ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAK ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA HLA-B27 VE D3 VİTAMİN SEVİYESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE tarafından hazırlanan **"Irak Ankilozan Spondilitli Hastalarda HLA-B27 ve D3 Vitamin Seviyesi Arasındaki İlişki"** adlı tez çalışması 05/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR

Eş Danışman : Prof. Dr. Najwa SHIHAB AHMED

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Ümit YIRTICI
Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı
Kırıkkale Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar ARSLAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Irak Ankilozan Spondilitli Hastalarda HLA-B27 ve D3 Vitamin Seviyesi Arasındaki İlişki**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (05/01/2022).

Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

IRAK ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ HASTALARDA HLA-B27 VE D3 VİTAMİN SEVİYESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Eş Danışman: Prof. Dr. Najwa SHIHAB AHMED

Ankilozan spondilit aksiyal iskeleti, özellikle sakroiliak eklemleri etkileyen bir artrit türüdür. D vitamini, kalsiyum ve fosfat dengesinde, kemik yapım ve rezorbsiyonunda rolü olan bir sekosteroid hormon olarak kabul edilir. ERAP2 geninin SNP'si (rs2910686), ankilozan spondilit 'in duyarlılığı ile ilişkili fonksiyonel olarak önemli bir gen olarak kabul edilir. Ayrıca HLA-B27 molekülünün genetik varyasyonu ve ERAP1 ve ERAP2 gibi antijen işleme bileşenlerinin, başlatma ve devam etmede rolü vardır. D vitamininin vücut üzerinde immünosupresif bir etkiye sahip olduğu ve otoimmün hastalıklardaki rolü uzun zamandır bilinmektedir. Bu tez çalışmasında IRAK'taki ankilozan spondilit hastalarındaki D3 vitamin seviyesinin hastalık üzerinde etkili olan HLA-B27 geninin varlığı, kontrolü arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlamıştır. Ayrıca ankilozan spondilitde bağışıklık ve inflamasyon faktörleri arasındaki etkileşimde D vitamininin rolü analiz edilmiş olup HLA-27B pozitif ankilozan spondilit hastalarında D3 düzeyi ile kontrolü arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2022, 42 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Ankilozan spondilit, D3 vitamini, ERAP2, HLA-B27, Tek nükleotid polimorfizm

ABSTRACT

Master of Science Thesis

THE RELATIONSHIP BETWEEN HLA-B27 AND VITAMIN D3 LEVELS IN PATIENTS WITH IRAQAN ANKYLOSING SPONDILITIS

Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Filiz SARIKAYA PEKACAR
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Najwa SHIHAB AHMED

Ankylosing spondylitis is a type of arthritis that affects the axial skeleton, particularly the sacroiliac joints. Vitamin D is considered a secosteroid hormone that plays a role in calcium and phosphate balance, bone formation and resorption. SNP of ERAP2 gene (rs2910686), it is considered a functionally important gene associated with susceptibility to ankylosing spondylitis. In addition, genetic variation of the HLA-B27 molecule and antigen processing components such as ERAP1 and ERAP2 have a role in initiation and maintenance. It has long been known that vitamin D has an immunosuppressive effect on the body and its role in autoimmune diseases. In this thesis study, it was aimed to evaluate the relationship between the presence of the HLA-B27 gene, which is effective on the disease and the control of vitamin D3 levels in ankylosing spondylitis patients in IRAQ. In addition, the role of vitamin D in the interaction between immune and inflammation factors in ankylosing spondylitis was analyzed and it was aimed to evaluate the relationship between D3 level and control in HLA-27B positive ankylosing spondylitis patients.

2022, 42 pages

Keywords: Ankylosing spondylitis, Vitamin D3, ERAP2, HLA-B27, Single nucleotide polymorphism

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, her zaman destekleyen ve inanılmaz bir anlayış gösteren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR'a ve çalışmanın yönlendirilmesinde ve yürütülmesinde yol gösteren herkese sonsuz teşekkür ederim.

Literatür araştırmalarımda yardımcı olan değerli hocam eş danışmanım Prof. Dr. Najwa SHIHAB AHMED'e çalışmalarımın her aşamasında çalışmama göstermiş oldukları yakın ilgi, rehberlikleri, sabır ve destekleri için teşekkür ederim.

Araştırmamdaki desteklerinden dolayı Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda olan anneme, babama, kardeşlerime, sevgili eşime ve Noor Nihad BAQER'e teşekkür ederim.

Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE
Çankırı, Ocak 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1 Ankilozan Spondilitin Tanımı ve Etyolojisi **2**
2.2 AS Hastalığının Klinik Özellikleri **3**
2.3 Klinik Bulguları **4**
2.3.1 Eklem dışı bulgular **4**
2.3.2 Gözler **4**
2.3.3 Kardiyovasküler sistem **4**
2.3.4 Solunum sistemi **4**
2.4 Laboratuvar Bulguları **5**
2.4.1 AS epidemiyolojisi **5**
3. AS HASTALIĞININ TEDAVİ SÜRECİ **7**
3.1 İnsan Lökosit Antijeni **7**
3.1.1 Genel ve özel HLA antijenleri **8**
3.1.2 HLA-B27 ..... **8**
3.1.3 Dengesiz bağlantı **9**
3.1.4 HLA genlerinin kalıtımı **9**
3.1.5 HLA ve hastalık ilişkisi **9**
3.1.6 HLA ve hastalık ilişkisi ile ilgili hipotezler **10**
3.2 Majör Histo-Uyumluluk Kompleksi **11**
3.2.1 MHC sınıflandırılması **11**
3.2.2 MHC sınıf I **11**

3.2.3 MHC sınıf II 12
3.2.4 MHC sınıf III 12
3.3 ERAP 2 12
3.4 D Vitamini 13
3.4.1 D vitamini eksikliği 16
3.4.2 Vitamin D'nin iskelet sistemi dışındaki etkileri 17
3.4.3 İmmün fonksiyonların düzenlenmesi 17
4. MATERYAL VE METOT 21
4.1 Materyal 21
4.2 Kimyasal Maddeler ve Kitler 21
4.3 Çalışma Grupları 22
4.4 Yöntemler 22
4.4.1 ELISA ile D3 vitamini serum seviyesinin belirlenmesi 22
4.5 Tahlil Prosedürü 23
4.6 ERAP2 (Rs2910686) için SNP Genomik Analizi 23
4.6.1 DNA ekstraksiyonu 23
4.6.2 DNA konsantrasyonu değerlendirmesi ve saflığı 24
4.7 Agaroz Jel Elektroforezi 24
4.7.1 Agaroz jeli hazırlama 24
4.7.2 DNA ve elektroforez yükleme 25
4.8 ERAP2 (rs2910686) için Özel SNP Genotipleme Solüsyon Hazırlaması 25
4.8.1 Reaksiyon karışımının hazırlanması ve real-time PCR'nin yürütülmesi 25
4.9 İstatistiksel Analiz 27
5. BULGULAR VE TARTIŞMA 28
5.1 Demografik ve Klinik Özelliklere Göre Hasta ve Kontrol Dağılımı 28
5.2 Çalışma Gruplarında Serum VD3 Seviyesi 29
5.3 DNA Ekstraksiyonunun Sonuçları 29
5.4 Çalışma Gruplarında ERAP2 (rs2910686) SNP'si 31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 32
KAYNAKLAR 35
ÖZGEÇMİŞ 42

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
cm	Santimetre
mg	Miligram
mL	Mililitre
ng	Nanogram
P	Olasılık
V	Volt

KISALTMALAR DİZİNİ

AG	Allel gen
APC	Antijen sunan hücre
AS	Ankilozan spondilit
cM	Santimorgan
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DVR	D reseptorü
ESR	Eritrosit sedimantasyon
GVHH	Graft versus host hastalığı
HLA	İnsan lökosit antijeni
IBD	İnflamatuar bağırsak bozukluğu
IDDM/Tip 1	İnsüline bağımlı diabetus mellitus
IU	Uluslararası birim
KD	Kilodalton
mHag	Minör histokompatibilite antijenleri
MHC	Majör histokompatibilite kompleksi
Mhc	Minör histokompatibilite kompleksi
MS	Multipl skleroz
NSAID	Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PGM3	Fosfogluktomutaz 3
RA	Romatoid artrit
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
SSO	Sekansa spesifik oligonükleotidler
SSP	Sekansa spesifik primer
TAP	Antijen işleme ile ilişkili taşıyıcı
TNF	Tümör nekroz faktörü alfa
UVB	Ultraviyole B

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Sağlıklı bir bireydeki omurga ve AS hastalarındaki omurga gösterimi.....2
Şekil 2.2 Hafif spondolit ve ağır spondilit hastaları ile normal ve AS'li hastaya ait omurga görünümü 6
Şekil 3.1 HLA gen kompleksinin bulunduğu bölge.....8
Şekil 3.2 Vitamin D metabolizması 14
Şekil 3.3 D vitaminin etki mekanizması 15
Şekil 3.4 D vitamini sentezi 16
Şekil 3.5 Aktif D vitaminin immün sistem üzerine etkisi.....18
Şekil 3.6 D vitamininin doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemine etkileri 19
Şekil 3.7 Vitamin D ve CD4 T hücre etkileşimi 20
Şekil 5.1 Kırmızı güvenli boya ile DNA sağlıklı kontrol boyamasının agaroz jel görüntüleri 29
Şekil 5.2 Kırmızı güvenli boya ile boyanan hastaların DNA'sının agaroz jel görüntüleri 30
Şekil 5.3 Sağlıklı kontrol (1-30) ve hasta (30-50) örnekleri için DNA konsantrasyonu (75-290 ng/mL) 30
Şekil 5.4 Sağlıklı kontrol (1-30) ve hasta (30-50) örnekleri için DNA saflığı (1,7-2,0) 30
Şekil 5.5 Hasta ve kontrol gruplarında vitamin D3 ile genotip arasındaki ilişki 31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 25 OH D için serum seviyelerine bağlı olarak D vitamini tanımlama klinik bilgiler....17
Çizelge 4.1 Materyal olarak kullanılan cihazlar....21
Çizelge 4.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kitler....21
Çizelge 4.3 D vitamini kiti bileşeni....22
Çizelge 4.4 SNP'lerin ayrıntıları....25
Çizelge 4.5 SNP'nin taranmasında gerekli olan her bir bileşenin toplam hacimleri....26
Çizelge 4.6 SNP'nin taranmasındaki ısıl döngü koşulları....26
Çizelge 5.1 Cinsiyete göre hasta ve kontrol karşılaştırması....28
Çizelge 5.2 Kan gruplarına göre hasta ve kontrol karşılaştırması....28
Çizelge 5.3 Hastalar ve kontrol grubu arasındaki yaş farklılıklarının karşılaştırılması....28
Çizelge 5.4 Hastalar ve kontrol grubu arasında ESR'nin karşılaştırılması....29
Çizelge 5.5 Hastalar ve kontrol grubu arasındaki vitamin D3 farklılıkları....29
Çizelge 5.6 Hastalar ve kontrol arasında ERAP2 (rs2910686) genotipi ve alel frekansının karşılaştırılması....31

1. GİRİŞ

Canlı organizmalarda otoimmün olarak adlandırılan sistem, organizmanın yabancı olarak vücuda etki etmek isteyen antijenleri tanıyıp onlara karşı cevap oluşturmaktadır. Organizma normal şartlar dışında örneğin patolojik olaylar gibi durumlar karşısında inmün sistemi cevap geliştirmektedir bu cevaba olan etki ise otoimmünite olarak tanımlanmaktadır. İmmünolojik, viral ve genetik etkenlerin bir araya gelerek canlı organizmada meydana getirdiği hastalıklara otoimmün hastalıklar denilmektedir (Silman and Pearson 2002).

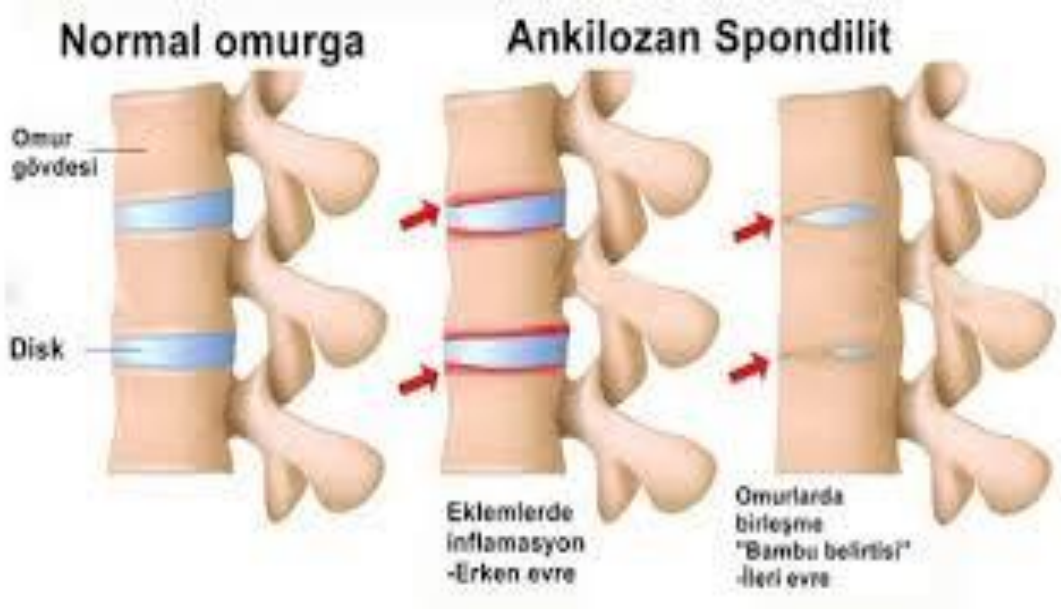
Ankilozan Spondilit (AS), otoimmün kaynaklı bir hastalık olup, kronik, inflamatuvar artrite neden olan omurgalarda ve sakroiliak eklemlerde ağrı ve tutulmalara sebep olan ramotolojik bir hastalık olarak tanımlanabilmektedir (Schett and Sieper 2009). Bu otoimmün kaynaklı olan AS hastalığının sebepleri büyük oranda genetik etkenlerden meydana gelmektedir. Şimdiye kadar ortaya konulmuş en kuvvetli ilişki HLA-B27 genine ait olduğu bildirilmiştir. Günümüze kadar yapılan araştırmalarda farklı popülasyonlarda çeşitli oranda dağılımlar gösteren birçok HLA-B27 alt tipi bulunmuştur. HLA-B27 tipleri majör doku uygunluk kompleksi (MHC) Sınıf I üyesi antijenleridir. HLA-B27 antijenleri arasındaki farklılığın peptid bağlama oluğunda bulunan aa dizisindeki farklılıktan meydana geldiği bilinmektedir (Beerbaum *et al.* 2013, Khan 2013, Reveille 2015). Bir popülasyonun %5'i HLA-B27'i taşırken, HLA-B27 pozitif kişilerin sadece %1-5'inde AS hastalığı meydana gelmektedir (Chen *et al.* 2004).

