

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZİK TEDAVİ VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI
ROMATOLOJİ BİLİM DALI**

**ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA SERUM SOLUBLE
CD26 VE CD30 DÜZEYLERİ VE HASTALIK AKTİVİTESİ İLE
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Hasan ULUSOY**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayhan KAMANLI**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayhan KAMANLI

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayhan KAMANLI

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan, tez çalışmamda bana yol göstererek ufkumu açan, insani değerleri, hoş görüsü, etik değerleri ve derin tevazusu ile ömür boyu saygıyla anacağım hocam sayın Prof. Dr. Ayhan KAMANLI'ya, misafir perverliği ve tüm nezaketi ile birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşım sayın Yrd. Doç Dr. Arzu KAYA'ya, daha önce birlikte çalıştığım ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Özge ARDIÇOĞLU ve sayın Prof. Dr. Salih ÖZGÖÇMEN'e,

Tezimdeki özverili ve titiz katkılarından dolayı hocam sayın Prof. Dr. Necip İLHAN'a, verdiği destekle bu tezi yapabilmeme olanak sağlayan hocam sayın Prof. Dr. Ömer KURU'ya,

Elazığ'da geçirdiğim üç yıllık süre içerisinde, iyi günde ve kötü günde her zaman yanımda olan, daima minnetle anacağım, kara gün dostlarım olan ağabeyim sayın Murat Çelik ve değerli arkadaşım Uzm. Dr. Gürkan AKGÖL'e

Birlikte çalıştığım değerli asistan arkadaşlarım Dr Rabia Aydoğan, Dr Mehtap Kaçlık, Dr Bahar Çelikbağ, Dr.Günseli Karaca Acet, Dr. Emel Karakeçi, Dr Derya Çetintaş, Dr Nevsun Pıhtılı Taş, Dr Meral Orhan, Dr Sibel Ertürkler, Dr Ayşe Ülkü Aslan, Dr Tülün Kaya, Dr Semra Aktürk, Dr Gül Ayden Kal, Dr Türkan Tanyıldızı, Dr Gökhan Alkan, Dr Zeynep Sarıcan, Dr Mustafa Gür ve Dr Nevzat Yeşilmen'e,

Klinik hemşirelerimiz Şükran Sağın ve Nurcan Aynur'a, fizyoterapistlerimiz Nazmi Şekerci ve Gülnihan Deniz'e, klinik sekreterimiz Çiğdem İç'e, pesonellerimiz Ahmet Yılmaz, Kemal Yıldırım, Cabir Erdoğan, Nevzat Kozluk, Timur Öztekin, Ergün Temiz, Emine Erdoğan ve Hilmi Alemdaroğlu'na

Bu günlere gelmemde en büyük pay sahipleri olan fedakâr anne ve babama,

Son olarak eşim Deniz ve kızlarım Gülçin ve Ayçin'e sevgi, saygı ve minnet duygularımı sunarım.

31 Mayıs 2011, Elazığ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı romatoid artrit (RA) hastalarında serum soluble CD26 (sCD26) ve soluble CD30 (sCD30) düzeylerini sağlıklı kontrollerle karşılaştırmak ve bunların RA'teki klinik önemini belirlemektir.

Amerikan romatoloji cemiyetinin RA tanı kriterlerini karşılayan ve en az bir yıldır bu tanıyla takip edilen 48 RA'li hasta (38 kadın, 10 erkek) ve 30 sağlıklı kontrol (22 kadın, 8 erkek) çalışmaya dahil edilerek karşılaştırıldı. Hastalık aktivitesini değerlendirmek için hastalık aktivite skoru 28 (DAS28) hesaplandı. Fiziksel fonksiyon kapasitesi (*disability*) sağlık değerlendirme anketinin (HAQ) Türkçe versiyonuyla değerlendirildi. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C-reaktif protein (CRP) ve romatoid faktör düzeyleri rutin laboratuvar metodlarıyla belirlendi. Serum sCD26 ve sCD30 düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü. El eklemlerinin radyografik değerlendirilmesi modifiye Larsen skorlamasına göre yapıldı.

