drug. We found higher levels of MDA, which is one of the oxidative stress markers involved in the etiopathogenesis, and higher levels of GSHPx activity, which is observed to increase with infliximab treatment in the literature, and indicates antioxidant status, in AS patients with high disease activity compared to patients with low disease activity.

Key words: Rheumatoid arthritis, Ankylosing spondylitis, Infliximab, Anti drug antibody, Oxidative stress.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit, toplumda nisbeten sık görülen, sosyal hizmetler ve sağlık alanında önemli oranda yüksek harcamalara neden olan sağlık problemleri olmaları nedeniyle bu hastalıkların etyopatogenezini, biyolojik etkilerini ve mümkün olan en etkin strateji ile tedavilerini araştırmak toplumsal ve ekonomik açıdan önemlidir.

Mevcut tedavi stratejileri semptomları hafifletmeye yönelik olup; yeni tanıyı takiben "Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar (Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs DMARDs)" ile tedaviye başlanmaktadır. DMARD tedavisine rağmen hastalık aktivite skorları yüksek seyreden hastalara biyolojik ajan tedavileri uygulanmaktadır. Biyolojik ajanlar, romatizmal hastalıklarda inflamasyonun farklı noktalarında etkili olarak inflamasyonu indükleyen özgün yolakları ve sinyalleri inhibe etmektedirler.

Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNFα); Ankilozan spondilit (AS), Romatoid artrit (RA) ve başka birçok inflamatuvar hastalığın patogenezinde önemli rol oynayan proinflamatuar bir sitokindir. Son yıllarda romatizmal hastalıkların tedavisinde TNFα'nın biyolojik etkilerini nötralize eden anti-TNF ajanlar kulanılma girmiştir. Bu ilaçlara karşı oluşan otoantikorlar ilaç klirensini arttırmakta ve yetersiz ilaç düzeylerine neden olmaktadır (1). Bu da klinik yanıtta bozulmaya yol açabilmektedir.

2004-2008 yılları arasında yapılan bir çalışmada ilk TNF inhibitörüne tedaviye cevapsızlıkta, ikinci bir TNF inhibitörünün etkili olup olmadığı araştırılmış. İlk TNF inhibitörüne karşı antikor geliştiren Romatoid Artrit hastalarının ikinci ilaca, antikor geliştirmeyenlere kıyasla daha iyi klinik cevap gösterdiği ve immün yanıtın, ilaç değiştirilmesinde ve kişiye özel tedavide faydalı olabileceği bulunmuştur (2). 2016 yılında yayınlanan başka bir çalışmada ise RA hastalarında ilaç antikorlarının tespit edilmesinin ilave klinik faydası araştırılmış. Sadece ilaç (adalimumab) seviyeleri tedavi yanıtı ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuş ve ilaç antikorları bağımsız olarak tedavi yanıtı ile ilişkili olmasa da, düşük ilaç seviyelerinin etiyolojisinin belirlenmesinde yardımcı olabilirler sonucu çıkarılmış (3).

Ayrıca birçok hastalık sürecinde olduğu gibi, oksidatif stres Romatoid artrit ve Ankilozan spondilitli hasta grubunda da etyopatogenezde suçlanmış (4-7) olduğundan oksidatif durum değerlendirmesi de çalışmaya dahil edilmiştir.

Bu çalışma anti-TNF ilaç grubundan bir ilaç olan İnfliksimab kullanan Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit hastalarında yapılmıştır. Çalışmamızda İnfliksimab tedavisi sırasında, ilaca

karşı antikor gelişimi (ADAb) ve ilaç düzeylerinin klinik parametreler, hastalık aktivitesi ve oksidatif durum ile ilişkisinin olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Araştırmanın Amaçları

Çalışmamızda Anti-TNF ilaçlardan olan infliksimab kullanan Romatoid Artrit ve Ankilozan Spondilit hastalarında infliksimaba karşı antikor gelişimi ve infliksimab ilaç düzeyleri ilişkisinin incelenmesi,

AS hastalarında hastalık aktivite skorları ve infliksimab ilaç düzeyleri ilişkisinin belirlenmesi,

AS hastalarında hastalık aktivite skorları ve infliksimaba karşı antikor gelişim ilişkisinin belirlenmesi,

AS hastalarında hastalık aktivite skorları ve oksidatif durum arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

AS hastalarında hastalık aktivite skorları ve inflamatuar belirteçler (CRP (C-reaktif protein), ESH (Eritrosit sedimentasyon hızı)) arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçlar doğrultusunda çalışmamızın başlıca hedefleri:

Anti-TNF ilaçlardan olan infliksimab kullanan Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit hastalarında bir sonraki infliksimab tedavisi uygulama öncesi hastalık aktivite skorlarının belirlenmesi ve güncel inflamasyon belirteçlerinin kaydedilmesi,

İnfliksimab kullanan Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit hastalarında bir sonraki infliksimab tedavisi uygulama öncesi alınan kan örneklerinde infliksimab ilaç düzeyleri ölçümü ve infliksimaba karşı antikor gelişiminin saptanması,

İnfliksimab kullanan Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit hastalarında bir sonraki infliksimab tedavisi uygulama öncesi alınan kan örneklerinde oksidatif stres belirteçlerinin (MDA, XO, GSHPx, Katalaz) ölçülmesi hedeflenmiştir.

Araştırmanın Hipotezi

Anti-TNF ilaçlardan olan infliksimab kullanan Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit hastalarından infliksimaba karşı antikor geliştirenlerenlerde ilaç düzeyleri geliştirmeyenlerle karşılaştırıldığında daha düşüktür.

İnfliksimab kullanan Ankilozan spondilit hastalarında yüksek hastalık aktivite skoru (BASDAI) gösterenlerin ilaç düzeyleri, düşük hastalık aktivite skoru gösterenlerle karşılaştırıldığında daha düşüktür.

İnfliksimab kullanan Ankilozan spondilit hastalarında yüksek hastalık aktivite skoru gösterenlerde infliksimaba karşı antikor saptanma oranı, düşük hastalık aktivite skoru gösterenlerle karşılaştırıldığında daha yüksektir.

İnfliksimab kullanan Ankilozan spondilit hastalarında yüksek hastalık aktivite skoru gösterenlerle, düşük hastalık aktivite skoru gösterenler karşılaştırıldığında, yüksek hastalık aktivite skoru gösterenlerde antioksidan belirteç düzeyleri daha düşük, oksidan belirteçler düzeyleri daha yüksektir.

İnfliksimab kullanan Ankilozan spondilit hastalarında yüksek hastalık aktivite skoru gösterenlerde inflamatuar belirteçler (CRP, ESH), düşük hastalık aktivite skoru gösterenlerle karşılaştırıldığında daha yüksektir.

Mevcut klinik uygulamada biyolojik ajanların veya bu ajanlara karşı gelişen antikorların kan düzeyleri rutinde ölçülmemekte, tedavi değişimlerinde hastanın klinik ve laboratuvar bulguları dikkate alınmaktadır. İlaca karşı antikor geliştiği ve ilaç düzeylerinin düştüğü durumlar değerlendirilebilirse, eğer klinik yanıt da iyi değilse ilaç değişimi için erken ve anlamlı dayanak olacaktır. Ayrıca bazı çalışmalarda oksidatif stresin arttığı durumlarda klinik iyileşmenin azaldığı görülmüş olduğundan, yine oksidatif durumun ilaç düzeyi, ilaca karşı antikor gelişmesi ve hastalık aktivite skoru ile ilişkisinin bilinmesi, AS ve RA hastalarında klinik iyileşme sürecinin değerlendirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Çalışmamız kapsamında elde edilen bulguların AS ve RA hastalarının ayırıcı tanısına, klinik seyrine ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesine ışık tutacağı görüşündeyiz.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Ankilozan Spondilit

Ankilozan spondilit (AS), esas olarak aksiyel iskeleti, aynı zamanda periferik eklemler ve eklem dışı yapıları da etkileyen ve nedeni bilinmeyen bir hastalıktır. Hastalık genellikle yaşamın ikinci veya üçüncü dekatlarında başlar; erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre 2-3 kat daha yüksektir (8).

Ankilozan spondilit klinik, genetik, epidemiyolojik ve radyolojik olarak benzerlik gösteren, seronegatif spondiloartropatiler olarak sınıflandırılan hastalıkların prototipidir (9).

4.1.1. Ankilozan Spondilit Etyoloji ve Epidemiyoloji

Hastalığın etyolojisi halen kesin olarak aydınlatılamamıştır. Fakat patogenezde genetik ve çevresel faktörlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Ankilozan spondilitte genetik risk majör doku uygunluk antijenlerinden HLA geni, özellikle de HLA-B27 alt gurupları ile ilişkili olarak saptanmıştır (10). AS, HLA-B27 doku uygunluk antijeni ile belirgin bir korelasyon içerisindedir; hastalık yeryüzünde bu antijenin prevalansı ile uyumlu olarak dağılım gösterir (11). Kuzey Amerikalı beyazlarda HLA-B27 prevalansı %7 iken, AS hastalarında bu sıklık, hastalık şiddetinden bağımsız olarak %90'dır. Populasyon sürveylerinde, HLA-B27 taşıyan yetişkinlerin %1-6'sında AS ortaya çıktığı, AS hastalarının HLA-B27 (+) yetişkin birinci derece akrabaları arasında ise sıklığın %10-30'a yükseldiği saptanmıştır. İdentik ikizlerdeki konkordans yaklaşık olarak %65'tir. AS'e yatkınlıkta genetik faktörlerin geniş yer tuttuğu ve genetik komponentin üçte biri kadarından da HLA-B27'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kromozom 2'de mevcut olan interlokin 1 (IL-1) gen kümesi ve çeşitli genomik bölgelerle de muhtemel ilişki bulunmuştur (8).

4.1.2. Ankilozan Spondilit Patogenez

Sakroiliak eklemi ve aksiyel iskeleti daha çok etkileyen AS'in patogenezi tam olarak bilinmemektedir. HLA-B27 başta olmak üzere genetik faktörlerin çeşitli çevresel faktörlerle etkileşmesi sonucu inflamasyon tetiklenmekte ve bunun da patogenezde esas rol oynadiği düşünülmektedir (12).

Genel olarak immün aracılıklı bir hastalık olduğuna inanılmaktadır. Hastalığın ilk olarak nereden başladığı konusunda halen ortak bir görüş yoktur. Birleştirici bir görüşe göre AS eklem

kıkırdağı, ligament ve kemiğe yapışan diğer oluşumlarda başlamaktadır. Tümör nekroz faktor-α (TNFα) blokajına hastalığın dramatik yanıt vermesi, AS'in immun patogenezinde bu sitokinin santral bir rol gösterdiğini düşündürmektedir. İnflamasyonlu sakroiliak eklem özellikle hastalığın başlangıç dönemlerinde makrofajlarla ve CD4(+) ve CD8(+) T hücreleri ile infiltredir ve eklemdeki TNFα seviyeleri artmıştır. Daha ileri lezyonlarda fazla miktarda TGF-β bulunur. AS ve diğer Spondiloartropatilerdeki (SpA) periferik sinovitte CD68 ve CD163 eksprese eden makrofajlar, nötrofiller, B hücreleri ve CD4(+) ve CD8(+) T hücreleri mevcuttur.

Reaktif artrit ile inflamatuvar bağırsak hastalığının (İBH) çakışan özelliklerinin olması, bağırsak bakterilerinin hastalığın patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmüştür. Ancak hastalığın başlamasını tetikleyen spesifik bir mikroorganizma veya ekzojen bir ajan tanımlanmamıştır.

Ankilozan spondilitin en erken bulgusu olarak sıklıkla sakroileit ortaya çıkar. Sinovit, pannus, miksoid ilik, subkondral granulasyon dokusu ve ilik ödemi, entezit ve kondroid farklılaşma bulunur. Makrofajlar, T hücreleri ve osteoklastlar artmıştır. Sonunda erozyona uğrayan eklem kenarlarındaki fibrokartilajda rejenerasyon ve daha sonra ossifikasyon ortaya cıkar. Eklem tamamen oblitere olabilir. Omurgada erken dönemde, annulus fibrozis ve vertebral kemik bileşkesinde inflamatuvar granulasyon dokusu vardır. Annuler fibrillerin dışı aşınır ve olay ilerleyerek kemik sindesmofitler gelişir; sonuçta komşu vertebra ile köprüleşme gerçekleşir. Bu olayın yukarıya doğru yayılımı "bambu omurga" görünümüne yol acar. Omurgadaki diğer lezyonlar; diffüz osteoporoz, disk kenarlarında vertebra cisimlerinin erozyonu, vertebraların "kareleşmesi" ve disk-kemik sınırının inflamasyon ve destrüksiyonudur. Apofizyel eklemlerde sık olarak pannusun neden olduğu kıkırdak erozyonu ve ardından kemik ankiloz ile inflamatuvar artrit ortaya çıkar. Belirgin inmobilizasyon gelişmeden önce, hastalığın erken dönemlerinde omurgada ve femur proksimalinde kemik mineral yoğunluğunun azaldığı saptanır.

Hem aksiyel hem de periferik bölgelerde tendon, ligament veya eklem kapsülünün kemiğe yapışma yeri olan fibrokartilajinoz entezis bölgesindeki inflamasyon AS ve diğer Spondiloartropatilerin karakteristik bulgusudur (8).

4.1.3. Ankilozan Spondilitte Klinik Belirti ve Bulgular

Hastalık belirtileri genellikle geç adolesan veya erken yetişkinlik döneminde ortaya çıkar. Batı ülkelerindeki ortalama başlangıç yaşı 23'tür. Hastaların %5'inde hastalık 40 yaşından sonra başlar.

Hastalığın en karakteristik bulgusu tüm bel ağrılarının yaklaşık %15'ni oluşturan inflamatuar karakterdeki bel ağrısıdır. Genellikle gluteal bölgede yer değiştiren karakterde, 3 aydan uzun süreli, gecenin ilerleyen zamanlarında ve sabah erken saatlerde doruk yapan, en az 30 dakika sabah tutukluğu ile ilişkili olan, egzersiz ile azalan, istirahatle artan ve non-steroid anti-inflamatuar ilaç (NSAİİ) kullanımına iyi yanıt veren künt bir ağrıdır. Başlangıçta genelde tek taraflı ve aralıklı olurken, birkaç ay içerisinde devamlı ve iki taraflı hissedilebilir. Ağrı başlangıçta derin gluteal bölgede hissedilse de çoğu zaman lokalizasyonu zor olabilir (13).

Bunun yanı sıra hastalık birçok farklı organ ve sistemi etkileyebilen bir özelliğe sahiptir.

AS'in en fazla görülen iskelet dışı tutulumu akut anterior üveit olup hastaların yaklaşık %25-40'ında gözlenir (14). Ataklar tipik olarak tek taraflıdır, ağrı, fotofobi ve göz yaşında artışa neden olur. Sıklıkla karşı gözde olmak üzere tekrarlama eğilimi vardır. Seyrek olmayarak katarakt ve glokomla sonuçlanabilir (8).

Ankilozan spondilit kriterlerini dolduran hastaların %10 kadarında psöriazis vardır. Bazen konjestif kalp yetmezliği belirtilerine neden olabilen aort yetmezliği, hastaların az bir bölümünde ve genellikle hastalığın geç dönemlerinde ortaya çıkar. Bazen erken dönemlerde de başlayabilir. Aort yetmezliği ile beraber veya tek başına üçüncü derece kalp bloğu gelişebilir. Subklinik pulmoner lezyonlar veya kardiyak disfonksiyon oldukça sık olarak ortaya çıkar. Kauda ekuina sendromu ve akciğer üst loblarındaki fibrozis geç dönem komplikasyonlarıdır. Nadiren retroperitoneal fibrozis hastalığa eşlik edebilir. Prostatit sıklığının arttığı bildirilmiştir. Amiloidoz nadirdir.

Son zamanlarda AS'te hastalık aktivitesi ve fonksiyonel durumu izlemek amacıyla çeşitli ölçütler geliştirilmiştir. Hastalığın kalıcı olmasına karşın, çoğu hasta kazanç elde edebilecek şekilde çalışabilir.

Çalışmaların hepsi değil ama bazıları AS'te yaşam süresinin genel nüfusa göre azalmış olduğunu düşündürmüştür. Ankilozan spondilite bağlı ölümler, omurga travması, aort yetmezliği, solunum yetmezliği, amiloid nefropatisi veya gastrointestinal kanama gibi tedavi komplikasyonları sonucunda ortaya çıkar (8).

4.1.4. Ankilozan Spondilitte Laboratuvar Bulguları

AS için spesifik bir laboratuvar testi bulunmamaktadır. Çoğu etnik grupta AS'li hastaların %90'ında B27 pozitifliği vardır. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C reaktif protein (CRP) sıklıkla artmış şekilde bulunur. Hafif derecede anemi görülebilir. Önemli derecede hastalığı olanlarda serum alkalen fosfataz (ALP) düzeyleri yükselebilir. Yükselmiş serum IgA

(İmmünglobulin A) düzeyleri ile sık olarak karşılaşılabilir. Romatoid faktör (RF), anti-CCP ve antinukleer antikorlar (ANA) genellikle negatif olarak saptanır, eşlik eden otoimmun hastalık varlığında pozitiflik görülebilir. Anti-TNF tedavi sırasında ANA pozitifleşebilir. Periferik eklemlerden elde edilen eklem sıvısında nonpesifik olarak inflamatuvar bulgular saptanır. Göğüs duvarı hareketlerinin kısıtlandığı hastalarda sık olarak vital kapasite azalır, foksiyonel rezidüel kapasite artar, hava akımı ölçümleri ise normal değerler gösterir. Genellikle ventilatuvar fonksiyonlar bozulmadan devam eder (8).

4.1.5. Ankilozan Spondilit Tanı

Geriye dönüşü olmayan deformiteler gelişmeden önce, erken dönemde AS tanısını koyabilmek önemlidir.

Ankilozan spondilit için ilk olarak 1961 yılında Roma tanı kriterleri ve sonrasında1966 yılında New York tanı kriterleri oluşturulmuş olup, takiben bu tanı kriterlerinin duyarlılığını ve seçiciliğini arttırmak için çeşitli düzeltmeler yapılmıştır. İlk düzeltme 1984 yılında yapılmış olup hala kullanılan Modifiye New York tanı kriterleri (Tablo 4.1) oluşturulmuştur (15).

Tablo 4.1. Modifiye New York kriterleri (1984)

Klinik kriterler

1. En az 3 aydır var olan, egzersizle düzelip istirahatle düzelmeyen bel ağrısı
2. Lomber omurganın sagital ve frontal düzlemlerde hareket kısıtlılığı
3. Göğüs ekspansiyonunun yaş ve cinse göre normal değerlerin altında olması

Radyolojik kriterler

4. 2-4. derece bilateral sakroileit
5. 3-4. derece unilateral sakroileit

Kesin tanı:

Klinik kriterlerden herhangi birisi ile birlikte unilateral 3-4. derece veya bilateral 2-4. derece sakroileit.

Çok yaygın olarak kullanılan modifiye New York kriterleri (1984) aslında tanı kriterleri olmayıp sınıflandırma amacıyla geliştirilmişlerdir. Bu kriterlerin erken dönemdeki ya da kliniği şiddetli seyretmeyen hastaları tanımadaki duyarlılığı çok düşüktür.

Erken tanının zorlukları mevcut olup bunlar; (1) bel ve sırt ağrısı çok sıktır ama AS daha seyrek olarak ortaya çıkar; (2) erken olası tanı sıklıkla klinik bulguların değerlendirilmesi ile

gerçekleşebilir ve bunun için de iyi derecede uzmanlık gerekir; (3) erken AS'li genç hastalar tıbbi araştırma konusunda genellikle isteksizdirler.

Ankilozan spondilit ile bel ağrısının çok daha sık görülen diğer nedenleri arasında ayırıcı tanı yapılmalıdır. AS'in inflamatuvar bel ağrısını diğerlerinden ayırt etmek için; (1) Ağrının 40 yaş altında başlaması, (2) sinsi başlangıç, (3) ağrının tedavisiz 3 aydan daha uzun sürmesi, (4) sabah katılığı ve (5) ağrının egzersiz veya aktivite ile düzelmesi gibi özellikleri kullanılır. Ankilozan spondilit dışında kalan ve çok daha sık olarak görülen bel ağrısı nedenleri esas olarak mekanik veya dejeneratif tipte olup inflamatuvar bel ağrısının bu özelliklerini bir arada taşımazlar. Tanı için HLA-B27 varlığı yeterli olmadığı gibi gerekli de değildir. Bununla birlikte, Bayes teoremi ile uyumlu olarak HLA-B27'nin varlığı veya yokluğu, radyografik bulguları olmayan ve klinik olarak şüphelenilen hastalarda AS olasılığını sırasıyla arttırır veya azaltır. Ayrıca tipik AS'li bir olguda HLA-B27 negatifliğinin saptanması eşlik eden inflamatuar bağırsak hastalığı (İBH) olasılığını önemli derecede arttırır (8).

4.1.6 Ankilozan Spondilitte Hastalık Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Ankilozan spondilitin aktivitesini ve fonksiyonel durumunu saptamada ve tedaviye cevabını takipte kullanılmak üzere farklı hastalık değerlendirme indeksleri oluşurulmuştur. Hastalığın aktivitesini saptamada, CRP ve ESH gibi inflamasyon parametreleri ve klinik bulgular yeterli olmamaktadır. Klinisyenler arasindaki farklılığı engellemek ve değerlendirmeyi standart hale getirebilmek için BASDAI (Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi) geliştirilmiştir (16). BASDAI hastalara kolaylıkla uygulanabilen, hastanın son bir haftalık genel durumunu, yorgunluk hissini, aksiyel ve periferik eklemlerdeki ağrının şiddetini, eklemlerin şişlik ve hassasiyetini, sabah tutukluğunun şiddet ve süresini ölçmeye yönelik 6 sorudan oluşan bir değerlendirme aracıdır (EK-1). AS'in tedavisinde, Anti TNF ilaçların kullanıma girmesinden sonra hazırlanan klavuzlarda, tedavi kararı verilmesinde ve izleminde BASDAI skorunun kullanılması önerilmektedir (17).

Hastaların fonksiyonel durumunu değerlendirmek için de indeksler de oluşturulmuştur. Bunlar içinde BASFI (Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi) ve BASMI (Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi) sayılabilir. BASFI, hastalarin günlük yaşamları sırasında, son bir haftalık fonksiyonlarını değerlendirmek için hastalara sorulan 10 soruya verilecek yanıtın incelenmesiyle sağlanmaktadır (EK-2) (18).

4.1.7. Ankilozan Spondilit Tedavi

Hastaların postürünü koruyabilmek ve hareket yeteneğini sürdürebilmek amacıyla AS tedavisi içerisinde mutlaka egzersiz programı da yer almalıdır. Halen nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) AS'teki medikal tedavinin temelini oluşturmaktadır. Bu ilaclar AS'li hastaların çoğunda ağrı ve duyarlılığı azaltarak hareketliliği arttırırlar. Ayrıca yeni bir randomize kontrollü çalışmada, her gün NSAİİ kullanan hastalardaki radyolojik ilerlemenin, ciddi ağrı ve katılık için gereksinim oldukça NSAİİ kullananlara göre daha yavaş olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber çoğu hastada NSAİİ'lara rağmen belirtiler sürmekte ve deformiteler gelişmektedir.

2000 yılında kullanılmaya başlanan anti-TNFα ilaçlarla AS ve diğer SpA'li hastalarda dramatik yanıtlar elde edilmektedir. İnfliksimab (kimerik insan/fare anti-TNFα monoklonal antikoru), etanersept (solubl p75 TNFα reseptör-IgG füzyon proteini) veya adalimumab (insan anti-TNFα monoklonal antikoru) ile tedavi edilen AS'li hastalarda hastalık aktivitesini gösteren tüm klinik ve laboratuvar ölçütlerinde hızlı, belirgin ve sürekli düşüşler saptanmaktadır.

Uzun süreli hastalığı olanlarda hatta komplet spinal ankilozu gelişmiş olanlarda bile hastalık aktivitesini ve fonksiyonunu gösteren sabah katılığı, ağrı, spinal hareketlilik, periferik eklem şişliği, CRP ve ESH gibi hem objektif hem de subjektif göstergelerde belirgin düzelmeler sağlanmaktadır. MRG çalışmaları, sakroiliyak eklem, omurga ve periferik eklemlerde kemik iliği ödemi, entezit ve eklem efüzyonlarında substantial rezolüsyonu göstermektedir. Benzer sonuçlar, her 3 ajanla geniş randomize kontrollü çalışmalarda ve çok sayıdaki açık etiketli çalışmalarda elde edilmiştir. Hastaların yaklaşık yarısında, Ankilozan spondilitteki hastalık aktivitesi ölçümünde en sık kullanılan BASDAI'de %50 azalma başarılmıştır. Tedavinin başlangıcından 24 hafta gibi kısa bir süre sonra kemik mineral yoğunluğunda artış saptanmıştır. Radyolojik olarak hastalık ilerlemesinde yavaşlama olup olmadığı henüz net olarak gösterilememiştir. Bu ilaçların AS tedavisindeki kullanım dozları genel olarak Romatoid artrittekine benzerdir. İnfliksimab tipik olarak 3-5 mg/kg dozunda intravenöz infüzyonla başlanır, 2 ve 6 hafta sonra aynı doz tekrarlanır ve daha sonra 8 haftada bir infuzyon sürdürülür. Daha uzun aralıklarda, hatta gereksinim olduğunda dozun tekrarlanması şeklindeki kullanım şekli ile bazı hastalarda başarılı olunmuştur.

Bu güçlü immunosupresif ajanlar oldukça güvenli olmalarına karşın yan etkileri mevcuttur. Bunlar; (1) ciddi infeksiyonlar (dissemine tüberküloz dahil), (2) pansitopeni gibi hematolojik bozuklular, (3) demiyelinizan hastalıklar, (4) konjestif kalp yetmezliğinin alevlenmesi, (5) sistemik lupus eritematozus ile ilişkili antikorlar ve klinik bulgular, (6) infüzyon ve enjeksiyon bölgesinde aşırı duyarlılık reaksiyonları (7) ciddi karaciğer

hastalıklarıdır. Malignite sıklığında artışa neden olup olmadığı araştırılmış ancak bu ajanlarla 5 yıla kadar tedavi edilen Ankilozan spondilit hastalarında malignite artışı gözlenmemiştir.

