

Ankilozan Spondilitli Hastalarda Serum High Mobility Group Box-1 (HMGB1) Düzeylerinin Hastalık Aktivitesi, Kemik Mineral Yoğunluğu ve RANKL/Osteoprotegerin Aksı ile İlişkisi

Relationship of Serum High Mobility Group Box-1 (HMGB1) Levels with Disease Activity, Bone Mineral Density, and the RANKL/Osteoprotegerin Axis in Patients with Ankylosing Spondylitis

İsa Cüce¹, Mustafa Çalıř¹, İnanet Güntürk², Emine Cüce³, Cevat Yazıcı⁴

¹ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD. Kayseri, Türkiye

² Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Zübeyde Hanım Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü, Niğde, Türkiye

³ Kayseri Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, Kayseri, Türkiye

⁴ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD. Kayseri, Türkiye

ÖZ

Amaç: High mobility group box-1 (HMGB1), enflamasyondaki rolünün yanı sıra, reseptör aktivatör nükleer faktör κ B ligandın (RANKL) indüklendiği osteoklastogenezisi düzenler. Bu çalışmanın amacı, ankilozan spondilit (AS) hastalarında serum HMGB1 düzeylerinin hastalık aktivitesi, kemik mineral yoğunluğu (KMY) ve RANKL/osteoprotegerin (OPG) aksı ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmaya 61 AS hastası ve hasta grubu ile yaş/cinsiyet olarak eşleştirilmiş 25 sağlıklı kontrol alındı. Hastalık ile ilişkili özellikler, Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi ve Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi skorları ile eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri kaydedildi. Hastalık aktivitesini değerlendirmek için Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi (BASDAI) ve Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite Skoru (ASDAS)-CRP kullanıldı. KMY, lomber omurga ve proksimal femurdan dual enerji X-ray absorpsiyometri kullanılarak ölçüldü. Serum HMGB1, RANKL ve OPG düzeyleri ticari ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü.

Bulgular: HMGB1 düzeyleri AS hastaları ve sağlıklı kontroller arasında benzerdi. AS hastalarında kontrol grubuna göre RANKL düzeyleri anlamlı olarak yüksek ($p = 0.006$) ve OPG düzeyleri anlamlı olarak düşüktü ($p = 0.002$). AS hastalarında HMGB1 düzeyleri ile CRP ($r = 0.424$, $p = 0.001$), ASDAS-CRP ($r = 0.329$, $p = 0.010$) ve BASDAI ($r = 0.288$, $p = 0.024$) arasında anlamlı korelasyonlar bulundu. HMGB1 düzeyleri ile RANKL ve OPG düzeyleri ve KMY ölçümleri arasında ise anlamlı bir ilişki yoktu.

Sonuç: Bu çalışma, serum HMGB1 düzeylerinin AS'deki hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğunu göstererek, HMGB1'in AS patogenezinde rol oynadığı hipotezini desteklemektedir. Bununla birlikte, AS'de serum HMGB1 düzeyleri RANKL-OPG aksı veya KMY ile ilişkili değildi.

Anahtar kelimeler: Ankilozan spondilit, high mobility group box-1 (HMGB1), RANKL, osteoprotegerin, osteoporoz

ABSTRACT

Aim: High mobility group box-1 (HMGB1), besides its role in inflammation, regulates receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclastogenesis. This study aimed to associate the serum levels of HMGB1 with disease activity, bone mineral density (BMD), and the RANKL/osteoprotegerin (OPG) axis in patients with ankylosing spondylitis (AS).

Material and Methods: In this study, 61 AS patients and 25 age- and gender-matched healthy controls were enrolled. Disease-related characteristics, the Bath AS Metrology Index and Bath AS Functional Index, the erythrocyte sedimentation rate, and C-reactive protein (CRP) levels were recorded. The Bath AS Disease Activity Index (BASDAI) and AS Disease Activity Score (ASDAS)-CRP were used to assess the disease activity. BMD was measured using dual-energy X-ray absorptiometry at the lumbar spine and proximal femur. The serum levels of HMGB1, RANKL, and OPG were measured using commercial ELISA kits.

Results: HMGB1 levels were similar between AS patients and controls. RANKL levels were significantly higher ($p = 0.006$) and OPG levels were significantly lower in AS patients than those of the controls ($p = 0.002$). HMGB1 levels significantly correlated with CRP ($r = 0.424$, $p = 0.001$), ASDAS-CRP ($r = 0.329$, $p = 0.010$), and BASDAI ($r = 0.288$, $p = 0.024$) in AS patients. There was no significant correlation between HMGB1 levels and RANKL, OPG, and BMD values.

Conclusion: This study showed that serum HMGB1 levels are related to disease activity in AS, supporting the hypothesis that HMGB1 plays a role in the pathogenesis of AS. However, serum HMGB1 levels were not related to the RANKL-OPG axis or BMD in AS.