Yaş ve cinsiyet açısından RA'li hastalarla sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla $p = 0.641$ ve $p = 0.552$). Ortalama hastalık süresi 5.5 ± 4.5 (1-18) yıl ve ortalama DAS28 skoru 4.03 ± 1.48 (1.79-7.03) olarak bulundu. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında RA'li hastalarda serum sCD26 düzeyleri anlamlı derecede daha düşük ($p = 0.011$) iken sCD30 düzeyleri daha yüksekti ($p = 0.008$). Ortalama serum sCD26 düzeyleri açısından yüksek/orta hastalık aktiviteli grup ile düşük hastalık aktiviteli RA grubu arasında bir fark görülmezken ($p = 0.594$), serum sCD30 düzeyi yüksek/orta hastalık aktiviteli grupta anlamlı derecede daha yüksekti ($p = 0.018$). Hastalık aktivite göstergeleri ile serum sCD26 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, sCD30 düzeyleri ile hastalık aktivitesinin klinik ve laboratuvar göstergeleri (sabah tutukluğu, ağrı, hasta ve hekimin genel sağlık değerlendirmesi, şiş ve hassas eklem sayısı, DAS28, HAQ, ESR, CRP) arasında pozitif korelasyon vardı. Eklem hasarının radyolojik değerlendirilmesiyle sCD26 ve sCD30 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla $p = 0.574$ ve $p = 0.869$). Son olarak, sadece prednisolon kullanan hastalarla prednisolon + metotreksat kullananlar arasında sCD26 ve sCD30 düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla $p = 0.197$ ve $p = 0.309$).

Bu çalışma RA'li hastalarda serum sCD30 düzeylerinin yüksek olduğunu ve hastalık aktivitesiyle korele olduğunu göstermektedir. Bu nedenle serum sCD30

düzeyle hastalık aktivitesini takipte yeni bir parametre olabilir. Serum sCD26 düzeyle RA'te düşük olmasına rağmen bu durum hastalık aktivitesiyle ilişkisiz görünmektedir. Ancak bu bulguları doğrulamak için daha fazla katılımcının olduğu longitudinal çalışmalar gereklidir.

Anahtar kelimeler: Romatoid artrit, CD26, CD30, hastalık aktivitesi

ABSTRACT

SERUM SOLUBLE CD26 AND CD30 LEVELS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND THE ASSESSMENT OF THEIR RELATIONSHIP WITH DISEASE ACTIVITY

The aim of this study was to compare serum soluble CD26 (sCD26) and soluble CD30 (sCD30) levels in patients with rheumatoid arthritis (RA) and healthy controls and to determine their clinical significance in patients with RA.

Forty-eight patients (38 women, 10 men) with RA according to American College of Rheumatology criteria and at least one year follow up, enrolled in this study and compared with thirty healthy controls (22 women, 8 men). To evaluate disease activity, the disease activity score 28 (DAS28) was calculated. Physical function capacity (disability) was assessed with Turkish version of the health assessment questionnaire (HAQ). Erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) and rheumatoid factor levels were determined by routine laboratory methods. Serum sCD26 and sCD30 levels of the patients with RA and healthy controls were measured by ELISA. Radiographic assessment of hands joints was evaluated according to the modified Larsen score.

There was no significant difference with respect to the age ($p = 0.641$) and gender ($p = 0.552$) between patients with RA and healthy controls. The mean disease duration was 5.5 ± 4.5 (1-18) years and the mean DAS28 score was 4.03 ± 1.48 (1.79-7.03) in patients with RA. Serum sCD26 levels were significantly lower ($p = 0.011$) and sCD30 levels were significantly higher ($p = 0.008$) in patients with RA compared to healthy controls. While the mean sCD26 level was not different between the high/moderate active and low active patient groups ($p = 0.594$), the mean sCD30 level was significantly higher in the high/moderate active group than the low active group ($p = 0.018$). There was no relationship between serum sCD26 levels and disease activity parameters, whereas sCD30 levels were positively correlated with clinical and laboratory parameters of disease activity including morning stiffness, pain, patient's and physician's general health assessment, number of tender and swollen joints, DAS28, HAQ, ESR and CRP levels. There was no significant correlation between radiological scoring of joint damage and sCD26 or sCD30 levels ($p = 0.574$ and $p = 0.869$, respectively). Lastly, serum sCD26 and

sCD30 levels were not different between patients using only prednisolon and prednisolon plus methotrexate ($p = 0.197$ and $p = 0.309$, respectively).