Bu durum son dönemlerde insanlarda gözlemlenen patojonik rahatsızlıkların artışı ve insanların toksik oluşturabilme ihtimaline sahip kimyasal ilaçlardan kaçınması, onları doğal takviye edici gıda ve vitaminlere doğru yönlendirmiştir. Bu vitaminlerden birisi de D3 vitaminidir. D vitaminin eksikliği organizmada farklı aksamalara neden olabilmektedir. Bu çalışma, HLA-B27 pozitif AS hastalarında D3 düzeyi ile kontrol arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladı. Ayrıca, Irak popülasyonunda ERAP2 geni SNP rs2910686'nın AS duyarlılığı ile ilişkisinin tespiti.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ankilozan Spondilitin Tanımı ve Etyolojisi

Halk arasında genel olarak bel ya da omurga romatizması olarak bilinen AS genel olarak bireylerde genç yaşlarda gözlemlenen, omurga ve omurgayla kalça kemiği aralığındaki eklemleri etkileyen ağrılı ve iltihaplı bir romatizma türüdür. Omurlarda ilerleyici ve asendan kemik füzyonuna neden olan spinal eklem bölgelerinde ve ilişkili yapılarda şiddetli inflamasyon oluşturan, etiyolojisi bilinmeyen inflamatuar bir hastalıktır (Şekil 2.1). Periferik eklem tutulumu nadir olmakla birlikte, vakaların üçte birinde kalça ve omuz eklemi tutulumu saptanabilir. Eklem dışındaki göz ve kalp gibi organlarda iltihabi lezyonlar keşfedilmiş olup AS klinik, radyolojik, epidemiyolojik ve genetik yönleri nedeniyle seronegatif spondiloartropatilerde bulunur (Barber *et al.* 1997, Khan 1995).



Şekil 2.1 Sağlıklı bir bireydeki omurga ve AS hastalarındaki omurga gösterimi (Khan 1995).

Şekil 2.1'de görülen ilk resim normal sağlıklı bir bireyin omurgası olup bağ dokuları ve diskler stabil konumdadır. 2. ve 3. omurga örneklerinde ise *Ankilozan Spondilit* hastalarının erken ve ileri evre de ki omurga şekilleri tasvir edilmiştir.

2.2 AS Hastalığının Klinik Özellikleri

AS hastalarının %75'i bel ağrısı ve sırt sertliği nedeniyle doktora başvurur (Klippel *et al.* 2008). Hastalık çok yavaş ve sinsi bir şekilde omurgada ilerler. Hastalar çoğunlukla AS semptomlarının başladığını söyleyemezler ve ağrıyı lokalize edemezler. Ağrı künttür ve ağrının ilk bölgesi bir veya her iki kalça ve gluteal bölge olabilir. Ağrı arka uyluğa yayılabilir ve siyatik ve kalça patolojisi ile karıştırılabilir. Enflamatuar bel ağrısının en belirgin özelliği olan ağrı ve tutulum sabahları belirginleşir ve istirahatle artarak (jel fenomeni) egzersizle azalır. Sabah 3'te meydana gelen sırt tutulumunun zaman zaman saatlerce sürdüğü görülebilir. Çoğunlukla hastalığın seyri ara sıra gelişen ataklarla alevlenir. Geceleri çeşitli ağrılar gözlemlenebilir ve bu ağrı hasta uzanırken geçmezken, hasta ayağa kalkıp hareket ettiği takdirde kendini daha iyi hissedebilir. Bu hastalar nadiren de olsa hastaneye periferik artrit şikayetleri ile başvururlar. Omuz ve kalça tutulumu %15 oranında ilk belirtilerdir ve hastalık ilerledikçe bu oran %35'e kadar çıkabilmektedir. Sık karşılaşılan bir hastalık olmadığı için diğer hastalıklarla (bel fıtığı, kemik erimesi, kireçlenme vb.) karıştırılabilir. Lakin bu hastalığın ayırt edici bir özelliği vardır ki yaşlılardan ziyade gençlerde gözlemlenmektedir. Bu tür belirtiler genç yaşlarda gözlemlendiği takdirde hastada AS varlığından şüphelenilebilir (Khan 1995, Van der Linden *et al.* 1984).

Gözlemlenen periferik artritin genellikle HLA-DR4 ile ilişkili olduğu ortaya çıkar. Entez, bir bağ, tendon veya eklem kapsülünün kemiğe giriş yeri olarak tanımlanır. AS'de inflamatuar süreç öncelikle sentezde görülür. Yeni kemik oluşumu ve fibrozis ile devam eder ve daha sonra bu bölgelerde kemik çıkıntılarının ortaya çıkması ile devam eder (Mc Gonagle *et al.* 1999, Van der Linden *et al.* 1984).

2.3 Klinik Bulguları

2.3.1 Eklem dışı bulgular

Kilo kaybı, Yorgunluk ve ateş genellikle ilk ortaya çıkan semptomlardır. Yorgunluk hastaların %50, %65'inde en önemli yakınmadır (Khan 1995).

2.3.2 Gözler

Sık karşılaşılan ekstra artiküler semptomlardan biri olup, göz tutulumu olarak ifade edilir. Akut ön üveit veya iritisli hastaların %25'inde hastalığın seyri sırasında aniden ortaya çıkan ağrı, gözde kızarıklık ve fotofobi tipik göz semptomları olarak tanımlanır. İltihap tedavi edilmezse bulanık görme meydana gelebilir. Buradaki akut ön üveitin HLA-B27 ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Barber *et al.* 1997, Klippel *et al.* 2008, Koul *et al.* 1997).

2.3.3 Kardiyovasküler sistem

Kardiyovasküler sistem üzerinde, AS hastalarında kalp tutulumunun yaklaşık %5 oranında görüldüğü gözlemlenir. Bu durum, aort yetmezliği aortit, atriyoventriküler blok veya çıkan aortta dal bloğu şeklinde olabilir. Bu duruma nadiren mitral yetmezlik eşlik eder ve kalp yetmezliği oluşur (Kılınç vd. 2018, Klippel *et al.* 2008, Koul *et al.*1997). Kardiyovasküler sistem tutulumu uzun süreli AS'li hastalarda ve periferik eklem tutulumu olan hastalarda daha sık görülmektedir (Ryall and Helliwell 1998).

2.3.4 Solunum sistemi

AS hastalarında göğüs ekspansiyonu azalır, ancak diyafragma fonksiyonları nedeniyle total akciğer ve vital kapasitenin etkilenmediği, öksürük, balgam ve dispne oluşabileceği ve bilateral apikal pulmoner fibrozis hızının %1 arttığı bildirilmiştir (Barber *et al*. 1997, Klippel *et al.* 2008, Koul *et al.* 1997).

2.4 Laboratuvar Bulguları

En önemli laboratuvar bulgusu eritrosit sedimantasyon hızı ve akut faz reaktanlarındaki artıştır. C-reaktif protein, hastalık aktivitesi için en iyi göstergelerden biridir. Trombosit sayısında düşük-orta düzeyde artışların olması mümkündür. Normositik anemi hastalarının %15'inde hafif normokrom ile karşılaşılabilir. AS hastalarının plazmik kan serumlarındaki IgA seviyeleri genellikle yüksek bulgularla gözlemlenir (Koul *et al.* 1997, Özkan 2010)

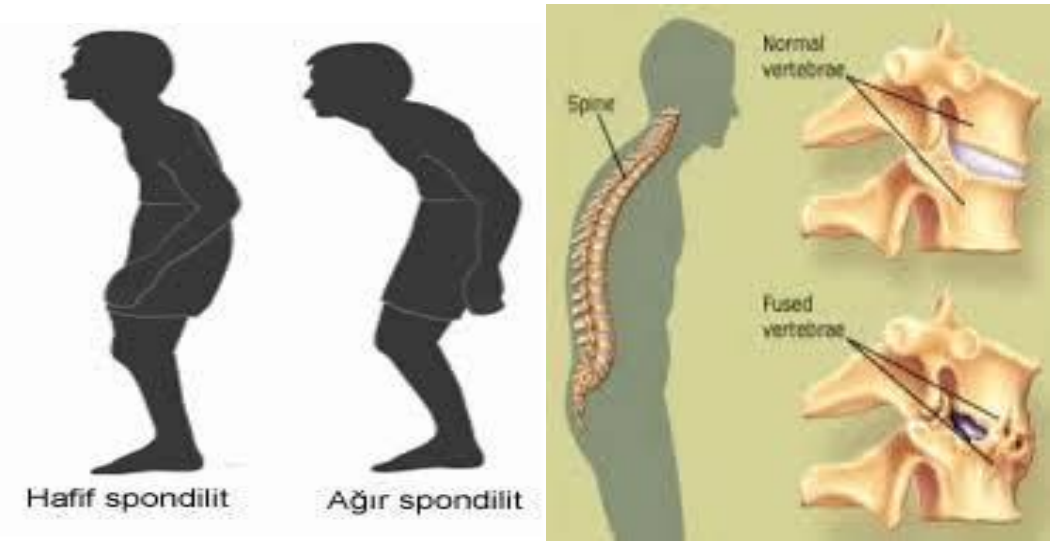
2.4.1 AS epidemiyolojisi

HLA-B27 pozitifliği AS hastalarının %95'inden fazlasında bildirilmektedir (Barber *et al.* 1997, Koul *et al.* 1997). Ancak Türk hastalarda bu oran %70 civarında olup seyir daha düşüktür. Sağlıklı kişilerde HLA-B27 sıklığı %8 ile %14 arasında olup HLA-B27 prevalansı her ırkta farklı oranlar göstermektedir. Örneğin, Amerikan Kızılderililerinde %18-50 arasında bulunurken, İskandinavlarda %10-16, Batı Avrupa'da %6-9, Güney Avrupa'da %2-6 arasında bulunur. Pakistanlılarda %8, Hintlilerde %2 ile %6 arasında ve Japonlarda %1 iken (Hukuda *et al.* 2001) Orta Avrupa'da prevalans %0,3 ile %0,5 arasında bulunmaktadır (Braun and Sieper 2007). HLA-B27, AS hastalığı Avusturalya popülasyonunda neredeyse hiç görülmez (Roberts-Thomson and Roberts-Thomson 1999). Afrika genel popülasyonunda ise HLA-B27 ve AS prevalansı %3-6 civarındadır (Belachew *et al.* 2009, Mijiyawa *et al.* 2000). HLA-B27, Alaska Eskimolarında %37, AS hastalarında ise %87 oranında tespit edilmektedir. Sibirya Chukotka'da %90 olarak görülen HLA-B27 hem spondiloartropatilerin hem de HLA-B27 prevalansının oradaki popülasyonda çok daha yüksek olduğunu gösteriyor.

AS'nin maksimum prevalansı Haida Kızılderililerinin 6 kişisinde, sağlıklı kişilerde %50 ve AS hastalığı olan kişilerde %100 olarak görülmektedir (Gofton *et al.* 1984, Peschken and Esdaile 1999). HLA-B27 geni taşıyan bireylerde AS hastalığı prevalansı %2, AS hastalığı prevalansı HLA-B27 geni taşıyan akrabalarında ise %20, taşımayan akrabalarında da %0 olarak kaydedilmiştir. HLA-B27 geni, ikizlerde ve HLA-B27 pozitif olan bireylerde AS sıklığı %60'a kadar çıkabilmektedir. Brown *vd.* (2016) çalışmasının

ikizler üzerinde yaptığı araştırmaya göre tek yumurta ikizlerinde uyum %63, çift yumurta ikizlerinde ise %24 olarak bulunmuştur. Monozigotik ve dizigotik ikizlerde uyum oranındaki farklılıklar, genetik faktörlerin AS hastalığına ve HLA-Prognoza önemli ölçüde katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur.

AS hastalığının her hastada görülen seyri, hastalar arasında farklılık göstermektedir. Genelde en iyi bilinen özellikleri erken dönemde spontan remisyonla seyreden progresyon ve ateştir. Genel olarak iyi huylu olarak seyretmekte olup, kontrol altına kolayca alınabilmektedir. Bu durum bireyin çalışma kabiliyetini ve fonksiyonel kapasitesini etkilemeden iyi ilerler (Koul *et al.* 1997). Genel olarak AS hastalarının %10-20'sinde 20 ila 38 yıl sonra yeti yitimi gelişebilir ve bunların %85-90'ı normal verimlerle doğal çalışma hayatına devam edebilirler. AS hastalığına sahip bir bireyde kalça tutulumu erken oluşmuş ve halen devam ediyorsa bu durum kötü prognozun meydana geldiğine dair en belirgin işarettir (Şekil 2.2). Bu durumun getirileriyle hastalığa bağlı ölümler ise %5 civarında gözlemlenmektedir (Arnet 1997, Barber *et al.* 1997).



Şekil 2.2 Hafif spondolit ve ağır spondilit hastaları ile normal ve AS'li hastaya ait omurga görünümü (Arnet 1997)

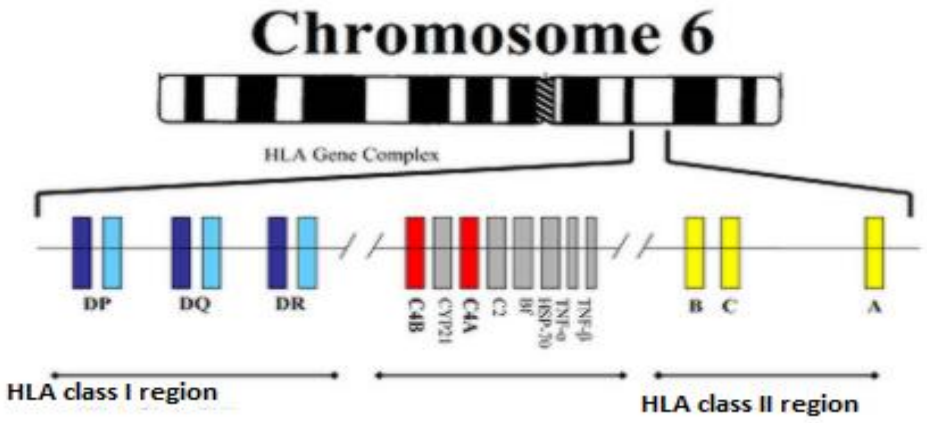
3. AS HASTALIĞININ TEDAVİ SÜRECİ

İnflamatuar sistemik ve kronik bir rahatsızlık olan AS hastalığının günümüze kadar yapılmış kesin bir tedavisi henüz bulunmamaktır. AS hastalarına uygulanan tedavinin amacı günümüzde eklem ağrılarının dindirilmesi ya da azaltılması, meydana gelecek yapısal zararın yavaşlatılmasına eğer mümkünse önlenmesine yöneliktir. Hastanın özellikle düzenli egzersiz yapması ilerlemede ve ağrının yatışmasında ilaçlarla birlikte önemli rol oynamaktadır. AS hastalığındaki bireylerin tedavi sürecinde kullanılagelen ilaçların 2 ana başlık altında sınıflandırılmasını önerilmektedir. Bu sınıflandırma ise şu şekilde olmuştur: İlki, tedavide kullanılarak semptomları kontrol altına alan ilaçlar. İkincisi, Hastalığı kontrol altına alan anti-romatizmal ilaçlardır.