Key words: Ankylosing spondylitis, high mobility group box-1 (HMGB1), RANKL, osteoprotegerin, osteoporosis

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: İsa Cüce
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD.
Köřk Mah. Dede Efendi Sok. P.K. 38030 Melikgazi / Kayseri

e.mail: icuce@erciyes.edu.tr

Tel: 05056263723

Geliř tarihi/Received: 29.01.2023

Kabul tarihi/Accepted: 27.03.2023

GİRİŞ

Ankilozan spondilit (AS), omurgada enflamasyon ve yeni kemik oluşumu ile karakterize kronik romatizmal bir hastalıktır. Uluslararası Spondiloartrit Değerlendirme Derneği [Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS)] kriterlerine göre, direk radyografide sakroiliitin görüldüğü radyografik aksiyal spondiloartrit (r-axSpA) grubunda yer alır (1). Hastalık, öncelikle sakroiliak eklemler ve vertebral kolon olmak üzere aksiyal iskeleti etkiler. Ayrıca periferik eklemler ve entezis bölgeleri de sık etkilenen diğer kas-iskelet sistemi bölgeleridir. AS'de yapısal kemik hasarı ve spinal radyografik progresyon tipik olarak kendini sindesmotit oluşumu ve ankiloz ile gösterir (2). Diğer taraftan devam eden sistemik enflamasyon sonucu AS'li hastalarda osteopeni veya kemik mineral yoğunluğundaki (KMY) azalma, yeni kemik oluşumu ile paralel olarak ortaya çıkabilen ve patogeneizde açıklanması gereken önemli bir bulgudur (3, 4).

Mevcut kanıtlar, AS'de kemik oluşumu ve kemik kaybında osteoprotegerin (OPG) ve reseptör aktivatör nükleer faktör κ B ligand [receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL)] gibi kemik metabolizması biyobelirteçlerinin rol oynadığını göstermektedir (5). RANKL esas olarak osteoblastlar ve aktif T hücrelerince salgılanır ve osteoklast öncülleri üzerindeki RANK'a bağlanarak osteoklastların olgunlaşmasını ve aktivasyonunu tetikleyerek osteoporozu neden olur. Buna karşın OPG, esas olarak osteoblastlarca üretilir ve RANKL'ı nötralize eden bir tuzak reseptörü olarak görev yapar ve osteoklast aktivasyonunu inhibe eder (6). RANKL/RANK/OPG sistemindeki bozulmuş dengenin AS'deki osteoporoz ile doğrudan ilişkili olduğunu düşündüren çok sayıda araştırma mevcuttur (7-9). Bir metaanalizde de, serum OPG ve RANKL düzeylerinin ve RANKL/OPG oranının, AS'de enflamasyon ve hastalık aktivesinden etkilenebilen duyarlı, potansiyel biyobelirteçler olduğu gösterilmiştir (10).

High mobility group box-1 (HMGB1), immun sistem ve doku hücreleri tarafından hücre aktivasyonu veya ölümü sırasında salgılanabilen non-histon bir nükleer proteindir (11). Hem intraselüler hem de ekstraselüler alanda çok sayıda fonksiyonu olduğu gösterilen HMGB1, ekstraselüler olarak potent bir proenflamatuvar sitokindir ve receptor of advanced glycation end-products (RAGE) ve toll-like reseptörler için bir ligand görevi görür (12). Daha önce yapılan çalışmalarda AS hastalarının serum HMGB1 düzeyleri sağlıklı bireylerden anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca HMGB1 düzeylerinin, hastalık aktivite skorları, enflamatuvar belirteçler ve periferik kan mononükleer hücrelerinde HMGB1 reseptör ekspresyonu ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (13-15). Yakın zamanda yapılan bir sistematik derlemede de, HMGB1'in AS hastalığının patogenezinde rolü

olabileceği ve düzeylerinin hastalık aktivasyonunu yansıtan iyi bir laboratuvar göstergesi olduğu belirtilmiştir (16). Ekstraselüler HMGB1'in araştırılan diğer önemli bir fonksiyonu osteoklastogenezde rolü olup olmadığıdır. Bir çalışmada, HMGB1, RANKL'in eşik altı konsantrasyonlarında in vivo ve in vitro RANKL kaynaklı osteoklastogenezi artırdığı gösterilmiştir (17). Diğer bir çalışmada da AS hastalarında HMGB1 ve RANKL düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksek bulunmuştur (18). Bu nedenle bu çalışmada, AS hastalarında serum HMGB1 düzeylerinin hastalık aktivitesi, RANKL ve OPG düzeyleri ve KMY ölçümleri ile ilişkisinin kapsamlı bir şekilde araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma popülasyonu

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı polikliniklerinde AS tanısıyla takipli hastalarda gerçekleştirildi. Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (26.09.2014 / Karar no: 2014/533) onaylanan çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: TTU-2014-5575).

Çalışmaya, 1984 Modifiye New York tanı kriterlerini karşılayan 18-60 yaş arası AS hastaları dâhil edildi. AS dışında kronik/sistemik bir hastalık ve/veya aktif enfeksiyon varlığı, alkol kullanımı, malignite öyküsü, tüberküloz öyküsü, spinal cerrahi öyküsü ve kadın hastalar için hamile/emzirme durumu dışlama kriteri olarak kabul edildi. Ayrıca, hasta grubu ile yaş/cinsiyet olarak eşleştirilmiş, herhangi bir kronik hastalığı, cerrahi veya ağrı öyküsü olmayan katılımcılar, sağlıklı kontrol grubu olarak dâhil edildi. Değerlendirme öncesinde hasta ve kontrol grubundaki katılımcılar çalışma hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirildi ve imzalı olur formları alındı.