This study shows that serum sCD30 levels are increased and correlated with disease activity in patients with RA. Thus, serum sCD30 levels may be a new parameter in following the disease activity. Although serum sCD26 is lowered in RA it seems to be unrelated to disease activity. Longitudinal studies including more participants is necessary to confirm these findings.

Key words: Rheumatoid arthritis, CD26, CD30, disease activity

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Tanım	1
1.2. Epidemiyoloji ve risk faktörleri	1
1.2.1. Genetik faktörler	1
1.2.2. Genetik dışı faktörler	2
1.2.3. Otoantijenler	3
1.3. Sinoviyal membran ve sinoviyal sıvı	5
1.3.1. Normal sinoviyal membran	5
1.3.2. Romatoid artritte sinoviyal membran	5
1.3.3. Romatoid artritte sinoviyal sıvı	8
1.4. Romatoid artrit ve immün sistem	8
1.4.1. T lenfositler	10
1.4.1.1. CD4 pozitif T lenfositler	11
1.4.1.2. CD8 pozitif T lenfositler	13
1.4.2. B lenfositler	13
1.4.3. Doğal öldürücü hücreler	16
1.4.4. Mast hücreleri	16
1.5. Romatoid artritte eklem hasarı	17
1.5.1. Kıkırdak yıkımı	17
1.5.2. Kemik yıkımı	18
1.6. İnflamasyonu yönlendiren sitokinler	19
1.6.1. Makrofaj ve fibroblast kaynaklı sitokinler	19
1.6.2. T lenfosit kaynaklı sitokinler	22

2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3. BULGULAR	30
4. TARTIŞMA	36
5. KAYNAKLAR	44
6. EKLER	65
7. ÖZGEÇMİŞ	69

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Modifiye Larsen skorlaması	29
Tablo 2.	Romatoid artritli hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda demografik, klinik ve laboratuvar özellikler	30
Tablo 3.	Romatoid artritli hastaların tedavi protokollerine göre dağılımı	31
Tablo 4.	Romatoid artritli hastalar ve kontrol grubunda serum sCD30 ve sCD26 düzeylerinin karşılaştırılması	31
Tablo 5.	Yüksek/orta hastalık aktivitesi olan romatoid artritli hastalar ile düşük hastalık aktivitesi olanların karşılaştırılması	32
Tablo 6.	Erken ve geç romatoid artrit olgularının karşılaştırılması	33
Tablo 7.	Prednisolon monoterapisi alan romatoid artritli hastalarla metotreksat + prednisolon alan hastaların karşılaştırılması	34
Tablo 8.	Romatoid artritli hastalarda serum sCD30 ve sCD26 düzeyleri ile çeşitli klinik ve laboratuvar parametreler arasındaki ilişki	35

KISALTMALAR LİSTESİ

BCR	: B Cell Receptor
CCP	: Cyclic Citrullinated Peptide
CD	: Cluster Differentiation
CRP	: C-reaktif protein
CTLA-4	: Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4
DAS	: Hastalık Aktivite Skoru
DKK	: Dickkopf
DMARD	: Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs
EBV	: Epstein Bare Virus
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assays
ENA	: Epithelial Neutrophil Activating Peptide
ESR	: Eritrosit Sedimentation Rate
GM-CSF	: Granulocyte Monocyte-Coloni Stimulating Factor
GSD	: Genel Sağlık Değerlendirmesi
HAQ	: Sağlık değerlendirme anketi
HLA	: Human Leukocyte Antigen
ICAM	: Intercellular Adhesion Molecule
IL	: Interleukin
JAK	: Janus Kinase
MAF	: Macrophage Angiogenic Factor
M-CSF	: Macrophage-Coloni Stimulating Factor
MHC	: Major Histocompatibility Complex
Mtx	: Metotreksat
NFAT	: Nuclear Factor of Activated T Cells
NF-kB	: Nuclear Factor-kappa B
NK	: Natural Killer
OPG	: Osteoprotegerin
PAF	: Platelet Activating Factor