Pahalı olmaları, potansiyel ciddi yan etkileri ve uzun sureli tedavi sonuçlarının bilinmemesinden dolayı bu ajanlarla tedavi, ancak kesin tanılı ve aktif hastalığı olan (BASDAI 10 üzerinden 4 ve uzman görüşü ile) ve en azından 2 farklı NSAİİ'la tedaviye yeterli yanıt vermeyen hastalara sınırlı kalmalıdır. Anti-TNF tedaviye başlamadan önce bütün hastalara tüberkulin deri testi yapılmalı ve testi ≥5 mm olan hastalara anti-TB profilaktik tedavi başlanmalıdır. Tedavi kontrendikasyonları arasında; aktif enfeksiyon veya yüksek enfeksiyon riski, malignite veya premalignite ve sistemik lupus eritematozus, multiple skleroz veya ilişkili otoimmuniteler yer almaktadır. Gebelik ve emzirme rölatif kontrendikasyonlardır. 12 haftadan sonra tedaviyi sürdürebilmek için BASDAI'de %50 düşme (veya 10'da 2 mutlak azalma) ve olumlu uzman görüşünün olması gerekmektedir. Günde 2-3 g dozda kullanılan sulfosalazinin özellikle periferik artrit üzerinde orta derecede etkisinin olduğu gösterilmiştir. Sulfosalazin, periferik artriti ön planda olan hastalarda, anti-TNF tedavisi öncesi denenmelidir. Sıkça kullanılmasına karşın metotreksat tedavisinin etkinliği gösterilememiştir. Altın veya oral glukokortikoidlerin etkinliğini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Günde 200 mg dozda kullanılan talidomid ile potansiyel yarar sağlandığı bildirilmiştir; bu ilacın etkisini TNFα inhibisyonu yoluyla yapması olasıdır (8).

4.2. Romatoid Artrit

4.2.1. Romatoid Artrit

Romatoid artrit (RA); eklemlerde simetrik tutulum gösteren, kronik, inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. RA etnik kökene göre değişkenlik göstermekle birikte dünya genelinde ~%1 prevalansa sahip olup, en sık görülen kronik inflamatuvar hastalıktır (19, 20).

Romatoid artritin pulmoner, kardiyovasküler, psikolojik ve iskelet sistemi rahatsızlıkları gibi multisistemik etkileri de olabilmektedir. Hastaların bireysel olarak yaşadığı kas-iskelet sistemi bozuklukları, fiziksel kısıtlamalar, yaşam kalitesinin düşmesi, yüksek sağlık masrafları gibi olumsuz etkileri ile birlikte iş gücü kaybı gibi olumsuz sosyoekonomik etkileri de vardır (19). Hastalık her yaşta başlayabilir ancak genelde ileri yaş hastalığıdır ve kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir (20). Romatoid artrit etiyolojisi ve patolojisi henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa da çevresel ve genetik birçok faktörden etkilendiği bilinmektedir (21).

4.2.2. Romatoid Artrit Tanı ve Sınıflandırma

Romatoid artrit tanısı için kesin bir tanı kriteri bulunmamaktadır. Bunla birlikte Amerikan Romatoloji Birliği (American College of Rheumatology; ACR) ve Avrupa Romatoloji Birliği (EULAR; European League Against Rheumatism) tarafından 2010 yılında belirlenen puanlama sistemi ile eklem tutulumu, serolojik bulgular, semptom süresi ve akut faz reaktanlarının konsantrasyonuna göre tanı konulmaktadır (22, 23).

Romatoid artrit tanısı konması için kişinin en az bir ekleminde tutulum görülmeli ve ACR/EULAR kriterlerinde on üzerinden en az altı puan almalıdır. (Tablo 4.2). İmmünoglobulin G'ye karşı oluşan bir otoantikor olan Romatoid Faktör (RF) ve anti-sitrüline protein antikoru (Anti citrulinated peptides/proteins-ACPA), hastaların %80'inde bulunur. RF diğer otoimmün hastalıklarda ve hatta sağlıklı kişilerde de görülebilirken, ACPA RA'ya daha spesifiktir (24).

Tablo 4.2. Romatoid Artrit ACR/EULAR Sınıflama Kriterleri

Tutulan eklem sayısı	**Puan**
1 orta-büyük eklem	**1**
2-10 orta-büyük eklem	**2**
1-3 küçük eklem (±büyük eklem)	**3**
4-10 küçük eklem (±büyük eklem)	**4**
>10 eklem (en az 1 küçük eklem)	**5**
Seroloji	
RF (-), ACPA(-)	**0**
Düşük titrede (+) RF veya düşük titrede (+) ACPA	**2**
Yüksek titrede (+) RF veya yüksek titrede (+) ACPA	**3**
Akut faz reaktanları	
Normal CRP ve normal ESH	**0**
Yüksek CRP veya yüksek ESH	**1**
Semptomların süresi	
< 6 hafta	**0**
>6 hafta	**1**

ACPA; Anti sitrüline protein antikor

Tedavi sürecinde hastalığın seyrini takip etmek ve derecelendirmek için hastanın 28 farklı eklemindeki tutulum derecesi, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C–reaktif protein (CRP) değerleri ile hesaplanan hastalık aktivite skoru (Disease Activity Score 28-DAS 28) puanlaması kullanılmaktadır (25, 26). DAS 28 skoruna göre remisyon, düşük şiddetli, orta şiddetli ve çok şiddetli olacak şekilde hastalığın aktivitesi belirlenir (Tablo 4.3). Ayrıca, hastanın cevaplandırdığı bir anket üzerinden fonksiyonel durumu değerlendirmek için geliştirilmiş Sağlık Değerlendirme Anketi (Health Assessment Questionnaire-HAQ), RA'da hastanın yaşam kalitesini belirlemede kullanılmaktadır (27).

Tablo 4.3. DAS28 Skoruna göre Romatoid artrit hastalığının evreleri

Hastalığın Aktivitesi	DAS28 Skoru
Remisyon	≤2,6
Düşük Şiddetli Hastalık	>2,6-≤3,2
Orta Şiddetli Hastalık	>3,2-≤5,1
Çok Şiddetli Hastalık	>5,1

4.2.3. Romatoid Artrit Epidemiyoloji ve Genetik

Romatoid artritin toplumdaki prevalansı ~%0.8'dir (%0.2-2.1 aralığında); kadınlar erkeklere göre yaklaşık üç kat daha fazla etkilenirler. Hastalığın sıklığı yaşla birlikte artar ve ileri yaş grubunda cinsiyetler arasındaki fark azalır. Romatoid artrit tüm dünyada ve her ırkta görülür. Hastalık başlangıcı en sık 4. ve 5. dekatlarda olup, %80 hastada klinik bulgular 35-50 yaşları arasında başlamaktadır. RA, 60-64 yaş arası kadınlarda, 18-29 yaşlarındaki kadınlarla kıyaslandığında altı kat daha sıktır. Aile çalışmaları genetik yatkınlığı düşündürür. Örneğin romatoid faktör gibi otoantikor pozitif hastaların birinci derece akrabalarında şiddetli hastalık görülme oranı beklenilenden yaklaşık dört kat daha fazladır. RA hastalarının ~%10'nun etkilenmiş birinci derece akrabası vardır. Dahası monozigotik ikizlerin; ikiz olmayanlara benzer hastalık gelişme riskine sahip olan dizigotik ikizlere göre, RA için konkordant olmaları en az 4 kat daha olasıdır. Ancak yine de monozigotik ikizlerin yalnızca %15-20'si RA için konkordanttır. Bu durum genetik dışı diğer faktörlerin etyopatogenezde önemli rol oynadıklarına işaret etmektedir. Buna rağmen genetik faktörlerin RA'e yatkınlığın %60'ını açıkladığı düşünülmektedir. RA için en yüksek konkordans riskinin, hastalık ile ilişkili olduğu bilinen iki HLA-DRB1 alleline sahip ikizler arasında bulunmuş olması dikkate değerdir. Sınıf II major histokompatibilite kompleks alleli HLA-DR4 (HLA-β1*0401) ve ilişkili alleller RA

için bilinen başlıca genetik risk faktörleridir. Genetik risk faktörlerinin RA sıklığını tümüyle açıklayamıyor olması çevresel faktörlerin de hastalık etyolojisinde rolü olduğunu düşündürmektedir (8).

4.2.4. Romatoid Artrit Patoloji ve Patogenez

Mikrovaskuler hasar ve sinovyal döşeyici hücre sayısında artışın romatoid sinovitin en erken lezyonları olduğu anlaşılmaktadır. Bu yanıta neyin neden olduğu bilinmemektedir. Daha sonra sinovyal döşeyici hücre sayısının artışı ile beraber perivasküler mononüklear hücre infiltrasyonu görülür. Klinik yakınmaların ortaya çıkışından önce perivaskuler infiltrat başlıca myeloid hücrelerden oluşurken, sayıları belirtilerle korele olmasa da semptomatik artritte T hücreleri de bulunur. Süreç ilerlediğinde sinovyum ödemli hale gelir ve villöz çıkıntılarla eklem boşluğuna doğru uzanır. Romatoid sinovyumda endotelyal hücreler, sitokin maruziyeti ile inflamatuvar hücrelerin dokuya girişini kolaylaştırmak üzere değişikliğe uğrayarak lenfoid organların yüksek endotelyal venülleri görünümünü alır. Romatoid endotelyal hücreler bu durumda görev alan çeşitli adezyon moleküllerini daha fazla miktarda eksprese ederler. Bu patolojik görünüm RA için tipik olmakla beraber diğer kronik inflamatuvar artritlerde de bulunabilir. Mononüklear hücre birikimleri farklı boyut ve kompozisyondadır. Baskın infiltre eden hücreler T lenfositleridir. CD8+ lenfositlerden daha fazla bulunan CD4+ T hücreleri sıklıkla HLA-DR4+ makrofaj ve dendritik hücrelerin yakınında yer alırlar. Sinovyumda T hücre reseptörünün γδ formunu eksprese eden ayrı bir T hücre popülasyonunun da sayısı artmıştır ancak bunlar azınlık popülasyonunda olup Romatoid artritteki rolleri tanımlanamamıştır. Romatoid sinovyumda major T hücre popülasyonu CD4+ bellek hücreleridir ve postkapiller venüller çevresindeki hücre birikimlerinin çoğunluğunu oluştururlar. CD8+ T hücreleri dokuda saçılmış olarak bulunurlar. Her iki hücre popülasyonu da erken aktivasyon antijeni olan CD69 eksprese ederler. T hücre birikiminin yanında romatoid sinovitin bir diğer özelliği de değişen sayıda B hücre ve antikor üreten plazma hücre infiltrasyonudur. Romatoid sinovyum; aktive lenfositler, makrofajlar ve fibroblastlarca salgılanan çok sayıda ürünlerin varlığı ile karakterizedir. Bu sitokin ve kemokinlerin lokal üretiminin Romatoid artritin pek çok klinik ve patolojik bulgularından sorumlu olduğu anlaşılmaktadır. Bu efektör moleküller arasında T hücrelerinden, aktive myeloid hücrelerden, fibroblast veya endotel hücreleri gibi sinovyumun diğer hücre tiplerinden salgılananlar bulunmaktadır. Bu sitokin ve kemokin aktivitesi; sinovyal doku inflamasyonu, sinovyal sıvı inflamasyonu, sinovyal proliferasyon, kıkırdak ve kemik hasarı gibi romatoid sinovitin pek çok özelliği yanında RA'in sistemik bulgularından da sorumlu gibi görünmektedir. İnflamatuar süreci ilerletecek efektör molekül üretimine ek olarak inflamasyonu yavaşlatacak; sitokin

etkilerinin spesifik inhibitorleri ve Transforming Growth Faktor β (TGF- β) gibi ilave sitokinler de lokal olarak üretilir. TGF-β; T hücre aktivasyon ve proliferasyonu, B hücre farklılaşması, inflamatuar bölgeye hücre göçü gibi romatoid sinovitin pek çok bulgusunu inhibe eder. Ayrıca TGF-β inflamasyonun kontrolünde bir araç olarak regülator T hücre popülasyonun oluşmasında rol alıyor olabilir. Bu bulgular, başlatan uyaran bilinmemekle beraber RA'in ilerlemesinin immün aracılı bir olay olduğunu düşündürür. Bir görüş dokudaki inflamatuar sürecin sinovyumu infiltre eden CD4+ T hücrelerince idare edildiğidir. Bu konudaki kanıtlar (1) sinovyumda CD4+ T hücrelerinin hakim olması; (2) aktif romatoid artritli hastalarda kanda ve sinovyumda bir aktive T lenfosit ürünü olan çözünür interlokin 2 (IL-2) reseptörlerinin artmış olması ve (3) torasik kanal drenajı veya periferik lenfosit aferezi ile T hücrelerinin uzaklaştırılması veya siklosporin, leflunomid, CD4'e karşı nondepleting monoklonal antikorlarla (yani monoklonal antikorların anahtar fonksiyonu bu hücrelerin azaltılması veya ortadan kaldırılması aracılığıyla olmamaktadır) T hücre proliferasyonu ile fonksiyonun baskılanması veya CTLA-4.Ig (abatacept) gibi ilaçlarla T hücre aktivasyonun inhibe edilmesi sonucu hastalığın iyileşmesidir. Romatoid sinovyumdaki CD4+ T hücreler özellikle proinflamatuvar sitokin interferon γ (IFN γ) üreten T_H1-benzeri efektör hücrelere farklılaşırlar. Bu hücrelerin antiinflamatuvar sitokin IL-4 üretme yeteneğindeki T_H2-benzeri efektör hücrelere farklılaşması yetersiz görülmektedir. IL-4'ün düzenleyici etkileri olmaksızın devam eden IFNγ salınımı sonucunda makrofajlar aktive olur ve IL-1 ve tümör nekroz faktör (TNF) gibi proinflamatuvar sitokinler üretir ve HLA moleküllerinin ekspresyonu da artar. Aktive T hücreleri ve myeloid hücrelerin doğrudan teması da myeloid hücrelerce proinflamatuvar sitokin üretilmesine neden olabilir. Dahası T lenfositleri CD154 (CD 40 ligand) gibi yüzey molekülleri eksprese eder. Yine T hücreleri, B hücrelerinin proliferasyon ve antikor oluşturan hücrelere farklılaşmasını artıran çok ceşitli sitokinler de üretir ve böylece lokal B hücre uyarımını da düzenlerler. Sonuç olarak üretilen immunglobulin ve romatoid faktör; immun-kompleks oluşumuna, takiben kompleman aktivasyonuna, C3a, C5a ve kemotaktik faktör C5a gibi anafilatoksinlerin üretimi ile inflamatuvar sürecin alevlenmesine yol açabilirler (8).

4.2.5. Romatoid Artrit Tedavi

Romatoid artrit tedavisinin amaçları (1) ağrının hafifletilmesi (2) inflamasyonun azaltılması, (3) eklem yapılarının korunması, (4) fonksiyonların idame ettirilmesi ve (5) sistemik tutulumun kontrolüdür. RA'in etyolojisi bilinmediğinden patogenezi tam olarak ortaya konulmamıştır ve kullanılan bazı terapötik ajanların etki mekanizması kesin olmadığından, tedavisi hala bir miktar ampiriktir. Hiçbir tedavi girişimi küratif değildir, bu nedenle hepsi; hastalık belirti ve bulgularının hafifletilmesini amaçlayan palyatif yaklaşımlar olarak

görülmelidir. RA'in medikal tedavisi beş genel yaklaşımı kapsar. Bunlardan ilki, lokal inflamatuvar sürecin neden olduğu belirti ve bulguları kontrol etmek için, steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçların ve basit analjeziklerin kullanımıdır. Önemli bir ikinci sıra tedavi düşük doz oral glukokortikoid kullanımıdır. Düşük doz glukokortikoidler belirti ve bulguların baskılanması için yaygın şekilde kullanılsa da son kanıtlar bunların kemik erozyonu gelişim ve ilerlemesini de yavaşlatabildiklerini göstermektedir. Ayrıca düşük doz glukokortikoidler, metotreksat gibi ilaçların hem anti-inflamatuvar hem de kemik hasarı üzerindeki koruyucu etkisini artırır. Üçüncü sıra ilaçlar arasında hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaçlar (disease modifying anti-rheumatic drugs-DMARD) DMARD'lar bulunur. Bu ilaçların, kullanıldığı hastalarda akut faz yanıtı düzeylerini azaltıcı etkisi görüldüğünden, Romatoid artritin inflamatuvar yönünü ve haraplayıcı kapasitesini değiştirdiği düşünülmektedir. Metotreksat, sülfasalazin, hidroksiklorokin, altın tuzları veya D-penisilamin bu ilaçlar arasında sayılabilir ancak son iki ajan günümüzde nadiren kullanılır. Dördüncü grup ilaçlar biyolojiklerdir ve bunlar arasında TNF inhibitörü ilaçlar (infliksimab, etanercept ve adalimumab), IL-1-nötralize edici ilaçlar (anakinra), B hücrelerini uzaklaştıranlar (rituksimab) ve T hücre aktivasyonunu etkileyenler (abatasept) yer alır. Bu ilaçların Romatoid artritin belirti ve bulguları üzerindeki önemli etkileri yanında eklem yapılarında ilerleyici hasarı yavaşlattıkları da gösterilmiştir. Klinik çalışmalar TNF'yi inhibe eden ilaçlardan herhangi birinin parenteral uygulanmasının, hem DMARD tedavisine yanıtsız hastalar hem de hiç DMARD kullanmamış hastalarda, Romatoid artritin belirti ve bulgularını kontrol etmede dikkat çekici şekilde etkili olduklarını göstermiştir. Beşinci grup ajanlar; leflunomid, siklosporin, azatioprin ve siklofosfamid gibi immünosupresif ilaçlardır ve bunların bazı hastalarda hastalık sürecini hafiflettikleri gösterilmiştir. RA'in belirti ve bulgularını kontrol edebilmek amacıyla başka yaklaşımlar da denenmiştir. Bazı balık yağlarında bulunan eikosapentaenoik asit gibi omega-3 yağ asitleri veya ette bulunan omega-6 yağ asitleriyle yerine koyma tedavisinin RA'li hastalarda semptomatik iyileşmeyi sağladığı gösterilmiştir (8).

4.3. Tümör Nekroz Faktörü

4.3.1. Tümör Nekroz Faktörü

Tümör nekroz faktörü (TNF), 157 amino asitten oluşan 17 kDa'luk bir protein olup çözelti içinde bir homotrimerdir ve biyoaktivitesi esas olarak TNFα bağlayıcı reseptörler tarafından düzenlenir. İnsanlarda, geni 6. kromozomda yerleşmiştir. TNF esas olarak aktive makrofajlar, T lenfositler ve doğal öldürücü (NK) hücreler tarafından ve daha düşük seviyelerde de fibroblastlar, düz kas hücreleri ve tümör hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücreler

tarafından üretilir. Hücresel TNF, pro-TNF (26 kDa) olarak sentezlenir ve membrana bağlıdır, pro-domeninin TNF dönüştürücü enzim (TNF-converting enzyme; TACE) tarafından bölünmesiyle serbestleşir. TNFα iki farklı reseptör (TNFR-1 ve TNFR-2) aracılığı ile etki eder, TNFR-2 afinitesi TNFR-1'den 5 kat daha yüksektir ancak biyolojik aktivitelerinin çoğunu TNFR-1 başlatır. TNFR-1 (p55) tüm hücre tiplerinde üretilirken, TNFR-2 (p75) üretimi esas olarak bağışıklık hücreleriyle sınırlıdır. İki reseptör arasında ana fark, death domainin (DD) TNFR-1'de olup TNFR-2'de olmamasıdır. TNFR-1 ikili rol oynar; hem apoptozun indüklenmesinde, hem de aynı zamanda hücre canlılık sinyallerinin iletiminde yer alır. Sinyal yolakları iyi tanımlanmıştır, ancak yaşam/ölüm sinyalinin düzenlenmesi fazla anlaşılamamıştır.

TNF, çok sayıda patolojik ve fizyolojik yolda rol alır.

1. Düşük seviyelerde homeostazinin korunmasına vücudun sirkadiyen ritmini düzenleyerek yardımcı olur, hasarlı ve yaşlı dokunun yeniden yapılanmasını ise fibroblast gelişimini uyararak yapar.
2. Romatoid artrit, Crohn hastalığı, Psoriatik Artrit (PsA) ve Ankilozan Spondilit gibi romatizmal hastalıkların patogenezinde çok önemli rol oynar.
3. Kemik hasarı ve rezorbsiyonunda görev alır.
4. Konak savunmasında ve tümör sürveyansında yer alır.
5. Kalp yetmezliğinde rol oynar ve ateroskleroz başlamasına neden olan dislipidemi ve insülin direncini arttırarak, plak rüptürü ve akut miyokard enfarktüsüne (AMI) yol açar (28).

TNF ve interlökin (IL)-1β gibi proinflamatuar sitokinler RA patogenezinde anahtar rol oynar. RA hastalarının sinovyal membranı hiperplastiktir, yüksek oranda vaskülarize ve inflamatuar hücreler tarafından infiltredir. CD4+ T lenfositleri önemli rol oynar, çünkü bir antijen tarafından aktive edildiklerinde monositleri, makrofajları ve sinovyal fibroblastları uyarır ve IL-1, IL-6 ve TNF'yi üretir; ayrıca CD69 ve CD118 aracılığıyla hücre yüzeyi sinyalizasyonu ve interferon (IFN)-γ, IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF gibi çözünür aracıların serbest bırakılması yoluyla matriks metalloproteinazları (MMP) salgılarlar.

Aktive edilmiş CD4+ T hücreleri, B hücrelerini uyararak Romatoid faktör (RF) ve immünoglobulinlerin salgılanmasına neden olur. Ayrıca osteoklastogenezi uyaran RANK ligandının (RANKL), NF-κB (RANK) reseptör aktivatörünü ekspirese eder. Aktive makrofajlar, lenfositler ve fibroblastlar da Romatoid artritin sinovyal hipervaskülaritesinden sorumlu olan anjiyogenezi uyarabilir. Sinovyal endotel hücreleri aktive olur ve inflamatuar hücrelerin çalışmasını uyaran adezyon moleküllerini eksprese eder. Son olarak, TNF çeşitli sitokinlerin üretimini indükler ve fibroblastları lökositlerin yüzeyindeki ligandlarla etkileşime

giren adezyon moleküllerini eksprese etmek için uyarıp, inflamatuar hücrelerin sayısını arttırır. TNF'in, düzenleyici T hücrelerinin dengesini değiştirebilen immün sistemi uyarıcı rolü mevcuttur. Romatoid artrit hastalarının sinovyal sıvılarında, inflamatuar pannus ve sağlıklı kıkırdak arasındaki bileşkede lokalize olan ve kemik erozyonları ile ilişkili yüksek TNF seviyeleri vardır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, TNF'yi antagonize etmenin uygulanabilir bir terapötik strateji olduğu hakkında önemli kanıtlar sağlamış ve çeşitli anti-TNF blokerlerinin, TNF'yi bloke ederek RA hastalarının semptomlarını iyileştirdiğini ve kemik yeniden şekillenmesini etkileyerek kemik hasarını durdurduğunu göstermiştir.

TNF, diğer etkilerinin yanı sıra antiviral aktiviteye sahip olup enfeksiyon ve sepsiste sistemik inflamatuar yanıtlara aracılık eder. Özellikle Mycobacterium tuberculosis ve diğer hücre içi patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlar gibi bir dizi hastalıkta konak yanıtında çok önemli bir rol oynar. TNF, hücre içi patojenleri kontrol etmek için gerekli olup enfeksiyöz bölgede inflamatuar hücre artışını uyarıp fiziksel olarak enfeksiyon içeren granülomların oluşumu ve devamlılığını sağlar. Ayrıca, granülomlar oluştuktan sonra bile, anti-TNF ajanların uygulanması granülomların gerilemesine yol açarak gizli tüberkülozun reaktivasyonununa sebep olabilir. Bununla birlikte, bu tür bir tedavi, tüberkülozun gelişiminde hastalığa yatkınlık yaratan birçok risk faktöründen sadece biridir. Son olarak, TNF lökosit trafiğinde ve immün kompleksin temizlenmesinde görev alır. Anti-TNF tedavisi alan bağışıklığı baskılanmış hastalarda bakteriyel enfeksiyonlar her zaman en yaygın enfeksiyonlar olmuştur.

TNF ve kanser arasındaki net ilişki belirsizdir: melanom ve sarkom dahil bazı maligniteleri tedavi etmek için yüksek doz TNF kullanılmıştır, ancak kansere bağlı kaşeksi tedavisinde de anti-TNF kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu da farklı TNF konsantrasyon seviyelerinin farklı karsinogenez evrelerinde farklı rol oynadığını göstermektedir. Benzer şekilde anti-TNF tedavi malignansilerde farklı etki spektrumu gösterir ve bu nedenle kanser riski taşıyan RA hastalarında anti-TNF tedavi kullanılmaz.

TNF, ateroskleroz için risk faktörleri olan dislipidemi ve insülin direncini arttırır, yağlı çizgilenme oluşumu ve ateroskleroz başlangıcına yol açan adezyon moleküllerini arttırır ve akut miyokard enfarktüsünün (AMI) en sık sebebi olan plak yırtılmasına neden olan inflamasyonda rol oynar.

TNF, trombotik olayları arttırarak trombofiliye de neden olabilir (28).

4.3.2. TNFα İnhibisyonu

Tümör nekrozis faktör-α (TNFα)'yı hedefleyen biyolojik ajanların bulunması, bir hayli inflamatuvar hastalığın tedavisini önemli ölçüde değiştirmiştir. TNF inhibitörleri ile sağlanan klinik başarı, diğer sitokinlere (IL-6, IL-1) karşı da inhibitörlerin geliştirilmesi için özendirici olmuştur. Spesifik TNFα inhibitörleri; inflamatuvar hastalıkların birçoğunun tedavisinde güvenli olup tolerasyonları iyidir. Fakat bu ilaçların güvenilirlik ve etkinliğinin kesin bir şekilde belirlenmesi için zamana ihtiyaç vardır. TNF inhibisyonu tedavisi ile ek olarak, inflamatuvar hastalıkların patogenezi ve TNF'nin inflamasyondaki etkisi daha belirgin anlaşılmıştır. Konakçı savunmasında, TNF önemli etki göstermesine rağmen, RA, AS, Crohn hastalığı, PsA, Ps ve diğer inflamatuvar hastalıklarda inflamatuvar cevap olarak çok fazla miktarda ve kontrolsüz şekilde üretilir. Farklı çalışmalar, bu hastalıklarda sistemik ve lokal TNF ve eş zamanlı şekilde TNF reseptörlerinin (TNF-R) üretiminin aşırı miktarda arttığını saptamıştır. TNF diğer proinflamatuvar olaylara da aracı olur. Başka proinflamatuvar sitokinlerin aşırılığı, nitrik oksit, kollajenaz, prostaglandin, adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artması ve spontan eroziv sinovit bulgularının tamamı, hem insanlardaki inflamatuvar hastalıklarda, hem de fazla miktarda TNF salgılayan transgenik farelerde gösterilmiştir (29, 30).