Klinik Değerlendirme

Her katılımcı için standart bir olgu bildirim formu dolduruldu. Hasta ve sağlıklı kontrollerin yaş, cinsiyet, boy, vücut ağırlığı, vücut kütle indeksi (VKİ) ve sigara kullanımını içeren demografik özellikleri kaydedildi. Hastalar, ayrıca hastalıkla ilgili yakınmaların başlangıç tarihi, hastalık süresi, kullandığı ilaçlar, periferik eklem tutulumu ve ekstraartiküler tutulum yönünden sorgulandı. Ardından hastaların ayrıntılı olarak fizik muayeneleri yapıldı.

Hastaların son iki günde hissettikleri ortalama ağrı düzeyi 0-10 cm vizüel analog skala (VAS) ile değerlendirildi. Hasta global değerlendirmesi içinde VAS skalası kullanıldı.

Hastalık aktivitesini değerlendirmek için Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi [Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index - (BASDAI)] ve Ankilozan Spondilit

Hastalık Aktivite Skoru [AS Disease Activity Score - (ASDAS)]-C-reaktif protein (CRP) kullanıldı. BASDAI ile hastalık aktivitesi halsizlik/yorgunluk, spinal ağrı, periferik eklem ağrısı ve şişliği, lokalize hassasiyet ve sabah tutukluğunu içeren sorular ile değerlendirilmektedir. BASDAI anketinin Türkçe geçerlilik ve güvenilirliği onaylanmıştır (19). ASDAS-CRP skoru BASDAI anketindeki 2, 3 ve 6. sorular, hastanın global değerlendirmesi ve CRP değerleri ile hesaplandı (20).

Hastaların spinal mobilitesi Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi [Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index - (BASMI)] ile değerlendirildi (21). Hastalarda fonksiyonel değerlendirme Bath Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi [Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI)] ile yapıldı. Bu anketin de Türkçe geçerlilik ve güvenilirlik çalışması yapılmıştır (22).

Radyolojik Değerlendirme

Hastaların lomber lateral, servikal lateral ve pelvis grafileri değerlendirildi. Omurgada meydana gelen yapısal hasarı ve yeni kemik oluşumunu değerlendirmek için modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Spinal Skoru [Modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score (mSASSS)] kullanıldı (23). Skorlamalar AS konusunda deneyimli fizyatrist tarafından yapıldı.

Kemik Mineral Yoğunluğu Ölçümü

Tüm olguların KMY ölçümleri Dual energy X-Ray Absorptiometry (DXA) yöntemi ile Hologic Explorer QDR Series marka cihaz kullanılarak yapıldı. Ölçümler ön – arka yönde vertebra (L1–L4) ve sol femur üst uçta gerçekleştirildi ve kemiğin birim alanı başına düşen yoğunluğu gr/cm² olarak ifade edildi. Lomber vertebra ve proksimal femur KMY değerleri, Z ve T skorları kaydedildi.

Laboratuvar Değerlendirme

Hasta ve sağlıklı kontrollerden sabah, açlık venöz kan örnekleri alındı. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve CRP düzeyleri çalışıldı ve kaydedildi. Venöz kan örneklerinden elde edilen serumlar HMGB1, RANKL ve OPG çalışmak için, analiz zamanına kadar -80°C'de muhafaza edildi. HMGB1, human HMGB1 ELISA kit (Cusabio, Life Science, China, Katalog numarası: CSB-E08223h); OPG, human osteoprotegerin ELISA kit (Boster Biological Technology Ltd, CA, USA, Katalog numarası: EK0480); RANKL, human RANKL ELISA kit (Boster Biological Technology, Ltd, CA, USA, Katalog numarası: EK0842) uygun ticari kitlerle çalışıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS Ver. 20.0 (Statistical Package for Social Sciences for Windows, Version 20.0, Chicago,

Illinois, USA) paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) yöntemler kullanılarak incelendi. Sürekli değişkenlerden normal dağılıma uyanlar için ortalama ve standart sapma değerleri, uymayanlar için ortanca ve çeyrekler arası aralık değerleri verildi. Kategorik veriler ise frekans (n) ve yüzde (%) olarak ifade edildi. Hasta ve kontrol grubunun sürekli değişkenleri Bağımsız Örneklem t-testi veya Mann-Whitney U testi (normal dağılmıyorsa) ile karşılaştırıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testleri kullanıldı. Korelasyon analizi için Spearman rho korelasyon testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi (p) 0,05 olarak alınmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya, dâhil edilme kriterlerini karşılayan 61 AS hastası ve 25 sağlıklı kontrol grubu olarak alındı. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, VKİ ve sigara içme durumu açısından anlamlı fark saptanmadı. AS hastalarının ortalama hastalık süresi $9,2 \pm 4,4$ yıldır. BASDAI skoruna göre hastaların 30'u (%49,2) aktif (BASDAI ≥ 4) iken 31'i (%50,8) inaktif (BASDAI < 4). Hastaların 21'i (%34,4) sadece non-steroid anti-enflamatuvar ilaç (NSAEİ), 20'si (%32,8) NSAEİ ve sulfasalazin, 14'ü (%23) sadece anti-TNF ilacı ve 2'si (%3,3) anti-TNF ilacı ve NSAEİ kullanmaktaydı. Hastalardan 4'ü (%6,6) ise herhangi bir tedavi almamaktaydı (Tablo 1).