RA	: Romatoid Artrit
RANK	: Receptor Activator of Nuclear Factor-kappa-B
RF	: Romatoid Faktör
STAT	: Signal Transducers and Activators of Transcription
TCR	: T Cell Receptor
TFG	: Transforming Growth Factor
TNF	: Tumor Necrosis Factor
VCAM	: Vascular Cell Adhesion Molecule
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
VLA	: Very Late Antigen

1. GİRİŞ

T lenfositler otoimmün hastalıklarda inflamasyonu yönlendiren orkestra şefi gibi görev yaparlar (1). Cluster Differentiation (CD)-4 pozitif T lenfositler proliferasyonları sırasında ortamda bulunan sitokinlere bağlı olarak T helper-1 (Th1) veya T helper-2 (Th2) alt gruplarına farklılaşırlar. Th1 hücreleri hücrel immüniteyi aktive etmekte ve interleukin (IL)-2, IL3, interferon (INF)-gama ve tumor necrosis factor (TNF)-alfa gibi proinflamatuvar sitokinleri üretmektedir. Th2 hücreleri ise humoral immüniteyi aktive etmekte ve anti-inflamatuvar sitokinler olan IL4, IL10 ve IL13 sekresyonu yapmaktadır (2). Romatoid sinovitte tespit edilen sitokin paterni Th1 hücrelerin hakimiyetini desteklemektedir; artritik eklemlerde TNF-alfa ve INF-gama sitokinleri yüksek düzeylerde bulunurken IL4 nadiren tespit edilmektedir (1, 3, 4). Ayrıca CD4+ T lenfositleri Th1 hücelere dönüştüren ve makrofaj kaynaklı bir sitokin olan IL12 düzeyleri de yüksek bulunmaktadır (5). Diğer taraftan tutulan eklemlerde IL10 ve IL6 sitokinlerinin de yüksek bulunması Th2 hücrelerinde bir aktivite artışı olduğuna işaret etmektedir (1, 3, 5, 6). Günümüzde artritik eklemlerdeki inflamasyon şiddetinin sinoviyumda bulunan proinflamatuvar (Th1 tipi) sitokinlerle anti-inflamatuvar (Th2 tipi) sitokinler arasındaki dengesizliğe bağlı olduğu düşünülmektedir (7, 8). Ancak hastalığın erken evrelerinde anti-inflamatuvar sitokinleri üreterek inflamasyonu baskılamaya yönelik olan Th2 aktivitesi kronik dönemde B lenfosit aktivasyonuna neden olarak humoral immün yanıtı ve dolayısıyla da inflamasyonu artırıyor olabilir (6, 9).

Cluster Differentiation-26 (CD26) molekülü Th1 hücreleri tarafından yüksek miktarlarda eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir (10). Cluster Differentiation-30 (CD30) molekülü ise aktive Th2 hücreleri tarafından eksprese edilmektedir (9, 11). Hücre yüzeyinde eksprese edilen CD26 ve CD30 moleküllerinin bir kısmı serbest halde plazma ve vücut sıvılarına salınmaktadır. Vücut sıvılarına geçen bu *soluble* formlar (sCD26 ve sCD30) ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assays*) yöntemi ile ölçülerek klinik araştırmalarda Th1 ve Th2 hücre markırı olarak kullanılabilir (9, 12-13).

Bu güne kadar yapılan az sayıdaki klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar romatoid artrit (RA) hastalarında serum sCD26 düzeylerinin düşük, serum sCD30 düzeylerinin ise yüksek olduğu yönündedir (14-18). RA Th1 hücre aracılı otoimmün

bir hastalık olmasına rağmen bu hücreler tarafından sekrete edilen sCD26 düzeylerinin düşük bulunması bir paradoks gibi görünmektedir. Diğer taraftan serum sCD26 ve sCD30 düzeylerinin hastalık aktivite ve sonuç parametreleri ile ilişkisi halen tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmamızın amacı RA'li hastalarda serum sCD26 ve sCD30 düzeyleri ve bunların hastalık aktivitesiyle ilişkisini araştırmaktır.