Bundan dolayı TNF, çekici bir tedavi seçeneği olup bu patolojilerde TNF'nin öncelikli etkisini doğrulamak için, TNF blokörleri ile tedaviyi göstermek amaçlı klinik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Son 20 yılda, monoklonal antikorların (mAb'ler) kimerikleştirilmesi ve hümanizasyonu, heyecan verici yeni bir biyolojik ilaç sınıfının olmasını sağlamıştır. Bu sınıf antikorlar diğer adıyla immünoglobulinler, adaptif bağışıklık sisteminde antijenleri tanıma ve nötralize etmede oynadığı merkezi rolü kullanır. Bir ilaç sınıfı olarak monoklonal antikorlar, hastalık süreçlerinde yer alan insan proteinlerini tanımak, inhibe etmek veya uzaklaştırmak için tasarlanmıştır. Tümör nekroz faktörü α (TNFα) böyle bir örnektir. TNF, hem proinflamatuar hem de immün düzenleyici fonksiyona sahip bir sitokindir. TNF'nin Romatoid artritteki rolü 1991'de tanımlanmıştır (31). Kısa süre sonra, TNF'ye karşı yönlendirilmiş bir kimerik murin-insan mAb'sinin kullanıldığı klinik deneyler, önemli klinik etkinlik göstererek, TNF'yi terapötik bir hedef olarak doğrulamıştır (32, 33). Bu zamandan beri, anti-TNF biyolojikler Romatoid artrit, Ankilozan spondilit, inflamatuar bağırsak hastalığı (IBD) ve sedef hastalığı gibi hastalıkların tedavisinde devrim yaratmıştır (34).

TNFα inhibitörlerinin hastalık remisyonunu indükleyip romatolojik hastalıklarda hem klinik hem de radyolojik olarak hastalığın ilerlemesini önleyebileceği, hasta semptomlarında işlev ve yaşam kalitesinde önemli iyileşme sağlayabileceği gösterilmiştir (35).

4.3.3. TNF İnhibitörlerinin Monoklonal Antikor Yapısı ve Terminolojisi

TNF inhibitörleri gibi terapötik monoklonal antikorların (mAb) temel yapısı, Ig'lerin genel yapısına dayanmaktadır. Ig molekülleri, 2 özdeş ağır zincir ve 2 özdeş hafif zincirden oluşan 4 polipeptit zincir içerir. Fonksiyonel olarak, her antikor değişken bölge (Fab) ve sabit bölge (Fc) şeklinde 2 kısma bölünebilir (36). Fab fragmanı, antijen bağlanmasından spesifik olarak sorumlu olan komplemanter belirleme bölgeleri içerir. Antikorun Fc kısmı, Ig'nin izotipini belirler ve ağır zincir (gama, mu, alfa, delta, epsilon) ve hafif zincir (kappa, lambda) ile tanımlanır. Özellikle IgG izotipleri, spesifik Fc reseptörleri (FcR) ile etkileşim yoluyla aracılık edilen kompleman aktivasyonu ve antikora bağlı hücresel toksisite dahil olmak üzere zararlı molekülleri temizlemek için tasarlanmış terapötikler için çekici efektör fonksiyonlara sahiptir. IgG'lerin temizlenmesi, antikor ile Fc gama reseptörleri I, II ve III arasındaki etkileşimden kaynaklanan, retiküloendotelyal sistemde reseptör aracılı endositozdan sonra proteolitik katabolizma yoluyla gerçekleşir. İkinci bir yol, IgG'leri geri dönüştürmek için Brambell reseptörüne (FcRn) bağlanmayı gerektirir. Bu IgG'nin yarı ömrünü belirleyen, proteolitik ve FcRn yolakları arasındaki dengedir (34). Bir terapötik monoklonal antikoru başarılı bir şekilde tasarlamak için, Ig'nin insan antijenini tanıması gerekir (normal bağışıklık tepkisinde tipik olarak istenmeyen bir işlev) ve yine insan FcRn ile etkileşime girebilmelidir. Terapötik monoklonal antikorlar, yapılarına dayalı olarak standartlaştırılmış bir terminolojiye sahiptir. Murin antikorları, omab (örneğin kapromab) olarak adlandırılır. Bu gruptakiler ilk klinik çalışmaları yapılanlardan olup yüksek immünojenik potansiyelleri, FcRn için düşük afiniteleri ve bir insan IgG'sine kıyasla kısa yarı ömürleri önemli dezavantajları olmuştur. Daha sonra, murin değişken bölgeleri ve insan Fc fraksiyonları ile kimerik mAb'ler (en az %65 insan) geliştirilmiş; bunlara ximab adı verilmiş (örneğin, infliksimab). Sınıfındaki ilk biyolojik olan İnfliksimab, Ağustos 1998'de şiddetli Crohn hastalığının tedavisi ve 2002 yılında refrakter Romatoid artrit tedavisi için onaylanmıştır. İnfliksimab, kültüre Çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde üretilen, insan IgGl kappa sabit bölgesine bağlı bir murin Fab bölgesinden oluşan kimerik bir IgG1 mAb'dir (37, 38).

Tam uzunluktaki monoklonal antikorların aksine, certolizumab, Escherichia coli'de hücre kültürü tarafından üretilen ve daha sonra polietilen glikole kimyasal olarak bağlanan hümanize bir IgG4 Fab fragmanıdır. Fab parçasının bu modifikasyonu, metabolik klirens oranlarını azaltır ve molekülün yarı ömrünü uzatır. Son olarak, onaylanmış TNF inhibitörlerinin en eşsizi etanercept'tir. Etanersept, TNF p75 reseptörü ile bir insan IgGl'inin Fc fraksiyonu arasındaki rekombinant bir füzyon proteinidir.

TNFα inhibitörleri hastalık remisyonunu indükleyip romatolojik hastalıklarda hem klinik hem de radyolojik olarak hastalığın ilerlemesini önleyebilir, hasta semptomlarında işlev ve yaşam kalitesinde önemli iyileşme sağlayabilir (35). İnfliksimab, AS klinik çalışmalarında etkinlik gösteren ilk TNF inhibitörü olup tedavinin başlangıcından 2 hafta sonra belirtileri, semptomları, işlevi ve yaşam kalitesini iyileştirmiştir (39). TNFα inhibitörleri yetişkin RA, jüvenil idiyopatik artrit, Ankilozan spondilit ve Crohn hastalığı için, ajanlar arasında bazı farklılıklarla birlikte, en etkili mevcut tedaviler arasındadır (35, 40).

4.3.4. TNFα İnhibitörlerine Karşı Oluşan Antikorlar

Terapötik protein ürünleri oluşturulurken veya geliştirilirken, bir monoklonal antikor (mAb) ile tedavi edilen hastalarda gelişen anti-ilaç antikorları (Anti Drug Antibody-ADA) terapötik proteinlere ve/veya terapötiklerle ilişkili endojen proteinlere bağlandığından, bunların immünojenisitesini değerlendirmek önemlidir. Anti-ilaç antikorları, terapötiklerin farmakokinetiğini, etkinliğini ve güvenliğini etkileyebilir (41).

Terapötik protein ürünleri olarak, son yirmi yılda birçok monoklonal antikor (mAb) aktif olarak geliştirilmiş ve birçok hastalık için önemli hale gelmiştir. İnsanda kullanım için onaylanan ilk monoklonal antikor, bir fare anti-insan CD3 antikoru olan muromonab-CD3 tür. Bir fare antikoru, insanda genellikle yüksek oranda immünojenik olduğundan, kimerik (insan dışı sabit bölgelerin yerini insana ait sabit bölgelerle değiştiren), hümanize (insana ait olmayan dizileri daha hümanize eden) ve tamamen insan monoklonal antikorları oluşturulmuştur (42, 43). Ancak kimerik, hümanize veya tamamen hümanize monoklonal antikor uygulanan hastalarda anti-ilaç antikorlarının indüksiyonu hala görülmüştür (44, 45). Örneğin, adalimumab ve infliksimab gibi antikorlarla, inflamatuar bağırsak hastalığının tedavisinde anti-ilaç antikorların varlığı sıklıkla birincil etkinlikte bir azalma ve yanıt kaybı ile ilişkili bulunmuş ve infliksimab ile yan etkilerde artış bildirilmiştir (45). Bu nedenle terapötik monoklonal antikorlara karşı anti-ilaç antikorların gelişimi, diğer terapötik protein ürünlerinde olduğu gibi değerlendirilmelidir.

Romatoid artrit tedavisi için infliksimab ve adalimumab gibi ilaçlara, anti-ilaç antikorları oluşturulması, anti-TNF'ye yanıtsızlık için bir faktördür (46, 47). Çalışmalara göre, anti-infliksimab antikorları olan RA hastalarında daha fazla infliksimab dozuna ihtiyaç olup infliksimaba karşı yüksek anti-ilaç antikorları seviyesi terapötik etkinliği azaltan klinik yanıt kaybı ile ilgili bulunmuştur (48). Birkaç çalışma da da Romatoid artrit hastalarında farklı klinik durumların başlıca nedenleri farklı biyoyararlanım ve farklı anti-ilaç antikorların gelişimi olabilir şeklinde yorumlanmıştır (49, 50). Anti-TNF tedavisine immün yanıt; anti-ilaç

antikorları gelişimi ile aktif ilaç seviyesinde azalmaya neden olursa klinik yanıtı bozabilir (51). Anti-TNF ajanların immünojenisitesi tedavi başarısızlığının ana mekanizması olarak kabul edilir (52). Farklı anti-TNF ilaçlarının immünojenisite oranı, uygulama yolu, ilaç dozu, birlikte kullanılan ilaçlar, ayrıntılı tedavi programı ve bağışıklık ve beslenme durumu gibi çeşitli faktörlerdeki farklılıklar nedeniyle farklıdır (53). İnfliksimab gibi, anti-TNF ajanların immünojenisitesinin ilaç etkinliği ve güvenliği üzerine yapılan kapsamlı çalışmalarda bu ajanların antikorlarının, gecikmiş infüzyon ve enjeksiyon bölgesi reaksiyonlarına yol açan ilaç farmakokinetiğini etkileyebileceği görülmüştür (53, 54). Başka bir çalışmada, infliksimab tarafından indüklenen anti-kimerik antikorların, infliksimab klirensini arttırabileceği ve fonksiyonunu azaltabileceği gösterilmiştir (55).

4.4. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Oksidatif Stres

4.4.1. Oksijen Toksisitesi ve Serbest Radikal Hasarı

Oksijen (O_2) insan yaşamı için hem gerekli, hem de toksiktir.

Adenozin trifosfat (ATP) oluşumu, detoksifikasyon ve biyosentez yolaklarındaki oksidasyon reaksiyonları oksijene bağımlıdır. Bununla birlikte, O_2 tek elektronları kabul ettiğinde, hücresel lipitlere, proteinlere ve DNA'ya zarar veren oldukça reaktif oksijen radikallerine dönüşür. Reaktif oksijen radikalleri hücre ölümü ve çok çeşitli hastalıklarda dejenerasyona neden olur. Serbest radikaller basit olarak dış yörüngelerinde (orbital) bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan yüksek enerjili atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (56). Oksijen ayrı yörüngelerde iki eşleşmemiş elektrona sahip biradikal bir moleküldür. Hücrelerde rutin olarak meydana gelen bazı enzimatik ve enzimatik olmayan süreçlerde, O_2 tek elektronları alarak reaktif oksijen türlerini (ROT) oluşturur. ROT, oldukça reaktif oksijen radikalleri veya hücrelerde bu reaktif radikallere kolaylıkla dönüştürülebilen bileşiklerdir. Oksijenin indirgenmesiyle oluşan reaktif oksijen türleri, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$), radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalidir (OH •) (57).

4.4.3. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu

Hücrelerimizde oksijenden reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu doğal, günlük bir olaydır. ROT, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonların tesadüfi ürünleri olarak oluşur (57).

Oksijenin Radikal Doğası:

Radikaller oldukça reaktiftir ve kendi yörüngelerini tamamlamak için komşu bir molekülden bir elektron alarak zincirleme reaksiyonları başlatır.

Oksijen molekülü biradikaldir, yani farklı orbitaller içinde iki tek elektron vardır. Bu elektronların ikisi de aynı yörüngede hareket edemez çünkü paralel dönüşleri vardır (aynı yönde dönerler). Oksijen termodinamik açıdan çok reaktif olmasına rağmen, tek elektronları organik moleküllerin kovalent bağlarında bulunan çift elektronlarla hızlı tepki veremez.

4.4.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Özellikleri

Reaktif oksijen türleri, yüksek derecede reaktif serbest radikaller veya hücredeki bu serbest oksijen radikallerine kolayca dönüştürülen oksijen içeren bileşiklerdir. Oksijenin bir elektronla indirgenmesiyle üretilen başlıca oksijen metabolitleri (süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) ROT olarak sınıflandırılır.

Reaktif serbest radikaller, kendi yörüngelerini tamamlamak için diğer bileşiklerden elektron (genellikle hidrojen atomları olarak) alırlar, böylece serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatırlar. Hidroksil radikali muhtemelen en güçlü (potent) reaktif oksijen türüdür. Lipid peroksit ve organik radikalleri oluşturan ve doğrudan bileşiklere ekleyen zincir reaksiyonunu başlatır. Süperoksit anyonu da oldukça reaktiftir, ancak sınırlı lipid çözünürlüğüne sahiptir ve uzağa yayılamaz. Bununla birlikte, Haber-Weiss reaksiyonunda hidrojen peroksit ile enzimatik olmayan şekilde reaksiyona girerek daha reaktif hidroksil ve hidroperoksi radikalleri oluşturabilir.

Hidrojen peroksit aslında bir radikal değildir; zayıf bir oksitleyici ajandır ancak hidroksil radikali (OH •) oluşturabildiğinden ROT olarak sınıflandırılır. Fe^{2+} veya Cu^{+} gibi geçiş metalleri, enzimatik olmayan Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksitten hidroksil radikalinin oluşumunu katalize eder. Çünkü hidrojen peroksit, yağda çözünür olduğundan, zarlardan geçebilir ve lokalize Fe^{2+} veya Cu^{+} içeren yerlerde, örneğin mitokondrideki elektron taşıma zincirinde hidroksil radikalini (OH •) oluşturabilir. Hidrojen peroksit ayrıca fagositik hücreler tarafından endojen ve enzimatik olarak üretilen güçlü bir oksitleyici ajan olan hipokloröz asitin (HOCl) öncüsüdür. Fenton reaksiyonunun oluşumunu azaltmak için Fe^{2+} veya Cu^{+} gibi geçiş metallerine erişilebilirlik hücrelerde veya bir bütün olarak vücutta oldukça kısıtlıdır. Hücresel depolama bölgelerinden demir salınımına neden olan örneğin ezilme gibi yaralanmalar, artan serbest radikal hasarı ile ilişkilidir (57).

Tablo 4.4. Reaktif Oksijen Türleri; Serbest Radikaller ve Radikal Olmayanlar

Reaktif Oksijen Türleri	**Reaktif Oksijen Türleri**
Serbest Radikaller	**Radikal Olmayanlar**
Süperoksit, $O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $OH^{\cdot}$	Hipobromik asit, HOBr[a]
Hidroperoksil, $HO_2^{\cdot}$	Hipokloröz asit, HOCl[b]
Karbonat, $CO_3^{\cdot -}$	Singlet oksijen, O_2^1 Δg
Peroksil, $RO_2^{\cdot}$	Organik peroksitler, ROOH
Alkoksil, $RO^{\cdot}$	Peroksinitrit, $ONOO^{-}$[c]
Karbondioksit $CO_2^{\cdot -}$	Peroksinitrat, O_2NOO^{-}[c]
Singlet oksijen, O_2^1 Σg+	Peroksinitröz asit, ONOOH [c]
	Peroksinitrik asit, O_2NOOH [c]
	Nitrozoperoksikarbonat, $ONOOCO_2^{-}$
	Peroksomonokarbonat, $HOOCO_2$

a: HOBr reaktif bromin ürünü olarak da kabul edilmektedir.
b:HOCl genellikle reaktif oksijen türleri içerisine dahil edilmektedir.
c: $ONOO^{-}$, $O2NOO^{-}$, ONOOH, O2NOOH genellikle reaktif oksijen türleri içerisine dahil edilmektedir.(56).

4.4.5. Hücrede Reaktif Oksijen Türlerinin Başlıca Kaynakları

Tükettiğimiz oksijenin yaklaşık %3 ila %5'i serbest oksijen radikaline dönüştürülür ve hücrede sürekli ROT oluşur. Bazıları metal içeren enzimlerin aktif bölgesinden oksidasyon reaksiyonları sırasında kaçan, normal enzimatik reaksiyonların tesadüfi yan ürünleri olarak üretilir. Diğerleri örneğin hidrojen peroksit, peroksizomlardaki oksidazların fizyolojik ürünleridir. İnflamatuar yanıt sırasında kasıtlı olarak toksik serbest radikal üretimi meydana gelir. İlaçlar, doğal radyasyon, hava kirleticileri ve diğer kimyasallar da hücrelerde serbest radikal oluşumunu hızlandırır (57).

4.4.6. Hücresel Bileşenlerle Oksijen Radikal Reaksiyonları

Oksijen radikalleri, lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA ile elektron almak için reaksiyona girerek hücresel fonksiyon bozukluğuna neden olur. Yüzden fazla hastalıkta, serbest radikal hasarı kanıtlanmıştır. Bu hastalıkların bazılarında, serbest radikal hasarı hastalığın başlıca nedenidir, diğerlerinde ise hastalığın komplikasyonlarını arttırır (57).

A. Membran Saldırısı: Lipid Oluşumu ve Lipid Peroksi Radikalleri:

Membranlarda lipid serbest radikali ve lipid peroksit oluşturan zincir reaksiyonlar, ROT kaynaklı hasara büyük katkı sağlar. Bir başlatıcı ile (Fenton reaksiyonunda lokal olarak üretilen hidroksil radikali gibi) zincir reaksiyon başlar. Membran lipidindeki çoklu doymamış yağ asidinin tercihen çift bağından bir hidrojen atomu çıkarır. Zincirleme reaksiyon O_2, lipid peroksil radikali ve lipid peroksit oluşturmak üzere eklendiğinde yayılır. Sonunda, malondialdehit (üç veya daha fazla çift bağlı yağ asitlerinden), etan ve pentan (sırasıyla üç ve altı karbonlu yağ asitlerinin ω-terminal karbonlarından) gibi ürünler oluşturan lipit degradasyonu meydana gelir. Malondialdehit, kan ve idrarda görülür ve serbest radikal hasarında bir gösterge olarak kullanılır.

Lipid moleküllerinin peroksidasyonu her zaman lipid molekül yapısını değiştirir veya zarar verir. Membran lipid peroksidasyonunun kendine zarar veren doğasına ek olarak, oluşan aldehitler proteinleri çapraz bağlayabilir. Ne zaman ki hasarlı lipidler biyolojik zarların bileşenleri olduğunda, kohezif lipid iki tabakalı düzenleme ve istikrarlı yapısal organizasyon bozulur. Mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulması, daha fazla serbest radikal üretimi ile sonuçlanabilir (57).

B. Proteinler ve Peptitler:

Proteinlerde, amino asitlerden prolin, histidin, arginin, sistein ve metiyonin, hidroksil-radikal saldırısına ve oksidatif hasara özellikle duyarlıdır. Oksidatif hasarın sonucu olarak, protein parçalanabilir veya kalıntılar diğer kalıntılarla çapraz bağlanabilir. Proteinin sistein kalıntılarına serbest radikal saldırısı, çapraz bağlanmaya ve yıkımı önleyen agregatların oluşumuna neden olabilir. Ancak, oksidatif hasar, diğer proteinlerin proteolitik sindirime olan duyarlılığını artırır.

Serbest radikal hasarı ve tripeptid glutatyonun (glutamilsisteinilglisin) sistein sülfhidril kalıntılarının oksidasyonu, hücrede oksidatif hasarı arttırır. Glutatyon serbest radikal hasarına karşı hücresel savunmanın önemli bir bileşendir ve oksidasyonu, koruyucu etkisini azaltır (57).

C. DNA:

Oksijen kaynaklı serbest radikaller DNA hasarının da önemli bir kaynağıdır. Oksidatif olarak değiştirilmiş yaklaşık 20 tip DNA molekülü tanımlanmıştır. Fe^{+2}'nin DNA'ya spesifik olmayan bağlanması, DNA'da baz değişikliklerine neden olabilen lokalize hidroksil radikali üretimini kolaylaştırır. Ayrıca deoksiriboz çatıya saldırabilir ve zincir kopmalarına neden olabilir. Bu DNA hasarı hücre tarafından bir dereceye kadar tamir edilebilir veya hücre apoptozu ile azaltılabilir (57).

4.4.4. Nitrik Oksit ve Reaktif Nitrojen - Oksijen Türleri

Nitrik Oksit (NO), oksijen içeren serbest bir radikaldir ve O_2 gibi hem yaşam için gerekli hem de toksiktir. NO'in tek bir elektronu vardır ve bu nedenle Fe^{+3} gibi tek elektron içeren diğer bileşiklere bağlanır. NO, bir gaz olarak sitozol ve lipid membranlardan hücrelere geçer. Düşük konsantrasyonlarda, fizyolojik olarak bir nörotransmiter ve bir hormon gibi vazodilatasyona neden olur. Yüksek konsantrasyonlarda, ek reaktif ve toksik türler oluşturmak için O_2 veya süperoksit ile birleşir ve hem nitrojen hem de oksijen (RNOT) içerir. RNOT, Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar ve romatoid artrit gibi kronik inflamatuar hastalıklarla ilişkilidir (57).

A. Nitrik Oksit Sentaz:

Düşük konsantrasyonlarda NO, bir nörotransmiter veya bir hormon görevi görür. NO sentaz ile argininden sentezlenir. Bir gaz olarak su ve lipid membranlar yoluyla hedef hücrelere yayılabilir. Hedef hücrede guanilil siklaz enzimindeki Fe-heme yüksek afiniteyle bağlanarak fizyolojik etkilerini gösterir, böylece bir sinyal iletim kaskadını etkinleştirir. Bununla birlikte, NO birçok moleküle spesifik olmayan bağlanma ile hızla inaktive edilir ve bu nedenle, NO üreten hücrelerin hedef hücrelere yakın olmaya ihtiyacı vardır.

Vücutta, herbiri farklı bir gen tarafından kodlanmış, dokuya özgü üç farklı NO sentaz izoformu mevcuttur; nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS, izoform I), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS, izoform II) ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS, izoform III). nNOS ve eNOS, nörotransmiter ve hormon rolü için gerekli az miktarda NO üretmek için Ca^{+2} konsantrasyonu tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. Buna karşılık, iNOS, makrofajlar ve benzer kökenden bağışıklık sisteminin birçok hücresinde ve beyin astroglialarında mevcuttur. NO sentazın bu izoenzimi, Ca^{+2} konsantrasyonundaki değişikliklerle değil esas olarak gen transkripsiyonunun indüksiyonuyla düzenlenir. İnvazif mikroorganizmaların öldürülmesi için yüksek ve toksik NO seviyeleri üretilir. Bu çok yüksek NO seviyeleri RNOT oluşumu ve NO toksisitesi ile ilişkilidir (57).

B. Nitrik Oksit Toksisitesi:

NO'in toksik etkileri iki kategoriye ayrılabilir: Fe içeren proteinlere bağlanarak doğrudan toksik etkiler ve NO'in O_2 veya RNOT oluşturduğu süperoksit ile birleşmesinden kaynaklanan dolaylı etkiler (57).

4.4.5. Oksijen Toksisitesine Karşı Hücresel Savunmalar

Oksijen toksisitesine karşı savunma, antioksidan savunma enzimleri, diyet ve endojen antioksidanlar (serbest radikal tututcular), hücresel kompartmantasyon, metal ayırma (sekestrasyon) ve hasarlı hücresel bileşenlerin onarımı şeklinde kategorize olur. Antioksidan savunma enzimleri ROT ve serbest radikal zincir reaksiyonlarının ürünleri ile onları toksik olmayan ürünlere dönüştürmek amacıyla reaksiyona girer. Flavonoidler ve E vitamini gibi diyetteki antioksidanlar ve ürat gibi endojen antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırır. Kompartmantasyon yoluyla savunma, ROT oluşumunda yer alan türlerin ve bölgelerin hücrenin geri kalan kısmından ayrılmasıdır.

A. Antioksidan Enzimler:

ROT'a karşı enzimatik savunma Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz (GSHPx) ile yapılır.

1. Süperoksit Dismutaz:

Süperoksit anyonunun SOD ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve O_2'e dönüştürülmesi (dismutasyon) genellikle oksidatif strese karşı birincil savunma olarak adlandırılır. SOD hücre kompartmanlarında farklı izoenzim formlarında bulunur (57).

SOD (EC 1.15.1.1), reaktif süperoksit radikalinin oksijene dismutasyonunu gerçekleştiren ve daha az reaktif bir molekül olan hidrojen peroksit oluşumuna sebep olan, bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksit de katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler tarafından temizlenmektedir. SOD ile süperoksitin ortadan kaldırılması, oksidatif strese karşı savunmada ilk basamaktır. Çünkü süperoksitin radikal zincir reaksiyonlarının bir başlatıcısı olduğu bilinmektedir (58).