Serum HMGB1 düzeyleri AS hastalarında kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, göreceli olarak düşük saptandı (p=0,325). AS hastalarında kontrol grubuna göre RANKL düzeyleri yüksek (p=0,006), OPG düzeyleri düşük (p=0,002) ve RANKL/OPG oranı yüksek (p<0,001) saptandı. Lomber ve femur KMY skorları açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

AS hastalarında, serum HMGB1 düzeyleri ile CRP (r = 0,424), BASDAI (r = 0,288) ve ASDAS-CRP (r = 0,329) düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar saptandı. Buna karşın, HMGB1 ile RANKL ve OPG düzeyleri, RANKL/OPG oranı, mSASSS ve KMY ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon yoktu. Ayrıca RANKL, OPG ve RANKL/OPG oranı ile CRP, ESH, BASDAI, ASDAS-CRP, BASFI, BASMI, mSASSS ve lomber veya femur KMY arasında da anlamlı korelasyonlar saptanmadı (Tablo 3).

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun klinik ve demografik özellikleri

	AS (n=61)	Sağlıklı Kontrol (n=25)	p
Yaş, yıl	36,11 ± 7,14	34,36 ± 5,55	0,275
Cinsiyet, (K/E)	18/43	4/21	0,278
VKİ, kg/m ²	26,24 ± 4,65	26,30 ± 2,83	0,950
Sigara içme (evet/hayır)	27/34	11/14	1,000
Hastalık süresi, yıl	9,2 ± 4,4	-	
Tedavi (konvansiyonel / anti-TNF)	41 / 16	-	
Hasta global değerlendirmesi	4,0 (2,0-7,0)	-	
VAS (bel ağrısı)	5,0 (3,0-8,5)	-	
ESH, mm/sa	13,0 (6,0-27,0)	-	
CRP, mg/L	5,79 (3,45-16,30)	-	
BASDAI	3,4 (2,0-5,7)	-	
ASDAS-CRP	2,15 (1,72-3,72)	-	
BASMI	3,1 (2,4-4,2)	-	
BASFI	9,30 ± 3,51	-	
mSASSS	22,0 (20,0-25,5)	-	

Kısaltmalar: VKİ, vücut kütle indeksi; anti-TNF, anti-tümör nekrozis faktör; VAS, vizüel analog skala; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; CRP, C-reaktif protein; BASDAI, Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi); ASDAS-CRP, Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite Skoru-CRP); BASMI, Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi); BASFI, Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi); mSASSS, Modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score (modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Spinal Skoru) Numerik veriler, ortalama ± standart sapma veya ortanca (çeyrekler arası aralık değerleri) olarak, kategorik veriler sayı olarak verilmiştir.

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubunun serum HMGB1, RANKL, OPG düzeyleri ve KMY ölçümlerinin karşılaştırılması

	AS (n=61)	Sağlıklı Kontrol (n=25)	p
HMGB1, pg/ml	252,44 (183,39 – 332,69)	310,65 (179,98 – 427,59)	0,325
RANKL, pg/ml	146,47 (127,49 – 165,36)	131,72 (112,68 – 144,36)	0,006
OPG, pg/ml	261,34 (240,17 – 309,78)	304,93 (278,44 – 362,70)	0,002
RANKL/OPG	0,51 (0,44 – 0,64)	0,40 (0,38 – 0,48)	<0,001
Lomber KMY (L1-L4), gr/cm ²	0,922 (0,814 – 1,058)	1,011 (0,908 – 1,064)	0,083
Femur KMY, gr/cm ²	0,902 (0,798 – 0,982)	0,962 (0,831 – 1,020)	0,113

Kısaltmalar: HMGB1, high mobility group box-1; RANKL, receptor activator of nuclear factors-κB ligand; OPG, osteoprotegerin; KMY, kemik mineral yoğunluğu Veriler, ortanca (çeyrekler arası aralık değerleri) olarak verilmiştir.