1.1. Tanım

Romatoid artrit (RA) sistemik otoimmün bir hastalıktır ve en sık görülen kronik inflamatuvar artropatidir (19). Etkilenen hastalar kronik inflamasyonun neden olduğu eklem hasarına bağlı olarak ağrı ve fonksiyon kayıplarından yakınır. Hastalık küçük sinoviyal eklemleri daha sık etkilemekle birlikte ağırlık taşıyan büyük eklemler ve aksiyel iskelet tutulumu da görülebilmektedir. Hastalığın seyri sırasında eklemler dışında diğer organların tutulumlarına da rastlanabilmektedir ve bunlar ekstraartiküler tutulumlar olarak adlandırılırlar (20). Önceleri kronik benign seyirli ve mortaliteyi arttırmayan bir hastalık olarak bilinse de tarihi akış içerisinde bu görüş tam tersi yönde değişmiştir. Bu gün hastalığın yaşam kalitesini ciddi şekilde bozduğu, normal popülasyona göre mortalite riskini arttırdığı, artmış tedavi gideri ve iş gücü kaybına bağlı olarak topluma büyük bir mali yük getirdiği bilinmektedir. Bu ciddi hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi ve daha etkili tedavisi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (21, 22).

1.2. Epidemiyoloji ve risk faktörleri

Hastalığın prevalansı Avrupa ve kuzey Amerika ülkelerinde %0.5 ile %1 arasında bildirilmektedir. Ancak Asya ülkelerinde RA prevalansı daha düşük (%0.2-0.3) olarak bulunmuştur. Bu coğrafi ve etnik farklılıklar hastalığın patogenezinde çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığına işaret etmektedir (21, 23, 24).

1.2.1. Genetik faktörler

Bazı genetik faktörlerin RA'e yatkınlığı arttırdığı bilinmektedir (25-27). Bunun en iyi kanıtı RA'li hastaların birinci derece akrabalarında RA riskinin genel popülasyona göre 1.5 kat artmış olmasıdır. Çift yumurta ikizlerinde hastalığın birlikte görülme riski %3.5 iken tek yumurta ikizlerinde bu oran %15'e kadar çıkmaktadır (19).

Hastalık için en önemli genetik risk belirli MHC (*Major Histocompatibility Complex*) diğer adıyla HLA (*Human Leukocyte Antigen*) alelleri ile taşınmaktadır. Serolojik tiplendirme yöntemiyle yapılan araştırmalar HLA-DR1 ve DR4 alellerinin artmış RA prevalansı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Günümüzde HLA tiplendirme yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde aleller arasındaki farklılıklar nükleotid düzeyinde belirlenebilmektedir. Bu yöntemlerle yapılan araştırmalar RA'li hastalarda HLA-DR beta zincirindeki ortak bir aminoasit sekansına işaret etmektedir. Hastalığa yatkınlığı arttıran bu aminoasit sekansı ortak (*shared*) epitop (HLA-DRB1) olarak adlandırılmaktadır. Hastalık patogenezinde rol alan en önemli hücreler olan T lenfositler bu ortak epitopu tanıyarak reaksiyon gösterir ve antikor üretimi için B lenfositleri uyarır (24, 25, 28). Yapılan araştırmalar HLA-DRB1 alellini taşıyanlarda artmış RA riski ile birlikte *cyclic citrullinated peptide*'lere karşı antikor (anti-CCP) geliştirmeye yatkınlığın da arttığını göstermektedir. Anti-CCP antikorların RA tanısı için spesifitesinin oldukça yüksek olduğu bilinmektedir (29).

Yaşlanma RA için bir risk faktörüdür. RA'li hastalarda immün sistem hücrelerinin (T ve B lenfositler, granülositler) daha erken yaşlandığı kromozomlarda bulunan telomer bölgesinin daha kısa olmasından anlaşılmaktadır. Yapılan araştırmalar HLA-DR4 alellini taşıyanlarda immün sistem hücrelerinin daha erken yaşlandığı görülmüştür (30).

T lenfositlerde genetik defekt sonucu bozulan apoptozis mekanizması (programlanmış hücre ölümü) RA patogenezinde suçlanan nedenler arasındadır. Bir tümör süpresör gen olan p53 genindeki defekt, bu genin ürünü tarafından düzenlenen apoptozisin bozulmasına ve defektif T lenfositlerin daha uzun yaşamasına neden olabilir. Yapılan çalışmalar RA'li hastalarda sinoviyum ve periferik dolaşımdaki mononükleer hücrelerde bu gendeki fonksiyon bozukluğuna işaret etmektedir (26, 27).