Birinci grupta bulunan non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID) günümüzde hala ilk sırada kullanılan ilaçlar olarak yerini korumaktadır (Zochling *et al.* 2005). Yaygın olarak, ağrı ve eklem uyuşması, tutulma gibi şikayetlerin önlenmesinde kullanılmaktadırlar. Kronik bir rahatsızlık olan AS tedavisinde bu ilaçlar ile fizik tedavi yöntemleri birlikte uygulandığında hastalarda semptomların kontrol altında tutulması ve normal yaşam koşullarına devam etmede yardımcı olmaktadırlar. Birlikte uygulanan bu tedavi yöntemleri altı hafta gibi kısa bir zaman dilimi içinde spinal ve periferik eklem ağrılarının azaltılması ve eklem tutulmalarının hafifletilmesinde son derece iyileşmeye yönelik yardımcı olmaktadırlar (Zochling *et al.* 2005).

3.1 İnsan Lökosit Antijeni

İnsan vücudundaki etkin rol oynayan MHC grubuna insan lökosit antijenlerine (HLA) denilmektedir (Trowsdale 1995). HLA, insan vücudunda MHC gen bölgesinden üretilen glikoprotein yapısında bulunan moleküllerdir (Ekici 2000, Rastogi *et al.* 1997). İnsan vücudundaki MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu üzerindeki sentromere yakın bir bölgede bulunan ardışık bir DNA grubudur (Ekici 2000). Şekil 3.1 HLA gen kompleksinin bulunduğu bölgeyi göstermektedir.



Şekil 3.1 HLA gen kompleksinin bulunduğu bölge (Ekici 2000)

3.1.1 Genel ve özel HLA antijenleri

Özel HLA antijenleri, yalnızca belirli bir molekül tipinde bulunan ve diğer moleküllerde bulunmayan HLA antijenleridir. Genel HLA antijenlerin tümü aynı HLA spesifik antijene sahip farklı HLA molekülleridir (Yılmaz vd. 2017). Örneğin, HLABw4, Bw6 antijeni, B13, B27, B37 ve B38 dahil olmak üzere çeşitli antijenlerde bulunan bir belirleyicidir. Bw6 antijeni B7, B8 ve B14'te bulunabilir (Ekici 2000). Tek bir belirli antijen olduğu düşünülen birçok HLA antijeninin, önceki araştırmalarda birbiriyle çok sıkı ilişkili iki veya üç antijen grubuna sahip olduğu keşfedilmiştir. Orijinal ve daha büyük özgüllüklere sahip antijenler, bu antijenlerin "parçaları" olarak etiketlenmiştir. Örneğin, HLA-A25 (10) ve -A26 (10)'un anlamı, HLA-A25 ve –A26'nın aynı olduğudur (Yılmaz vd. 2017).

3.1.2 HLA-B27

HLA sınıf I moleküler ailesinin bir üyesi olan, bugüne kadar keşfedilen 100'ün üzerinde alelik varyantı olan oldukça polimorfik bir B-lokusudur. HLA-B27 tamamen belgelenmiş peptit repertuarlarına sahip en yaygın allotiplerdir. P2 pozisyonunda bir Arg kalıntısının varlığı, B ceplerinin tasarımından dolayı tüm HLA-B27 ile ilişkili peptitlerin en belirgin özelliğidir. P3, P-2 ve P, çoğunlukla D, E ve F ceplerine bağlanan hidrofobik ve aromatik amino asit kalıntılarını taşıyan ek birincil ve ikincil bağlantı yerleridir. Diğer tüm peptit

bölgeleri, allotipler arasında önemli değişikliklerle birlikte çok çeşitli amino asit kalıntılarını içerebilen ankor olmayan konumlardır (Schittenhelm *et al.* 2016).

3.1.3 Dengesiz bağlantı

İnsan çiftleşmesi tesadüfi bir olay olduğundan, bir HLA lokusu üzerindeki belirli bir alel ile başka bir HLA lokusu üzerinde belirli bir alel birlikte bulundukları frekansının, her iki alelinin toplulukta bir arada bulunma sıklığının ürününe eşit olduğu tahmin edilmektedir. Ancak birlikte keşfedilen bazı alel gruplarının frekansı maksimum değerden büyük olduğunda bağlantı dengesizliği oluşur (Yılmaz vd. 2017).

3.1.4 HLA genlerinin kalıtımı

Her ebeveyn bir kromozoma katkıda bulunduğundan, yeni bireylerin iki haplotipi vardır: biri anneden diğeri babadan. Tüm HLA genleri kodominant olduğundan, her HLA lokusu her iki alleli de ifade eder. Simple Mendel kalıtımına göre iki kardeşte iki haplotipin aynı olma olasılığı %25, aynı haplotipe sahip olma olasılığı %50 ve tamamen farklı bir haplotipe sahip olma olasılığı %25'tir. Mayoz, çapraz reaksiyonlar ve rekombinasyon sırasında. Normal bir popülasyonda çok sayıda farklı haplotip oluşacaktır çünkü HLA çok fazla gen lobuna sahiptir (Yılmaz vd. 2017).

3.1.5 HLA ve hastalık ilişkisi

HLA antijenleri ve hastalıklar arasındaki bağlantı, bu noktaya kadar yapılan çalışmalarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Konuyla ilgili birçok kitap bulunmakta olup genel olarak bu tür araştırmalar, hastalığın risklerini ve koruyucu faktörlerini keşfetmek, tedaviler geliştirmek, hastalığın genetik bir bileşeni olup olmadığını belirlemek ve moleküler patogenezi belirlemek için yapılır (Çevirgen 2005).

Ayrıca, belirli bir HLA belirteç geni ile bir hastalık arasındaki istatistiksel bağlantıyı ortaya çıkarmak için popülasyon çalışmaları kullanılır. Bu tür bağlantılar, hastalık geni

ile HLA işaretleyici geni arasındaki genetik bir bağlantının kanıtı olarak alınamaz. Bunun nedeni ne ilişkinin ne de bağlantının önemli bir genetik bağ gösterememesidir. Örneğin hastalık geni, kromozom 6'dan farklı bir kromozom üzerinde bulunur. HLA ile bağlantılı olmamasına rağmen, bu hastalık geninin fenotipik ifadesi için spesifik bir HLA antijeninin varlığı gerekli olacaktır. Sonuç olarak HLA ile hastalık arasında bağlantı kurmak mümkündür (Altuntaş vd. 1996, Ekici 2000).

3.1.6 HLA ve hastalık ilişkisi ile ilgili hipotezler

HLA molekülleri, Reinhold vd. (1991)'e göre etiyolojik ajan reseptörleridir. Bu durumu şu şekilde açıklamıştır: Virüsler, zehirler ve yabancı maddelerin tümü etiyolojik ajan olarak hareket eder ve bir dizi HLA molekülü onlar için reseptör görevi görür. Yılmaz vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada HLA'nın antijenik peptit özgüllüğü gösterebildiği keşfedilmiştir. Yalnızca belirli HLA moleküllerinin antijen bağlama bölgeleri, hastalığa neden olan antijenik peptit fragmanını bağlayabilir. HLA molekülleri, Reinhold vd. (1991)'e göre etiyolojik ajan reseptörleridir. Virüsler, zehirler ve bazı yabancı maddeler, bir dizi HLA molekülü için reseptör görevi görür. Yılmaz vd. (2017) tarafından yapılan bir araştırmaya göre HLA antijenik peptit için seçicilik sergileyebilir. Hastalığa neden olan antijenik peptit parçası, yalnızca spesifik HLA moleküllerinin antijen bağlama bölgeleri tarafından bağlanabilir. Ayrıca HLA, bir dizi otoimmün hastalıkla bağlantılıdır. Bu, belirli alellere sahip insanlarda belirli hastalıkların daha yaygın olduğu anlamına gelir. Reinhold vd. (1991) ve Çevirgen (2005) HLA ile Romatoid Artrit (RA), İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM), Behçet Hastalığı ve Ankilozan Spondilit hastalığı arasında bir bağlantı buldu. Seronegatif spondiloartropatilerde (SPA), prototipi ankilozan spondilitte, inflamatuar periferik ve aksiyel eklem tutulumu ile HLA-B27 doku antijeni (AS) arasında açık bir bağlantı vardır. HLA DR4-DQB1*0302 haplotipi olanlarda LMP7 polimorfizmi ile IDDM arasında güçlü bir ilişki vardır (Çevirgen 2005, Deng *et al.* 1995, Temiz 2005). Türkler arasında yapılan bir araştırmaya göre HLA-DR3, HLA-B8, HLA-A1 ve HLA-A2 antijenleri ile Myastenia Gravis hastalığı arasında önemli bir ilişki vardır. Başka bir çalışma, otoimmün bir durum olan Oral Submukoz Fibrozis için taranan Tayvanlı hastalarda HLA-B76, HLA-B48/Cw7, HLA-

B51/Cw7 ve HLA-B62/Cw7 oranlarının, hastalığı olmayan sağlıklı popülasyondan daha yüksek olduğunu bulmuştur (Altuntaş vd. 1996, Chen *et al.* 2004, Yılmaz vd. 2017).

3.2 Majör Histo-Uyumluluk Kompleksi

Majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC), kromozom 6 üzerinde bir gen kompleksi olup yaklaşık 250 gen kokusu içerir (Ekici 2000). MHC genlerinin temel rolü, T-lenfositler tarafından tanınan antijenleri sağlamak ve bağışıklık sistemi aktivasyonunu indüklemektir. Klasik ve klasik olmayan MHC sınıf I genleri daha da farklılaştırılır (Lefranc *et al.* 2005). HLA-E, -F, -G ve -H genleri klasik değildir ve daha az polimorfiktir ve HLA-E ve -G de NK hücreleri tarafından benzersiz bir şekilde tanımlanır (Hviid *et al.* 2001).

3.2.1 MHC sınıflandırılması

Çeşitli çalışmalar sonucunda insan MHC ve insan MHC gen bölgesi tamamen dizilendi. MHC gen bölgesi 3.673.800 nükleotid, 224 gen ve 10.533 farklı alel içerir. MHC, kodlanan proteinlerin özelliklerine bağlı olarak Sınıf I, II, III, IV'e ayrılır.

3.2.2 MHC sınıf I

Klasik (1a) sınıf I HLA-A, B ve C ağır zincirlerini kodlayan genler MHC sınıf I'de bulunur. Bu genler şaşırtıcı miktarda varyasyona sahiptir (HLA-A'da 2.735 allel, HLA-'de 3.455 allel). B ve HLA-C lokuslarında 2.259 alel, bu alellerin büyük çoğunluğu işlevseldir. İfade edilen, ancak daha az değişken olan HLA-E, F, G, HFE genlerinin yanı sıra MHC sınıf I zincirle ilgili MICA ve MICB için klasik olmayan HLA lokus kodu. Tüm sınıf I HLA (HLAI) molekülleri, MIC genleri dışında, kromozom 15 üzerindeki bir gen tarafından kodlanan değişmez 2-mikroglobulin zinciri ile heterodimerler oluşturur. Sınıf I moleküller, tüm çekirdekli hücrelerin hücre yüzeyinde bulunur (Goldberg and Rizzo 2015).

3.2.3 MHC sınıf II

HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, HLA-DM ve HLA-DO (2649 bilinen alel) MHC II bölgesinin orta kısmında yer alır ve her iki zinciri de kodlar. Bu genler ilk önce bağışıklık tepkisini modüle etmek için tanımlandı. Makrofajlar, dendritik hücreler, Langerhans ve Kupffer hücreleri gibi antijen sunan hücreler (APC) ve ayrıca B lenfositleri onu eksprese eder. Olağandışı koşullar altında, belirli hücreler HLA sınıf II'yi (HLAII) ifade eder. Örneğin, tiroid hücrelerinde ve bağırsak epitel hücrelerinde ekspresyon, inflamatuar olaylar tarafından uyarılır (Hersberg *et al.* 1998, Trowsdale 1995, Wu *et al.*1999).

3.2.4 MHC sınıf III

MHC I ve MHC II arasında yer alır ve MHC ile ilgisi olmayan, bazıları çok önemli olan immünolojik aktivitelere sahip bir dizi gen içerir. Tamamlayıcı genler CBF, C2 ve C4A, bir dizi tümör nekroz faktörü (TNF) ve ısı şoku proteini 70 (HSP70) refakatçi genlerinin tümü iyi bilinen örneklerdir. Peptit taşıyıcı proteinler TAP1 ve TAP2'nin yanı sıra - immunoproteazomun bileşenlerini kodlayan PSMB8 ve PSMB9 genleri diğer birçok gen arasındadır. MHC bölgesinin genetik mimarisi, HLA moleküllerinin ekspresyonunun ve oluşumunun nasıl düzenlendiğini ve antijen sunan aktiviteleriyle nasıl bağlantılı olduğunu anlamak için kritik öneme sahiptir (Carroll *et al.* 1987, Tanaka 1994).