Tablo 3. AS hastalarında klinik ve laboratuvar bulguları arasındaki korelasyonlar

	HMGB1		RANKL		OPG		RANKL/OPG	
	r	p	r	p	r	p	r	p
HMGB1	-	-	-0,142	0,275	-0,127	0,330	0,028	0,830
RANKL	-0,142	0,275	-	-	-0,080	0,540	0,594	<0,001
OPG	-0,127	0,330	-0,080	0,540	-	-	-0,799	<0,001
RANKL/OPG	0,028	0,830	0,594	<0,001	-0,799	<0,001	-	-
CRP	0,424	0,001	-0,165	0,203	-0,101	0,440	-0,017	0,899
ESH	0,239	0,064	-0,005	0,967	-0,063	0,627	0,068	0,603
BASDAI	0,288	0,024	-0,001	0,992	0,026	0,845	-0,023	0,861
ASDAS-CRP	0,329	0,010	-0,097	0,456	0,036	0,780	-0,070	0,592
BASMI	-0,055	0,672	0,001	0,994	0,008	0,950	0,010	0,939
BASFI	0,119	0,362	0,054	0,678	-0,028	0,829	0,010	0,937
Lomber KMY	-0,193	0,136	0,139	0,284	0,001	0,992	0,067	0,609
Femur KMY	-0,066	0,611	0,132	0,309	-0,197	0,128	0,194	0,134
mSASSS	-0,119	0,359	-0,045	0,732	0,128	0,325	-0,118	0,364

Kısaltmalar: HMGB1, high mobility group box protein 1; RANKL, soluble receptor activator of nuclear factors- κ B ligand; OPG, osteoprotegerin; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; CRP, C-reaktif protein; BASDAI, Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (Bath Ankilozan Spondilit Aktivite İndeksi) ASDAS-CRP, Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite Skoru-CRP); BASMI, Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (Bath Ankilozan Spondilit Metroloji İndeksi); BASFI, Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (Ankilozan Spondilit Fonksiyonel İndeksi); KMY, kemik mineral yoğunluğu; mSASSS, modifiye Stokes Ankilozan Spondilit Spinal Skoru (Modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score).

TARTIŞMA

Bu çalışmada, AS hastaları ile sağlıklı kontrol grubu serum HMGB1 düzeylerinin birbirine benzer olduğu gösterildi. Serum HMGB1 düzeyleri ile hastalık aktivite indeksleri olan BASDAI ve ASDAS-CRP'nin yanısıra CRP düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Buna karşın HMGB1 ile RANKL, OPG ve KMY arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Bu çalışma, AS hastalığının enflamatuvar patogenezinde rolü olduğu düşünülen HMGB1'in RANKL/OPG aksı ve KMY ile ilişkisini kapsamlı bir şekilde araştıran ilk çalışmadır.

Literatürde yapılan çalışmalarda, AS hastalarında HMGB1 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu rapor edilmiştir (13-15, 18). Bu çalışmada ise, literatürün tersine, AS hastalarında HMGB1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre düşük saptandı. Çalışmamız, AS hastalarında serum HMGB1 düzeyinin araştırıldığı daha önceki çalışmalar ile benzer sayıda ve klinik özelliklere sahip hasta ile gerçekleştirildi. Ancak diğer çalışmalardan farklı olarak hastaların %67,2'si indometazin dâhil konvansiyonel tedavi ve %26'sı anti-TNF tedavisi almaktaydı. Bu durum ortalama serum HMGB1 düzeyinin düşük çıkması ile ilişkili olabilir. Daha önce yapılan bir çalışmada, metotreksatin

HMGB1'deki RAGE bağlanma bölgesine bağlandığı ve moleküler-hücresele seviyede HMGB1-RAGE sinyalini inhibe ettiği gösterilmiştir (24). Diğer bir çalışmada da, endoskopik retrograd kolanjiopankreatografiden önce rektal yolla indometazin uygulanan hastalarda, HMGB1 ve TNF- α düzeylerinin işlem öncesine göre anlamlı düştüğü ve buna bağlı olarak işlem sonrası pankreatit gelişme riskinin anlamlı azalttığı öne sürülmüştür (25). Benzer şekilde anti-TNF tedavi ajanlarının anti-enflamatuvar etkisinde de HMGB1 aracılı bilinmeyen mekanizmalar rol alıyor olabilir. Wang ve ark. (15) yaptıkları çalışmada, önceki üç ay boyunca tedavi almayan 25 hastaya anti-TNF tedavi ve 16 hastaya konvansiyonel tedavi (NSAEİ ve sulfasalazin) başlamış ve altı ay boyunca takip etmiştir. Konvansiyonel tedavi grubu ile karşılaştırıldığında, anti-TNF grubunun HMGB1 düzeyi 1, 3 ve 6. ayda başlangıca göre anlamlı azalmış ve 6. ayda konvansiyonel ilaç grubunun HMGB1 düzeyi anti-TNF gruptan anlamlı yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada, AS hastaları serum HMGB1 düzeyleri ile hastalık aktivitesini yansıtan BASDAI ve ASDAS-CRP'nin yanısıra CRP değerleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Literatürde AS hastalarında serum HMGB1 düzeyleri ile has-