1.2.2. Genetik dışı faktörler

Kadınlarda RA görülme riski erkeklere göre 3 kat daha fazladır. Bu durum östrojen ve progesteron gibi hormonal faktörlere bağlı olabilir. Östrojenin B lenfosit apoptozunu azalttığı bilinmektedir. Ancak cinsiyetin hastalığa etkisi oldukça kompleksdir. Zira gebelik sırasında hastalık sıklıkla remisyona girerken doğum sonrası bir alevlenme görülmektedir. Bu durum plasentadan salgılanan TGF-beta

(*Transforming Growth Factor-beta*) ve IL-10 (*Interleukin-10*) gibi inhibitör sitokinlere bağlı olabilir. Ayrıca gebelik sırasında immün sisteminde tip 2 yardımcı T lenfosit (*Th2*) yönünde bir kayma olduğu bilinmektedir, bu durum Th1 ağırlıklı bir hastalık olan RA şiddetinde azalmaya yol açabilir (21, 23, 24).

Sigara içmenin RA gelişme riskini arttırdığı ve sigara içenlerde romatoid faktör (RF) ve anti-CCP antikorlarının oluşumunu tetiklediği bilinmektedir. Nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte sigara dumanının hava yollarında oluşturduğu kronik inflamasyon suçlanmaktadır (31).

Enfeksiyonlar uzun yıllardır hastalığı başlatan faktörler olarak suçlanmakla birlikte kesin bir enfeksiyon ajanı belirlenememiştir. RA'li hastaların eklem sıvılarında çeşitli bakteriyel ve viral antijenler (DNA/RNA parçacıkları, peptidoglikanlar gibi) gösterilse de bu bulgu spesifik değildir ve diğer eklem hastalıklarında da görülebilmektedir. Bu antijenler *Toll-like* reseptörler aracılığı ile doğal immüniteyi tetikleyebilmekte, takiben adaptif immün yanıt gelişebilmektedir (21, 23, 24).

Üzerinde en çok durulan enfeksiyon ajanları ise virüslerdir. Özellikle EBV (*Ebstein Barr Virus*) üzerinde yoğunlaşmıştır. EBV enfeksiyonu poliklonal B lenfosit aktivasyonu ve RF üretimini tetikleyebilir. RA'li hastaların sinoviyumlarında EBV'ne ait RNA üretimi gösterilmiştir. Ayrıca virüse ait proteinler ortak epitopla benzer aminoasit dizilimine sahiptir ve çapraz reaksiyona yol açabilir (32).

Suçlanan bir diğer virüs enfeksiyonu da parvovirüs B19'dur. Parvovirüs B19 DNA'sına RA'li hastaların sinoviyal sıvısında kontrol grubuna göre daha sık rastlanmıştır. Ancak yeni tanı konulan hastaların yalnızca %5'inde yakında geçirilmiş bir parvovirüs B19 enfeksiyonu gösterilebilmektedir (33).

1.2.3. Otoantijenler

Bilinmeyen artritogenik bir antijen ya da antijenler tarafından immün yanıt başlatıldıktan sonra T lenfositler tarafından tanınan bazı otoantijenler (self antijenler) immün yanıtın süreklilik kazanmasına katkıda bulunabilirler. Bunlara örnek olarak tip II kollajen, kartilaj glikoprotein-39, immüoglobülin-G (IgG), sitrüllinlenmiş peptidler ve ısı şok proteinleri verilebilir (34-38).

Tip II kollajen vucutta sadece eklem kıkırdağı ve gözde bulunmaktadır. RA'li hastaların eklemlerinde oksijen radikalleri tarafından yapısı değiştirilmiş yani

antijenik özellik kazanmış tip II kollajene rastlanmaktadır, bunlar antikorla birleşerek eklemden antijen-antikor kompleksleri oluşturabilirler (34). Ayrıca RA'li hastaların eklem sıvısından elde edilen T lenfositlerin in-vitro olarak tip II kollajene karşı reaksiyon verdiği ve proliferasyon gösterdiği görülmektedir. Deney hayvanlarının tip II kollajenle immünizasyonu da kronik eklem inflamasyonunu tetiklemektedir. Tüm bu veriler tip II kollajenin immün yanıtta ve inflamasyona katkıda bulunabileceğini göstermektedir (39, 40).