3.3 ERAP 2

Endoplazmik retikulum aminopeptidaz 2 (ERAP2), HLA sınıf I yolunda antijen sunumu sırasında peptitleri kısıtlamak için çalışan endoplazmik retikulumda bulunan bir zn-metalopeptidazdır (Saric *et al.* 2002). AS duyarlılığında ERAP2 genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) rolüne ilişkin sınırlı araştırma yapılmıştır (Brown *et al.* 2016, Zochling *et al.* 2005). AS hastalarının yaklaşık %90'ının HLA B27 genini taşıdığı tahmin edilmesine rağmen, HLA-B27-pozitif bireylerin sadece %1-5'i AS alır (Smith *et al.* 2006). Bu, AS hastalığının olası bir nedeni olarak artritojenik peptit hipotezinin ortaya çıkmasına neden olmuştur (Brown et al. 2016). Endoplazmik retikulum aminopeptidaz

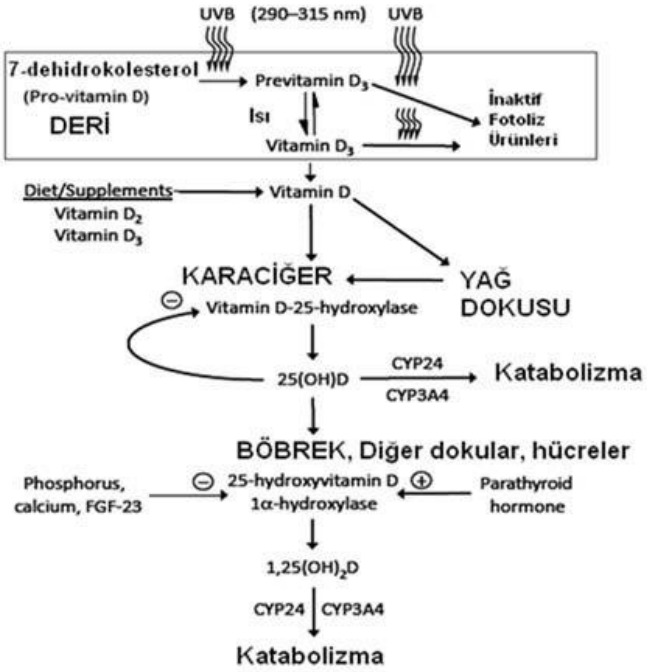
geni, ERAP2 ve ankilozan spondilit, psoriasis ve irritabl bağırsak hastalığı arasında genom çapında bir ilişki çalışmasıyla genetik bir bağlantı keşfedilmiştir (Agrawal and Brown 2014, Kenna *et al.* 2015, Kuiper *et al.* 2014).

3.4 D Vitamini

D vitamini, deride iki kaynaktan sentezlenen bir vitamin türüdür: hayvansal kaynaklı kolekalsiferol (D3 vitamini) ve gıda ile alınabilen bitkisel kaynaklı ergokalsiferol (D2 vitamini). D2 ve D3 vitaminlerine yaygın olarak D vitamini denir. Aynı adla anılmalarının nedeni aynı metabolik yolla sentezlenmeleridir. Tipik koşullar altında, güneş ışığı insan vücudundaki D vitamininin %90-95'ini sentezler. Ultraviyole B (UVB) ışınlarının yeryüzüne ulaşmasını engelleyen bir durum veya D vitamininin insan derisi tarafından emilmesini engelleyen bir senaryo D vitamini yetersizliğine neden olur. Aynı zamanda insan vücudunun cildinde bulunan fazla melanin pigmenti UVB ışınlarının çok yoğun bir şekilde emilmesine neden olur ve bu da D vitamini sentezini azaltır. Güneş kremlerinin içindeki faktör seviyeleri de güneş ışınlarının özellikle de güneş ışınlarının cilde ulaşmasını engeller. 15 ve üzeri bir faktör ile %99 oranında engel oluşturmaktadır. UVB ışınlarının zenit açısı da Vitamin D sentezinde büyük önem taşımaktadır (Bishop and Wharton 2003, Hochberg 2003)

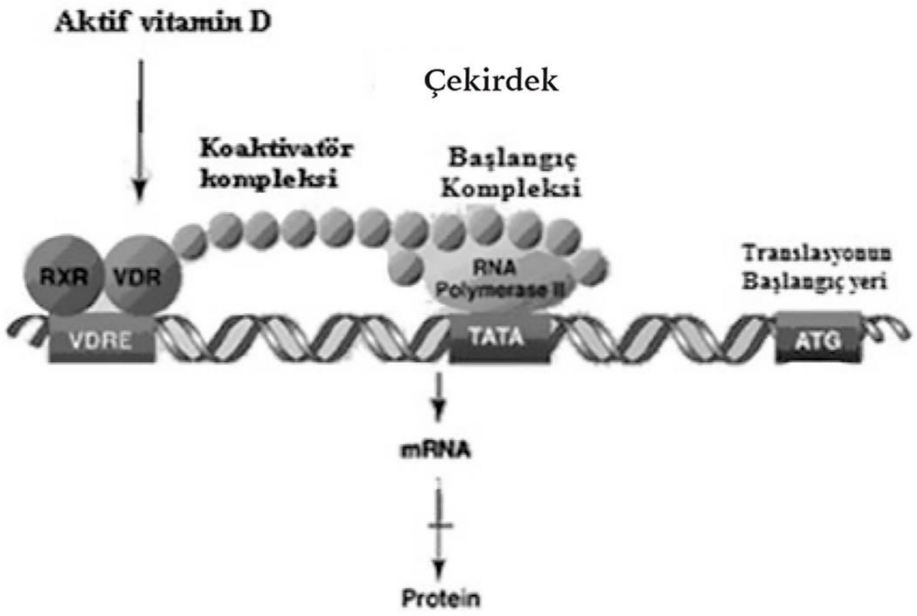
Güneş ışınları D vitamini üretimi için en etkili faktördür ve yeterince güneş ışığı tüketildiği takdirde D vitamini yetersizliği ortaya çıkmaz. Pre-vitamin D3 ilk önce epidermiste 7-dehidrokolesterolün (pro-vitamin D3) 290-310 nm dalga boyunda enzimatik olmayan fotolizinin bir sonucu olarak üretilir. D3 vitamini, vücudun talepleri doğrultusunda ciltte pro-vitamin D3'ten üretilir. Previtamin D3, provitamin D3'ten 15 dakika gibi kısa bir sürede sentezlenir ve maksimum seviyeye ulaşabilir. Previtamin D3 ile karşılaştırıldığında, previtamin D3'ten vitamin D3'e regülasyon, ısıya duyarlı izomerizasyon yoluyla nispeten yavaş gerçekleşir. Ön vitamin D3, uzun bir süre UV veya güneş ışınlarına maruz kaldığında, biyolojik etkisi olmayan lumisterol ve taşisterol türlerinin bir dizi inaktif fotoliz yan ürünlerine ayrışır. Pre-vitamin D3, vücudun durumuna bağlı olarak deride pre-vitamin D3 üretimi sırasında D3'e veya inaktif metabolitlere dönüştürülür. UV etkisi, derideki aşırı D vitamini üretimini aktif olmayan

fotoliz yan ürünlerine dönüştürür (Şekil 3.2). Gerçekte bu durum D vitamini sentezini sınırlayarak organizmayı D vitamini toksisitesine karşı koruyan fizyolojik bir kontrol mekanizması olarak çalışır (Bishop and Wharton 2003, Hochberg 2003).



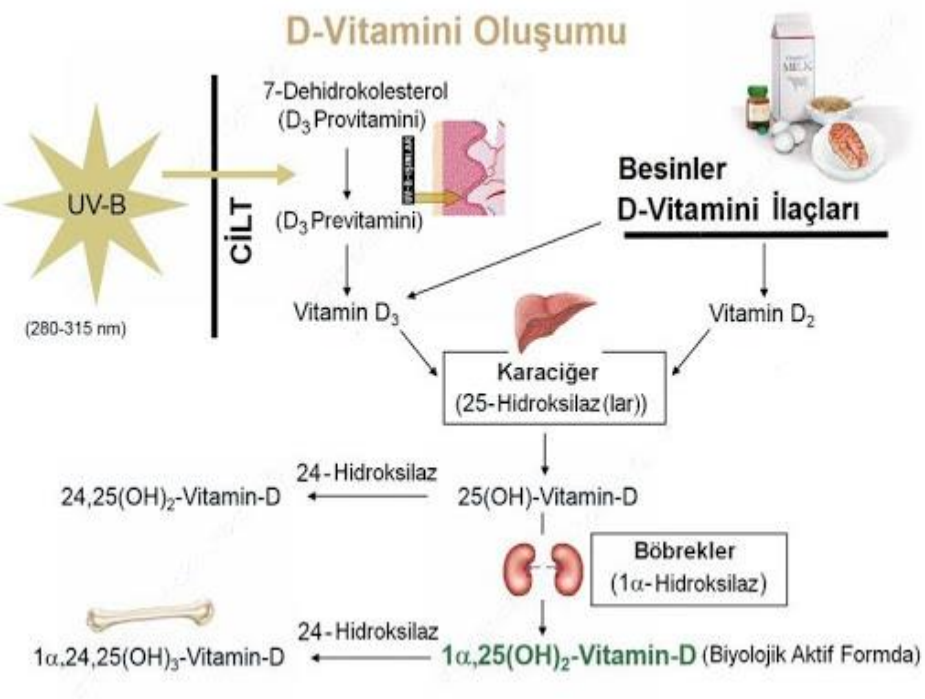
Şekil 3.2 Vitamin D metabolizması (Bishop and Wharton 2003)

D vitamininin sadece %1-3'ü bağlanmaz ve serumda Vitamin D bağlayıcı proteine (DVBP) bağlanarak taşınır. D vitamininin hedef doku reseptörlerinde rol oynayabilmesi için karaciğerde sitokrom P450 25 hidroksilaz enzimi (CYP27A1) kullanılarak önce 25 hidroksi D vitaminine 25 OH D, ardından 1, 25-dihidroksi D vitaminine dönüştürülmesi gerekir. 1, 25 OH 2D 1-alfa hidroksilaz enzimi (CYP27B1) aktif D vitamini kullanılmaktadır (Şekil 3.3). D vitamini biyosentezi için 25 hidroksilaz enziminin gerekli olmasına rağmen, bu enzimin genindeki homozigot mutasyon, genel D vitamini eksikliğini ve düşük 25 OH D düzeylerini gösteren verilere yol açmaktadır. 25 OH D Vitamini, 15-20 günlük yarılanma ömrü ile organizmanın tüm D vitamini havuzu hakkında en kesin bilgiyi sağlayan faktördür. 25 OH D ve 1, 25 OH 2D vitaminleri, DVBP proteini aracılığıyla bağlanma yoluyla kan dolaşımına verilir (Holick and Chen 2008).



Şekil 3.3 D vitaminin etki mekanizması (Holick and Chen 2008)

1-alfa hidroksilaz enziminin yarısı aracılığıyla Vitamin 25 OH D'yi Vitamin 1, 25 OH 2D' ye dönüştüren sadece böbrekler değildir. Renal hücreler dışında, 1-alfa hidroksilaz enzim geni ve vitamin D reseptör (DVR) geni deri, paratiroid, prostat, kolon, kemik dokusu, meme dokusu, akciğer, makrofajlar gibi doku veya hücrelerde bulunabilir. Monositler. Gebelik, böbrek yetmezliği, sarkoidoz, tüberküloz, granülomatöz hastalıklar, romatizmal hastalıklar gibi özel durumlar dışında belirtilen dokularda sentezlenen aktif D vitamini bulunduğu dokularda intrakrin veya parakrin faktör olarak görev yapar ve üzerine etkisi yoktur. Şekil 3.4 dolaşımdaki aktif D vitamini seviyelerini göstermektedir. Sarkoidoz ve tüberküloz tipi granülomatöz hastalıklarda örneğin makrofajlarda aktif D vitamini üretimi hiperkalsiüri ve hiperkalsemiye neden olur (Bishop and Wharton 2003, Lips 2006).



Şekil 3.4 D vitamini sentezi (Bishop and Wharton 2003)

3.4.1 D vitamini eksikliği

Günümüzde tipik serum D vitamini oranı, raşitizm ve osteomalaziyi önlemeye yardımcı olan, diyette optimal kalsiyum emilimini destekleyen ve normal kan PTH düzeylerini koruyan serum D vitamini düzeyi olarak anılır. Yetişkinlerde, 32 ng/mL'lik bir D vitamini seviyesi optimal kabul edilir. D vitamini, serum 25 OH D düzeyini 20 ile 32 ng/mL arasında tutmak için yetişkinlerde 800-1000 U/gün dozda takviye olarak alınmalıdır (Bikle 2009). Günde 2000 ünite D vitamini takviyesinin hiçbir yaş grubundaki kişide intoksikasyon oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Çizelge 3.1). D vitamini takviyesi yapılmayanlar dışındaki diyetlerde D vitamini düzeyleri çok düşüktür ve D vitamini düzeyleri oldukça düşüktür. Serum 25 OH D seviyelerine dayanan klinik standartlara göre vücudun günlük D vitamini ihtiyacını karşılayamaz. UV radyasyonu deride D vitamini üretmek için kullanılır. D vitamini sentezi ülkemizin bulunduğu enlemde Mayıs-Kasım ayları arasında gerçekleşir. D vitamininin üretilebilmesi için doğrudan güneş ışığının cildi hassaslaştırması gerekir. En iyi güneş ışınları sabah 10:00 ile 15:00 arası olduğu için bu saatlerde güneşlenerek D vitamini oluşturulabilir. Doğru zamanda, organizmanın eritem dozunun %70'inde (cildin pembeleşmesi) 100000-25000 RİA vitamini üretilebilir. Kollar

ve bacaklar 0,5 eritem dozunda güneş ışığına maruz kaldığında 3000 IU D vitamini üretilir (Bikle 2009).

Çizelge 3.1 25 OH D için serum seviyelerine bağlı olarak D vitamini tanımlama klinik bilgiler (Bikle 2009)

	25 OH D (ng/mL)	**Kalsiyum**	**Fosfor**	**Alkalen fosfataz**	**Parathormon**	**Klinik bulgu**
D vitamini eksikliği	<15	↓, →	↓	↑	↑	Rikets, osteomalazi
D vitamini yetersizliği	<15-20	→	→	↑, →	→, ↑	Düşük KMD*
Normal D vitamini	20-100	→	→	→	→	→
D vitamini fazlalığı	>100	↑	↑	↓	↓	→
D vitamini intoksikasyonu	>150	↑	↑	↓	↓	Hiperosteozis

* KMD; Kemik Mıhezal Dansitesi

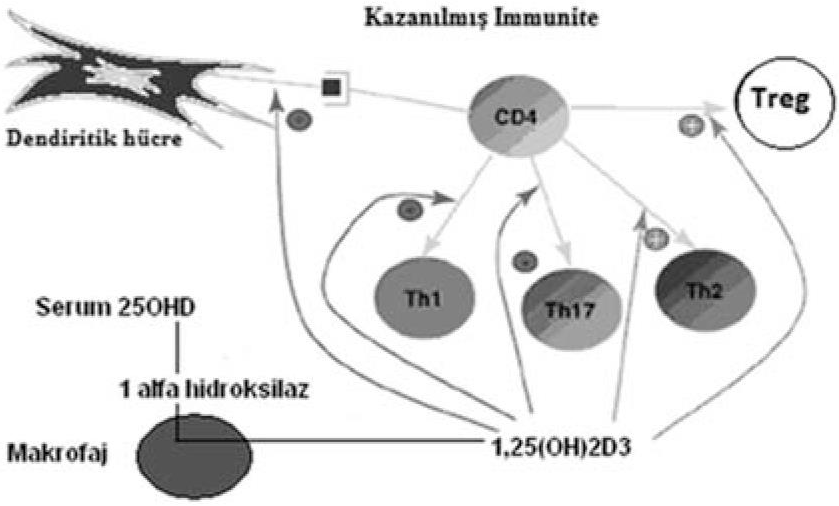
3.4.2 Vitamin D'nin iskelet sistemi dışındaki etkileri

D vitamininin etki mekanizması sadece kemik dokusu ile sınırlı değildir. Bunun dışında çeşitli sistemlerde yer almaktadır. Organizmada farklı dokular üzerinde klasik olmayan üç tip etki tanımlanabilir. Bunlar, immünolojik fonksiyon modülasyonu, hücresel çoğalma ve farklılaşma düzenlemesi ve hormon salgılama düzenlemesini içerir.