talık aktivitesi arasındaki ilişki açısından çelişkili bulgular elde edilmiştir. Oktayoğlu ve ark. (13) tarafından yapılan çalışmada, AS hastalarında serum HMGB1 düzeyi kontrol grubundan anlamlı yüksek bulunmasına rağmen hastalık aktivitesi ile HMGB1 arasında korelasyon saptanmamıştır. Diğer iki çalışma da ise AS hastalarında serum HMGB1 düzeyi kontrol grubundan anlamlı yüksek ve HMGB1 düzeyi hastalık aktivitesi ile pozitif korele bulunmuştur (14, 15). Söz edilen bu iki çalışmada, kontrol grubuna göre yüksek ölçülen serum HMGB1 değerlerinin, hastalık aktivitesi ve şiddetini yansıtan iyi bir laboratuvar belirteci olabileceği iddia edilmiştir. Bu çalışmaya dâhil edilen AS hasta grubundan elde edilen bulgular da bu sonucu desteklemektedir. Ayrıca Chen ve ark. (14) tarafından yapılan çalışmaya benzer şekilde, bu çalışmada serum HMGB1 düzeyleri ile en güçlü korelasyon gösteren parametre ASDAS-CRP düzeyleri ile idi. Ancak mevcut çalışmalar ve bizim çalışmamızdan elde edilen bulgular birlikte ele alındığında, HMGB1'in AS'de hastalık aktivitesini yansıtan iyi bir laboratuvar belirteci olarak kullanımının sınırlı olduğu söylenebilir. Bu nedenle, AS'de hastalık aktivitesi ile HMGB1 arasındaki ilişkiyi araştıran daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, AS'li hastalarda RANKL düzeyleri ve RANKL/OPG oranı sağlıklı kontrol grubundan anlamlı yüksek iken serum OPG düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan anlamlı düşük bulundu. Ancak, RANKL, OPG ve RANKL/OPG oranı ile CRP, ESH, hastalık aktivite indeksleri, BASFI, BASMI, mSASSS ve lomber veya femur KMY arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Bu bulgular AS'li hastalarda RANKL düzeylerinin yüksek bulunduğu daha önceki araştırmalar ile uyumludur (7, 9, 26). Buna karşın AS'li hastalarda RANKL düzeylerini kontrol grubuna göre düşük veya benzer bulan araştırmalarda mevcuttur (8, 27). Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz, çalışmalar arasındaki bu uyumsuzluğun küçük örneklem boyutu, ölçme yöntemlerindeki farklılıklar, farklı ırklar, enflamatuvar faktörler ve hastalık aktivitesi gibi bazı nedenlerle ilişkili olabileceğine işaret etti. Aynı meta-analizin kayda değer diğer bir bulgusu, yüksek ESH (>20 mm/sa), yüksek CRP (>10 mg/L), kısa hastalık süresi (≤8 yıl) ve yüksek BASDAI skoru (>4 puan) olan hastalarda serum RANKL düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğudur (10). Kim ve ark. (7) yaptıkları çalışmada, RANKL düzeylerini ve RANKL/OPG oranını AS'li hastalarda kontrol grubundan anlamlı yüksek bulmuştur. Yine aynı çalışmada, omurgada sindesmofitleri olan hastalarda RANKL/OPG oranı olmayanlara göre anlamlı düşük saptanmıştır. Buna karşın, çalışmamızla benzer şekilde RANKL/OPG oranı ile CRP, ESH, AS hastalık aktivite indeksleri, hastalık süresi veya KMY gibi klinik veriler arasında bir korelasyon olmadığı bildirilmiştir. İlginç olarak çalışmamızda AS'li hastalarda lomber ve femur KMY değerleri sağlıklı kontrol grubundan düşük olmasına rağmen

aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, çalışmamızda olduğu gibi AS'li hastalarda yüksek RANKL düzeyleri ve RANKL/OPG oranının gösterdiği bozulmuş denge KMY'deki azalma ile ilişkili gözükmemektedir.

Bu çalışmada, HMGB1 seviyeleri ile RANKL, OPG, RANKL/OPG, mSASSS ve KMY ölçümleri arasında anlamlı ilişki yoktu. Bu sonuç, HMGB1'in proenflamatuvar özelliklerinin yanı sıra RANKL, TNF- α ve IL-6'nın ekspresyonunu artırarak kemik üzerine rezorbtif etkilerini ortaya koyan önceki çalışmalarla uyumsuz gibi görünmektedir (17, 28). Hou ve ark. (18) yaptıkları çalışmada, AS'li hastalarda serum HMGB1 ve RANKL düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı yüksek olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, %0,03 oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün CD68+ mononükleer hücrelerden HMGB1'in sitoplazmik translokasyonunu ve ekstraselüler salınımını artırdığı gösterilmiştir. Ekstraselüler HMGB1 de CD68+ monositinde RANK ekspresyonunu, RANKL ile reaksiyona girerek osteoklast farklılaşmasını indüklemek için uyarılmıştır. Ayrıca, HMGB1'in iyi bilinen bir inhibitörü olan glisirizin ile RANKL ekspresyonu ve osteoklast oluşumu azalmıştır (29). Bu nedenle bulgularımız dolaşımdaki HMGB1 ve RANKL düzeylerinin AS'de kemik mikroortamında osteoklastogenezi uyarıcı HMGB1-RANKL ilişkisini yansıtmadığını düşündürmüştür. Osteoartritli hastalarla yapılan bir çalışmada, sinovyal sıvı HMGB1 düzeyleri kontrol grubundan yüksek ve osteoartritin radyografik şiddeti için bağımsız bir faktör olarak bulunmuştur. Ancak, aynı çalışmada serum HMGB1 düzeylerinin kontrol grubu ile benzer ve radyografik şiddet ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (30).