SOD'lar sitozol ve mitokondride bulunur ve multimerik metalloenzimler ailesine aittir. Farklı kategorilere ayrılırlar: Mn-SOD, Cu-SOD, Fe-SOD, Ni-SOD ve Cu-Zn-SOD. Bu enzimler farklı yerlerde bulunur, örneğin Cu-Zn-SOD ağırlıklı olarak kloroplast ve ökaryotik hücrenin sitozolünde bulunur, MnSOD çoğunlukla mitokondri matrisi ve bakteri sitozolünde bulunurken ve FeSOD prokaryotlarda ve bazı bitkiler bulunur (59). Bu enzimler arasında Cu-Zn-SOD'un oksijen toksisitesine karşı güçlü bir savunma sağladığı bilinmektedir. Cu-Zn-SOD'un oksijen toksisitesine karşı önemli bir hücre içi koruyucu olduğu ve yapılan çalışmalara göre aerobik yaşam için yeri doldurulamaz bir enzim olarak kabul edilmektedir (60).

$$O_2^{-\cdot} + O_2^{-\cdot} + 2H \xrightarrow[SOD]{} O_2 + H_2O_2$$

2. Katalaz:

Hidrojen peroksit oluştuğunda, Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonunda hidroksil radikalinin oluşmasını engellemek için suya indirgenmelidir. Hidrojen peroksiti azaltabilen enzimlerden biri katalazdır. Katalaz asıl olarak peroksizomlarda ve daha az ölçüde, hücrenin sitozol ve mikrozomal fraksiyonunda bulunur. Yüksek peroksizomal içeriğe sahip dokularda (böbrek ve karaciğer) en yüksek aktivitede bulunur. Katalaz immün sistem hücrelerinde, hücrenin kendi solunum patlamasına karşı korunmasına aracılık eder (57).

Katalaz (EC 1.11.1.6) önemli bir antioksidan enzim olarak kabul edilir. Tetrahedral olarak düzenlenmiş, her biri aktif bir hem grubu ve NADPH içeren 60 kDa alt birimden oluşan dört özdeş tetramerik bir enzimdir (61). Katalaz, H_2O_2'nin H_2O ve O_2'ye ayrışmasını katalize eder (62). Katalaz, konsantrasyona bağlı olarak iki enzimatik aktiviteye sahiptir. H_2O_2 konsantrasyonu yüksekse, katalaz katalitik davranarak H_2O ve O_2 oluşturur ve H_2O_2'yi uzaklaştırır, ancak H_2O_2 konsantrasyonu düşük seviyede ise ve uygun bir hidrojen donör varlığında, örneğin etanol, metanol, fenol gibi, peroksidik olarak davranır ve H_2O_2'yi uzaklaştırır, ancak substratını oksitler (peroksidatik reaksiyon) (63).

$$2H_2O_2 \xrightarrow[\text{Katalaz}]{} 2H_2O+O_2$$

3. Glutatyon Peroksidaz ve Glutatyon Redüktaz:

Glutatyon (gama-glutamilsisteinilglisin) vücudun başlıca oksidatif hasara karşı korunma yollarından biridir. Glutatyon glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptid olup sisteinin amino grubu, glutamatın gama-karboksil grubu ile peptit bağıyla birleşmiştir. Glutatyon peroksidazlar tarafından katalize edilen reaksiyonlarda, reaktif sülfhidril grupları, hidrojen peroksidi suya ve lipid peroksitleri toksik olmayan alkollere indirger. Bu reaksiyonlarda, iki glutatyon molekülü oksitlenerek tek molekül olan glutatyon disülfidi oluşturur. Sülfhidril grupları da enzimatik olmayan zincir sonlandırma reaksiyonları ile organik radikallerle oksitlenir.

Glutatyon peroksidazlar, farklı özellikler ve doku lokalizasyonları ile selenyum enzimleri ailesindedir. Hücre içinde esas olarak sitozol ve mitokondride bulunurlar ve peroksizomların dışında üretilen H_2O_2'yi uzaklaştırmanın ana yoludur. Bu selenyum ihtiyacını belirler ve serbest radikal hasarının önlenmesinde selenyumun koruyucu etkisini gösterir. Oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oluştuğunda, redoks siklusunda glutatyon redüktaz ile sülfidril formuna indirgenmelidir. Glutatyon redüktaz, bir flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir ve elektronların

NADPH'den GSSG'nin disülfid bağına transferini katalizler. Bu sebeple NADPH serbest radikal hasarına karşı korunma için gereklidir. Bu reaksiyon için NADPH'nin başlıca kaynağı, pentoz fosfat yoludur (57).

B. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar (Serbest Radikal Tutucular)

1. E Vitamini:

Doğada en yaygın olarak dağılım gösteren antioksidan olan E Vitamini (alfa-tokoferol), yağda çözünen bir antioksidan vitamindir ve esas olarak zarlarda lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar. E vitamini metilasyon paternlerinde farklılık gösteren birkaç tokoferol içerir. Bunlar arasında alfa- tokoferol, en güçlü antioksidandır ve diyetimizde en büyük miktarda bulunur.

E Vitamini, etkili bir antioksidan ve serbest radikal zincir reaksiyonlarının enzimatik olmayan sonlandırıcısı olup çok az pro-oksidan aktiviteye sahiptir. E vitamini lipit peroksit radikaline bir elektron verdiğinde, rezonans ile stabilize edilen serbest radikal formuna dönüştürülür. Bu serbest radikal formu bir pro-oksidan olarak hareket edip bir çoklu doymamış lipidden bir elektron alırsa, o lipit oksitlenir ve aslında serbest radikal zincir reaksiyonunu devam ettirebilir. Ancak E vitaminin kimyası ikinci bir elektron verip tamamen oksitlenmiş forma gitmeye çok daha fazla eğilimlidir (57).

2. Askorbik Asit:

Askorbat (C vitamini) kollajen sentezinde ve diğer reaksiyonlarda işlev gören bir oksidasyon-redüksiyon koenzimi olup serbest radikal savunmasında da rol oynar. İndirgenmiş askorbat, redoks döngüsünde elektron vererek indirgenmiş E vitamini formunu rejenere edebilir. Suda çözünür ve bağlanmadan kanda ve ekstraselüler sıvıda dolaşıp zarlarda ve lipoprotein parçacıklarında bulunan yağda çözünen E vitaminine ulaşabilir (57).

3. Karotenoidler:

Karotenoidler, örneğin zeaksantin ve lutein gibi halkaları üzerinde fonksiyonel oksijen sağlayıcılara sahip beta-karoten (A vitamininin öncüsü) ve benzerlerine verilen bir terimdir.

Bu bileşikler singlet O_2 gibi antioksidan etkiler gösterebilir (singlet oksijen, dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektronu olmayan yüksek oranda ROT'dur, ancak bir yörüngesi tamamen boştur). Epidemiyolojik çalışmalar yüksek meyve ve sebze içeren ve sağlığa yararlı dietlerin, karotenoidlerin zincir kırıcı antioksidanlar gibi davranarak ateroskleroz, kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların ilerlemesini yavaşlatabileceği hipotezi arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, klinik araştırmalarda, beta-karoten takviyelerinin

hiçbir etkisi olmamış ya da istenmeyen etkisi olmuştur. Etkisizlik, serbest radikal formunun, pro-oksidan aktivitesi kaynaklı olabilir.

Buna karşılık, lutein ve zeaksantin alımıyla ilgili epidemiyolojik çalışmalar, yaşa bağlı maküler dejenerasyon insidansında azalma için progresif destek olmuştur. Bu iki karotenoid, makulada (retinanın merkezi kısmı) yoğunlaşmıştır ve maküler karotenoidler olarak adlandırılır (57).

4. Diğer Diyet Antioksidanları:

Flavonoidler, kırmızı şarap, yeşil çay, çikolata ve diğer bitki kaynaklı besinlerde bulunan, iki uzamsal ayrı aromatik halka içeren yapısal olarak benzer bileşikler grubudur. Flavonoidlerin serbest radikal savunmasına çeşitli şekillerde katkıda bulunduğu varsayılır. Bazı flavonoidler ksantin oksidaz gibi süperoksit anyon üretiminden sorumlu enzimleri inhibe eder. Diğerleri etkili bir şekilde Fe ve Cu'ı şelatlayarak bu metallerin Fenton reaksiyonuna katılmasını imkansız hale getirir. Ayrıca süperokside veya lipit peroksit radikallerine elektron vererek veya bunlarla kompleks oluşturarak serbest radikal tutucular olarak hareket edebilirler.

Serbest radikal savunma sistemine diyetle alınan flavonoidlerin ne kadar katkıda bulunduğunu söylemek zor olup yüksek pro-oksidan aktiviteye sahiptirler ve zayıf bir şekilde emilirler. Bununla birlikte, genellikle büyük miktarlarda flavonoid tüketiriz (yaklaşık olarak 800 mg/gün) ve bunların antioksidan olarak E vitamini sağlanmasına katkıda bulunabileceklerine dair kanıtlar vardır (57).

5. Endojen Antioksidanlar:

Diğer işlevler için endojen olarak sentezlenen birkaç bileşik veya idrar atılım ürünleri aynı zamanda enzimatik olmayan serbest radikal antioksidanları olarak işlev görürler. Ürik asit, pürinlerin yıkımı ile oluşur ve kan, tükürük ile plevra sıvısı dahil hücre dışı sıvılara salınır. Protein tiyollerle birlikte, plazmanın başlıca serbest radikal tutma kapasitesini oluşturur. Diğer antioksidanların çok az olduğu olduğu özellikle üst solunum yollarında önem taşır. Hidroksil radikallerini, hemoglobin ve peroksi radikalleri arasındaki reaksiyon ile meydana gelen oksihem oksidanlarını ve peroksil radikallerinin kendilerini doğrudan tutabilir. Ürik asit bu tutucu görevi yaparken, atılan bir dizi oksidasyon ürününü de üretir.

Pineal bezin salgı ürünü olan melatonin sirkadiyen ritim, ışık-karanlık sinyal iletiminin ve uyku indüksiyonun düzenlenmesinde işlev gören bir nörohormondur. Bu reseptör aracılı işlevlere ek olarak, elektron (hidrojen olarak) vererek serbest radikalleri "etkisiz hale getiren" enzimatik olmayan serbest radikal tutucu işlevi görür. Ayrıca ek ürün oluşturmak için ROT ve RNOT ile reaksiyona girebilir, dolayısıyla suisidal dönüşümler geçirebilir. Etkinliği hem pro-

oksidan aktivitesinin olmaması hem de hidrofilik / hidrofobik doğası sayesinde zarlardan ve kan-beyin bariyerinden geçmesiyle ilişkilidir (57).

4.4.6. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; serbest radikaller ve oksidanlar fazla olduğunda, örneğin membranlar, lipidler, proteinler, lipoproteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi bazı hücresel yapıları kötü etkileyen, zararlı bir süreçtir (64-69). Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır (70). Serbest radikal hasarı ile ilişkisi kanıtlanmış 100'den fazla hastalık durumu tanımlanmıştır (71). ROT'lar vücutta lipid, protein, nükleik asit ve karbonhidrat gibi yapılarla reaksiyona girerek doku hasarı oluşturabilmektedir. ROT'lar bu hastalıkların bir kısmında hastalığın primer nedeni içerisinde yer alırken, diğer durumlarda hastalıkların komplikasyonlarının ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilmişlerdir (71). Reaktif oksijen türleri (ROT) normal fizyolojik süreçler tarafından üretilir ve hücre sinyalizasyonu ve doku homeostazında önemli roller oynar (72). Bununla birlikte, aşırı ROT hücre bileşenlerinde istenmeyen modifikasyonlarla, lipid, protein ve DNA hasarı, patogenezine neden olur (73). Hücre zarları ve organel zarları, yüksek çoklu doymamış yağ asiti içeriği (Polyunsaturated fatty acids; PUFA'lar) nedeniyle "lipid peroksidasyonu" olarak adlandırılan ROT hasarına özellikle duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu, oksil radikalleri, peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal türlerinin lipidlerden elektronları uzaklaştırdığı ve daha sonra başka reaksiyonlara girebilecek reaktif ara ürünler ürettiği bir süreçtir. Lipid peroksidasyonu, fosfolipidlere doğrudan zarar verir ve ayrıca programlanmış hücre ölümünü indükleyen hücre ölüm sinyali olarak da hareket edebilir. Oksitlenmiş fosfolipidler ayrıca birçok inflamatuar hastalıkta önemli bir rol oynayabilir ve sıklıkla proinflamatuar değişime aracılık edebilir (74). ROT, özellikle LDL (düşük dansiteli lipoprotein) olmak üzere lipoprotein oksidasyonuna neden olarak, okside-LDL oluşumuna ve okside-LDL'nin katkıda bulunduğu inflamatuar değişikliklere neden olmaktadır. Bu inflamatuar değişiklikler ateroskleroz patogenezinde oldukça önemli moleküllerin oluşumuna yol açmaktadır (75).

Lipid peroksidasyonu başlama, ilerleme, parçalanma ve sonlanma olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır (71). Hidroksil veya diğer radikallerin membran yapısındaki çoklu doymamış lipidlerle reaksiyona girmesi sonucu lipid radikali (L.) oluşmaktadır. $O2^{\cdot-}$ ile devam eden serbest radikal zincir reaksiyonunda yağ asitinde bulunan çift bağ, kendisine bitişik karbon ile hidrojen arasındaki bağı zayıflatması nedeniyle (C-H) hidrojenin koparılması kolaylaşmış olur (76). Dolayısıyla öncelikle hücresel membran lipitlerinin çoklu doymamış yağ asiti zincirleri peroksidasyona daha çok duyarlıdır. Hidrojen kaybeden yağ asiti moleküler olarak

tekrar düzenlenir ve konjuge dien yapısı meydana gelir. Oluşan konjuge dien yapı oksijenle birleşir ve lipit peroksil radikallerine (LOO•) dönüşür. Bu peroksil radikalleri başka yağ asitlerinden hidrojen koparark zincirleme peroksidasyon reaksiyonlarını başlatır. Diğer çoklu doymamış lipid yan zincirleri ile tepkimeye giren LOO**.**, LOOH formuna çevrilmekte ve yeni oksidasyonların başlamasına sebep olan L**.** bileşiklerinin tekrar oluşumuna neden olmaktadır (71). Lipit peroksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan lipit peroksit, siklik peroksit ve siklik endoperoksit gibi lipid peroksit bileşikleri sonuçta ikincil ve son ürünler olan malondialdehit (MDA), hegzenal ile 4-hidroksinonenal (HNE) adlı aldehitlere dönüşür (77, 78).

Lipid peroksit ürünleri ve MDA gibi aldehit yapısındaki moleküllerin derişimleri arttıkça peroksil radikalleri birbirleri ile çapraz kovalent bağlar oluşturarak membran yapısını bozar ve membranı hasara daha duyarlı şekle getirir. Biyolojik membranlarda meydana gelen peroksidasyon membran akışkanlığında bozulma, membran potansiyelinde azalma, mebranların H^+, Ca^{+2} ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinde artışa neden olarak membranların parçalanmasına ve organel içeriğinin sitoplazmaya salınmasına yol açar. Bütün bunların sonucunda hücre hasarı veya hücre ölümü olur (79). Özellikle mitokondri membran hasarı oluştuğunda, daha aşırı miktarda serbest radikal üretimi meydana gelmektedir. MDA ve benzer yapıda olan moleküller en zararlı lipid peroksidasyon ürünleridir ve başka hücre bileşenlerine de etki göstererek hasara sebep olmaktadırlar. MDA çözünebilir halde idrarda ve kanda bulunabilmektedir ve serbest radikal hasarının göstergesi şeklinde kullanılmaktadır (56).

Genellikle hidroksil radikali ile oluşan oksidatif stres sonucunda, reaktif oksijen türleri hücre içi proteinler üzerinde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz oksidatif değişikliklere ve oksidatif hasara yol açar (80, 81). Okside olan proteinlerin yan zincirleri üzerinde karbonil gruplar oluşur. Protein karbonil yapılar ayrıca α-amidasyon yolağı ve glutamil yan zincirlerin oksidasyonu sonucunda proteinlerin parçalanması ile de meydana gelir (82). Aynı zamanda protein yan zincirlerinde bulunan sistein, lizin ve histidin aminoasitlerinin lipit peroksidasyon ürünleri ile, indirgeyici şekerler tarafından meydana getirilen karbonil türevleri ve proteinlerin lizin rezidülerinin oksidasyon ürünleri ile sekonder reaksiyona uğramaları sonucunda da proteinler üzerinde karbonil gruplar meydana gelebilir (82).

Oksidatif stresin nükleik asitler üzerine etkisi özellikle kanser gelişimi olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde görülmektedir. Diğer moleküllerdekine benzer şekilde DNA yapısındaki çift bağlara H atomu ekleyerek veya 2-deoksiribozun C-H bağlarından ve timin yapısındaki metil gruplarından H atomunu çıkartarak oksidatif değişiklikler oluşturmaktadır (83). Sonuç olarak oluşan timin kaynaklı radikaller indirgenir ve hidroksihidroperoksit, timin glikol, 5-formilurasil, 5-hidroksimetilurasil, ve 5 -hidroksi 5-metilhidantoin gibi oksidasyon

ürünlerine çevrilirler. Değişikliğe uğrayan DNA'nın oksidatif hasarı sonucunda 8-OHdG (8-hidroksi-2′-deoksiguanozin) meydana gelir. 8-OHdG, DNA oksidatif hasarı sonucunda oluşan ve en fazla bilinen bileşiktir. Oksidatif değişikliğe uğramış 8-OHdG formunda DNA, DNA hasarının düzeyinin ifade edilmesinde kullanılır (84).

4.4.6.1. Oksidatif Belirteçler

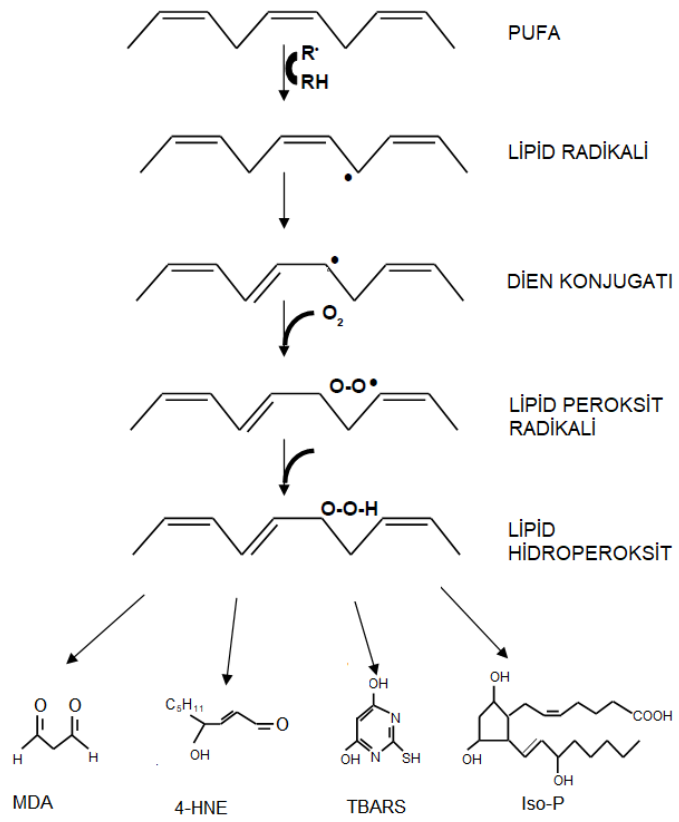
Malondialdehit (MDA)

MDA, araşidonik asidin ve daha büyük poliansature yağ asitlerinin enzimatik veya enzimatik olmayan yollla parçalanmasıyla oluşan son üründür (85).

Enzimatik Proseslerle MDA Üretimi; Tromboksan A2 (TXA2) biyosentezi sırasında enzimatik işlemlerle yan ürün olarak in vivo MDA üretilir (86-90). TXA2, araşidonik asitten tromboksan A2 sentaz ile sentezlenen, öncesinde prostaglandin endoperoksit ve prostaglandin H2 (PGH2)'nin oluştuğu, biyolojik olarak aktif bir metabolittir (91-93).

Nonenzimatik Proseslerle MDA Üretimi; Lipid hidroperoksit karışımı lipid peroksidasyon işlemi sırasında oluşur. Hidroperoksitlerin peroksil grubuna cis-çift bağ homoalik peroksil radikali, çift bağa molekül içi radikal ilavesiyle kolay siklizasyona ve yeni bir radikalin oluşumuna izin verir. Siklizasyondan sonra oluşan ara serbest radikaller, yapısal olarak prostaglandinler ile ilgili bisiklize endoperoksitleri oluşturmak için yine siklize olabilir ve MDA üretmek için bölünmeye uğrarlar. Enzimatik olmayan oksijen radikali bağımlı reaksiyonda, araşidonik asit, bisiklik endoperoksidin ana öncüsü olup daha sonra MDA oluşturmak için daha fazla reaksiyona girer (77, 94-96). Ancak, diğer eikozanoidler de enzimatik olmayan oksijen radikali bağımlı reaksiyonda üretilebilir (97-100), bisiklik endoperoksit ve MDA prekürsörü olabilir. Son incelemelerde MDA'nın özel koşullar altında enzimatik olmayan oluşumu için yolaklar tariflenmiştir (101).

MDA'nın kimyasal analizi, lipit peroksidasyonunun (102) spektrofotometri (103) veya florimetri (104) ile değerlendirilmesi için tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) adı verilen bileşenin ölçümüyle başlar. Asidik koşullar (örneğin, glasial asetik asit veya sülfürik asit), yüksek sıcaklık (örneğin, 95 °C) altında ve uzatılmış reaksiyon süresinde (örneğin, 60 dakika), bir MDA molekülü, iki molekül TBA ile, kırmızı renkli, güçlü görünür ışık absorbe eden ve floresan türevi veya TBA-MDA yoğunlaşma eklentisi (MDA'nın iki O_2 atomunun su olarak kaybından dolayı) oluşturmak için reaksiyona girer. Bu türevler genellikle TBA-MDA veya MDA-$(TBA)_2$ olarak kısaltılır (105).



Şekil 4.1. Serbest radikal katalizli lipid peroksidasyonu mekanizması (106)

4.4.7. Ksantin Oksidaz

Ksantin oksidaz, pürin nükleotitlerinin parçalanıp ürik asit üretilmesi için gerekli olan enzimdir. Ürik asidin kendisi ve enzimatik reaksiyon sırasında salınan reaktif oksijen türleri, vücut üzerinde zararlı etkilere sahip olabilir. Ayrıca, bu enzimin regülasyonunun kansere karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır (107).

Molibden ailesinden olan ksantin oksidaz, flavin adenin dinükleotid, bir molibden ile dört demir-kükürt eki içerir ve yaklaşık 290 kD net moleküler kütleye sahiptir. Ksantin oksidaz ile birlikte ksantin dehidrojenaz, aktive edilmek üzere tripsin enzimi tarafından parçalanan zimojenlerdir (108).

Ksantin oksidaz (XO), insanlar dahil birçok türde bulunan ve esas olarak pürin nükleik asitlerinin katabolizmasında işlev gören bir enzimdir. Bir dizi reaksiyon yoluyla, pürinler, guanin monofosfat (GMP) ve adenosin monofosfat (AMP) ya hipoksantine ya da ksantine dönüştürülür. Hipoksantin ve ksantinin ürik aside parçalanma reaksiyonu, ksantin oksidaz tarafından katalize edilir. Ürik asit daha sonra ürikaz enzimi tarafından idrarla atılan suda çözünür bir molekül olan allantoine dönüştürülür. Hücre döngüsü vücutta sabit bir süreç olduğundan ve endojen veya sindirilmiş pürinler sürekli olarak parçalanıp yenilendiğinden,

bu enzim memeli hücreleri için hayati öneme sahiptir. Başka bir formu, ksantin dehidrojenazdır (KD). Her iki form da birbirine dönüştürülebilir ve aynı reaksiyonları katalize eder. Ancak, kullandıkları kofaktörler farklılık gösterir; Ksantin oksidaz substrat olarak oksijeni kullanırken, ksantin dehidrogenaz aynı reaksiyonu gerçekleştirmek için NADH'ye ihtiyaç duyar (109-111).

Ksantin oksidaz tarafından gerçekleştirilen reaksiyon, oksijeni bir süperoksit anyonuna indirger ve sonunda hidrojen peroksit oluşur. Hidrojen peroksit, fazla olduğunda hücreler için toksik olan reaktif bir oksijen türüdür (ROT). Ayrıca yaşlanma, diyabet ve nörodejeneratif bozukluklardan Alzheimer hastalığı gibi gibi çok durumla da bağlantısı vardır (112). Ksantin oksidaz aktivitesinin ürünü olan ürik asidin de zararlı olduğu kanıtlanmıştır. Ürat bir pro-oksidan gibi davranır ve lipid membranları oksitleme eğiliminde olan diğer radikallerin oluşumunu indükler, bu da hiperürisemi ile obezite arasındaki ilişkiyi açıklar. Reaktif oksijen türleri doğal olarak hücresel yapılara, DNA'ya ve proteinlere zarar verme eğilimindedir ve sonuç olarak ürik asidin neden olduğu oksidatif stresin ayrıca hipertansiyon, diyabet, böbrek hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklarla bağlantısı vardır. Ksantin oksidazın aktivitesi kornea epitelinde de izlenebilir. Sonuç olarak, serbest radikal hasarının, ksantin oksidazın aşırı aktivitesinden kaynaklanabilecek bir oksidan göz hasarı ile ilgili olduğu sonucuna varılmıştır (113).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1 Gönüllü Seçimi, Hasta Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizi

Çalışma kesitsel bir araştırma olarak planlanmış olup AÜTF İç Hastalıkları Romatoloji Kliniğine, Haziran 2020- Mayıs 2021 tarihleri arasında başvuran, Romatoid artrit ve Anklizon spondilit tanısı konmuş ve infliksimab kullanmakta olan, rastgele seçilmiş, 18 yaşından büyük 54 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmaya dahil olma kriterlerimizi karşılayan hastalara öncelikle çalışma hakkında bilgi verilerek, çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden hastalardan aydınlatılmış onam formunu doldurmaları sağlanmıştır. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 29 Nisan 2019 tarih ve 08-630-19 sayılı kararıyla uygun görülmüştür (EK-4). Örneklem boyutu ‘’ GPower’’3.1.9.2 versiyonu ile güç analizi yapılarak belirlenmiştir. Hastalar normal prosedürde, 0,2-6. haftalarda yükleme dozu sonrası 6-8 haftada bir infliksimab tedavisi almakta olup AS hastalarına 5 mg/kg, RA hastalarına 3 mg/kg dozunda iv infüzyon şeklinde infliksimab tedavisi uygulanmaktaydı. İnfliksimab; RA tanılı hastalarda biri metotreksat olmak üzere 3 farklı konvansiyonel sentetik DMARD tedavilerine rağmen, AS tanılı hastalarda ise biri indometazin olmak üzere 3 farklı, etkin dozda NSAİİ tedaviye rağmen yüksek hastalık aktivitesi olan hastalarda kullanılan tedavi seçeneklerindendir. İnfliksimab dekompanse kalp yetmezliği, demiyelizan hastalığı veya 5 yıl içerisinde malignite öyküsü olan hastalarda kullanılmamaktadır. Kan örneği her hastadan bir sonraki infliksimab uygulamasından hemen önce alınmıştır. Hastaların aynı gün içinde ayrıntılı öykü ve fizik muayenesi yapılıp, tedavi öncesi rutin laboratuvar tetkikleri değerlendirilmiştir. Klinik ve laboratuvar bulguları eşliğinde hastalık aktiviteleri skorlanarak kayıt altına alınmıştır.