3.4.3 İmmün fonksiyonların düzenlenmesi

Yaklaşık 25 yıl öncesine ait üç büyük araştırma, D vitamini ve aktif metabolitleri açısından bağışıklık aktivitelerinin modülasyonu ile ilgili vakaları ortaya çıkardı. Bu araştırmalar, (a) insan aktif inflamatuar hücrelerinde DVR'yi saptamayı, (b) aktif D vitamininin T hücre proliferasyonunu baskılama yeteneğini ve (c) 1- alfa hidroksilaz. Multipl skleroz (MS), inflamatuar bağırsak bozuklukları (IBD) ve İnsulin Dependet Diabetet Mellitus (tip 1 Diabet), Kanada, Kuzey Amerika ve Avrupa'da, özellikle KYC'de

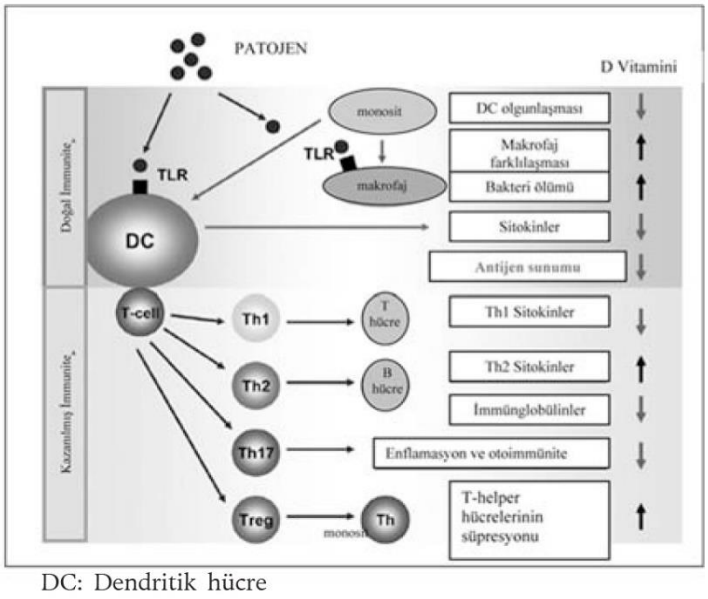
yaygın olan kronik sistemik hastalıklardır. Kışın yeryüzüne ulaşan güneş ışınları bu ülkelerin ortak özelliği olan D vitamini üretimi için yetersiz kalmaktadır (Bikle 2010, Misra *et al.* 2008). Prospektif araştırmalarda hekim araştırmacıların çoğunluğu, güneş ışığı almayan alanlarda oral yoldan kullanılan yüksek D vitamini dozunun tip 1 DM, RA ve MS tehlikesini sınırladığı kavramını desteklemektedir (Adams and Hewison 2010, Bikle 2010, Holick 2006, White 2008). D vitamini, edinilmiş bir bağışıklık tepkisini baskılayıcı etkiye sahiptir. D vitamini eksikliği immünoglobulin oluşumunu sınırlar ve B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşmesini engeller. D vitamini ise T hücre proliferasyonunu baskılayıcı bir etkiye sahiptir. Timus ve periferik T hücrelerinde DVR'nin varlığı, D vitamininin T hücre fonksiyonu ve gelişimi üzerinde bir etkisi olduğuna dair kanıt sağlar. B hücrelerinde DVR neredeyse yoktur. D vitamininin Th-2 hücrelerini uyardığı ve anti-inflamatuar sitokinler (TGF-1, IL-1, IL-4, IL-5) ürettiği ve bunun hem in-vivo hem de in-vitro çalışmalarda anti-inflamatuar etkilere yol açtığı söylenmektedir. Ayrıca proinflamatuar Th-1 hücrelerinde IFN-, IL-2, IL-3 ve TNF üretimini azaltarak bir anti-inflamatuar etkiye sahip olabilir (Şekil 3.5). Th-1 yanıtı, D vitamini eksikliği veya eksikliği gibi durumlarda aktive olan proinflamatuar sitokinler ile karakterize edilir, aslında tip 1 diyabet, multipl skleroz, romatoid artrit ve inflamatuar bağırsak gibi kronik sistemik otoimmün hastalıkları hastalık etiyolojisine katkıda bulunur (Adams and Hewison 2010, Bikle 2010).



Şekil 3.5 Aktif D vitaminin immün sistem üzerine etkisi (Bikle 2010)

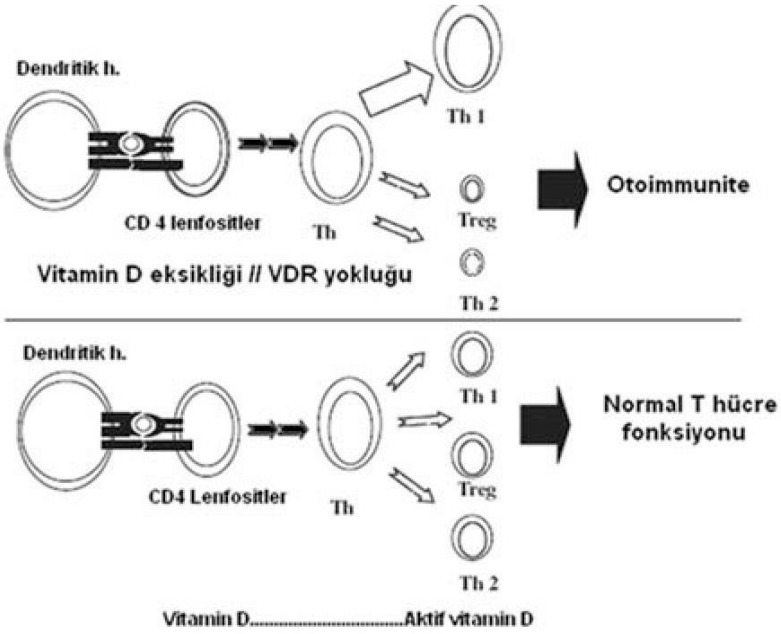
DVR'ler dendritik hücrelerde bol miktarda bulunur. Anti inflamatuar sitokinler, IL-10 salınımını arttırır ve dengenin Th-2 yönüne kaymasına neden olurken, aktif D vitamini, dendritik hücrelerin büyümesini sınırlayarak IL-12 sentezini sınırlar. Aktif D vitamininin bir formu olan CD4/CD25, düzenleyici T hücreleri (Treg) üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. D vitamini eksikliği, Treg oranının ve aktivasyonunun kötüleşmesine, Th-1 üzerindeki blok etkisinin ortadan kalkmasına ve otoimmün vakaların hızlanmasına neden olur. Aktif D vitamininin Th-17'yi inhibe ettiği ve en azından bazı durumlarda otoimmün hastalıkları önlediğine dair bulgular mevcuttur (Cantorna 2006, Misra *et al.* 2008, Szodoray *et al.* 2008).

Hastada D vitamini eksikliği olduğunda, bağışıklık sistemi daha yüksek bir Th-1 yanıtı tarafından engellenir, lökosit kemotaksisi bozulur ve enfeksiyon duyarlılığı artar. Şekil 3.6'da görüldüğü üzere D vitamini, kazanılmış bağışıklık tepkisini engelleyerek bulaşıcı patojenlere yanıtı azaltabilir (Cantorna 2006).



Şekil 3.6 D vitamininin doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemine etkileri (Holick 2006)

Şekil 3.7'de görüldüğü üzere CD4 hücrelerinin Th-1 ve Th-17 hücrelerine farklılaşması ve çoğalmasının önlenmesi ve ayrıca Th-2 ve Treg hücrelerinin gelişmiş sentezi, aktif D vitamininin edinilmiş bağışıklığı, dendritik hücre gelişimini ve antijeni sınırlamasına neden olur. (Bikle 2009, Cantorna 2006, Özkan 2010).



Şekil 3.7 Vitamin D ve CD4 T hücre etkileşimi (Cantorna 2006)

Antimikrobiyal peptit-katelisidin, D vitamini aktif olduğunda epitelioid, miyeloid seri hücreler, doğal öldürücü hücreler ve solunum epitel hücreleri tarafından üretilir. DVR, 25 OH D'den aktif D vitamini üretebilen makrofajlarda ve epitel hücrelerinde bulunabilir. Sonuç olarak D vitamini, solunum sistemi yoluyla taşınan mikropların neden olduğu bulaşıcı ve diğer hastalıkların yayılmasını önlemeye yardımcı olmuştur (Cantorna 2006, Özkan 2010). Aktif D vitamininin etkileri ayrıca doğal bağışıklık sisteminin temel düzenleyicileri olan kalprotektin ve S-100 proteinlerinin miktarını da yükseltir (Adams and Hewison 2010, Adorini *et al.* 2004, Bikle 2009, Holick 2006). Otoimmün hastalıklarda immün modülasyonun olumlu etkisi vardır. Multipl sklerozlu kişilerde D vitamini uygulaması proinflamatuar sitokin seviyelerini düşürürken antiinflamatuar sitokin üretimini arttırır. Altı aylık bir tedavi için günde 1000 UD vitamin takviyesi alan multipl skleroz hastaları, anti-inflamatuar sitokinlerde (TGF-1, IL-13) bir artış gösterdiği gözlemlenir. Multipl skleroz prevalansının düşük olduğu ve güneş ışığının yeterli olduğu yerlerde yaşayan kişilerde yapılan çalışmalarda ise multipl skleroz oluşumunu önlemek için ideal serum D vitamini düzeyinin 100 nmol/L (40 ng/mL) üzerinde olduğu bildirilmiştir (Adorini *et al.* 2004, Holick and Chen 2008, Mahon *et al.* 2003, Özkan 2010).

4. MATERYAL VE METOT

4.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan cihazlar Çizelge 4.1 üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Materyal olarak kullanılan cihazlar

Cihaz adı	**Model**	**Üretim şirketi**
Mikrodalga fırın	G M0-620	Gosonic (Çin)
İnkübatör	ALS-250	Çin
Vorteks	v.1 AW	Biosan - Letonya
Otomatik ELISA okuyucu	PKL-PPC 230	PARA medikal- İtalya
Sulama	PKL-PPC 230	PARA medikal- İtalya
Biopette Değişken hacim 2-20 µL hacim 10-100 µL hacim 100-1000 µL	Model	LABNET- ABD

4.2 Kimyasal Maddeler ve Kitler

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kitler Çizelge 4.2'de görülmektedir.

Çizelge 4.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kitler

Kimyasallar ve kitler	**Şirket**	**Menşei**
Agaroz	Conda	ABD
Tris-Borate EDTA tamponu (10x)	Conda	ABD
Yükleme boyası	Intron	G. Kore
Nükleaz içermeyen su	Intron	G. Kore
Kırmızı güvenli boya	Intron	G. Kore
Özel SNP'ler genotipleme tahlili	Thermo fisher scientific	ABD
DNA ekstraksiyon kiti	Zymo Research	ABD
Taqman master karışımı	Kapa	ABD
VD(D Vitamini) ELISA Kiti	Elabscience	ABD

4.3 Çalışma Grupları

Mevcut çalışma AS'li 20 hasta üzerinde yapılmıştır. Erkek sayısı 16, yaş ortalaması 41-35, kadın sayısı 4, yaş ortalaması 38- 42'dir. Ayrıca bu AS hastaları HLA-B27 olarak da pozitif hastalardır. Mevcut çalışma 2020 yılında Irak-Bağdat'ta bulunan Bağdat Hastanesinde uygulandı. Hastalıklı bireyler dışında ayrıca 30 sağlıklı birey örneği daha değerlendirilmeye dâhil edildi.

4.4 Yöntemler

4.4.1 ELISA ile D3 vitamini serum seviyesinin belirlenmesi

Vitamin D, ELISA Kiti, Rekabetçi-ELISA ilkesini ve Elabscience şirketi / ABD'den E-EL-0012 katalog numarası kullanıldı. Çizelge 4.3 bileşen kitini göstermektedir.

Çizelge 4.3 D Vitamini kiti bileşeni

Materyal	**Miktar**
Mikro ELISA Plakası (Demonte)	8 kutu × 12 şerit
Referans Standardı	2 şişe
Konsantre Biyotinlenmiş Saptama Ab (100×)	120 µL
Konsantre HRP Konjugatı (100×)	120 µL
Referans Standardı ve Örnek Seyreltici	20 mL
Biyotinlenmiş Saptama Ab Seyreltici	14 mL
HRP Konjugat Seyreltici	14 mL
Konsantre Yıkama Tamponu (25×)	30 mL
Substrat Reaktifi	10 mL
Çözümü Durdurma	10 mL
Plaka Mühür	1

4.5 Tahlil Prosedürü

Seyreltilmiş standart, kör ve numune kuyuları belirlendi. Uygun kuyucuklara 50 µL standart, kör ve numune dilüsyonu eklendi, ardından her kuyucuğa 50 µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu ilave edilmiştir. Plaka kapatıcı ile kapatıldıktan sonra 45 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. Çözelti her kuyudan döküldü, her kuyucuğa 350 µL yıkama tamponu eklendi. 1 dakika boyunca ıslatıldı, her kuyudan solüsyon aspire edildi ve temiz emici kâğıt ile kurutuldu. Yıkama adımı 3 kez tekrarlanmıştır. Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plaka yeni bir kapatıcı ile kaplandı. 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Çözelti her kuyudan döküldü, yıkama işlemi 2. adımda olduğu gibi 5 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 90 µL Substrate Reaktifi eklendi. Plaka yeni bir kapatıcı ile kaplandı, ışıktan korundu ve 37 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Her kuyucuğa 50 µL Stop Solution eklendi. Her kuyunun optik yoğunluğu, 450 nm'de bir mikro-plaka okuyucu ile bir kerede belirlenmiştir.