Bu çalışmada bazı kısıtlılıklar söz konusudur. Çalışmaya dâhil edilen hasta sayısının nispeten az olması nedeniyle tedavi gruplarına göre (konvansiyonel/anti-TNF tedavi) subgroup analizi yapılamadı. Bu çalışma, tek merkezden polikliniğe başvuran ve dâhil edilme kriterlerini karşılayan AS hastaları ile yapıldı. BASDAI skorlarına göre aktif ve inaktif hasta sayısı birbirine benzerdi. Ancak hasta grubu NSAİİ, sulfasalazin ve anti-TNF ilaçlar olmak üzere çok çeşitli ve değişik kombinasyonlarda ilaç kullanan hastalardan oluşuyordu. Bu durum hasta grubunda HMGB1 düzeylerini farklı yönlerde etkilemiş olabilir. Wang ve ark. AS hastaları ile yaptıkları bir çalışmada (15), anti-TNF tedavi grubunda tedavinin birinci ayında HMGB1 düzeylerinde anlamlı azalma tespit ederken, konvansiyonel tedavi grubunda başlangıç ile karşılaştırıldığında tedavinin birinci ayında HMGB1 düzeylerini birbirine benzer bulmuşlardır. Bu nedenle AS'de HMGB1'in klinik önemini değerlendirmek için planlanan ileriki çalışmalar hasta seçiminde bunu göz önünde bulundurmalıdır. Her ne kadar HMGB1 ile HLA-B27 arasında bir ilişki olmadığı rapor edilmiş olsa

da (15) bu çalışmada hasta ve kontrol grubunun HLA-B27 durumuna bakılmadı. Çalışmaya dâhil edilen katılımcıların fiziksel aktivite düzeyi ve/veya düzenli egzersiz yapmıyorlardı değerlendirilmedi. Bu nedenle gruplardaki (hasta/sağlıklı) düzenli egzersiz yapan katılımcıların sıklığı araştırılan parametrelerin düzeylerini etkilemiş olabilir. Egzersizin genel sağlığa ve yaşam kalitesine yararlı etkileri iyi bilinmektedir. Bunun yanı sıra düzenli egzersiz programları AS'li hastalarda ağrı, fonksiyon ve hastalık aktivitesini iyileştirebilir (31).

SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmada, serum HMGB1 düzeylerinin AS hastaları ile sağlıklı kontrol grubunda birbirine benzer olduğu bulundu. Serum HMGB1 düzeyleri ile hastalık aktivite indeksleri olan BASDAI ve ASDAS-CRP'nin yanı sıra CRP düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Buna karşın HMGB1 ile RANKL, OPG ve KMY arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Bu bulgular, HMGB1'in AS'nin enflamatuvar patogenezinde rol oynadığı hipotezini desteklemektedir. Ancak AS hastalarında serum HMGB1 düzeyleri RANKL-OPG aksı veya KMY ile ilişkili görünmemektedir.

Çıkar Çatışması: Bu çalışmada yazarlar çıkar çatışması bildirmemektedir.

Finansal Destek: Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından değerlendirildi ve desteklendi (TTU-2014-5575).

Etik Kurul Onayı: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (2014/533).

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/ Tasarım- İC, MÇ, CY; Veri Toplama- İC, EC; Veri Analizi/ Yorumlama-İC, MÇ, İG, EC, CY; Yazı Taslağı-İC, EC, İG; İçeriğin Eleştirel İncelenmesi- MÇ, CY; Son Onay ve Sorumluluk- İC, MÇ, CY.

KAYNAKLAR

1. Klavdianou K, Tsiami S, Baraliakos X. New developments in ankylosing spondylitis-status in 2021. *Rheumatology (Oxford)*. 2021;60(Suppl 6):vi29-vi37.
2. Mauro D, Thomas R, Guggino G, Lories R, Brown MA, Ciccio F. Ankylosing spondylitis: an autoimmune or autoinflammatory disease? *Nat Rev Rheumatol*. 2021;17(7):387-404.
3. Singh HJ, Nimarpreet K, Ashima, Das S, Kumar A, Prakash S. Study of bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(12):2832-5.
4. Klingberg E, Lorentzon M, Göthlin J, Mellström D, Geijer M, Ohlsson C, et al. Bone microarchitecture in ankylosing spondylitis and the association with bone mineral density, fractures, and syndesmophytes. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(6):R179.
5. Magrey M, Khan MA. Osteoporosis in ankylosing spondylitis. *Curr Rheumatol Rep*. 2010;12(5):332-6.

6. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473(2):139-46.
7. Kim HR, Lee SH, Kim HY. Elevated serum levels of soluble receptor activator of nuclear factors-kappaB ligand (sRANKL) and reduced bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis (AS). *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(10):1197-200.
8. Klingberg E, Nurkkala M, Carlsten H, Forsblad-d'Elia H. Biomarkers of bone metabolism in ankylosing spondylitis in relation to osteoproliferation and osteoporosis. *J Rheumatol*. 2014;41(7):1349-56.
9. Ni F, Zhang Y, Peng Y, Peng X, Li J. Serum RANKL levels in Chinese patients with ankylosing spondylitis: a meta-analysis. *J Orthop Surg Res*. 2021;16(1):615.
10. Chen M, Hu X, Wu M, Yang J, Han R, Ma Y, et al. Serum Levels of OPG, RANKL, and RANKL/OPG Ratio in Patients with Ankylosing Spondylitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Immunol Invest*. 2019;48(5):490-504.
11. Kang R, Chen R, Zhang Q, Hou W, Wu S, Cao L, et al. HMGB1 in health and disease. *Mol Aspects Med*. 2014;40:1-116.
12. Yang H, Wang H, Andersson U. Targeting Inflammation Driven by HMGB1. *Front Immunol*. 2020;11:484.
13. Oktayoglu P, Em S, Tahtasiz M, Bozkurt M, Ucar D, Yazmalar L, et al. Elevated serum levels of high mobility group box protein 1 (HMGB1) in patients with ankylosing spondylitis and its association with disease activity and quality of life. *Rheumatol Int*. 2013;33(5):1327-31.
14. Chen Y, Sun W, Li S, Ni J, Su Y, Wang C, et al. Preliminary study of high mobility group box chromosomal protein 1(HMGB1) in ankylosing spondylitis patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(2):187-94.
15. Wang C, Miao Y, Wu X, Huang Y, Sun M, Zhu Y, et al. Serum HMGB1 Serves as a Novel Laboratory Indicator Reflecting Disease Activity and Treatment Response in Ankylosing Spondylitis Patients. *J Immunol Res*. 2016;2016:6537248.
16. Dong Y, Ming B, Dong L. The Role of HMGB1 in Rheumatic Diseases. *Front Immunol*. 2022;13:815257.
17. Zhou Z, Han JY, Xi CX, Xie JX, Feng X, Wang CY, et al. HMGB1 regulates RANKL-induced osteoclastogenesis in a manner dependent on RAGE. *J Bone Miner Res*. 2008;23(7):1084-96.
18. Hou C, Luan L, Ren C. Oxidized low-density lipoprotein promotes osteoclast differentiation from CD68 positive mononuclear cells by regulating HMGB1 release. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;495(1):1356-62.
19. Akkoc Y, Karatepe AG, Akar S, Kirazli Y, Akkoc N. A Turkish version of the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index: reliability and validity. *Rheumatol Int*. 2005;25(4):280-4.
20. van der Heijde D, Lie E, Kvien TK, Sieper J, Van den

- Bosch F, Listing J, et al. ASDAS, a highly discriminatory ASAS-endorsed disease activity score in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(12):1811-8.
- 21.** Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SL, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol.* 1994;21(9):1694-8.
- 22.** Yanik B, Gürsel YK, Kutlay S, Ay S, Elhan AH. Adaptation of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index to the Turkish population, its reliability and validity: functional assessment in AS. *Clin Rheumatol.* 2005;24(1):41-7.
- 23.** Creemers MC, Franssen MJ, van't Hof MA, Gribnau FW, van de Putte LB, van Riel PL. Assessment of outcome in ankylosing spondylitis: an extended radiographic scoring system. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(1):127-9.
- 24.** Kuroiwa Y, Takakusagi Y, Kusayanagi T, Kuramochi K, Imai T, Hirayama T, et al. Identification and characterization of the direct interaction between methotrexate (MTX) and high-mobility group box 1 (HMGB1) protein. *PLoS One.* 2013;8(5):e63073.
- 25.** Li L, Liu M, Zhang T, Jia Y, Zhang Y, Yuan H, et al. Indomethacin down-regulating HMGB1 and TNF- α to prevent pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Scand J Gastroenterol.* 2019;54(6):793-9.
- 26.** Chen CH, Chen HA, Liao HT, Liu CH, Tsai CY, Chou CT. Soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in ankylosing spondylitis: OPG is associated with poor physical mobility and reflects systemic inflammation. *Clin Rheumatol.* 2010;29(10):1155-61.
- 27.** Taylan A, Sari I, Akinci B, Bilge S, Kozaci D, Akar S, et al. Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012;13:191.
- 28.** Bidwell JP, Yang J, Robling AG. Is HMGB1 an osteocyte alarmin? *J Cell Biochem.* 2008;103(6):1671-80.
- 29.** Li Z, Chen C, Zhu X, Li Y, Yu R, Xu W. Glycyrrhizin Suppresses RANKL-Induced Osteoclastogenesis and Oxidative Stress Through Inhibiting NF-kB and MAPK and Activating AMPK/Nrf2. *Calcif Tissue Int.* 2018;103(3):324-37.
- 30.** Li ZC, Cheng GQ, Hu KZ, Li MQ, Zang WP, Dong YQ, et al. Correlation of synovial fluid HMGB-1 levels with radiographic severity of knee osteoarthritis. *Clin Invest Med.* 2011;34(5):E298.
- 31.** Hu X, Chen J, Tang W, Chen W, Sang Y, Jia L. Effects of exercise programmes on pain, disease activity and function in ankylosing spondylitis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Invest.* 2020;50(12):e13352.