Gönüllülerden infliksimab ve infliksimab antikor düzeyleri ile oksidatif sistem belirteçlerinin ölçümü için sadece bir adet antikoagülalan (K_2EDTA) içeren tüpe 5cc kan alınmıştır. Bu işlem rutin poliklinik takipleri için kan örneği alındığı sırada gerçekleştirilmiş olup ek invaziv işleme gerek duyulmamıştır. Düzenli takipte olan ve takip sırasında rutin kan verip klinik hastalık aktivite takibi yapılan, bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan hastalardan kan alınıp paramatereleri analiz edildiği için herhangi bir sorun olmamıştır.

Hastaların klinik değerlendirilmesinde aşağıda tariflenen yöntemler kullanılmıştır.

Romatoid Artrit (RA) hastalarında hastalık aktivitesini değerlendirmek için Hastalık Aktivite Skoru-28 (Disease Activity Score-28, DAS28) (EK-3) testi kullanılmıştır. Ankilozan Spondilit (AS) hastalarında, hastalık aktivitesini değerlendirmek için Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite Indeksi (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BASDAI)

(EK-1); hastaların fonksiyonel durumunu değerlendirmek için ise Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi (Bath Ankylosing Sypondilitis Functional Index, BASFI) (Ek-2) testi kullanılmıştır.

Hastaların kontrole geldiklerindeki demografik verileri (cinsiyet, yaş), anti TNF kullanım öyküsü, hastalık süresi ve rutin poliklinik kontrollerinde bakılmış olan ESH ve CRP değerleri hastane yönetiminden izin alınarak kaydedilmiş ve çalışmaya dahil edilmiştir.

Haziran 2020 ve Mayıs 2021 tarihleri arasında hastalardan alınan tam kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika süreyle santrifüj edilerek plazmaları ayrılmış, inceleme yaptığımız Haziran 2021 tarihine kadar -80 °C'de saklanmıştır. Ölçüm günü hasta örnekleri -80°C'den çıkarılarak, ImmunoGuide Infliksimab ELISA (mAB-based) kiti ile ilaç düzeyi ve ImmunoGuide Antibody to Infliksimab ELISA kiti ile infliksimaba karşı antikor ölçümü Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi Merkez Laboratuvarı Biyokimya Biriminde yapılmıştır. Oksidatif durum belirteçleri olan MDA düzeyi, Glutatyon peroksidaz aktivitesi, Ksantin oksidaz aktivitesi ve Katalaz aktivitesi ölçümü ise Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Sonuçların istatiksel analizi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim dalında yapılmıştır.

5.2. Çalışmada Kullanılan Gereçler

Nuve DF 590 derin dondurucu (–80 °C),

Uğur Derin Dondurucu (-23 °C),

Altus AL380 Derin Dondurucu (+4 °C),

Mindray 12A ELISA yıkayıcı,

Mindray 96A mikroplaka ELISA okuyucu,

Eppendorf Centrifuge 5702R santrifüj cihazı,

Harrier 18/80 soğutmalı santrifüj,

Unicam Helios–α UV–Vis Spektrofotometre,

Whirlmix 20 watts vorteks,

Farklı hacimlerde ayarlanabilir hacimli otomatik pipetler ve cam pipetler,

Farklı boyutlarda cam ve polipropilen deney tüpleri,

Plazmada oksidatif sistem belirteçlerinin ölçülmesinde kullanılan tüm kimyasal maddeler Sigma–Aldrich ve Merck Kimya şirketlerinden temin edilmiştir.

5.3. Ölçümü Yapılan Parametlere Ait Yöntemler

5.3.1. İnfliksimab Düzeyi Ölçüm Yöntemi

Plazmada ImmunoGuide İnfliksimab ELISA (mAB-based) kiti ile ilaç düzeyi ölçümü ELISA yöntemiyle kit prospektüsüne uygun şekilde çalışılmıştır. ELISA kitinin infliksimab analitik sensitivitesi 5 ng/mL'dir. ELISA kitinin çalışma içi (intra-assay) varyasyon katsayısı (CV)<%10 ve çalışmalar arası (inter-assay) varyasyon katsayısı <%10'dur.

Bu ELISA kiti ölçümü, infliksimaba özgü fare monoklonal antikoruna (yakalayıcı Ab, ImmunoGuide klonu Peri-1) dayanmaktadır. Seyreltilmiş standartlar ve numuneler, IG-Peri-1 mAb ile kaplanmış mikrotitre plakasında inkübe edilir. İnkübasyondan sonra kuyucuklar yıkanır. Horseradish peroksidaz (HRP)-konjuge anti-insan IgG monoklonal antikoru eklenir ve infliksimabın Fc kısmına bağlanır. İnkübasyonun ardından, kuyucuklar yıkanır ve bağlı enzimatik aktivite, kromojen-substrat ilavesiyle tespit edilir. Geliştirilen renk, numune veya standarttaki infliksimab miktarı ile orantılıdır. 450 nm dalga boyunda absorbansları ölçülür. Numunelerin sonuçları standart eğri kullanılarak belirlenir. İnfliksimabın önceden Peri-1 ile kaplanmış katı faza bağlanması, konsantrasyona bağlı bir şekilde rekombinant insan TNFα veya İnfliksimab Antikoru tarafından inhibe edilir. Bu nedenle, ImmunoGuide Infliksimab ELISA (mAb tabanlı), İnfliksimabın serbest formunu ölçer.

5.3.2. İnfliksimab Antikor Ölçüm Yöntemi

Plazmada ImmunoGuide Antibody to İnfliksimab ELISA kiti ile infliksimaba karşı antikor ölçümü ELISA yöntemiyle kit prospektüsüne uygun olarak çalışılmıştır. ELISA kitinin çalışma içi (intra-assay) varyasyon katsayısı (CV)<%10 ve çalışmalar arası (inter-assay) varyasyon katsayısı <%10'dur.

Bu ELISA kiti ile serum ve plazma numunelerinde İnfliksimaba karşı antikor ölçümü yapılır. İnkübasyon süresi boyunca, infliksimab (ATI) antikorları, infliksimab ile kaplanmış kuyucuklardaki Fab kısımlarıyla bağlanır. Bileşenler yıkandıktan sonra, bağlı enzimatik aktivite, tetrametilbenzidin (TMB) kromojen-substrat ilavesiyle saptanır. Son olarak reaksiyon durdurma solüsyonu ile sonlandırılır. Pozitif reaksiyon, numunede infliksimaba karşı antikor varlığını gösterir.

5.3.3 Malondialdehit (MDA) Miktarı Ölçüm Yöntemi

MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünü olup oksidatif stres göstergesi olarak çok sık kullanılan bir belirteçtir. MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile yüksek sıcaklık altında asidik ortamda reaksiyona girerek pembe renkli bir bileşik oluşturmaktadır. Bu bileşiğin optik dansitesi 532 nm dalga boyunda ölçülerek MDA düzeyi hesaplanmaktadır. MDA dışında çeşitli maddeler de bu tepkimeyi verebileceğinden TBA ile tepkimeye giren maddeler anlamında TBARS olarak da adlandırılmaktadır (114).

MDA ölçüm yönteminde kullanılan reaktiflerin içeriği:

Fosfat tamponu (pH 6; 100 mM): 2,13 g Na_2HPO_4 ve 11,56 g KH_2PO_4 tartılarak distile suda çözüldükten sonra hacim distile suyla 1 litreye tamamlanır.

Trikloroasetik asit (TCA; % 20 w/v): 500 mL 0,6 N HCl içinde 100 g katı TCA çözülerek hazırlanır.

TBA çözeltisi (% 2 w/v): 200 mg katı TBA 10 mL distile suda çözülür.

Etil alkol (% 95; v/v).

Tablo 5.1. MDA ölçümünde kullanılan deney protokolü

	Numune	**Kör**
Plazma	100 µL	100 µL
Etil alkol	1 mL	1 mL
Fosfat tamponu	1 mL	1 mL
TCA	1 mL	1 mL
TBA	1 mL	-

30 dakika boyunca kaynar suda inkübe edilen deney tüpleri 4000 devirde 20 dk süreyle santrifüj edilir. Spektrofotometrik ölçüm sırasında kör tüplerine 1 ml TBA çözeltisi konulur. 532 nm dalga boyunda numune ve kör tüplerindeki çözeltilerin absorbansları distile suya karşı spektrofotometrik olarak ölçülür.

Bu ölçümde MDA standardı olarak tetraetoksipropan (TEP) kullanılır (% 96; d=0,92; MA= 220,3).

TEP molaritesinin hesaplanması:

0,92 x 1000 = 920 g (TEP çözeltisinin 1 litresinin ağırlığı)

920: 100 x 96 = 883,2 g (1 litre çözeltideki TEP miktarı)

883,2: 220,3 = 4 mol TEP (1 litre çözeltide 4 mol TEP olduğu için, çözeltideki TEP'in konsantrasyonu 4 molar)'dir.

4 M'lık çözelti etil alkolle 400.000 kat seyreltilerek, 10 µM'lık standart çözelti elde edilir. Aynı deney protokolü standart ve standart körü için uygulanır ve spektrofotometrede absorbanslar okunur. Buna göre 'Faktör' değeri aşağıda görüldüğü şekilde 161,3 olarak hesaplanır.

Standardın optik dansitesi (ODS) = 0,152

Standart körünün optik dansitesi = 0,090

ΔODS = 0,062

MDA konsantrasyonu (nmol/ml) = ΔODN x Standardın konsantrasyonu / ΔODS

= ΔODN x 10 µM / 0,062

= ΔODN x 161,3

Elde edilen MDA değeri "nmol/ml" olarak belirtilir.

MDA (nmol/ml) = ΔOD x 161,3

Çalışmamızda plazma 100 µl yerine 200 µl olarak alınmıştır. Buna göre hesaplama plazmada aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

MDA (nmol/ml) = ΔOD x 161,3 x (1/2)

= ΔOD x 80,65

5.3.4. Katalaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Katalaz, H_2O_2'yi substrat olarak kullanır. Bu deneyin prensibi; Katalaz enziminin katalizlediği reaksiyon sırasında H_2O_2'nin parçalanmasına eşlik eden absorbans azalmasının 240 nm'de spektrofotometrik olarak takip edilmesi esasına dayanır (115).

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği:

Fosfat tamponu: KH_2PO_4 ve Na_2HPO_4 kullanılarak 50 mM, pH 7 olan fosfat tamponu hazırlanır.

H_2O_2 çözeltisi: Stok H_2O_2 çözeltisinden (% 30 v/v) 0,2 mL alınır, 100 ml fosfat tamponu ile seyreltilir.

2,99 ml H_2O_2 çözeltisi, 0,01 mL plazma ve 0,01 mL fosfat tamponu, kuvartz küvete konulur. Spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda absorbans 1 dakika süreyle izlenir. Ortaya çıkan absorbans farkı (ΔOD) hesaplandıktan sonra Katalaz aktivitesi H_2O_2'nin molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanır. Buna göre, 'Faktör' değeri 7320 olarak bulunur.

Çalışmamızda plazma 0,01 mL yerine 0,05 mL olarak kullanılmıştır. Buna göre hesaplama aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

Katalaz aktivitesi (IU/ml) = (ΔOD/dk) x 7320 x (1/5)

5.3.5. Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

GSHPx; $2GSH + H_2O_2 \rightarrow GS\text{-}SG + 2H_2O$ reaksiyonunu katalizlemektedir. Bu döngünün devam edebilmesi için yükseltgenmiş GSH'nin tekrar indirgenmesi gerekmektedir. Glutatyon redüktaz enzimi, yükseltgenmiş GSH'ı indirgerken aynı zamanda NADPH'ı yükseltgeyerek, NADP'ye dönüşümünü sağlamaktadır (116). NADPH spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda absorbans vermektedir. NADP'ye dönüşüm nedeniyle absorbanstaki azalma, GSHPx aktivitesinin ölçümüne olanak tanır.

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği:

Fosfat tamponu (ph:7, 50 mM fosfat, 5,6 mM EDTA): 2,08 g EDTA, 4,2 g Na_2HPO_4 ve 2,72 g KH_2PO_4 1 litre distile suda çözülerek hazırlanır.

Glutatyon çözeltisi: 250 mg glutatyon 5 mL fosfat tamponunda çözülür.

NADPH: 15 mg NADPH 2,5 mL fosfat tamponunda çözülür.

Glutatyon redüktaz enzimi: 3,2 M, 1 mL amonyum sülfatta, 10 µL glutatyon redüktaz enzimi seyreltilir.

H_2O_2 çözeltisi: 5 mL fosfat tamponuna, 15 µL H_2O_2 stok çözeltisi (% 30 v/v) ilave edilir.

Sodyum azid: 5 mL fosfat tamponunda 65 mg sodyum azid çözülür.

Tablo 5.2. Glutatyon Peroksidaz aktivitesi ölçüm yöntemine ait protokol

Fosfat Tamponu	2,5 mL
GSH	100 µL
NADPH	50 µL
GSH Redüktaz	100 µL
Sodyum Azid	100 µL
Plazma	100 µL

Spektrofotometre 340 nm dalga boyuna ayarlanır ve fosfat tamponuyla sıfırlanır. Protokoldeki maddeler küvete konulduktan sonra 1 dakika süreyle absorbans takip edilir ve böylece kör değeri elde edilir. Aynı işlem 100 µl H2O2 çözeltisi eklenerek tekrar edilir ve bu kez numune değeri bulunur. Numune ile 1 dk'da elde edilen ΔOD değerinden, kör ile 1 dk'da elde edilen ΔOD değeri çıkarılarak absorbans farkı (ΔOD) hesaplandıktan sonra GSHPx aktivitesi NADPH'ın molar absorpsiyon katsayısı (ε = 6,22.103 L/(mol.cm)) kullanılarak hesaplanır. Buna göre, Faktör değeri 4800 olarak bulunur.

GSHPx aktivitesi (IU/L):

ΔOD x (1/εNADPH) x (Vtoplam/Vnumune) x (1/zaman (dk)) x Seyreltme Faktörü

GSHPx aktivitesi (IU/L) = (ΔOD/dk) x 4800

5.3.6. Ksantin Oksidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi

Ksantin Oksidaz **(**XO) enzimi ksantini yıkıma uğratarak ürik asit meydana getirmektedir. Bu ölçüm yönteminin prensibi XO enzim aktivitesi sonucunda açığa çıkan ürik asidin optik dansitesinin 293 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Birim zamanda oluşan ürik asit miktarı üzerinden XO aktivitesi hesaplanır (117).

Deneyde kullanılan reaktiflerin içeriği:

Fosfat tamponu (pH 7,5; 0,5 mM Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA); 50 mM fosfat): 93 mg EDTA (disodyum tuzu, dihidrat), 3 g Na_2HPO_4 ve 0,5 g KH_2PO_4 distile suda çözülür ve hacim 500 mL'ye tamamlanır.

Ksantin çözeltisi (2 mM): 25 ml fosfat tamponunda 7,6 mg ksantin çözülür.

Tablo 5.3. Ksantin Oksidaz aktivitesi ölçüm yöntemine ait protokol

Fosfat Tamponu	2,8 mL
Ksantin Çözeltisi	0,1 mL
Plazma	0,1 mL

Tablo 5.3'de gösterilmiş olan deney protokolü hazırlandıktan sonra örneklerin optik dansitesi 293 nm dalga boyunda kuvartz küvet kullanılarak distile suya karşı oda sıcaklığında 1. ve 20. saat sonunda ölçülür. 1. ve 20. Saatlerde yapılan ölçümler arasındaki optik dansite farkı (ΔOD) ve ürik asitin molar absorbsiyon katsayısından faydalanılarak aşağıdaki formüle göre XO enzim aktivitesi hesaplanır:

ε ürik asit: 10^4 L x mol^{-1} x cm^{-1}

ΔOD ürik asit = ε ürik asit x C ürik asit x l

C ürik asit = ΔOD ürik asit / (ε ürik asit x l)

C ürik asit = ΔOD ürik asit / (10^4 L x mol^{-1} x cm^{-1} x 1 cm)

C ürik asit = ΔOD ürik asit / 10^4 L/mol = ΔOD ürik asit x 10^{-4} mol/L

C ürik asit = ΔOD ürik asit x 10^2 μmol/L

1 IU XO aktivitesi, IU'nun tanımı gereği 1 μmol/dk ürik asit oluşmasını sağlayan enzim aktivitesi olduğundan 1 IU/L XO = 1 μmol/(dk x L) ürik asit oluşumuna karşılık gelmektedir.

XO (IU/L) = ΔOD ürik asit x 10^2 μmol/L x [1/t (dakika^{-1})] x 30 (Seyreltme Oranı)

Tepkime süresi 1140 dk (1 ve 20. saatler arası) olduğundan; serumda XO aktiviteleri şu formüle göre hesaplanır:

XO (mIU/mL) = (ΔOD/1140) x 3000

5.3.7. Verilerin İstatiksel Açıdan Değerlendirilmesi

Çalışmada tanımlayıcı istatistikler, dağılımı normal olan nicel değişkenlerde ortalama±standart sapma (min-maks), dağılımı normal olmayan değişkenlerde, medyan (min-maks) ile nitel değişkenlerde yüzde ile sunulmuştur. Grup sayısı iki olduğunda, sayısal bir değişken yönünden gruplar arasındaki ilişki parametrik test varsayımları sağlanıyorsa "İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi" ile, parametrik test varsayımları karşılanmıyorsa "Mann Whitney U Testi" kullanılarak incelenmiştir. İki nicel değişken arasındaki ilişki normal dağılım varsayımları sağlanıyorsa Pearson; normal dağılım varsayımları sağlanamıyorsa Spearman korelasyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analiz SPSS 11.5 programı kullanılarak yapılmıştır. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

Çalışma Romatoloji Kliniğinde takip edilen ve infliksimab tedavisi almakta olan Ankilozan spondilit (AS) ve Romatoid artrit (RA) hasta grubunda yapılmıştır. Çalışmaya 50 AS ve 4 RA hastasından oluşan toplam 54 hasta dahil edilmiştir. 28 erkek, 26 kadın hastanın yaş ortalaması 56 yıldır. Hastaların inceleme yapılan kan örneklerinin alındığı dönemdeki, demografik özellikleri, inflamasyon belirteçlerinden ESH ve CRP değerleri kaydedilmiş, AS hastalarında BASDAI (hastalık aktivite skoru) ve BASFI (hastalık fonksiyonel skoru), RA hastalarında DAS28 (hastalık aktivite skoru) skorları değerlendirilmiştir. Tüm hastaların kanlarında infliksimab ilaç düzeyleri, infliksimaba karşı antikor, antioksidan (Glutatyon Peroksidaz, Katalaz) ve oksidan (Ksantin oksidaz) enzim aktiviteleri ile oksidatif durum belirteçlerinden Malondialdehit (MDA) düzeyi ölçümleri yapılmıştır. Bu ölçüm sonuçları, AS hastalarında BASDAI, BASFI değerleri ve tüm hastaların inflamasyon belirteçlerinden ESH ve CRP değerleri ile karşılaştırılmıştır. İstatistik test varsayımları karşılandığında iki ortalama arasındaki farkın anlamlılık testi (Student-T testi), istatistik test varsayımları karşılanmadığında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sonuçlara ait ortalama (Ort), standart sapma (SS), ortanca, minimum ve maksimum değerler (min-maks) ve istatiksel analize ait p değerleri tabloda verilmiştir.

Tablo 6.1. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, infliksimab kullanım süresi, infliksimab düzeyi, CRP ve ESH düzeyleri ile ilişkisi

	İnfliksimaba karşı antikor Pozitif (n=14) Ortanca(Min- Maks)	**İnfliksimaba karşı antikor Negatif (n=40)** Ortanca(Min- Maks)	**p Değeri**
İnfliksimab kullanım süresi (ay)	54 (3-144)	66 (6-144)	p=0,153
İnfliksimab ilaç düzeyi (ng/mL)	237 (225-308)	290 (216-1016)	**p=0,005**
ESH (n=54) mm/saat	18 (2-55)	12 (1-73)	p=0,390
CRP (n=54) mg/L	7.5 (2-135)	6 (0,5-207)	p=0,440

ESH: eritrosit sedimentasyon hızı, CRP: C reaktif protein

Çalışmaya dahil edilen Ankilozan Spondilitli (n=50) ve Romatoid Artritli (n=4) 54 hastanın, 14'ünde (%25,92) infliksimaba karşı antikor saptanmıştır. Çalışmamızda sadece AS hastalarında antikor saptanmış olup, RA hastalarında infliksimaba karşı antikor saptanmamıştır.

İnfliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastaların infliksimab kullanım süresi açısından yapılan karşılaştırmada Mann-Whitney U testi kullanılmış, tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. İki grup arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0.153).

İnfliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastalar arasında infliksimab ilaç düzeylerinin karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanılmış, tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. Antikor saptanan hastalarda saptanmayan hastalara kıyasla ilaç düzeyi daha düşük bulunmuş olup ilaç düzeyi dağılımları arasında istatistiksel açıdan fark saptanmıştır **(p=0.005).**

İnfliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastaların eritrosit sedimentasyon hızı ve CRP açısından karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanılmış, tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. İki grup arasında ESH ve CRP için istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla; p=0.390, p=0,440).

BASDAI skoru 4 ve üzerinde (yüksek hastalık aktivitesi gösteren) ve BASDAI skoru 4'ün altında (düşük hastalık aktivitesi gösteren) olan Ankilozan spondilit hastaları arasında ESH ve CRP düzeyi açısından karşılaştırmada da istatiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 6.2. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların BASDAI skoru ile ilişkisi

	İnfliksimaba karşı antikor Pozitif (n=14) (Ortalama ±SS)	**İnfliksimaba karşı antikor Negatif (n=40)** (Ortalama ±SS)	**p Değeri**
BASDAI (AS) (n=50)	5,27±2,46	3,71±2,51	**p=0,049**

BASDAI: Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktıvite İndeksi

İnfliksimaba karşı antikor saptanan AS hastalarında BASDAI skoru ortalaması 5,27±2,46, infliksimaba karşı antikor saptanmayan AS hastalarında BASDAI skoru ortalaması 3,71±2,51 olarak bulunmuştur. Bağımsız iki grubun karşılaştırmasında Student t test kullanılmıştır. İnfliksimaba karşı antikor saptanan Ankilozan spondilit hastalarında BASDAI skoru daha yüksek olup iki grup arasında istatisel olarak anlamlı fark saptanmıştır **(p=0,049).**

Tablo 6.3. BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan spondilit hastalarının BASFI skorları ile ilişkisi

	BASDAI <4 (n=23) Ortanca(Min-Maks)	**BASDAI ≥ 4** (n=27) Ortanca(Min- Maks)	**p Değeri**
BASFI (AS) (n=50)	0,9 (0-3,5)	4,5 (0-10)	**p<0,001**

BASDAI; Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktıvite İndeksi
BASFI: Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi

AS hastalarında BASDAI skoru <4 ve ≥ 4 olan hastaların BASFI skoru ile ilişkisinin incelenmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmış, tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. Yüksek hastalık aktivitesi gösteren, BASDAI ≥ 4 olan grupta, BASDAI skoru <4 olan gruba kıyasla, BASFI skorları daha yüksek olup istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur **(P<0,001).**

Çalışmaya dahil edilen 4 Romatoid artrit hastasının DAS28 skoru, 2 hastada düşük hastalık aktivitesi ve 2 hastada remisyon ile uyumlu bulunmuştur. Bu hastalarda infliksimaba karşı antikor saptanmamıştır.

Çalışmaya dahil edilen 50 Ankilozan Spondilit hastasının, 14 ünde (%28) infliksimaba karşı antikor saptanmıştır. Bu hastaların oksidatif parametreleri değerlendirilmiştir.

Tablo 6.4. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, Ksantin oksidaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması

	İnfliksimaba karşı antikor Pozitif (n=14) Ortalama ±SS	**İnfliksimaba karşı antikor Negatif (n=40)** Ortalama ±SS	**p Değeri**
XO (mIU/mL)	0,1349±0,046	0,1725±0,047	**p=0.013**

XO: Ksantin Oksidaz

İnfliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastaların Ksantin Oksidaz aktiviteleri arasında fark olup olmadığı iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ile incelenmiştir. İnfliksimaba karşı antikor saptanan hastalarda Ksantin Oksidaz aktiviteleri ortalaması 0,1349±0,046 mIU/mL, infliksimaba karşı antikor saptanmayan grupta Ksantin Oksidaz aktiviteleri ortalaması 0,1725±0,047 mIU/mL bulunmuş olup daha yüksektir. Ortalamalar arasındaki 0,038 birimlik fark istatistiksel olarak anlamlıdır **(p=0,013).**

Tablo 6.5. İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, MDA düzeyleri ile GSHPx ve Katalaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması

	İnfliksimaba karşı antikor Pozitif (n=14) Ortanca (Min-Maks)	**İnfliksimaba karşı antikor Negatif (n=40)** Ortanca (Min-Maks)	**p Değeri**
MDA (nmol/mL)	6,08 (4,5-8,3)	5,76 (4,1-12,8)	0,401
GSHPx (IU/L)	19,2 (0-67,2)	19,2 (9,6-52,8)	0,557
KAT (IU/mL)	3,66 (0-19)	5,12 (0-74,6)	0,371

MDA: Malonaldehit, GSHPx; Glutatyon peroksidaz, KAT; Katalaz

İnfliksimaba karşı antikor pozitif ve negatif hastaların, oksidatif belirteçlerden MDA düzeyleri ile GSHPx ve Katalaz aktiviteleri açısından karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Hastalar arasında bu oksidatif belirteçler açısından, istatiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p değerleri sırasıyla p=0,401, p=0,557, p=0,371).

Tablo 6.6. BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan Spondilit hastalarının, Ksantin oksidaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması

	BASDAI <4 (N=23) Ortalama ±SS	**BASDAI ≥ 4** (n=27) Ortalama ±SS	**p Değeri**
XO (mIU/mL)	0,1624±0,048	0,1640±0,052	p=0,911

BASDAI; Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktıvite İndeksi
XO: Ksantin Oksidaz

BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan spondilit hastalarının, Ksantin oksidaz aktiviteleri açısından fark olup olmadığı iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ile incelenmiştir. AS hastalarında BASDAI skoru 4 ve üzerinde olan, yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta Ksantin Oksidaz aktiviteleri ortalaması 0,1640±0,052 mIU/mL, BASDAI skoru 4 ve altında olan, düşük hastalık aktivitesi gösteren grupta Ksantin Oksidaz aktiviteleri ortalaması 0,1624±0,048 mIU/mL olarak bulunmuştur. Hastalık aktivitesini gösteren BASDAI skoru ve oksidatif durumu gösteren Ksantin Oksidaz aktiviteleri arasında istatiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0,911).