Kartilaj glikoprotein-39 sinoviyal hücreler ve kondrositler tarafından özellikle doku hasarı olan bölgelerde üretilen bir moleküldür. Bu molekülden elde edilen antijenlerin insan T lenfositlerini stimüle ettiği görülmüştür (41). Ayrıca RA'li hastaların sinoviyumlarında osteoartritli hastalara göre dendritik hücreler tarafından T lenfositlere çok daha fazla glikoprotein-39 antijeni sunulduğu görülmüştür (35).

İmmünoglobülin G uzun yıllardır RA patogenezinde suçlanan bir moleküldür. RA'li hastalardan elde edilen T lenfositler oksidatif olarak yapısı değiştirilmiş IgG'ye karşı in-vitro ortamda reaksiyon verirler ve proliferasyon olarak IL2 üretirler. İnflamatuar hücreler tarafından üretilen serbest oksijen radikalleri IgG'lerin kovalent bağlarla birbirine bağlanmasına ve immün kompleks özellik gösteren agregatlar (birikimler) oluşturmasına neden olmaktadır (36, 42).

Günümüzde otoimmün hastalıkların etyopatogenezinde posttranslasyonel protein modifikasyonu üzerinde durulmaktadır. Posttranslasyonel modifikasyon sonrası yeni antijenik epitopların (*neoepitopes*) ortaya çıktığına inanılmaktadır. Bunlardan en iyi bilineni proteinlerin yapısında bulunan arginin amino asidinin posttranslasyonel modifikasyonla citrullin aminoasidine çevrilmesi ve bu proteinlere karşı otoantikorların gelişimidir (43, 44). Bir diğer posttranslasyonel modifikasyon da proteinlerin glikozilasyonudur. HLA-DR4 transgenik farelerde ve RA'li hastalarda glikozillenmiş epitoplara karşı reaksiyon gösteren T lenfosit klonları gösterilmiştir (45).

Anti-CCP antikorların RA için spesifitesi oldukça yüksektir. Sitrülinizasyon *peptidyl deiminase* enzimi tarafından arginin aminoasidinin sitrülline dönüştürülmesiyle gerçekleşir. En sık fibrinojen, fibrin ve vimentindeki arginin sitrülline çevrilmektedir. T lenfositler bu peptidlere karşı reaksiyon göstererek proliferasyon göstermektedir ve B lenfositleri uyararak bu yeni oluşan peptidlere karşı antikor

(anti-CCP) yapımına neden olmaktadır. Bu antikorlar RA için prognostik değere sahiptir ve hastalığın şiddetli seyredeceğini gösterir. Ancak anti-CCP antikorlar RA dışındaki diğer inflamatuvar artritlerde, multiple sclerosis hastalarında ve sigara içenlerde de pozitif olabilmektedir (37, 46, 47). HLA-DRB1 ortak epitop taşıyanlarda anti-CCP antikorların oluşumu daha sıktır (48).

1.3. Sinoviyal membran ve sinoviyal sıvı

Romatoid artritli hastalarda birincil hedef eklemlerdir ve inflamasyon esas olarak sinoviyal dokuda gelişmektedir. Sinoviyal biyopsi ve sinoviyal sıvı çalışmaları hastalık patogenezinin anlaşılmasında önemli ip uçları vermiştir. Romatoid sinoviyumda bulunan inflamatuvar hücrelerin yaklaşık yarısı T lenfositlerden oluşmaktadır, bunların da büyük çoğunluğu CD4+ (*Cluster Differentiation-4+*) T lenfositlerdir (49-51).

1.3.1. Normal sinoviyal membran

Normal sinoviyal membran intimal ve subintimal olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. İntimal tabaka bir-iki katlı hücre dizisinden oluşur ve altında bazal membran bulunmaz. Subintimal tabaka intimal tabakanın altında bulunur ve kan damarları, lenfatik damarlar ve sinir uçları içeren hücreden fakir gevşek bağ dokusundan oluşmuştur. İntimal tabaka hemen hemen eşit oranda bulunan iki farklı sinoviyal hücreden oluşmaktadır. Bunlar makrofaj benzeri sinoviyositler (tip A sinoviyositler) ve fibroblast benzeri sinoviyositler (tip B sinoviyositler) olarak adlandırılır. Tip A sinoviyositler fagositoz yaparlar ve makrofajlara benzer pek çok marker presente ederler. Tip B sinoviyositler ise kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezinden sorumludurlar ve hiyaluronik asit sentezleyerek kıkırdak yüzeyler arasında lubrikasyon sağlarlar (52, 53).