4.6 ERAP2 (Rs2910686) için SNP Genomik Analizi

4.6.1 DNA ekstraksiyonu

Quick-gDNA™ MiniPrep Zymo kiti Katalog No: D3072 kullanılarak DNA ekstrakt etmek için kullanılan EDTA tüpünde donmuş tam kan, %0,5 (h/h) nihai seyreltme, yani 250 µL olacak şekilde Genomik Lizis Tamponuna ekstraksiyondan önce beta-merkaptoetanol her 50 mL'de veya 100 mL'de 500 µL eklenmiştir. Adımlar şu şekilde gösterilmiştir:

1. 100 µL kana (4:1) 400 µL Genomik Lizis Tamponu eklendi, vorteks ile 4-6 saniye karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletilmiştir.

2. Karışım, bir toplama tüpü içinde bir Zymo-Spin™ Sütununa aktarıldı, bir dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüjlendi. Daha sonra toplama tüpü atılmıştır.

3. Zymo-Spin™ Kolonu yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Döndürme kolonuna 200 ul DNA Ön Yıkama Tamponu eklendi, 10.000 xg'de bir dakika santrifüje edilenmiştir.

4. Döndürme kolonuna g-DNA yıkama tamponu (500 µL) eklendi, 10.000 x g'de bir dakika santrifüje edilmiştir.

5. Döndürme kolonu temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı, ardından döndürme kolonuna ≥ 50µL DNA elüsyon tamponu eklendi, 2-5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi ve DNA'nın 30 saniye elüsyonu için en yüksek hızda santrifüje edildi. Elute edilen DNA hemen kullanılabilir veya ileride kullanılmak üzere ≤ -20 ºC'de saklanabilmektedir.

4.6.2 DNA konsantrasyonu değerlendirmesi ve saflığı

DNA'nın konsantrasyonu ve saflığı Nano Spektrofotometre cihazı ile tahmin edilmiştir, 2 µL numune DNA'sı üretim kılavuzuna göre cihaza yerleştirildi, numunelerin safsızlıklarını ortaya çıkarmak için 260 ve 280 nm'de optik yoğunluk (OD) okunarak DNA'nın saflığı ölçüldü, ardından ilk optik yoğunluk değerinin bölme oranı optik yoğunluğun ikinci değeridir. DNA saflığı için kabul edilebilir oran (1,8-2,0) arasında olmalıdır, bu da proteinle düşük kontaminasyona işaret eder.

4.7 Agaroz Jel Elektroforezi

4.7.1 Agaroz jeli hazırlama

1.5 g agaroz 100 mL TBE tamponunda (1X) eritilerek hazırlandı, kaynama için ısıtıldı ve 45-50 ºC'de soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra çözeltiye 9 µL Kırmızı Güvenli boya eklenmiş, bu çözelti hava kabarcıklarını önlemek için elektroforez cihazının tepsisine nazikçe dökülmüş ve tarak, DNA numunelerini yükleyecek jelde kuyucuklar oluşturacak şekilde sabitlenmiştir. Jelin katılaşmasıyla tarak nazikçe çıkarıldı. Agaroz jel tepsisi tank

ünitesine aktarılarak yatay olarak yerleştirilmiş, jelin yüzeyini kaplayacak miktarda TBE tamponu (1X) dökülmüştür.

4.7.2 DNA ve elektroforez yükleme

5 µL DNA elektroforez için 3 µL yükleme boyası ile karıştırıldı, karıştırıldıktan sonra jel kuyularına yüklenmiştir. Elektrik gücü 70 volt/cm^2 30 dakika süreyle açıldı. DNA negatif elektrottan pozitif elektrota geçerken. Jeldeki DNA bantları, 537 nm'de UV transillüminatör ile tespit edilmiştir.

4.8 ERAP2 (rs2910686) için Özel SNP Genotipleme Solüsyon Hazırlaması

Mevcut çalışma, ERAP2'nin SNP'lerini saptamak için Thermo Fisher Scientific Company'den TaqMan özel SNP genotipleme tahlilini kullanmıştır. SNP'lerin ayrıntıları Çizelge 4.4'te gösterilmektedir. Ayrıca gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak alel spesifik ayrım tekniği uygulanmıştır.

Çizelge 4.4 SNP'lerin ayrıntıları

SNP ID	Katalog	Tahlil ID	Bağlam Sırası [VIC/FAM]
Endoplazmik retikulum aminopeptidaz 2 (ERAP2)(rs2910686)	4351379	C_2397269_30	ACTTAAATCCCAGCTC ACCATTTAC[C/T]CTATGAC TTGGGTAAATCATTTAAC

4.8.1 Reaksiyon karışımının hazırlanması ve real-time PCR'nin yürütülmesi

SNP genotipleme tahlili (40X), nükleaz içermeyen su ile 20X çalışma stoku solüsyonuna seyreltildi. Bir girdap cihazı tarafından döndürüldü ve çalışma stokundan santrifüje edilmiştir. TaqMan Master Mix, Kapa Biosystems Company, ABD'den (Katalog: KK4701) Kapa probu hızlı q-PCR ana karışımı (2X) kullandığından, şişe döndürülerek

iyice karıştırılmıştır. DNA örnekleri vorteksleme yoluyla yeniden süspanse edildi ve ardından tüpler 30 saniye santrifüjlendi. SNP'nin her taraması için gerçekleştirilecek reaksiyonların sayısı hesaplandı. Ayrıca, negatif kontrol olarak her tarama için DNA dışındaki tüm bileşenleri içeren bir reaksiyon tüpü kullanmıştır.

Çizelge 4.5'te gösterildiği gibi, SNP'lerin her taraması için gereken her bileşen için toplam hacim hesaplanmıştır. Reaksiyon karışımı, termodöngünün optik reaksiyon plakasına iletilmeden önce SNP'nin her taraması için hazırlanmıştır. Gerekli TaqMan ana karışımı (2X) ve SNP genotipleme tahlili hacimleri steril tüplere karıştırıldı, daha sonra tüpler, bileşenleri karıştırmak için 30 saniye döndürülmüştür. Tüp, içeriği santrifüjlendi. Son olarak, Çizelge 4.6'daki gibi belirtilen ısıl döngü koşulları kullanılmıştır.

Çizelge 4.5 SNP'nin taranmasında gerekli olan her bir bileşenin toplam hacimleri

Adımlar	**Ön Tasarım SNP**		
	°C	**Süre**	**Trans.**
Enzim aktivasyonu	95 °C	10 dk	HOLD
Denatürasyon	95 °C	15 dk	40
Tavlama/uzatma	60 °C	1 dk	

Çizelge 4.6 SNP'nin taranmasındaki ısıl döngü koşulları

Bileşenler	**Son hacim (20 µL reaksiyon)**
TaqMan® ana karışımı (2X)	10 µL
SNP genotipleme testinin çalışma stoğu (20X)	4 µL
Nükleaz içermeyen su	1.5 µL
DNA örneğin hacmi	4.5 µL

4.9 İstatistiksel Analiz

Kruskal-Wallis testinin istatistiksel önemini hesaplamak için SPSS istatistik paketi kullanılarak ve kontrol grubuna karşı risk altındaki varsayılan genotiplerin yaş ve cinsiyetine göre ayarlanan parametrik olmayan tek yönlü ANOVA kullanılarak bir lojistik regresyon analizi yapılmıştır. Kombine genotip grupları arasındaki farklılıkların istatistiksel önemi, x2 testi kullanılarak hesaplandı. Ayrıca p değerleri 0,05'ten küçük olduğunda anlamlıdır.

5. BULGULAR

5.1 Demografik ve Klinik Özelliklere Göre Hasta ve Kontrol Dağılımı

Tablo 5.1'deki sonuçlar hasta ve kontrol arasında karşılaştırıldığında, erkek sayısının kadınlardan fazla olduğu kadın ve erkek arasında anlamlı farklılıklar vardı ($p<0,05$). Tablo 5.2'de gösterildiği gibi hasta ve kontrolleri karşılaştırdığımızda kan gruplarında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Çizelge 5.1 Cinsiyete göre hasta ve kontrol karşılaştırması

Grup	Erkek	Kadın	P-değeri
Hasta	10	20	0,001
Kontrol	16	4	

Çizelge 5.2 Kan gruplarına göre hasta ve kontrol karşılaştırması

Kan Grubu	Hasta	Kontrol	ki-kare	P-Değeri
A+	3	4	3,211	0,523
B+	8	3		
AB+	4	2		
O+	15	10		
O-	0	1		

Ayrıca sonuçlar, Çizelge 5.3'te gösterildiği gibi hastalar 41,35 ± 2,8 yıl ve kontrol 26,6 ± 1,83 yıl ($p<0,05$) arasında önemli yaş farklılıkları olduğunu gösterdi. Ayrıca, Çizelge 5.4'te gösterildiği gibi hastalar 40,8±3,7 ve kontrol 8,1667±3,7arasındaki karşılaştırmada ($p<0,05$) ESR ortalamasında önemli farklılıklar göstermiştir.

Çizelge 5.3 Hastalar ve kontrol grubu arasındaki yaş farklılıklarının karşılaştırılması

Grup	Kişi Sayısı	Ortalama±SE	P-Değeri
Kontrol	30	26,6±1,83	< 0,001
Hastalar	20	41,35±2,8	

Çizelge 5.4 Hastalar ve kontrol grubu arasında ESR'nin karşılaştırılması

Grup	Kişi Sayısı	Ortalama ±SE	P-Değeri
Kontrol	30	8,1667±3,7	<0,001
Hastalar	20	40,8±3,7	

5.2 Çalışma Gruplarında Serum VD3 Seviyesi

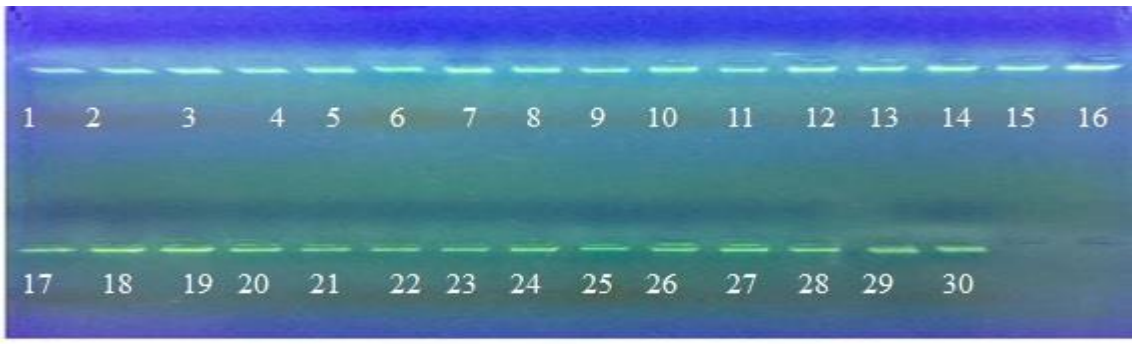
Tablo 5.5'te gösterildiği gibi, kontrole kıyasla hastalarda VD3 düzeylerinin sonuçları. 55,28±11,47 kontrol 275,8±31,98 hastadan daha az olan hastalarda seviyelerin düştüğü durumlarda anlamlı farklar vardı($p<0,05$).

Çizelge 5.5 Hastalar ve kontrol grubu arasındaki vitamin D3 farklılıkları

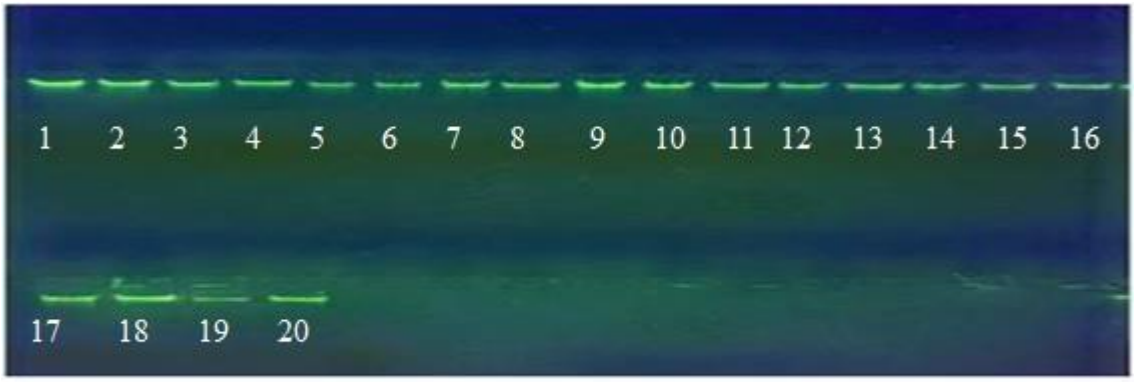
Grup	Kişi Sayısı	Ortalama VD3 ±SE	P-Değeri
Kontrol	30	275,8±31,98	0,0002
Hastalar	20	55,28±11,47	

5.3 DNA Ekstraksiyonunun Sonuçları

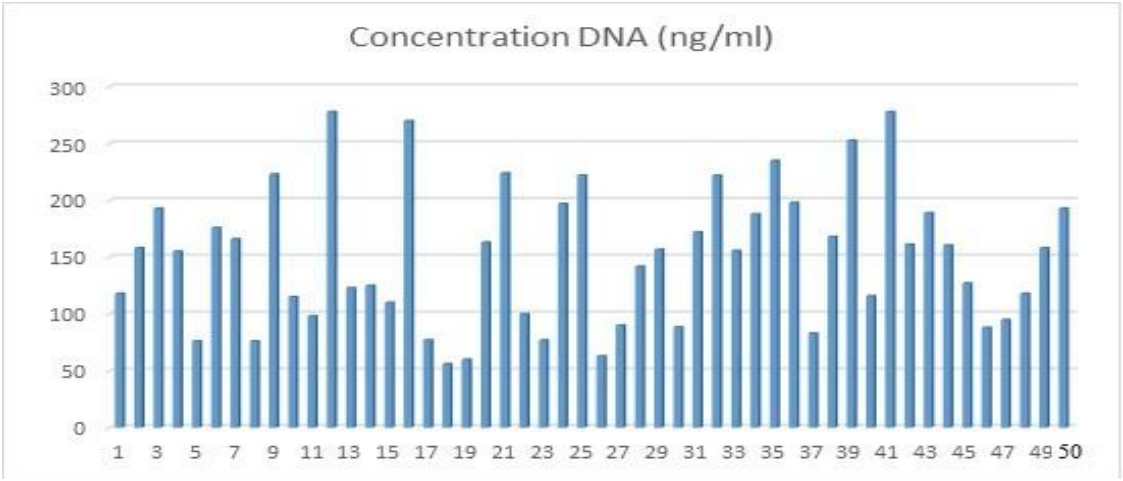
Elektroforez sonuçları, Şekil 5.1 ve Şekil 5.2'de olduğu gibi numuneler için DNA ekstraksiyonundan sonra ortaya çıktı. Şekil 5.3'te gösterildiği gibi DNA örneklerinin konsantrasyonları (75-290 ng/mL) aralığında olduğunda. DNA saflık oranı (1,8–2,0) arasında çıkmıştır. Şekil 5.4'te gösterildiği gibi kabul edilebilir saflık oranı içindedir.