Tablo 6.7. BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan Ankilozan Spondilit hastalarının, MDA düzeyleri ile GSHPx ve Katalaz aktiviteleri açısından karşılaştırılması

	BASDAI <4 (N=23) Ortanca (Min-Maks)	**BASDAI ≥ 4** (n=27) Ortanca (Min-Maks)	**p Değeri**
MDA (nmol/mL)	5,64 (4,1-8,6)	6,04 (4,5-12,8)	p=0,246
GSHPx (IU/L)	16,8 (4,8-33,6)	24 (9,6-67,2)	**p=0,010**
KAT (IU/mL)	5,85 (0-74,6)	4,39 (0-54,1)	P=0,583

BASDAI; Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktıvite İndeksi
MDA: Malonaldehit, GSHPx; Glutatyon peroksidaz, KAT; Katalaz

BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan hastaların oksidatif belirteçler (MDA, GSHPx, KAT) açısından karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir.

Ankilozan spondilit hastalarında BASDAI skoru 4 ve üzerinde olan; yüksek hastalık aktivitesi gösteren ve BASDAI skoru 4 ve altında olan; düşük hastalık aktivitesi gösteren iki grubun GSHPx aktivitelerinin dağılımları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta GSHPx aktiviteleri daha yüksektir **(p=0,010)**.

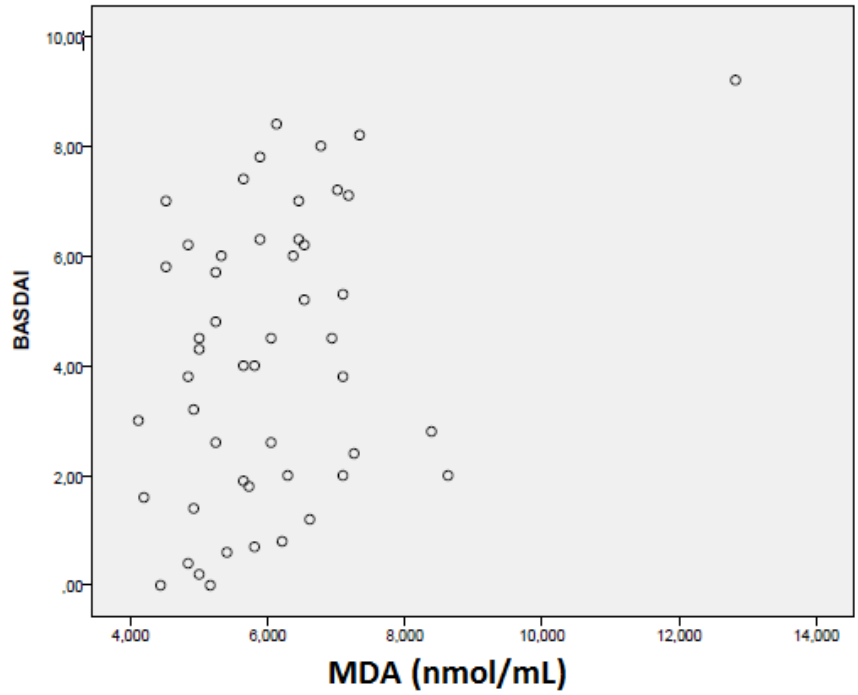
BASDAI skoru <4 ve ≥4 olan hastalar arasında oksidatif belirteçlerden MDA düzeylerinin ve Katalaz aktivitelerinin dağılımlarının karşılaştırmasında istatiksel açıdan fark saptanmamıştır (P değerleri sırasıyla; p=0,246, P=0,583).

Tablo 6.8. Ankilozan Spondilit hastalarında BASDAI skoru ile MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki

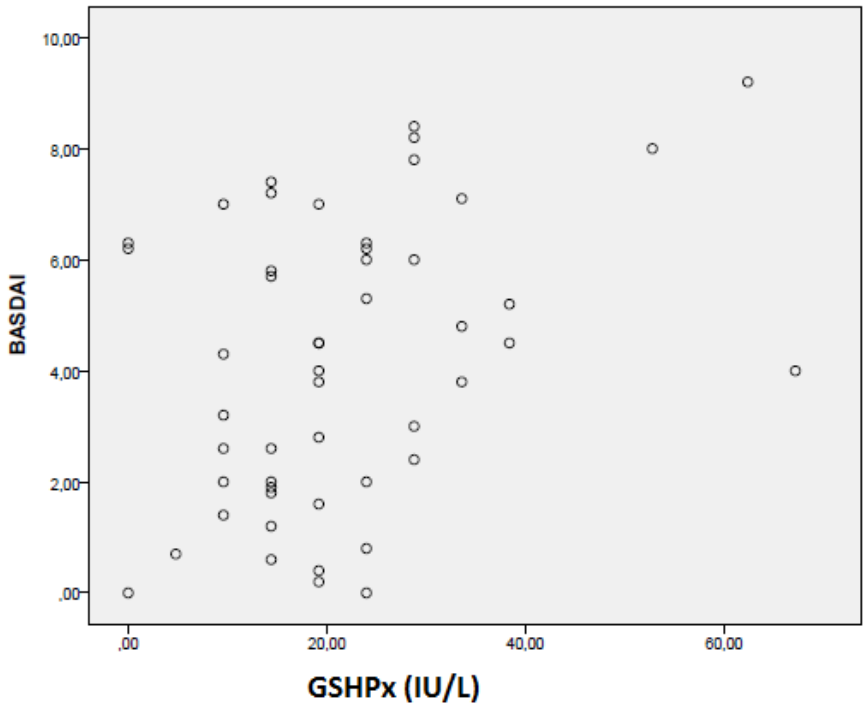
	BASDAI skoru (0-8.4)
MDA (nmol/mL)	r= 0,311 **p= 0,028**
GSHPx (IU/L)	r= 0,399 **p= 0,005**
KAT (IU/mL)	r= -0,099 p=0,493
XO (mIU/mL)	r= 0,021 p=0,884

BASDAI; Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktıvite İndeksi
MDA: Malondialdehit, GSHPx; Glutatyon peroksidaz, KAT; Katalaz, XO; Ksantin Oksidaz
r; Korelasyon katsayısı

BASDAI skoru ile MDA düzeyi, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki "Spearman Sıra Korelasyon Katsayısı" ile incelenmiştir. BASDAI skoru ile MDA ve GSHPx arasında zayıf-orta derecede anlamlı ilişki bulunmuş olup pozitif lineer korelasyon saptanmıştır (sırasıyla **r=0,311 p=0,028; r=0,399 p=0,005**).



Şekil 6.1. BASDAI skoru ile MDA düzeyleri arasındaki ilişki



Şekil 6.2. BASDAI skoru ile GSHPx aktiviteleri arasındaki ilişki

BASDAI skoru ile Katalaz ve XO aktiviteleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Tablo 6.9. Ankilozan Spondilit ve Romatoid artrit hastalarında CRP düzeyleri ile MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki

	CRP (mg/L)
MDA (nmol/mL)	r= 0,109 p= 0,435
GSHPx (IU/L)	r= 0,163 p= 0,252
KAT (IU/mL)	r= - 0,064 p=0,674
XO (mIU/mL)	r= - 0,023 p=0,867

CRP değerleri ile oksidatif durum belirteçlerinden MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki "Spearman Sıra Korelasyon Katsayısı" ile incelenmiş olup istatiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır. r ve p değerleri sırasıyla; r= 0,109 p= 0,435, r= 0,163 p= 0,252, r= - 0,064 p=0,674, r= - 0,023 p=0,867 bulunmuştur.

Tablo 6.10. Ankilozan Spondilit ve Romatoid artrit hastalarında ESH düzeyleri ile MDA düzeyleri, GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri arasındaki ilişki

	ESH (mm/saat)
MDA (nmol/mL)	r= 0,349 **p= 0,010**
GSHPx (IU/L)	r= 0,152 p= 0,287
KAT (IU/mL)	r= - 0,105 p=0,486
XO (mIU/mL)	r= - 0,043 p=0,759

ESH değerleri ile oksidatif durum belirteçlerinden MDA, GSHPx, Katalaz ve XO düzeyleri arasındaki ilişki "Spearman Sıra Korelasyon Katsayısı" ile incelenmiştir. MDA ve ESH arasında zayıf-orta derecede anlamlı ilişki bulunmuş olup pozitif lineer korelasyon saptanmıştır. (**r=0,349 p=0,01**). GSHPx, Katalaz ve XO aktiviteleri ile ESH değerleri arasında istatiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır. r ve p değerleri sırasıyla r= 0,152 p= 0,287, r= - 0,105 p=0,486, r= - 0,043 p=0,759 bulunmuştur.

7. TARTIŞMA

Romatoid artrit (RA) ve Ankilozan spondilit (AS), toplumda nisbeten genç nüfusta sık görüldüğünden sosyal hizmetler ve sağlık alanlarında önemli oranda yüksek harcamalara neden olmaktadır. Bu sebeple bu hastalıkların etyopatogenezini, biyolojik etkilerini ve mümkün olan en etkin tedavi stratejilerini araştırmak toplumsal ve ekonomik açıdan önemlidir.

Ankilozan spondilit etyolojisi net bilinmeyen, spinal eklemlerde ve komşu yapılarda belirgin inflamasyon ile karakterize, omurgada progresif ve asendan kemik füzyonuna neden olan inflamatuar bir hastalıktır. Periferal eklem tutulumu daha az olmasına karşın kalça ve omuz eklemleri hastaların 1/3'ünde tutulur. Göz ve kalp gibi ekstraartiküler organlarda da inflamatuar lezyonlar görülebilir. AS klinik, radyolojik, epidemiyolojik ve genetik özellikleri ile Seronegatif Spondilartropatiler grubunda yer almaktadır. Kadın erkek oranı 1/3'dür. Kadın ve erkekte klinik bulgular biraz farklı seyir göstermektedir. Kadınlarda periferik eklem tutulumu daha sık, spinal ankiloz ise daha nadir görülür (118, 119).

Romatoid artrit, kronik inflamatuar, genellikle birden fazla sistemi etkileyen, tekrarlayan otoimmün bir hastalıktır. Sinovyumda inflamatuar hücrelerin infiltrasyonu ile karakterize olup sinovyal hiperplazi ve sonuçta kemiğin yanı sıra eklem kıkırdağının da yıkımına yol açar. Kadınlarda erkeklerden 3 kat daha fazla görülmekte olup RA prevalansı dünya nüfusunun %1-2'si civarındadır. Her yaşta görülebilse de, başlangıç 40'lı veya 50'li yaşlarda daha sıktır. RA'nın kesin nedeni bilinmemektedir (120, 121).

Romatoid artrit ve Ankilozan spondilitte inflamasyonun altında yatan mekanizmayı düzeltme amaçlı tedavi yaklaşımı henüz mevcut değildir. Tedavinin amaçları hastalığın progresyonunu azaltmak ve geriletmek, fonksiyonel kapasiteyi korumak, düzeltmek ve yaşam kalitesini arttırmaktır.

Ankilozan spondilitin tedavisi primer olarak hastalığın klinik bulgularına yönelik yapılır. Bu özellikler; enflamatuvar bel ağrısı, tutukluk, periferik artrit ve entesopatidir. Tedavide kullanılacak ilaçta ise hastalığın ilerleyişini azaltmak/geriletmek, fonksiyonel kapasiteyi korumak, düzeltmek ve yaşam kalitesini arttırma etkilerine sahip olması istenmektedir (122).

Ankilozan Spondilit Çalışma Grubu (Asessment in Ankylosing Spondylitis; ASAS) AS'te tedavinin semptomatik sonuçlarını değerlendirmek için 5 temel parametre (fiziksel fonksiyon, ağrı, spinal mobilite, spinal katılık/enflamasyon ve hastanın global değerlendirmesi) ve bunların her birini ölçmek için indeksler belirlemiştir (123).

Çalışmamızda hastalık aktivitesini değerlendirmek için Bath Ankilozan Spondilit Hastalık Aktive İndeksi (BASDAI) ve fonksiyonel kapasiteyi belirlemek için Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi (BASFI) kullanılmıştır.

Romatoid artrit hastalarında hastalık aktivitesini değerlendirmek için Hastalık Aktivite skoru-28 (Disease Activity Score 28; DAS28) kullanılmıştır.

Ankilozan spondilitte hastalık aktivitesinin ve fonksiyonunun değerlendirmesinde yaygın olarak kullanılan BASDAI ve BASFI skorları, daha önce yapılmış çalışmalarda, hasta gruplarında kontrol gruplarına kıyasla yüksek bulunmuştur. Bu skorların değerlendirilmesinin tedavi cevabını izlemede ve düşük BASDAI skorlarının biyolojik tedavilere yanıtı öngörmede kullanışlı olduğu saptanmıştır (124).

Bu amaçla çalışmamıza dahil ettiğimiz 50 AS hastasının (n=50) BASDAI ve BASFI skorları, 4 RA hastasının ise DAS28 skoru kaydedilmiştir. AS hastalarımızın BASDAI skoruna göre 27'si yüksek hastalık aktivitesi (BASDAI≥4), 23'ü düşük hastalık aktivitesi (BASDAI<4) göstermekteydi. RA hastalarında ise DAS28 skoruna göre 2 hasta remisyonda, 2 hasta ise düşük hastalık aktivitesi göstermekteydi.

Çalışmada incelediğimiz hasta grubunda kullanılmakta olan İnfliksimab, Tümör nekroz faktör-α (TNFα) inhibitörü olup, "biyolojik ajan" grubu içindedir ve bazı kronik inflamatuvar hastalıklarda kullanılan enjekte edilebilir bir ilaçtır.

Her ne kadar birçok otoimmün hastalıkta tetikleyici faktörler bilinmese de, kronik inflamatuar sürece katılan en önemli inflamatuar aracılardan biri olan sitokin Tümör nekroz faktörü-α'dır.(125)

Tümör nekroz faktörü-α (TNFα), RA ve AS gibi çeşitli inflamatuar veya immün hastalıkların patogenezinde kritik bir role sahip olduğu bilinen proinflamatuar bir sitokindir. TNFα inhibitörleri, özellikle bu inflamatuar aracıları hedefleyen biyolojik ajanlardır.

İnfliksimab insan TNFα'sına yüksek oranda ve spesifik olarak bağlanarak TNFα 'nın biyolojik aktivitesini, reseptörlerine bağlanmasını inhibe ederek nötralize eden anti-TNFα monoklonal antikorudur (126). TNFα inhibitörleri yetişkin RA, jüvenil idiyopatik artrit, AS ve Crohn hastalığı için, ajanlar arasında bazı farklılıklarla birlikte, en etkili mevcut tedaviler arasındadır (35, 40). TNFα inhibitörleri hastalık remisyonunu indükleyip romatolojik hastalıklarda hem klinik hem de radyolojik olarak hastalığın ilerlemesini önleyebilir, hasta semptomlarında işlev ve yaşam kalitesinde önemli iyileşme sağlayabilir (35).

Ciddi aktif AS'te infliksimabın hastalık aktivitesini kontrol altına almada etkinliğini belirlemek için yapılan bir çalışmada, ortalama hastalık süresi 5 yıl olan 11 AS hastasına

5mg/kg dozda, 0,2 ve 6. haftalarda infüzyon şeklinde infliksimab verilmiştir. 4 hafta sonra BASDAI skorunda ortalama düzelme %70 olarak bulunmuştur. Spinal ağrı, sabah tutukluğu, yorgunluk ve periferik artrit değerlendirmelerinde de belirgin düzelme görülmüştür. Bu çalışmanın bir yıllık sonuçlarında da iyileşmenin sürdüğü saptanmıştır (17). AS hastalarında yapılan başka bir çalışmada, infliksimab tüm hastalarda etkin bulunurken en iyi sonucun hastalık süresi kısa olan ve başlangıç klinik parametreleri daha iyi olan hastalarda sağlandığını bildirmişlerdir (127).

Romatoid Artrit hastalarında da TNFα'nın rolü son yıllarda oldukça araştırılmış olup TNFα'yı bloke eden ajanlarla çeşitli çalışmalar yapılmış ve eklem hasarını ve hastalık progresyonunu azaltıcı etkisi gösterilmiştir. AS ve RA'in etyopatogenezi farklı olmakla birlikte, eski çalışmalarda AS'te de TNFα'nın inflamasyonda rol oynayabileceği düşünülmüştür. Bir çalışmada konsantrasyonu hastalık aktivitesi ile korelasyon göstermemesine rağmen AS hastalarının serumunda inflamatuvar olmayan bel ağrısı olan hastalara göre daha yüksek miktarda TNFα'ya rastlanmıştır (128). Daha yeni bir çalışmada ise AS hastalarının sakroiliak eklem biopsilerinde yüksek miktarda TNFα messenger RNA ve protein saptanmıştır (129).

Bu veriler göz önüne alındığında TNFα'nın AS patogenezinde rol oynayabileceği ve anti-TNFα tedavinin AS'te yeni bir tedavi seçeneği olabileceği gündeme gelmiştir. Ayrıca bu ajanların immunomodulatuar etkilerinin spondiloartropatide gösterilmesi de bu hipotezi desteklemiştir (128).

TNFα'nın enflamasyon alanında çok miktarda bulunması da bu ajanı biyolojik tedavinin bir hedefi haline getirmiştir. Gerçekten bir çalışmada anti-TNFα tedavisinin spondiloartropatide Th1 sitokin sekresyon bozukluğunu düzelttiği ortaya koyulmuştur (130).

Literatürde infliksimab ilaç düzeyi ve infliksimaba karşı antikor oluşumu tedavi yanıtı ile oldukça ilişkili bulunduğundan çalışma grubumuzdaki hastalarda infliksimab ilaç düzeyi ve infliksimaba karşı antikor oluşumu değerlendirilmiştir. İnfliksimab ilaç düzeyi kadar, infliksimaba karşı antikor gelişmesi de önemli olup çalışmalarda antikor gelişiminin infliksimab klirensini arttırdığı, spondiloartropati ve inflamatuar bağırsak hastalıklarında, bazı vakalarda tedaviye yanıt kaybı veya yanıtsızlığa neden olduğu gösterilmiştir (131, 132). Ancak bazı çalışmalarda, tedaviye yanıt vermeyen tüm hastalarda antikor gösterilememiş (133, 134) olup tedavi başarısızlığının heterojen bir olay olduğu ve TNF inhibitörlerine karşı antikor gelişiminin kısmen sebep olduğu da söylenmiştir (52, 135). Çalışmamızda AS hastalarında hastalık aktivite skoru olan BASDAI ve infliksimab ilaç düzeyi ilişkisine bakılmış ancak anlamlı ilişki saptanmamıştır. BASDAI skoru ve infliksimab ilaç düzeyi ilişkisini direkt olarak

gösterememizin sebebinin literatürde de bahsedildiği gibi tedavi yanıtsızlığı görülen tüm hastalarda antikor pozitifliği ve ilaç klirensinin artmaması kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Ayrıca infliksimaba karşı antikor gelişmesi artmış infüzyon reaksiyonları ile de ilişkilendirilmiştir. Çalışma grubumuzdaki hastalardan örnek alındığı günde anlamlı infüzyon reaksiyonu görülmemiştir ancak uzun süreli klinik takiplerini de incelemek gerekmektedir. Çalışmalarda infliksimaba karşı antikor gelişmesi ile başlangıçtan birbuçuk ay sonra düşük infliksimab düzeylerinin ilişkili olduğu da gösterilmiştir (46, 133).

Çalışmamıza dahil edilen AS'li (n=50) ve RA'li (n=4) 54 hastanın, 14'ünde (%25,9) infliksimaba karşı antikor saptanmıştır. Sadece AS hastalarında antikor saptanmış olup, RA hastalarında infliksimaba karşı antikor saptanmamıştır. Çalışmamızda saptadığımız antikor pozitiflik oranı literatür ile benzerlik göstermekte olup önceki çalışmalarda RA hastalarınının % 43'ünde, spondiloartropati hastalarının % 29'unda tedavinin ilk bir yılında infliksimaba karşı antikor oluştuğu gösterilmiştir (133, 136).

İnfliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastalarda infliksimab ilaç düzeyleri karşılaştırıldığında, antikor saptanan grupta infliksimab ilaç düzeyi dağılımları, antikor saptanmayan gruba göre daha düşük ölçülmüş olup istatiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur **(p=0,005).** Literatürde antikor saptanan hastalarda infliksimab ilaç düzeyi, antikor saptanmayan hastalara kıyasla daha düşük bulunmuş ve tedaviye cevapta azalma ve infüzyon reaksiyonlarında artış ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir (46). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde infliksimaba karşı antikor saptanan hastalarda infliksimab ilaç düzeyi antikor saptanmayan hastalara kıyasla daha düşük bulunmuştur.

Ayrıca çalışmamızda infliksimaba karşı antikor saptanan AS hastalarında BASDAI skoru, antikor saptanmayan AS hastalarından daha yüksek bulunmuş olup iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır **(p=0,049).** AS hastalarının yaklaşık %40'ı TNF inhibitörlerine yanıt vermemektedir (137). Bu tedavi yanıtsızlığının nedenin bir kısmı açıklanamamakla birlikte yine de önemli bir neden anti-ilaç antikorlarının gelişiminin bir sonucu olarak düşük ilaç seviyeleridir. AS hastalarında adalimumab (TNF inhibitörü) tedavisine ilişkin önceki çalışmalar, 6-12 aylık takipte yaklaşık %30 anti-ilaç antikoru göstermiş olup bunun düşük veya saptanamayan adalimumab seviyelerine yol açtığı ve spondiloartrit tedavi yanıtsızlığı şeklinde değerlendirildiği görülmüştür (138, 139). RA için daha büyük ölçüde anti-ilaç antikoru gelişimi ile ilişkili azalan tedavi yanıtı tanımlanmıştır (52, 134, 140-142).

Hastaların farklı merkezli çalışmalarda farklı oranlarda anti-ilaç antikoru geliştirdiği gözlemlenmitir. AS'li hastalarda anti-ilaç antikoru sıklığı, AS tedavisinde eşzamanlı hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar (DMARD'lar) (özellikle metotreksat) kullanılmaması nedeniyle RA'lı hastalardan daha sıktır. RA'da metotreksatın tespit edilebilir anti-ilaç antikoru sıklığını azalttığı gösterilmiştir (143, 144). Fakat AS tedavisinde infliksimaba ek olarak metotreksat monoterapisinin önemli bir faydasını destekleyecek kesin bir kanıt da bulunamamıştır (145). Birkaç randomize kontrollü çalışmada AS hastalarında infliksimaba metotreksat eklenmesinin faydalı etkisi araştırılmış ancak, hastalık aktivitesi veya infliksimab seviyelerinde anlamlı farklılık gösterilememiştir (146-149).

Önceki çalışmalarda, serum ilaç düzeylerinin hastalar arasında büyük farklılıklar gösterebildiği söylenmiştir (134, 138, 140). Ancak bu gözlemlenen varyasyonlara rağmen, AS hastalarının tedavisi sırasında TNF inhibitörlerinin farmakokinetiği halen dikkate alınmamaktadır. TNF inhibitörlerinin yüksek maliyetleri nedeniye TNF inhibitörü tedavilerini optimize etmek için tedavi yanıtsızlığının nedenlerini belirlemeye ve aşırı tedaviyi önlemeye ihtiyaç vardır.

Literatürde, AS'te tedavi cevapsızlığı, antikor saptanması ve buna bağlı düşük serum infliksimab düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. Çalışmamızda da antikor saptanan hastalarda, ilaç düzeyi daha düşük, hastalık aktivitesini gösteren BASDAI skoru ise da daha yüksek olup literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda infliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastalarda infliksimab kullanım süresi karşılaştırıldığında ise iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

AS hastalarında BASDAI skoru 4 ve üzerinde olan, yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta BASFI skoru ortalaması, BASDAI skoru 4 ve altında olan, düşük hastalık aktivitesi gösteren gruptan daha yüksek olup BASDAI ve BASFI skorları arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur **(P<0.001).** Hastalık aktivitesi ve fonksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda BASFI ve BASDAI'nın en önemli klinik belirteçler olduğu ve aralarında pozitif korelasyon bulunduğu önceki çalışmalarda saptanmıştır (150, 151). Bizim çalışmamızda da BASFI ve BASDAI skorları arasındaki korelasyon literatür ile uyumludur.

İnfliksimaba karşı antikor saptanan ve saptanmayan hastalar arasında ve yine yüksek hastalık aktivitesi (BASDAI $\geq$ 4) ve düşük hastalık aktivitesi (BASDAI<4) gösteren AS hastaları arasında ESH ve CRP ortalamaları karşılaştırılmış fakat gruplar arasında istatiksel açıdan anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Fakat literatürde Ankilozan spondilitli hastalarda yapılan çalışmada; CRP'nin hastalık aktivitesini göstermesi açısından ESH, Beta-2

mikroglobulin ve haptoglobulinden daha kıymetli bir parametre olduğu ve BASDAI ile pozitif korelasyon gösterdiği (152) saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise akut faz reaktanları (ESH, Orosomukoid, CRP, Alfa 1 antitripsin) arasında pozitif korelasyon gösterilmişken; akut faz reaktanları ve hastalık aktivitesi arasında korelasyon gösterilmemiştir (153). Çalışmamızda bu farkı gösterememizin sebebini öncelikle, henüz tedaviye başlanmamış hastalarda değil de tedavi altındaki hasta grubunda yapmamıza bağlamaktayız.

Oksidatif stres, oksidan/antioksidandan dengesizliğinden ve oksidan fazlalığı ve/veya antioksidan eksikliğinden kaynaklanır ve hücre ölümünü tetikleyen, ciddi metabolik disfonksiyona ve makromoleküler hasara yol açar (154). Bu oksidatif stres durumunda ROT üretimi gerçekleşir (155).