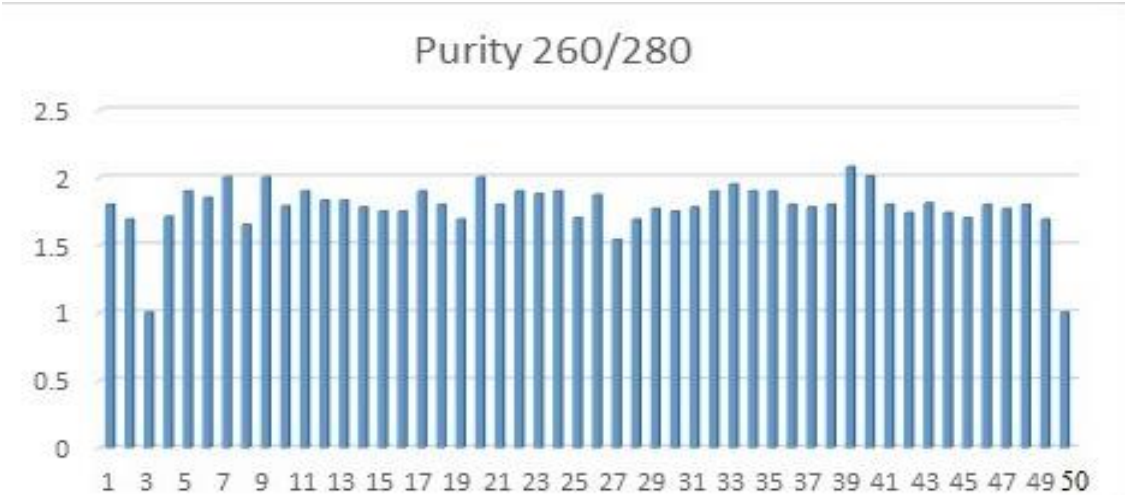
Şekil 5.1 Kırmızı güvenli boya ile boyanan hastaların DNA'sının (1-30) agaroz jel görüntüleri



Şekil 5.2 Kırmızı güvenli boya ile boyanan hastaların DNA'sının (1-20) agaroz jel görüntüleri



Şekil 5.3 Sağlıklı kontrol (1-30) ve hasta (30-50) örnekleri için DNA konsantrasyonu (75-290 ng/mL)



Şekil 5.4 Sağlıklı kontrol (1-30) ve hasta (30-50) örnekleri için DNA saflığı (1,7-2,0)

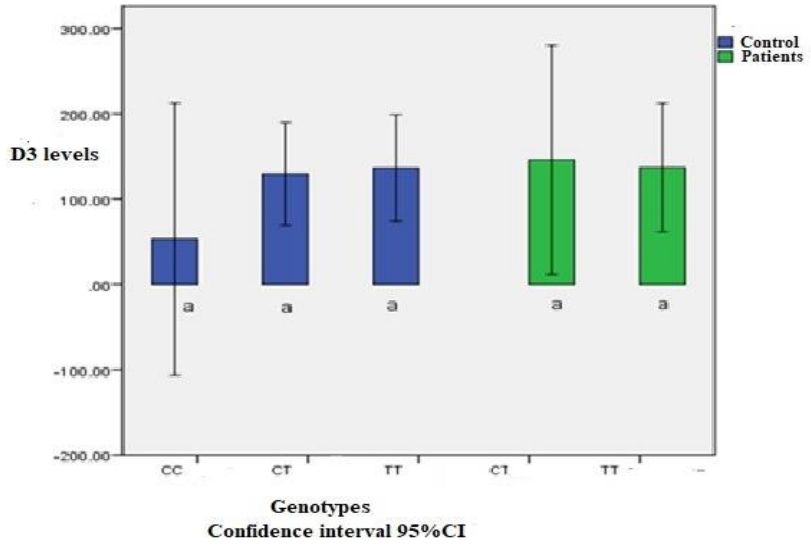
5.4 Çalışma Gruplarında ERAP2 (rs2910686) SNP'si

CC, CT, TT polimorfik genotiplerinin sonuçları, Çizelge 5.6'daki gibi hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir farklılık göstermemiştir (p>0,05).

Çizelge 5.6 Hastalar ve kontrol arasında ERAP2 (rs2910686) genotipi ve alel frekansının karşılaştırılması

Genotip	Grup		ODD	P-Değeri	C.I.
	Kontrol	Hastalar			
CC	2 (%6,6)	0 (%0)	0,28	0,51	0,01 - 5,69
CT	13 (%43,3)	7 (%35,0)	0,7	0,769	0,22 - 2,21
TT	15 (%50,0)	13 (%65,0)	1,8	0,387	0,59 - 5,80
C	17 (%28,3)	7 (%17,5)	0,54	0,241	0,20 - 1,43
T	43 (%71,6)	33 (%82,5)	1,86	0,241	0,70 - 4,96

Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında vitamin D3 ve genotipler arasında Şekil 5.5'te gösterildiği gibi anlamlı bir fark yoktur (p>0,05).



Şekil 5.5 Hasta ve kontrol gruplarında vitamin D3 ile genotip arasındaki ilişki

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, AS'li hastalarda D vitamini düzeyinin anlamlı olarak daha düşük olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). ERAP2 geni için CC, CT, TT genotipleri (rs2910686) sonuçları, ' hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).

AS aksiyal iskeleti, özellikle sakroiliak eklemleri etkileyen bir artrit türüdür. D vitamini, kalsiyum ve fosfat dengesinde, kemik yapım ve rezorbsiyonunda rolü olan bir sekosteroid hormon olarak kabul edilmektedir. D vitamininin vücut üzerinde immünosupresif bir etkiye ve otoimmün hastalıklardaki rolüne sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Pokhai *et al.* 2014). AS'nin etiyolojisi bilinmemektedir, genetik ve enfeksiyöz ajanlar, hastalığın gelişimine yol açan inflamatuar mekanizmaların başlatılmasında rol oynamaktadır. AS'li kişilerin %90-95'inde görülen doku uygunluk antijeni B27 (HLA-B27) önemli bir risk faktörüdür (Pimentel-Santos *et al.* 2013). Bazı araştırmalara göre AS hastalarında D vitamini seviyeleri azalmıştır ve hastalık aktivitesi AS'de kemik kaybına neden olur, bu nedenle hastalık tedavi edilirken D vitamini dikkate alınmalıdır (Koçyiğit and Akyol 2018).

D vitamininin immunomodülatör özelliklerinin keşfinden sonra romatizmal hastalıkların etyopatogenezinde D vitamininin önemi ilgi çekmeye başlamıştır. D Vitamini, proinflamatuar sitokinlerin oluşumunu azaltan T helper-1 ve T helper -17 hücre aktivitesini inhibe etmede rol oynar. Ayrıca T helper-2'yi ve anti-inflamatuar yanıtı destekleyen düzenleyici T hücre yanıtlarını da aktive etmektedir (Cantorna *et al.* 2015).

Genel olarak, sonuçlar, otoimmun hastalıkları (TİP 1 Diabetes) (Mathieu *et al*. 2009), sistemik lupusu olan hastaların önemli bir yüzdesinde düşük D vitamini düzeylerinin (<20 ng/mL) bulunduğunu gösteren diğer çalışmalarla uyumludur. (Cutolo *et al.* 2009). Ayrıca bazı çalışmalar, dolaylı D vitamini miktarlarının AS' de ki immun inflamasyonlar için birtakım sonuçları olabileceğini ortaya koymuştur (Durmuş vd. 2012, Steinwender *et al.* 2013). Zhao *vd.* (2014) AS'li hastalarda vitamin D ve oranı ile ilgili çalışmaların bazı çelişkiler içerebileceğini belirtmişlerdir.

Ayrıca çalışmamızda eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) aktivite hastalığının göstergesi olarak kullanılmıştır. Bu çalışma, hastalar ve kontroller arasında önemli farklılıklar göstermektedir ($p < 0,05$). Ancak Reveille (2015) ESR'nin düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu ve AS'li hastaların %40-50'sinde yüksek ESR'nin bulunduğunu belirtmiştir. Pokhai *vd.* (2014) ise çalışmalarında ESR'nin diğer çalışmalara göre D vitamini seviyeleri ile önemli negatif ilişkilerinin bulunduğunu ortaya koymuştur. Ankilozan spondilitli ıraklı hastalarda ERAP2 için SNP (rs2910686) ile ilgili olarak, bu SNP'nin hastalığın gelişme riski ile ilişkili olmadığı ortaya çıkmıştır ($p > 0,05$). Bunun nedeni, örneklem boyutunun sınırlı olması ve örnek boyutundaki artışın önemli farklılıklar göstermesine ve hastalık ile rs 2910686'nın SNP'si arasında bir ilişkinin varlığına yol açabilmesi olabilmektedir.

Ebrazeh *vd.* (2020) İran popülasyonu üzerine yaptıkları çalışmada rs 2910686 polimorfizminin HLA-B27 pozitif AS hastalarında hastalık riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu, genetik varyasyon ve popülasyonların çeşitli etnik kökenleri ile ilgili olabilmektedir. ERAP2 geninin (rs2910686) SNP'si, işlevsel olarak AS'nin duyarlılığı ile ilişkili önemli bir gen olarak kabul edilir (Brown *et al.* 2016, Mahmoudi *et al.* 2017). Bununla birlikte, Romanya popülasyonunda SNP ERAP2 rs2910686 ile Psöriatik artrit ve HLA-B27 negatif Psöriyatik artrit arasında anlamlı bir ilişki bulunurken, pozitif HLA-B27 ile ilişkili hiçbir rs2910686 ve Psöriatik artrit bulunmamıştır (Popa *et al.* 2016). HLA-B27 prevalansı dünyanın farklı bölgelerinde yaşayan insan popülasyonlarına göre değişmektedir (Mathieu *et al.* 2009, Zochling *et al.* 2005). HLA-B27'nin Avrupa'da hasta olmayan kişilerde görülme oranı %8, Han Chinese'de ise %3-5 olarak ortaya konmuştur (Khan 1995). Türkiye'deki yapılan çalışmalarda ise yabancı popülasyonda HLA-B27 prevalansının %5-8 olarak kaydedildiği belirtilmektedir (Acar *et al.* 2012). Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda da AS hastalarında HLA-B27 sıklığının %70 ile %90 arasında olduğu belirtilmektedir (Birinci *et al.* 2006, Chen *et al.* 2004). Nüfusun %5'inde HLA-B27 bulunurken, HLA-B27'li bireylerin sadece %1-5'inde AS hastalığı saptanmaktadır (Chen *et al.* 2004).

HLA-B27 değeri pozitif kişilerin %5'inde AS'nin bulunması, AS hastalığının oluşumunda sadece HLA-B27'nin değil, diğer genlerin de katkısının olduğunu göstermektedir (Burmerter *et al.* 2006).

AS'nin başlangıcının, antijen sunan hücrelerin (APC'ler) yüzeyinde eksprese edilen HLA-B27 tarafından artritojenik bir peptidin açığa çıkarılması yoluyla meydana gelebileceği fikrini ortaya koyan bir fikir vardır. Ayrıca HLA-B27 molekülünün genetik varyasyonu ve ERAP1 ve 2 gibi antijen işleme bileşenlerinin AS'nin başlamasında ve devamında rolü vardır (Brown *et al.* 2016). Bu nedenle ırak popülasyonunda ERAP2 geni SNP rs2910686 ile HLA-B27 pozitif AS hastaları arasındaki ilişki incelenmiştir.

Çalışmanın sonuçlarına göre, hastalarda D3 seviyeleri kontrolle kıyaslandığınıda düşmüştü ve Iraklı AS'lı olan hastalarda ERAP2'nin SNP'si (rs2910686 bir risk faktörü olmadığını göstermekte ve bu durumun sınırlı örneklemeden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışma sonucunda elde edilen

Öneriler aşağıdaki gibidir:

1. ERAP2'nin SNP'sini (rs2910686) Irak nüfusunun büyük örneklemleri ile inceleyin.

2. HLA-B27 pozitif AS hastalarında ERAP2 geni için diğer SNP'yi inceleyin.

3. HLA-B27 pozitif AS hastalarında ERAP2 geninin gen ekspresyonunu inceleyin.

4. ERAP2'nin SNP'sini (rs2910686) diğer hastalıklarla birlikte inceleyin.

KAYNAKLAR

Acar, M., Cora, T., Tunc, R. and Acar, H. 2012. HLA-B27 subtypes in Turkish patients with ankylosing spondylitis and healthy controls. Rheumatology international, 32(10): 3103-3105.

Adams, J. S. and Hewison, M. 2010. Update in vitamin D. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 95(2): 471-478.

Adorini, L., Penna, G., Giarratana, N., Roncari, A., Amuchastegui, S., Daniel, K. C. and Uskokovic, M. 2004. Dendritic cells as key targets for immunomodulation by Vitamin D receptor ligands. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 89: 437-441.

Agrawal, N. and Brown, M. A. 2014. Genetic associations and functional characterization of M1 aminopeptidases and immune-mediated diseases. Genes Immun, 15(8): 7-521.

Altuntaş, Y., Yılmaz, E., Tapan, E. and Hatemi, H. 1996. Türk toplumunda HLA dağılımı ve bazı HLA'lar ile bazı hastalıklar arasındaki ilişkiler. Endokrinolojide yönelişler, 2: 58-63.

Arnet, J. 1997. Young people's conceptions of the transition to adulthood. Youth and society, 29(1): 3-23.

Barber, L. D., Percival, L., Arnett, K. L., Gumperz, J. E., Chen, L. and Parham, P. 1997. Polymorphism in the alpha 1 helix of the HLA-B heavy chain can have an overriding influence on peptide-binding specificity. The Journal of Immunology, 158(4): 1660-1669.

Beerbaum, M., Ballaschk, M., Erdmann, N., Schnick, C., Diehl, A., Uchanska-Ziegler, B., Ziegler, A. and Schmieder, P. 2013) NMR spectroscopy reveals unexpected structural variation at the protein–protein interface in MHC class I molecules. Journal of Biomolecular NMR, 57: 167-178.

Belachew, D. A., Sandu, N., Schaller, B. and Guta, Z. 2009. Ankylosing spondylitis in sub-Saharan Africa. Postgraduate medical journal, 85(1005): 353-357.

Bikle, D. D. 2009. Nonclassic actions of vitamin D.The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 94(1): 26-34.

Bikle, D. D. 2010. Vitamin D: newly discovered actions require reconsideration of physiologicrequirements. Trends in Endocrinology and Metabolism, 21(6): 357-384.

Birinci, A., Bilgici, A., Kuru, O. and Durupınar, B. 2006. HLA-B27 polymorphism in Turkish patients with ankylosing spondylitis. Rheumatology international, 26(4): 285-287.

Bishop, N. and Wharton, B. 2003. Rickets. Lancet, 362(9393): 1389-1400.

Braun, J. and Sieper, J. 2007. Ankylosing spondylitis. Lancet, 369(9570): 1379-1390.

Brown, M. A., Kenna, T. and Wordsworth, B. P. 2016. Genetics of ankylosing spondylitis—İnsights into pathogenesis. Nature Reviews Rheumatology, 12(2): 81-91.

Burmerter, G. R., Dorner, T. and Sieper, J. 2006. Spondyloarthritis and chronic idiopathic arthropathies. In The autoimmune diseasesn. The autoimmune diseases, Academic Press, 4(1): 437-452.

Cantorna, M. T. 2006. Vitamin D and its role in immunology: Multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 92(1): 60-64.

Cantorna, M. T., Snyde, L., Lin, Y. D. and Yang, L. 2015. Vitamin D and 1, 25 OH 2D regulation of T cells. Nutrients, 7(4): 3011-3021.

Carroll, M. C., Katzman, P., Alicot, E. M., Koller, B. H., Geraghty, D. E. and Orr, H. T. 1987. Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. Proc Natl Acad Sci U S A, 84(23): 9-8535.

Chen, H. M., Hsieh, R. P., Yang, H., Kuo, Y. S., Kuo, M. Y. P. and Chiang, C. P. 2004. HLA typing in Taiwanese patients with oral submucous fibrosis. Journal of oral pathology and medicine, 33(4): 191-199.

Cutolo, M., Otsa, K., Paolino, S., Yprus, M., Veldi, T. and Seriolo, B. 2009. Vitamin D involvement in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythaematosus. Ann Rheum, 68: 437-446.

Çevirgen, T. 2005. Multipl Myelomlu Hastalarda HLA sınıf I ve sınıf II Allel Sıklığının Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi, 8: 20-26.

Deng, G. Y., Muir, A., Maclaren, N. K. and She, J. X. 1995. Association of LMP2 and LMP7 genes within the major histocompatibility complex with insulin-dependent

diabetes mellitus: Population and family studies. American journal of human genetics, 56(2): 528.

Durmuş, Z., Altay, O. and Baysal, Y. 2012. Ankilozan spondilitli hastalarda D vitamini hastalık şiddetini etkiler mi? Çene. Med. J., 125: 2511-2515.

Ebrazeh, M., Nojavan, M., Abdi-Shayan, S., Salimifard, S., Dolatshahi, E., Aslani, S. and Mohammadi, H. 2020. Endoplasmic reticulum aminopeptidase 2 gene single nucleotide polymorphisms in association with susceptibility to ankylosing spondylitis in an Iranian population. Immunology letters, 223: 97-105.

Ekici, N. 2000. Atopik Dermatitli Olgularda HLA Antijenlerinin Dağılımı. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, 67 sayfa, Edirne.

Gofton, J. P., Chalmers, A., Price, G. and Reeve, C. E. 1984. HL-A 27 and ankylosing spondylitis in B.C. Indians. The Journal of rheumatology, 11(5): 572-573.

Goldberg, A. and Rizzo, l. 2015. MHC structure and function–antigen presentation. Einstein (Sao Paulo): 1(13): 153-156.

Hersberg, R. M., Cho, D., Youakim, A., Bradley, M. B., Lee, J. S. and Framson, P. E. 1998. Highly polarized HLA class II antigen processing and presentation by human intestinal epithelial cells. J Clin Invest, 102(4): 792-803.

Hochberg, Z. 2003. Rickets—Past and present. Introduction. Endocrine development, 6(1): 13-19.

Holick, M. F. 2006. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. Journal of Clinical Investigation, 116(8): 2062-2072.

Holick, M. F. and Chen, T. C. 2008. Vitamin D deficiency: A worldwide problem with health consequences. The American journal of clinical nutrition, 87(4): 1080-1086.

Hukuda, S., Minami, M., Saito, T., Mitsui, H., Komatsubara, Y. and Shichikawa, K. 2001. Spondyloarthropathies in Japan: Nationwide questionnaire survey performed by the Japan Ankylosing Spondylitis Society. The Journal of rheumatology, 28(3): 554-559.

Hviid, T. V. F., Christiansen, O. B., Johansen, J. K., Hviid, U. R., Lundegaard, C., Møller, C. and Morling, N. 2001. Characterization of a new HLA-G allele encoding a nonconservative amino acid substitution in the α3 domain (exon 4) and its relevance to certain complications in pregnancy. Immunogenetics, 53(1): 48-53.

Kenna, T. J., Robinson, P. C. and Haroon, N. 2015. Endoplasmic reticulum aminopeptidases in the pathogenesis of ankylosing spondylitis. Rheumatology (Oxford): 54(9): 56-1549.

Khan, M. A. 1995. HLA-B27 and its subtypes in world populations. 7(4): 263-269.

Khan, M. A. 2013. Polymorphism of HLA-B27: 105 Subtypes Currently Known. Curr Rheumatol Rep, 15: 362-8.

Kılınç, N., Zuhal, A., Şengül, B. and İşgör, M. M. 2018. Evaluation of inhibition effects of some cardiovascular therapeutics on human erythrocyte carbonic anhydrase isoenzymes. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 7(1): 90-97.

Klippel, J. H., Stone, J. H. ., Crofford, L. J. and White, P. H. 2008. Primer on the Rheumatic Diseases. Spinger.

Koçyiğit, B. F. and Akyol, A. 2018. Vitamin D levels in patients with ankylosing spondylitis: Is it related to disease activity? Pakistan journal of medical sciences, 34(5): 1209-1214.

Koul, P., Wani, B. A., Bisati, S. D., Khan, M. A., Shah, S. U. and Bhat, M. S. 1997. HLA antigen pattern of Kashmiri patients with rheumatic heart disease. The Indian Journal of Medical Research, 105: 271-274.

Kuiper, J., De Kovel, C., Van Setten, J., Ripke, S., Van, S., Mulder, F., Missotten, T., Baarsma, G. S., Francioli, L. C. and Pulit, S. L. 2014. A genome-wide association study identifies a functional ERAP2 haplotype associated with birdshot chorioretinopathy. Hum Mol Genet, 23(22): 7-6081.

Lefranc, M. P., Duprat, E., Kaas, Q., Tranne, M., Thiriot, A. and Lefranc, G. 2005. IMGT unique numbering for MHC groove G-DOMAIN and MHC superfamily (MhcSF) G-LIKE-DOMAIN. Developmental and Comparative Immunology, 29(11): 917-938.

Lips, P. 2006. Vitamin D physiology. Progress in biophysics and molecular biology, 92(1): 4-8.

Mahmoudi, M., Aslani, S., Nicknam, M. H., Karami, J. and Jamshidi, A. R. 2017. New insights toward the pathogenesis of ankylosing spondylitis, genetic variations and epigenetic modifications. Modern rheumatology, 27(2): 198-209.

Mahon, B. D., Gordon, S. A., Cruz, J., Cosman, F. and Cantorna, M. T. 2003. Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. Journal of neuroimmunology, 134(1-2): 128-132.

Mathieu, A., Paladini, F., Vacca, A., Cauli, A., Fiorillo, M. T. and Sorrentino, R. 2009. The interplay between the geographic distribution of HLA-B27 alleles and their role in infectious and autoimmune diseases: A unifying hypothesis. Autoimmunity reviews, 8(5): 420-425.

Mc Gonagle, D., Gibbon, W., O'Connor, P., Blythe, D., Wakefield, R., Green, M., Emery, P. and Veale, D. 1999. A preliminary study of ultrasound aspiration of bone erosion in early rheumatoid arthritis. Rheumatology, 38(44): 329-331.

Mijiyawa, M., Oniankitan, O. and Khan, M. A. 2000. Spondyloarthropathies in sub-Saharan Africa. Current Opinion in Rheumatology, 12(4): 281-286.

Misra, M., Pacaud, D., Petryk, A., Collett-Solberg, P. F. and Kappy, M. 2008. Vitamin D deficiency in children and its management: Review of current knowledge and recommendations. Pediatrics, 122(2): 398-417.

Özkan, B. 2010. Nutritional rickets. Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology, 2(4): 137-143.

Peschken, C. and Esdaile, J. M. 1999. Rheumatic diseases in North America's indigenous peoples. Seminars in arthritis and rheumatism, 28(6): 368-391.

Pimentel-Santos, F. M., Matos, M., Ligeiro, D., Mourao, A. F., Ribeiro, C., Costa, J. and CORPOREA, S. G. 2013. HLA alleles and HLA-B27 haplotypes associated with susceptibility and severity of ankylosing spondylitis in a Portuguese population. Tissue Antigens, 82(6): 374-369.

Pokhai, G. G., Bandagi, S. and Abrudescu, A. 2014. Vitamin D levels in ankylosing spondylitis: Does deficiency correspond to disease activity? Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition): 54(4): 330-334.

Popa, O. M., Cherciu, L. I., Dutescu, M. I., Bojinca, M., Bojinca, J. and Popa, L. O. 2016. ERAP1 and ERAP2 gene variations influence the risk of psoriatic arthritis in Romanian population. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis, 64(1): 123-129.

Rastogi, A. K., Agrawal, S. and Singh, N. 1997. Infectious diseases and immunity: Special reference to major histocompatibility complex. Emerging Infectious Diseases, 3(1): 41-47.

Reinhold, U., Kukel, S., Goeden, B., Neumann, U., Wehrmann, W. and Kreysel, H. W. 1991. Interleukin-4 promotes the expansion of skin-infiltrating lymphocytes from atopic dermatitis in vitro. Journal of investigative dermatology, 96(3): 370-375.

Reveille, J. D. 2015. Biomarkers for diagnosis, monitoring of progression and treatment responses in ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis. Clinical Rheumatology, 34: 1009-1018.

Roberts-Thomson, R. A. and Roberts-Thomson, P. J. 1999. Rheumatic disease and the Australian aborigine. Annals of the rheumatic diseases, 58(5): 266-270.

Ryall, N. H. and Helliwell, P. 1998. A critical review of ankylosing spondylitis. Critical ReviewsTM in Physical and Rehabilitation Medicine, 10(3): 456-462.

Saric, T., Chang, S. C., Hattori, A., York, I. A., Markant, S., Rock, K. L., Tsujimoto, M. and Goldberg, A. L. 2002. An IFN-gamma-induced aminopeptidase in the ER, ERAP1, trims precursors to MHC class I-presented peptides. Nature immunology, 3(12): 1169-1176.

Schett, G. and Sieper, J. 2009. Inflammation and repair mechanisms. Clinical and Experimental Rheumatology, 27: 33-35.

Schittenhelm, R. B., Sivaneswaran, S., Sian, T., Croft, N. P. and Purcell, A. W. 2016. Human leukocyte antigen (HLA) B27 allotype-specific binding and candidate arthritogenic peptides revealed through heuristic clustering of data-independent acquisition mass spectrometry (DIA-MS) data. Molecular and Cellular Proteomics, 15(6): 1867-1876.

Silman, A. J. and Pearson, J. E. 2002. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. Arthritis research and therapy, 4(3): 1-8.

Smith, J. A., Märker-Hermann, E. and Colbert, R. A. 2006. Pathogenesis of ankylosing spondylitis: Current concepts. Best practice and research Clinical rheumatology 20(3): 571-591.

Steinwender, G., Lindner, E., Weger, M., Plainer, S., Renner, W., Ardjomand, N. and El-Shabrawi, Y. 2013. Association between polymorphism of the vitamin D

metabolism gene CYP27B1 and HLA-B27-associated uveitis. Is a state of relative immunodeficiency pathogenic in HLA B27-positive uveitis? PloS one, 8(4): 2-29.

Szodoray, P., Nakken, B., Gaal, J., Jonsson, R., Szegedi, A., Zold, E. and Bodolay, E. 2008. The complex role of vitamin D in autoimmune diseases. Scandinavian journal of immunology, 68(3): 261-269.

Tanaka, K. 1994. Role of proteasomes modified by interferon-gamma in antigen processing. J Leukoc Biol, 56(5): 566-571.

Temiz, N. 2005. Akdeniz Bölgesinde 2005.HLA (Human Leucocyte Antigens) Tipleri ve Sıklığının Saptanması [Yüksek Lisans Tezi]. Kahramanmaraş Üniversitesi.

Trowsdale, J. 1995. "Both man and bird and beast"": Comparative organization of MHC genes. Immunogenetics, 41(1): 1-17.

Van der Linden, S., Valkenburg, H. A., Jongh, B. M. D. and Cats, A. 1984. The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. A comparison of relatives of spondylitis patients with the general population. Arthritis and Rheumatology, 27(3): 241-249.

White, J. P. 2008. Vitamin D signaling, infectious diseases and regulation of innate immunity. Infection and immunity, 76(9): 3837-3843.

Wu, Z., Biro, P., Mirakian, R., Hammond, L. and Curcio, F. 1999. HLA-DMB expression by thyrocytes: İndication of the antigen-processing and possible presenting capability of thyroid cells. Clin Exp Immunol, 116(1): 49-62.

Yılmaz, E., Özcan, R., Can, G., Eliçevik, M., Kuruoğlu, S. and Erdoğan, E. 2017. Koroziv madde içimine bağlı özofagus darlığı gelişimi ve hla ilişkisinin incelenmesi. Zeynep Kamil Tıp Bülteni, 48(3): 84-88.

Zhao, S. J., Duffield, R. J. and Moots, N. J. 2014. Goodson Systematic review of association between vitamin D levels and susceptibility and disease activity of ankylosing spondylitis. Rheumatology (Oxford).

Zochling, J., Heijde, D. van der, Burgos-Vargas, R., Collantes, C., Davis, J. C., Dijkmans, B., Dougados, M., Géher, P., Inman, R. D., Khan, M. A., Kvien, T. K., Leirisalo-Repo, M., Olivieri, I., Pavelka, K., Sieper, J., Sturrock, R. D., Linden, S. van der, Wendling, D., Böhm, H. and Braun, J. 2005. ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. Annals of the rheumatic diseases, 65(4): 442-452.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Tuqa ABDUL MAHDIMAHMOOD ALSAMARAE

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-2021
Lisans	Samarra Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012-2016