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) Romatoid artrit ve Ankilozan spondilit gibi kronik inflamatuar hastalıkların etyolojisinde ve patogenezinde önemli rol oynadığına dair kanıtlar gösterilmiştir (5-7, 156). Ek olarak, ROT Nükleer faktör-kB'yi (NF-kB) uyaran ikinci haberci şeklinde hareket edebilir. Yine, farklı çalışmalar ROT türlerini, plazma TNFα seviyeleri ile artrit başlangıcı ve ilerlemesiyle ilişkilendirmiştir (157, 158). Bu nedenle, inflamatuar yanıt sırasında aktive nötrofiller tarafından üretilen ROT'un rolüne odaklanılmıştır (159). ROT'lar örneğin nitrik oksit, süperoksit ve hidroksil radikal anyonu gibi oldukça reaktif geçici kimyasal türlerdir. Endojen ROT oluşumu için birincil kaynak, normal hücresel metabolizma gibi görünmektedir. Bu hücresel işlemler sonucu ROT salınımı ve ROT'ların antioksidan yollardan kurtulmaları (örneğin, glutatyon peroksidaz, E vitamini), normal dokuda hücresel moleküllerin modifikasyonuyla sonuçlanmaktadır. Ancak hasar veren ROT üretimi, vücudun detoksifiye edici antioksidan kapasitesinin aşıldığı oksidatif stres olarak bilinen bir durumda oluşur (155, 160).

İnflamasyon sırasında ortaya çıkan TNFα, IL1-β gibi proinflamatuar sitokinler nitrik oksit, malondialdehit oluşumunu, ksantin oksidaz aktivitesini indüklemekte ve serbest radikal oluşumunu bu yolla arttırmaktadırlar. AS patogenezinde oksidatif stresin rolünü araştıran çalışma sayısı sınırlı olmakla birlikte AS'in aktif döneminde anormal derecede yüksek nötrofil göçü olduğu ve bu hastalarda reaktif oksijen radikallerine dolaşımdaki nötrofillerin cevabının arttığı gösterilmiştir (161). Başka bir çalışmada AS hastalarında serumda oksidan, antioksidan düzeylerine bakılmış ve sonuçta AS'de dengenin oksidan yönünde bozulduğunu göstermişlerdir (162). Karakoç ve arkadaşları oksidatif stresi değerlendirmek için total oksidatif stres, total antioksidan seviye ve oksidatif stres indeksini kullanmışlar ve AS hastalarında total antioksidan seviyesinde kontrol grubuna göre düşüklük saptanırken oksidan özelliği gösteren diğer iki parametrede hasta grubunda anlamlı bir yükseklik göstermişlerdir (4).

Ankilozan spondilit ve Romatoid artrit patogenezinde, oksidatif stresin rolü olması nedeniyle çalışmamızda oksidatif durum belirteçleri değerlendirilmiştir. Ancak literatürde oksidatif stresin bu hastalıklarda arttığı zaten bilinmekte olduğundan, bizim çalışmamızda özellikle AS hastalarının farklı klinik aktivite gösterdikleri durumlar arasında bu oksidatif durum belirteçlerinin nasıl değiştiği incelenmiştir.

Bu amaçla Ankilozan spondilit hastalarında hastalık aktivitesini gösteren BASDAI skorlama sitemine göre farklı hastalık aktivitesi gösteren hasta grupları arasında Malondialdehit (MDA), Ksantin oksidaz (XO), Katalaz ve Glutatyon peroksidaz (GSHPx) düzeyleri açısından fark olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Yüksek hastalık aktivitesi gösteren (BASDAI≥4) grupta GSHPx aktivitelerinin dağılımları, düşük hastalık aktivitesi gösteren (BASDAI<4) grupla karşılaştırıldığında daha yüksek ölçülmüştür **(p=0,01).** GSHPx antioksidan enzimlerden olup yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta yüksek olmasına rağmen oksidatif stresi baskılayamadığı görülmüştür. MDA düzeyi, Katalaz ve Ksantin aktiviteleri açısından ise istatiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. MDA düzeyi yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta yüksek olmasına rağmen istatiksel olarak fark bulunmamıştır.

Ayrıca AS hastalarında hastalık aktivitesini gösteren BASDAI skoru ve MDA, XO, Katalaz ve GSHPx arasında korelasyon açısından da değerlendirme yapılmıştır. BASDAI skoru ile MDA ve GSHPx arasında zayıf-orta derecede anlamlı ilişki bulunmuş olup pozitif lineer korelasyon saptanmıştır. (sırasıyla R=0,311 **p=0,028;** R=0,399 **p=0,005**). BASDAI skoru ile Katalaz ve XO aktiviteleri arasında ise anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Malondialdehit düzeyleri, AS hasta grubunda BASDAI skoru ile pozitif korelasyon göstermiş olup hastalık aktivitesi ile artmıştır. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden en çok etkilenen hücre elemanı membran lipidleridir. Oksidatif atak özellikle poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile kendisini gösterir. MDA bu zincir reaksiyon sırasında bir ara ürün olarak oluşur ve MDA düzeyinin artması oksidatif poliansatüre yağ asitleri hasarının bir göstergesi olarak kabul edilir. Literatürde AS hastalarında MDA düzeylerini değerlendirmişler ve MDA düzeyini AS hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptamışlardır (163). Çalışmalarda RA hastalarının da serum, plazma ve eritrositlerinde yüksek MDA seviyeleri görülmüştür (155, 164-166). Literatürde ayrıca AS hastalarında hastalık aktivitesine göre Total Oksidan Kapasite (TOS) bakılmış ve yüksek hastalık aktivitesi gösteren (BASDAI>4) grupta TOS daha yüksek bulunmuş, düşük hastalık aktivitesi gösteren ve kontrol grubu arasında ise TOS açısından fark saptanmamıştır (167).

Çalışmamızda MDA konsantrasyonu, AS hasta grubunda BASDAI skoru ile pozitif korelasyon göstermiş olup hastalık aktivitesi ile artmıştır. MDA oksidan durum göstergesi olduğundan yüksek hastalık aktivitesi ile artış göstermesi literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Bununla birlikte TNFα, ROT üretiminin artmasını tetikleyen inflamatuar bir sitokindir (168). Çeşitli çalışmalar anti-TNF ajanların RA hastalarında ROT üretimi üzerine olan etkilerini incelemişler ve bir çalışmada RA hastalarının nötrofil kültürlerinde anti-TNF ajanların nötrofil kemotaksisini ve ROT üretimini azalttığını göstermişlerdir (169). Başka bir çalışmada RA'li hastalarda anti-TNF ajanların infilamasyonlu eklemde ROT üretimini ve ayrıca ekleme olan nötrofil akımını belirgin azalttığını göstermişlerdir (170). Literatüre bakıldığında AS'li hastalarda anti-TNF ajanların oksidatif stres üzerine olan etkilerini inceleyen çalışma az sayıdadır. Ancak Karakucak ve arkadaşları AS'li hastalarda anti-TNF ajan kullananlarla NSAİİ kullanan hastaların oksidatif durumlarını karşılaştırmışlar ve anti-TNF alanların hem NSAİİ kullananlara hemde kontrol grubuna göre oksidatif durumun daha iyi olduğunu göstermişlerdir (171).

Montserrat ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada aktif ve inaktif hastalık bulguları gösteren AS ve RA hastalarında infliksimab tedavisi öncesi ve sonrası oksidatif durum ve inflamasyon belirteçlerine bakılmış, tedavi öncesi aktif hastalık gösteren grupta ESH ve CRP düzeyleri, inaktif hastalık ve kontrol grubundan yüksek, antioksidan enzimlerden plazma GSHPx, Katalaz ve SOD aktiviteleri düşük bulunmuştur (172). Bu sonuçlar diğer çalışmalarda da rapor edilen sonuçlarla uyuşmaktaymış (4, 165, 173, 174). Bu çalışmada ayrıca aktif hastalık bulguları gösteren hasta grubunda infliksimab ile tedavi sonrasında ise ESH ve CRP de düşme, GSH-Px, Katalaz ve SOD aktivitelerinde ise artış saptanmış (172).

Yakın zamanda infliksimabın, fitohemoglobin stimüle dolaşan mononükleer hücrelerin, primer etkisi olan nötrofil kemotaksisini ve ROT oluşumunu bloke ederek inhibe ettiği ve (169) infliksimabın kronik inflamatuar eklem hastalıklarında antioksidatif özellikler gösterdiği de saptanmıştır (175).

Montserrat ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada infliksimab tedavisi, antioksidan sistemde önemli artış, oksidatif stres göstergesi olan biyobelirteçlerde ise azalma sağlamıştır. Bu iki mekanizma, oksidatif durum, inflamasyon ve hastalık evresi ile intrensik ilişkiyle ESH, CRP ve beyaz küre sayısında (BK) düşmeye neden olmuş (172). Bu çalışma sonuçları, infliksimab tedavisinin oksidatif stres biyobelirteçleri ve lökosit göçünü azaltığı diğer çalışmalarla da desteklenmekteymiş (176, 177). Bu çalışmada sonuç olarak infliksimabın kronik inflamatuar eklem hastalığında MPO (myeloperoksidaz) ve BK miktarını önemli ölçüde

azalttığı, infliksimabın hem redoks durumunda hem de aktif hastalıkta faydalı değişiklikleri indüklediği, bu hastalarda infliksimabın oksidatif stres üzerindeki yararlı etkilerinin, ROT üretiminin inhibisyonuna bağlı olabileceği ve oksidatif stres, kronik inflamatuar eklem hastalıklarının patogenezinde önemli bir rol oynadığı sonucuna varılmış (172).

Bizim çalışmamızda GSHPx aktiviteleri, Ankilozan Spondilit hasta grubunda BASDAI skoru ile pozitif korelasyon göstermiş olup yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta yüksek bulunmuştur. GSHPx, ROT üretimine karşı antioksidan bir enzimdir. Çalışmamız infliksimab kullanmakta olan hastalarda yapılmış olduğundan literatürle uyumlu olabilecek şekilde yüksek hastalık aktivitesi gösteren grupta, infliksimabın aktif hastalıkta GSHPx aktivitesini arttırmış olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca oksidatif stresin arttığı bir durumda vücudun antioksidan savunma mekanizmasının artmış olması da muhtemeldir. Diğer açıdan bakarsak da düşük hastalık aktivitesi gösteren grubun infliksimab tedavisinden fayda gördüğü ve aynı zamanda literatürde de bahsedildiği gibi infliksimabın ROT üretimini inhibe ederek oksidatif stres üzerinde yararlı etkiler sağlaması sebebiyle düşük hastalık aktivitesi gösteren AS hastalarında GSHPx aktivitesinin de bu sebeple düşük olduğu sonucu olasıdır.

Literatürde bahsedildiği üzere AS ve RA hastalarında anti-TNF ajan kullanımının oksidatif stres üzerine olumlu etkileri gözlenmiş olup bizim çalışmamızda da anti-TNF ajan kullanan hasta grubunda yapıldığından hastalık aktivitesine göre MDA ve GSHPx haricindeki diğer oksidan belirteçler olan Katalaz ve Ksantin Oksidaz arasındaki muhtemel farkın, infliksimab kullanımı nedeniyle bu kesitsel hasta grubunda kalktığı düşünülmüştür.

Fakat örneğin Katalaz özelinde değerlendirirsek; Katalaz, hidrojen peroksidin suya ve oksijene dönüşümünü katalize eder ve dolayısıyla biriken hidrojen peroksitin zararlı etkilerinden hücreleri korur. RA hastalarında katalaz aktivitesinin düşmekle (178, 179) birlikte bazı RA hastalarında katalaz aktivitesinin değişmediği de bidirilmiştir (180, 181). Yani çalışmalar arasında oksidatif durum belirteçleri açısından farklı sonuçlar da saptanmıştır.

Ayrıca çalışmamızda infliksimaba karşı antikor saptanan AS li hasta grubunda hastalık aktivitesini gösteren BASDAI skoru daha yüksek bulunmuş olup, hastalık aktivitesi ve oksidatif durum ilişkisi bilindiğinden, infliksimaba karşı antikor oluşumu ile de oksidatif belirteçlerin etkilenip etkilenmediği değerlendirilmiştir. İnfliksimaba karşı antikor oluşturan hastalarda Ksantin Oksidaz düzeyleri istatiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulunmuşur. Diğer oksidatif belirteçler ve antikor oluşumu arasında ise ilişki saptanmamıştır.

Çalışmanın kısıtlamalarından bahsedecek olursak, çalışmada hasta toplama süreci Haziran 2020- Mayıs 2021 tarihleri arasında, pandemi döneminde yapılmış olup bu dönemde hastaların hastaneye başvurma sıklıkları azaldığından, proje için verilen sürede, istatiksel

açıdan yeterlilik sağlanmakla birlikte beklenilen hasta sayısına ulaşılamamıştır. Ayrıca çalışmada kullandığımız ELISA kitlerinin son kullanma tarihleri ve hasta numunelerinin bekletme sürelerini de dikkate almamız gerekmiştir. Bu nedenlerle daha fazla hasta sayısı ve seçiciliğine ulaşamamamız çalışmamızda kısıtlamalara neden olmuştur. Ancak çalışmamızdaki hasta sayısı, karşılaştırdığımız bulgular açısından istatiksel power analiz sonuçlarına göre yeterli bulunmuştur.

Ancak bu konudaki araştırmaların, daha fazla örneklem sayısına ulaştırılabildiğinde, daha anlamlı ve değerli sonuçlar sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ankilozan Spondilit ve Romatoid Artrit sık rastlanan, nisbeten genç nüfusu etkileyen ve toplumda ciddi sosyoekonomik sonuçlara neden olan kronik hastalıklardandır. Bu sebeple de etkin tedavilerinin ve etyopatogenezlerinin araştırılması oldukça önemli ve güncel bir konudur. İnfliksimab AS ve RA'te yüksek terapötik etkinlik nedeniyle önemli bir biyolojik ajan olduğundan tedavi takibinde yanıtın azalması veya kaybolması hastalar açısından oldukça önemli bir durumdur. Bu nedenle, tedavi sırasındaki klinik yanıtta cevapsızlığa ve yetersizliğe sebep olarak gösterilen infliksimaba karşı antikor oluşumu ve buna bağlı ilaç metabolizmasının artıp, düşük ilaç seviyelerinin gözlenmesi bir çok yurtdışı kaynaklı çalışmada araştırılmıştır. Biz de bu konuda ülkemizde bir çalışma yapmayı amaçladık ve gerçekleştirdiğimiz bu çalışmamızda, AS hastalarında infliksimaba karşı antikor oluşturan grupta, antikor oluşturmayan gruba kıyasla daha düşük ilaç düzeyleri ile yine antikor oluşturan grupta daha yüksek hastalık aktivitesi saptadık ve literatürde saptanan bulgulara yakın bulgular elde ettik.

Literatür bilgileri doğrultusunda ilaç düzeyi ve antikor ölçümünün rutin klinikte kullanılmasının hasta takibine katkı sağlayacağı da muhtemeldir. İlaca karşı antikor gelişimi hasta takiplerinde ne kadar erken saptanırsa, eğer ilaç düzeyi de düşük ve klinik cevap azalmışsa, hastanın bekletilmeden diğer ilaca geçmesi ve böylece daha etkin tedavisi sağlanmış olacaktır. Sonuçta AS ve RA hastalarında tedavide farklı ilaç seçenekleri mevcut olup herhangi bir ilaca karşı antikor geliştiğinde erkenden saptamak adına böyle bir çalışma yapılmıştır.

Aynı zamanda AS ve RA hastalarının, etyopatogenezinde oksidatif stresin rol oynadığı literatürde vurgulanmıştır. Biz de çalışmamızda buradan yola çıkarak, literatürde çok az sayıda yapılmış olan hastalık aktivitesi ve oksidatif durum ilişkisini araştırmayı amaçladık. Çünki AS ve RA hastalarında oksidatif durum belirteçlerinin değerlendirilmesinin de hastaların klinik takibine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Böylece oksidatif stres belirteçlerinin arttığı durumlarda, hastalara yaklaşım ve takip şekillenebilir, güncel antioksidan ajanların kullanımı da gündeme gelebilir ve hastalar fayda sağlanabilir. Biz çalışmamızda AS'de hastalık aktivitesi artışı ile oksidatif parametrelerden önemli bir tanesi olan MDA'da artış ilişkisi saptadık. Ayrıca AS hastalarında hastalık aktivitesi arttışı ile GSHPx arasında pozitif korelasyon mevcuttu ve bu sonucun literatürde bahsedildiği gibi infliksimabın ROT üretimi üzerine inhibitör etkisi ile azaltmış olabileceği ve aktif hastalıktaki GSHPx üzerine olumlu etkisi ile de arttırmış olabileceği sonucuna vardık. Ancak bu konuda literatürde de çok fazla çalışma olmaması nedeniyle daha büyük hasta grubunda ve daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak AS ve RA patogenezi net olarak aydınlatılamadığından ve henüz küratif tedavileri bulunamadığından, yapılacak olan tüm klinik ve analitik incelemeler literatüre önemli katkılar sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. van der Laken CJ, Voskuyl AE, Roos JC, Stigter van Walsum M, de Groot ER, Wolbink G, et al. Imaging and serum analysis of immune complex formation of radiolabelled infliximab and anti-infliximab in responders and non-responders to therapy for rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2007;66(2):253-6.
2. Jamnitski A, Bartelds GM, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, van Schaardenburg D, Stapel SO, et al. The presence or absence of antibodies to infliximab or adalimumab determines the outcome of switching to etanercept. Annals of the rheumatic diseases. 2011;70(2):284-8.
3. Jani M, Isaacs JD, Morgan AW, Wilson AG, Plant D, Hyrich KL, et al. Detection of anti-drug antibodies using a bridging ELISA compared with radioimmunoassay in adalimumab-treated rheumatoid arthritis patients with random drug levels. Rheumatology (Oxford). 2016;55(11):2050-5. 4. Karakoc M, Altindag O, Keles H, Soran N, Selek S. Serum oxidative–antioxidative status in patients with ankylosing spondilitis. Rheumatology international. 2007;27(12):1131-4.
5. Steinbeck MJ, Nesti LJ, Sharkey PF, Parvizi J. Myeloperoxidase and chlorinated peptides in osteoarthritis: potential biomarkers of the disease. J Orthop Res. 2007;25(9):1128-35.
6. Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2004;6(6):265-78.
7. Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. Joint Bone Spine. 2007;74(4):324-9.
8. Fauci AS. Harrison's principles of internal medicine: McGraw-Hill Education; 2015.
9. Duthie JJR. Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology: Ann Rheum Dis. 1973 Jul;32(4):394-5.
10. Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, Budd RC, Sergent JS. Kelley's textbook of rheumatology: WB Saunders Co.; 2001.
11. Sieper J, Rudwaleit M, Khan MA, Braun J. Concepts and epidemiology of spondyloarthritis. Best practice & research Clinical rheumatology. 2006;20(3):401-17.
12. Smith JA, Märker-Hermann E, Colbert RA. Pathogenesis of ankylosing spondylitis: current concepts. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2006;20(3):571-91.
13. Rudwaleit M, Metter A, Listing J, Sieper J, Braun J. Inflammatory back pain in ankylosing spondylitis: a reassessment of the clinical history for application as classification and

diagnostic criteria. Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology. 2006;54(2):569-78.

14. Wakefield D, Montanaro A, Cluskey PM. Acute anterior uveitis and HLA-B27. Survey of ophthalmology. 1991;36(3):223-32.
15. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. Arthritis Rheum. 1984;27(4):361-8.
16. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. J Rheumatol. 1994;21(12):2286-91.
17. Brandt J, Haibel H, Cornely D, Golder W, Gonzalez J, Reddig J, et al. Successful treatment of active ankylosing spondylitis with the anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody infliximab. Arthritis Rheum. 2000;43(6):1346-52.
18. Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O'Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. J Rheumatol. 1994;21(12):2281-5.
19. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. Lancet. 2016;388(10055):2023-38.
20. Handa R. Clinical Rheumatology: Springer Nature; 2020.
21. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 2011;365(23):2205-19.
22. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Arthritis Rheum. 2010;62(9):2569-81.
23. Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review. Jama. 2018;320(13):1360-72.
24. Gravallese E, Monach P. Pathogenesis and pathology of rheumatoid arthritis. Rheumatology, MC Hochberg, EM Gravallese, AJ Silman, JS Smolen, ME Weinblatt, and MH Weisman, Eds. 2018:811-31.
25. Prevoo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1995;38(1):44-8.

26. Aletaha D, Ward MM, Machold KP, Nell VP, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. Arthritis Rheum. 2005;52(9):2625-36.
27. Tuncay F, Borman P, Kaygisiz F, Erdem H, Kurt E. Measurement of rheumatoid arthritis disease activity with rheumatoid arthritis disease activity index (RADAI) and comparison with other clinical disease activity indexes [Romatoid artrit hastalık aktivitesinin, romatoid artrit hastalık aktivite İndeksi (RADAI) ile değerlendirilmesı ve diğer klinik hastalık aktivite İndeksleri ile karşılaştırılması]. 2015.
28. Atzeni F, Sarzi-Puttini P. Tumor necrosis factor. 2013.
29. Feldmann M, Brennan FM, Foxwell BM, Maini RN. The role of TNF alpha and IL-1 in rheumatoid arthritis. Curr Dir Autoimmun. 2001;3:188-99.
30. Cush JJ. Safety overview of new disease-modifying antirheumatic drugs. Rheumatic Disease Clinics. 2004;30(2):237-55.
31. Keffer J, Probert L, Cazlaris H, Georgopoulos S, Kaslaris E, Kioussis D, et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. Embo j. 1991;10(13):4025-31.
32. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, et al. Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. Lancet. 1994;344(8930):1105-10.
33. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Bijl H, et al. Repeated therapy with monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) in patients with rheumatoid arthritis. Lancet. 1994;344(8930):1125-7.
34. Taylor PC. Pharmacology of TNF blockade in rheumatoid arthritis and other chronic inflammatory diseases. Curr Opin Pharmacol. 2010;10(3):308-15.
35. Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Burmester GR, Bijlsma JW, et al. Updated consensus statement on biological agents, specifically tumour necrosis factor {alpha} (TNF{alpha}) blocking agents and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra), for the treatment of rheumatic diseases, 2005. Ann Rheum Dis. 2005;64 Suppl 4(Suppl 4):iv2-14.
36. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Effector mechanisms of cell-mediated immunity. Cellular and molecular immunology Saunders Elsevier 6th edition Philadelphia, PA. 2007:303-20.
37. Hutas G. Golimumab, a fully human monoclonal antibody against TNFalpha. Curr Opin Mol Ther. 2008;10(4):393-406.
38. Mazumdar S, Greenwald D. Golimumab. MAbs. 2009;1(5):422-31.

39. Braun J, Landewé R, Hermann KG, Han J, Yan S, Williamson P, et al. Major reduction in spinal inflammation in patients with ankylosing spondylitis after treatment with infliximab: results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled magnetic resonance imaging study. Arthritis Rheum. 2006;54(5):1646-52.
40. Hochberg MC, Lebwohl MG, Plevy SE, Hobbs KF, Yocum DE. The benefit/risk profile of TNF-blocking agents: findings of a consensus panel. Semin Arthritis Rheum. 2005;34(6):819-36.
41. FDA U. Guidance for Industry: Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products–Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection (2019). 2019.
42. Chatenoud L, Baudrihaye MF, Chkoff N, Kreis H, Goldstein G, Bach JF. Restriction of the human in vivo immune response against the mouse monoclonal antibody OKT3. J Immunol. 1986;137(3):830-8.
43. Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, Oi VT. Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. Proc Natl Acad Sci U S A. 1984;81(21):6851-5.
44. Harding FA, Stickler MM, Razo J, DuBridge RB. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions. MAbs. 2010;2(3):256-65.
45. Vermeire S, Gils A, Accossato P, Lula S, Marren A. Immunogenicity of biologics in inflammatory bowel disease. Therap Adv Gastroenterol. 2018;11:1756283x17750355.
46. Bendtzen K, Geborek P, Svenson M, Larsson L, Kapetanovic MC, Saxne T. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor infliximab. Arthritis Rheum. 2006;54(12):3782-9.
47. Jamnitski A, Bartelds GM, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, van Schaardenburg D, Stapel SO, et al. The presence or absence of antibodies to infliximab or adalimumab determines the outcome of switching to etanercept. Ann Rheum Dis. 2011;70(2):284-8.
48. Pascual-Salcedo D, Plasencia C, Ramiro S, Nuño L, Bonilla G, Nagore D, et al. Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2011;50(8):1445-52.
49. Atzeni F, Sarzi-Puttini P. Anti-cytokine antibodies for rheumatic diseases. Curr Opin Investig Drugs. 2009;10(11):1204-11.
50. Caprioli F, Pallone F, Monteleone G. Cytokine therapies in Crohn's disease: where are we now and where should we go? Inflamm Allergy Drug Targets. 2011;10(1):47-53.

51. Radner H, Aletaha D. Anti-TNF in rheumatoid arthritis: an overview. Wien Med Wochenschr. 2015;165(1-2):3-9.
52. Bartelds GM, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, Lems WF, Twisk JW, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. Jama. 2011;305(14):1460-8.
53. Atzeni F, Talotta R, Salaffi F, Cassinotti A, Varisco V, Battellino M, et al. Immunogenicity and autoimmunity during anti-TNF therapy. Autoimmun Rev. 2013;12(7):703-8.
54. Garcês S, Demengeot J, Benito-Garcia E. The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. Ann Rheum Dis. 2013;72(12):1947-55.
55. Bendtzen K, Ainsworth M, Steenholdt C, Thomsen O, Brynskov J. Individual medicine in inflammatory bowel disease: monitoring bioavailability, pharmacokinetics and immunogenicity of anti-tumour necrosis factor-alpha antibodies. Scand J Gastroenterol. 2009;44(7):774-81.
56. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine: Oxford university press, USA; 2015.
57. Peet A. Marks' Basic Medical Biochemistry: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
58. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 1999;32(8):595-603.
59. Duke MV, Salin ML. Purification and characterization of an iron-containing superoxide dismutase from a eucaryote, Ginkgo biloba. Arch Biochem Biophys. 1985;243(1):305-14.
60. Peskin AV, Koen YM, Zbarsky IB, Konstantinov AA. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in tumors. FEBS Lett. 1977;78(1):41-5.
61. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. Proc Natl Acad Sci U S A. 1984;81(14):4343-7.
62. Amir Aslani B, Ghobadi S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. Life Sci. 2016;146:163-73.
63. Scibior D, Czeczot H. [Catalase: structure, properties, functions]. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2006;60:170-80.
64. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiological reviews. 2002;82(1):47-95.
65. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(4):275-95.

66. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiol Rev. 2007;87(1):315-424.
67. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Cell Signal. 2007;19(9):1807-19.
68. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. Biochem Soc Trans. 2007;35(Pt 5):1147-50.
69. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol. 2001;54(3):176-86.
70. Kopáni M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. Clin Chim Acta. 2006;364(1-2):61-6.
71. Lieberman M, Marks AD. Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
72. Ferreira CA, Ni D, Rosenkrans ZT, Cai W. Scavenging of reactive oxygen and nitrogen species with nanomaterials. Nano research. 2018;11(10):4955-84.
73. Lundgren CA, Sjöstrand D, Biner O, Bennett M, Rudling A, Johansson A-L, et al. Scavenging of superoxide by a membrane-bound superoxide oxidase. Nature chemical biology. 2018;14(8):788-93.
74. Que X, Hung MY, Yeang C, Gonen A, Prohaska TA, Sun X, et al. Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolaemic mice. Nature. 2018;558(7709):301-6..
75. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. Mediators of inflammation. 2013;2013.
76. Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical chemistry. 1995;41(12):1819-28.
77. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radic Biol Med. 1991;11(1):81-128.
78. Kanner J, German JB, Kinsella JE. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. Crit Rev Food Sci Nutr. 1987;25(4):317-64.
79. Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. Int J Biochem Cell Biol. 2006;38(9):1482-95.
80. Rao RS, Møller IM. Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. Proteomics. 2011;11(21):4166-73.

81. Prokai L, Yan LJ, Vera-Serrano JL, Stevens SM, Jr., Forster MJ. Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. J Mass Spectrom. 2007;42(12):1583-9.
82. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. Clin Chim Acta. 2003;329(1-2):23-38.
83. Breen AP, Murphy JA. Reactions of oxyl radicals with DNA. Free Radic Biol Med. 1995;18(6):1033-77.
84. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. Methods Enzymol. 1999;300:156-66.
85. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free radical Biology and medicine. 1991;11(1):81-128.
86. Hecker M, Ullrich V. On the mechanism of prostacyclin and thromboxane A2 biosynthesis. J Biol Chem. 1989;264(1):141-50.
87. Sharma RA, Gescher A, Plastaras JP, Leuratti C, Singh R, Gallacher-Horley B, et al. Cyclooxygenase-2, malondialdehyde and pyrimidopurinone adducts of deoxyguanosine in human colon cells. Carcinogenesis. 2001;22(9):1557-60.
88. Tsikas D, Suchy MT, Niemann J, Tossios P, Schneider Y, Rothmann S, et al. Glutathione promotes prostaglandin H synthase (cyclooxygenase)-dependent formation of malondialdehyde and 15(S)-8-iso-prostaglandin F2α. FEBS Lett. 2012;586(20):3723-30.
89. Griesser M, Boeglin WE, Suzuki T, Schneider C. Convergence of the 5-LOX and COX-2 pathways: heme-catalyzed cleavage of the 5S-HETE-derived di-endoperoxide into aldehyde fragments. J Lipid Res. 2009;50(12):2455-62.
90. Kadiiska MB, Gladen BC, Baird DD, Graham LB, Parker CE, Ames BN, et al. Biomarkers of oxidative stress study III. Effects of the nonsteroidal anti-inflammatory agents indomethacin and meclofenamic acid on measurements of oxidative products of lipids in CCl4 poisoning. Free Radic Biol Med. 2005;38(6):711-8.
91. Massey KA, Nicolaou A. Lipidomics of polyunsaturated-fatty-acid-derived oxygenated metabolites. Biochem Soc Trans. 2011;39(5):1240-6.
92. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011;31(5):986-1000.
93. Ekambaram P, Lambiv W, Cazzolli R, Ashton AW, Honn KV. The thromboxane synthase and receptor signaling pathway in cancer: an emerging paradigm in cancer progression and metastasis. Cancer Metastasis Rev. 2011;30(3-4):397-408.

94. Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chem Rev. 2011;111(10):5944-72.
95. Pryor WA, Stanley JP, Blair E. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: II. A suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin-like endoperoxides. Lipids. 1976;11(5):370-9.
96. Milne GL, Yin H, Morrow JD. Human biochemistry of the isoprostane pathway. J Biol Chem. 2008;283(23):15533-7.
97. Gao L, Zackert WE, Hasford JJ, Danekis ME, Milne GL, Remmert C, et al. Formation of prostaglandins E2 and D2 via the isoprostane pathway: a mechanism for the generation of bioactive prostaglandins independent of cyclooxygenase. J Biol Chem. 2003;278(31):28479-89
98. Yin H, Gao L, Tai HH, Murphey LJ, Porter NA, Morrow JD. Urinary prostaglandin F2alpha is generated from the isoprostane pathway and not the cyclooxygenase in humans. J Biol Chem. 2007;282(1):329-36.
99. Brooks JD, Milne GL, Yin H, Sanchez SC, Porter NA, Morrow JD. Formation of highly reactive cyclopentenone isoprostane compounds (A3/J3-isoprostanes) in vivo from eicosapentaenoic acid. J Biol Chem. 2008;283(18):12043-55.
100. Roberts LJ, 2nd, Fessel JP, Davies SS. The biochemistry of the isoprostane, neuroprostane, and isofuran Pathways of lipid peroxidation. Brain Pathol. 2005;15(2):143-8.
101. Onyango AN, Baba N. New hypotheses on the pathways of formation of malondialdehyde and isofurans. Free Radic Biol Med. 2010;49(10):1594-600.
102. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biochem Sci. 1990;15(4):129-35.
103. Sinnhuber RO, Yu TC, Yu TC. Characterization of the red pigment formed in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity a, b. Journal of Food Science. 1958;23(6):626-34.
104. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. Biochem Med. 1976;15(2):212-6.
105. Yoden K, Iio T. Determination of thiobarbituric acid-reactive substances in oxidized lipids by high-performance liquid chromatography with a postcolumn reaction system. Anal Biochem. 1989;182(1):116-20.
106. Velazquez ALL, Beltrán MdlLM, Panduro A, Ruiz LH. Alternative Medicine and Molecular Mechanisms in Chronic Degenerative Diseases. Chinese Medicine. 2011;2(03):84.

107. Giulia Battelli M, Polito L, Bortolotti M, Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase in drug metabolism: beyond a role as a detoxifying enzyme. Current medicinal chemistry. 2016;23(35):4027-36.
108. Okamoto K, Matsumoto K, Hille R, Eger BT, Pai EF, Nishino T. The crystal structure of xanthine oxidoreductase during catalysis: implications for reaction mechanism and enzyme inhibition. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2004;101(21):7931-6.
109. Pacher P, Nivorozhkin A, Szabó C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. Pharmacological reviews. 2006;58(1):87-114.
110. El Ridi R, Tallima H. Physiological functions and pathogenic potential of uric acid: A review. Journal of advanced research. 2017;8(5):487-93.
111. Wang C-H, Zhang C, Xing X-H. Xanthine dehydrogenase: an old enzyme with new knowledge and prospects. Bioengineered. 2016;7(6):395-405.
112. Battelli MG, Polito L, Bortolotti M, Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase-derived reactive species: physiological and pathological effects. Oxidative medicine and cellular longevity. 2016;2016.
113. de Oliveira EP, Burini RC. High plasma uric acid concentration: causes and consequences. Diabetology & metabolic syndrome. 2012;4(1):1-7.
114. Dahle LK, Hill EG, Holman RT. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. Arch Biochem Biophys. 1962;98:253-61.
115. Aebi H. Catalase. Methods of enzymatic analysis: Elsevier; 1974. p. 673-84.
116. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 1967;70(1):158-69.
117. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. Anal Biochem. 1974;62(2):426-35.
118. Koopman WJ. Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology. Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology1997. p. 2 v. 2374-2.
119. WN K. Harris ED, Ruddy S, Sledge CB Text book of rheumatology. Fifty edition United Statesof America WB Sounders Company. 1997:851-951.
120. Harris Jr ED. Rheumatoid arthritis: pathophysiology and implications for therapy. New England Journal of Medicine. 1990;322(18):1277-89.
121. Krane SM, Simon LS. Rheumatoid arthritis: clinical features and pathogenetic mechanisms. Medical Clinics of North America. 1986;70(2):263-84.

122. Khan MA. Ankylosing spondylitis: introductory comments on its diagnosis and treatment. Ann Rheum Dis. 2002;61 Suppl 3(Suppl 3):iii3-7.
123. van der Heijde D, Bellamy N, Calin A, Dougados M, Khan MA, van der Linden S. Preliminary core sets for endpoints in ankylosing spondylitis. Assessments in Ankylosing Spondylitis Working Group. J Rheumatol. 1997;24(11):2225-9. Epub 1998/02/07. PubMed PMID: 9375888.
124. Rudwaleit M, Listing J, Brandt J, Braun J, Sieper J. Prediction of a major clinical response (BASDAI 50) to tumour necrosis factor alpha blockers in ankylosing spondylitis. Ann Rheum Dis. 2004;63(6):665-70.
125. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 2001;344(12):907-16.
126. Nash PT, Florin TH. Tumour necrosis factor inhibitors. Med J Aust. 2005;183(4):205-8.
127. Stone M, Salonen D, Lax M, Payne U, Lapp V, Inman R. Clinical and imaging correlates of response to treatment with infliximab in patients with ankylosing spondylitis. J Rheumatol. 2001;28(7):1605-14.
128. Gratacós J, Collado A, Filella X, Sanmartí R, Cañete J, Llena J, et al. Serum cytokines (IL-6, TNF-alpha, IL-1 beta and IFN-gamma) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity. Br J Rheumatol. 1994;33(10):927-31.
129. Braun J, Bollow M, Neure L, Seipelt E, Seyrekbasan F, Herbst H, et al. Use of immunohistologic and in situ hybridization techniques in the examination of sacroiliac joint biopsy specimens from patients with ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum. 1995;38(4):499-505.
130. Baeten D, Van Damme N, Van den Bosch F, Kruithof E, De Vos M, Mielants H, et al. Impaired Th1 cytokine production in spondyloarthropathy is restored by anti-TNFalpha. Ann Rheum Dis. 2001;60(8):750-5.
131. Xu Z, Seitz K, Fasanmade A, Ford J, Williamson P, Xu W, et al. Population pharmacokinetics of infliximab in patients with ankylosing spondylitis. J Clin Pharmacol. 2008;48(6):681-95.
132. Ternant D, Aubourg A, Magdelaine-Beuzelin C, Degenne D, Watier H, Picon L, et al. Infliximab pharmacokinetics in inflammatory bowel disease patients. Ther Drug Monit. 2008;30(4):523-9.
133. Wolbink GJ, Vis M, Lems W, Voskuyl AE, de Groot E, Nurmohamed MT, et al. Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2006;54(3):711-5.

134. Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, Stapel S, Lems WF, Aarden L, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2007;66(7):921-6.
135. Bendtzen K. Is there a need for immunopharmacologic guidance of anti-tumor necrosis factor therapies? Arthritis Rheum. 2011;63(4):867-70.
136. de Vries MK, Wolbink GJ, Stapel SO, de Vrieze H, van Denderen JC, Dijkmans BA, et al. Decreased clinical response to infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with anti-infliximab formation. Ann Rheum Dis. 2007;66(9):1252-4.
137. van der Heijde D, Schiff MH, Sieper J, Kivitz AJ, Wong RL, Kupper H, et al. Adalimumab effectiveness for the treatment of ankylosing spondylitis is maintained for up to 2 years: long-term results from the ATLAS trial. Ann Rheum Dis. 2009;68(6):922-9.
138. Arends S, Lebbink HR, Spoorenberg A, Bungener LB, Roozendaal C, van der Veer E, et al. The formation of autoantibodies and antibodies to TNF-α blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. Clin Exp Rheumatol. 2010;28(5):661-8.
139. de Vries MK, Brouwer E, van der Horst-Bruinsma IE, Spoorenberg A, van Denderen JC, Jamnitski A, et al. Decreased clinical response to adalimumab in ankylosing spondylitis is associated with antibody formation. Ann Rheum Dis. 2009;68(11):1787-8.
140. Radstake TR, Svenson M, Eijsbouts AM, van den Hoogen FH, Enevold C, van Riel PL, et al. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2009;68(11):1739-45.
141. Miyasaka N. Clinical investigation in highly disease-affected rheumatoid arthritis patients in Japan with adalimumab applying standard and general evaluation: the CHANGE study. Mod Rheumatol. 2008;18(3):252-62.
142. Vincent FB, Morand EF, Murphy K, Mackay F, Mariette X, Marcelli C. Antidrug antibodies (ADAb) to tumour necrosis factor (TNF)-specific neutralising agents in chronic inflammatory diseases: a real issue, a clinical perspective. Ann Rheum Dis. 2013;72(2):165-78.
143. Krieckaert CL, Bartelds GM, Lems WF, Wolbink GJ. The effect of immunomodulators on the immunogenicity of TNF-blocking therapeutic monoclonal antibodies: a review. Arthritis Res Ther. 2010;12(5):217.
144. Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Wolbink GJ. Methotrexate reduces immunogenicity in adalimumab treated rheumatoid arthritis patients in a dose dependent manner. Ann Rheum Dis. 2012;71(11):1914-5.

145. Chen J, Veras MM, Liu C, Lin J. Methotrexate for ankylosing spondylitis. Cochrane Database Syst Rev. 2013(2):Cd004524.
146. Li EK, Griffith JF, Lee VW, Wang YX, Li TK, Lee KK, et al. Short-term efficacy of combination methotrexate and infliximab in patients with ankylosing spondylitis: a clinical and magnetic resonance imaging correlation. Rheumatology (Oxford). 2008;47(9):1358-63.
147. Mulleman D, Lauféron F, Wendling D, Ternant D, Ducourau E, Paintaud G, et al. Infliximab in ankylosing spondylitis: alone or in combination with methotrexate? A pharmacokinetic comparative study. Arthritis Res Ther. 2011;13(3):R82.
148. Krzysiek R, Breban M, Ravaud P, Prejean MV, Wijdenes J, Roy C, et al. Circulating concentration of infliximab and response to treatment in ankylosing spondylitis: results from a randomized control study. Arthritis Rheum. 2009;61(5):569-76.
149. Marzo-Ortega H, McGonagle D, Jarrett S, Haugeberg G, Hensor E, O'Connor P, et al. Infliximab in combination with methotrexate in active ankylosing spondylitis: a clinical and imaging study. Ann Rheum Dis. 2005;64(11):1568-75.
150. Sieper J, Braun J, Rudwaleit M, Boonen A, Zink A. Ankylosing spondylitis: an overview. Annals of the rheumatic diseases. 2002;61(suppl 3):iii8-iii18.
151. Haywood K, Garratt A, Jordan K, Dziedzic K, Dawes P. Spinal mobility in ankylosing spondylitis: reliability, validity and responsiveness. Rheumatology. 2004;43(6):750-7.
152. Yildirim K, Erdal A, Karatay S, Melikoğlu MA, Uğur M, Senel K. Relationship between some acute phase reactants and the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index in patients with ankylosing spondylitis. South Med J. 2004;97(4):350-3.
153. Sheehan NJ, Slavin BM, Donovan MP, Mount JN, Mathews JA. Lack of correlation between clinical disease activity and erythrocyte sedimentation rate, acute phase proteins or protease inhibitors in ankylosing spondylitis. Br J Rheumatol. 1986;25(2):171-4.
154. Halliwell B. Oxygen radicals, nitric oxide and human inflammatory joint disease. Ann Rheum Dis. 1995;54(6):505-10.
155. Sarban S, Kocyigit A, Yazar M, Isikan UE. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Clin Biochem. 2005;38(11):981-6.
156. Karakoc M, Altindag O, Keles H, Soran N, Selek S. Serum oxidative-antioxidative status in patients with ankylosing spondilitis. Rheumatol Int. 2007;27(12):1131-4.
157. Lemarechal H, Allanore Y, Chenevier-Gobeaux C, Kahan A, Ekindjian OG, Borderie D. Serum protein oxidation in patients with rheumatoid arthritis and effects of infliximab therapy. Clin Chim Acta. 2006;372(1-2):147-53.

158. Miesel R, Murphy MP, Kröger H. Enhanced mitochondrial radical production in patients which rheumatoid arthritis correlates with elevated levels of tumor necrosis factor alpha in plasma. Free Radic Res. 1996;25(2):161-9.
159. Karakucuk S, Baskol G, Oner AO, Baskol M, Mirza E, Ustdal M. Serum paraoxonase activity is decreased in the active stage of Behçet's disease. Br J Ophthalmol. 2004;88(10):1256-8.
160. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. Swiss Med Wkly. 2003;133(41-42):563-6.
161. Biasi D, Carletto A, Caramaschi P, Bellavite P, Andrioli G, Caraffi M, et al. Neutrophil functions, spondylarthropathies and HLA-B27: a study of 43 patients. Clin Exp Rheumatol. 1995;13(5):623-7.
162. Kocabaş V. The level of serum oxidant-antioxidant in patients with ankylosing spondylitis. Selcuk Medical Journal. 2010;26(3):79-83.
163. Ozgocmen S, Sogut S, Ardicoglu O, Fadillioglu E, Pekkutucu I, Akyol O. Serum nitric oxide, catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde status in patients with ankylosing spondylitis. Rheumatol Int. 2004;24(2):80-3.
164. Ali AM, Habeeb RA, El-Azizi NO, Khattab DA, Abo-Shady RA, Elkabarity RH. [Higher nitric oxide levels are associated with disease activity in Egyptian rheumatoid arthritis patients]. Rev Bras Reumatol. 2014;54(6):446-51.
165. Kamanli A, Naziroğlu M, Aydilek N, Hacievliyagil C. Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. Cell Biochem Funct. 2004;22(1):53-7.
166. Hassan MQ, Hadi RA, Al-Rawi ZS, Padron VA, Stohs SJ. The glutathione defense system in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. J Appl Toxicol. 2001;21(1):69-73.
167. Solmaz D, Kozacı D, İsmail Sarı AT, Önen F, Akkoç N, Akar S. Oxidative stress and related factors in patients with ankylosing spondylitis. European Journal of Rheumatology. 2016;3(1):20.
168. Cunnane G, Bresnihan B, FitzGerald O. Immunohistologic analysis of peripheral joint disease in ankylosing spondylitis. Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology. 1998;41(1):180-2.
169. Pay S, Musabak U, Erdem H, Simsek I, Pekel A, Sengul A, et al. Chimerical anti-TNF-alpha, infliximab, inhibits neutrophil chemotaxis and production of reactive oxygen species by blocking the priming effect of mononuclear cells on neutrophils. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2005;27(2):187-98.

170. den Broeder AA, Wanten GJ, Oyen WJ, Naber T, van Riel PL, Barrera P. Neutrophil migration and production of reactive oxygen species during treatment with a fully human anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2003;30(2):232-7.
171. Karkucak M, Capkin E, Alver A, Akyuz A, Kiris A, Ak E, et al. The effect of anti-TNF agent on oxidation status in patients with ankylosing spondylitis. Clin Rheumatol. 2010;29(3):303-7.
172. Feijóo M, Túnez I, Tasset I, Montilla P, Pérez-Guijo V, Muñoz-Gomariz E, et al. Infliximab reduces myeloperoxidase concentration in chronic inflammatory joint diseases. Pharmacology. 2009;83(4):211-6.
173. Ozgocmen S, Sogut S, Ardicoglu O, Fadillioglu E, Pekkutucu I, Akyol O. Serum nitric oxide, catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde status in patients with ankylosing spondylitis. Rheumatology international. 2004;24(2):80-3.
174. Jaswal S, Mehta HC, Sood AK, Kaur J. Antioxidant status in rheumatoid arthritis and role of antioxidant therapy. Clin Chim Acta. 2003;338(1-2):123-9.
175. Túnez I, Feijóo M, Huerta G, Montilla P, Muñoz E, Ruíz A, et al. The effect of infliximab on oxidative stress in chronic inflammatory joint disease. Curr Med Res Opin. 2007;23(6):1259-67.
176. Oruc N, Ozutemiz AO, Yukselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, et al. Infliximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? Pancreas. 2004;28(1):e1-8.
177. Little MA, Bhangal G, Smyth CL, Nakada MT, Cook HT, Nourshargh S, et al. Therapeutic effect of anti-TNF-alpha antibodies in an experimental model of anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated systemic vasculitis. J Am Soc Nephrol. 2006;17(1):160-9.
178. El-barbary AM, Khalek MAA, Elsalawy AM, Hazaa SM. Assessment of lipid peroxidation and antioxidant status in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. The Egyptian Rheumatologist. 2011;33(4):179-85.
179. Olivieri O, Girelli D, Trevisan M, Bassi A, Zorzan P, Bambara L, et al. Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition and antioxidant enzymes in patients with rheumatoid arthritis. The Journal of rheumatology. 1991;18(8):1263-4.
180. Veselinovic M, Barudzic N, Vuletic M, Zivkovic V, Tomic-Lucic A, Djuric D, et al. Oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: relationship to diseases activity. Mol Cell Biochem. 2014;391(1-2):225-32.

181. Akyol Ö, İşçi N, Temel İ, Özgöçmen S, Uz E, Murat M, et al. The relationships between plasma and erythrocyte antioxidant enzymes and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. Joint Bone Spine. 2001;68(4):311-7.

8. EKLER

Ek-1: BASDAI Skorlama Formu

BASDAI; (BATH ANKİLOZAN SPONDİLİT HASTALIK AKTİVİTE İNDEKSİ)

Geçen hafta ile ilgili aşağıdaki soruları her çizgiye işaret koyarak yanıtlayınız.

1.Geçen hafta içinde hissettiğiniz yorgunluğun derecesini tanımlar mısınız?

Hiç (O)_____ (100) Çok yoğun

2.Geçen hafta içinde hissettiğiniz boyun, bel veya kalça ağrısının şiddetini tanımlar mısınız?

Hiç (O)_____ (100) Çok yoğun

3.Boyun, bel, kalça dışındaki eklemlerinizdeki ağrı/ şişliğin şiddetini tanımlar mısınız?

Hiç (O)_____ (100) Çok yoğun

4.Basınçla yada dokunmayla hassas olan bölgelerinizde hissettiğiniz rahatsızlığın şiddetini tanımlar mısınız?

Hiç (O)_____ (100) Çok yoğun

5.Yataktan kalkarken hissettiğiniz sabah sertliğinin şiddetini tanımlar mısınız?

Hiç (O)_____ (100) Çok yoğun

6.Uyandığınızdan itibaren sabah sertliğiniz ne kadar sürüyor?

O saat_____2 saat ve üzeri

½ 1 1.5

TOPLAM SKOR:

Not: Bütün soruların skorları bir cetvel yardımıyla ölçülür. 5. ve 6. soruların ortalama değeri, ilk dört sorunun skorları toplamına eklenir. Toplam değer, 5'e bölünür. Bu elde edilen skor BASDAI skorudur. BASDAI skoru ne kadar yüksek ise,hastanın dizabilitesi o kadar fazladır.

Ek-2: BASFI Skorlama Formu

BASFI; (BATH ANKİLOZAN SPONDİLİT FONKSİYONEL İNDEKSİ)

Hastalar 1O aktivitenin herbiri için, kendi seviyelerini, geçen haftayı gözönüne alarak 1O cm'Iik Vizüel Analog Skalada (VAS) işaretlemelidirler.

1. Yardımsız çorap ya da pantolon giymeniz

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

2.Yardımsız yerden kalem almak için öne eğilmeniz

Kolay(0)_____ (l00)İmkansız

3.Yardımsız veya herhangibir yere tutunmadan oturduğunuz koltuktan kalkmanız

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

4.Yerde sırt üstü yatarken yardımsız kalkmanız

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

5.Rahatsızlık hissetmeden 1O dakika boyunca ayakta durmanız

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

6.Tutamakları tutmadan veya herhangibir yardım almadan 12-15 basamak çıkmanız(her adımda bir basamak çıkacak şekilde)

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

7.Evde veya iş yerinde tüm günlük aktiviteleri yapmanız

Kolay (O)_____ (l00)İmkansız

8.Yardımsız yüksek bir rafa uzanmanız

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

9.Vücudunuzu döndürmeden omuzunuzun üzerinden yana bakabilmeniz

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

1O.Fizyoterapi egzersizleri, bahçe işi ve spor gibi fiziksel aktiviteleri yapmanız

Kolay (O)_____ (100) İmkansız

TOPLAM SKOR:

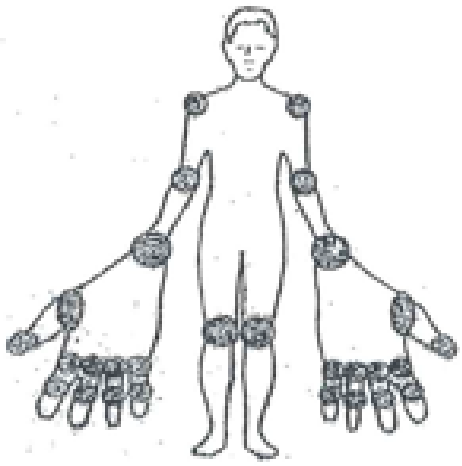
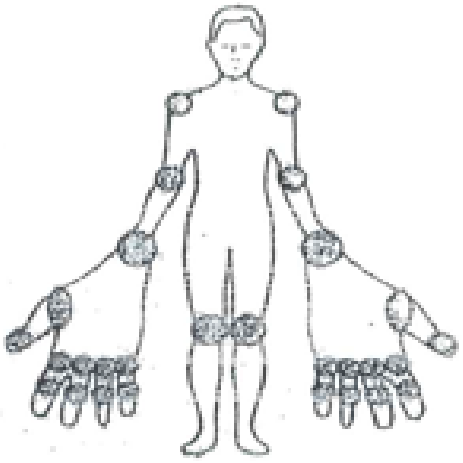
Not: Bütün soruların skorları bir cetvel yardımıyla ölçülür ve toplanır. Toplam değer l0'a bölünür. Elde edilen skor BASFI skorudur. BASFI skoru ne kadar yüksek ise, hastanın fonksiyonel limitasyonu o kadar fazladır.

Ek-3: DAS28 Skorlama Formu

Romatoid Artritli Hasta Aktivite Değerlendirme Formu (DAS 28)

AĞRI

AğrısızYok _____ Şiddetli Ağrı

Şiş Eklemler	Hassas Eklemler
	
Toplam ☐☐	Toplam ☐☐

SEDİM: CRP:

Hastalık Aktivirtesinin Global Değerlendirmesi (HASTA)

Aktif Değil Çok Aktif

Hastalık Aktivitesinin Global Değerlendirmesi (DOKTOR)

1= Asemptomatik
2=Hafif
3=Orta
4= İleri derece aktif
5=Çok ileri derece aktif