1.3.2 Romatoid artritte sinoviyal membran

Romatoid sinoviyumda en erken görülen patolojik yanıtlardan biri yeni kan damarlarının oluşumu yani neovaskülarizasyondur. Neovaskülarizasyonla birlikte sinoviyal sıvıda artış, lenfositlerin sinoviyuma göçü ve polimorfonükleer lökositlerin sinoviyal sıvıya geçişi görülür. Yeni kan damarlarının oluşamaması halinde üzerinde sinovit gelişecek ana yapı oluşamayacağından RA anjiogenez bağımlı bir hastalık olarak bilinir (54, 55). Hastalık ilerledikçe tip A ve tip B sinoviyositlerin aşırı proliferasyonu sonucu intimal tabakadaki normalde bir-iki kat olan hücre kalınlığı

dokuz-on kata kadar çıkar. İntimal tabakadaki tip B sinoviyositler (fibroblast benzeri hücreler) ve sinoviyal makrofajlar TNF-alfa (*Tumor Necrosis Factor-alfa*), IL1, IL6, IL8 gibi inflamatuvar sitokinlerin ve yıkıcı proteazların ana kaynağıdır ve eklem yıkımında önemli rol oynarlar. Subintimal tabakadaki yoğun mononükleer lökosit infiltrasyonu, vasküler proliferasyon ve ödem sonucu sinoviyal membranda aşırı kalınlaşma olur. Eklem içerisine uzanarak komşu kıkırdak ve kemik dokuya invaze olan ve villöz proliferasyonlar oluşturan bu hipertrofik sinoviyal membrana pannus denir. Artmış kan damarlarına rağmen pannus dokusunun kan ihtiyacı tam sağlanamaz ve lokal iskemi oluşur. İskemi sonucu neovaskülarizasyonu stimüle eden sitokinler olan VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), MAF (*Macrophage Angiogenic Factor*), ENA-78 (*Epithelial Neutrophil Activating Peptide-78*), prostoglandin E1/E2, IL8 ve angiopoietin-1 düzeyleri daha da artar (54, 56). Anahtar proinflamatuvar sitokin olan TNF-alfa angiopoietin-1 reseptör üretimini arttırarak dolaylı yoldan anjiogenezi stimüle etmektedir (57). Diğer taraftan INF-gama (*Interferon-gama*), IL1, TGF-beta, endostatin ve angiostatin anjiogenezi inhibe etmektedir (58, 59). IL8'e karşı geliştirilen antikorların da in-vitro ortamda romatoid sinoviyumda anjiogenezi baskıladığı gösterilmiştir (60).

Romatoid sinoviyumda bir taraftan yeni damarlar oluşurken diğer taraftan proinflamatuvar sitokinler (TNF-alfa, IL1, IL6, INF-gama) aracılığıyla endotelial hücreler aktive edilerek ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*), VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule-1*), E-selectin ve P-selectin gibi hücresele adezyon moleküllerinin üretimi uyarılır. Bu hücresele adezyon molekülleri aktive lökositlerin diapedesisini yani ekleme geçişini hızlandırır (61, 62).

Romatoid sinoviyum esas olarak mononükleer hücreler olan T ve B lenfositler, plazma hücreleri, NK (*Natural Killer*) hücreler ve makrofajlar tarafından infiltre edilmektedir. Bunlar subintimal tabaka boyunca diffüz dağılım gösterebildiği gibi sekonder lenfoid folliküller de oluşturabilirler. Biyopsi çalışmalarının sonuçlarına göre sinoviyal membranı infiltre eden lökositlerin yarısından çoğunu T lenfositler, bunların da çoğunluğunu CD4+ T lenfositler oluşturur. Sinoviyal membranda CD4+ T lenfositlerin CD8+ T lenfositlere oranı 5:1 ile 10:1 arasında değişmektedir (49-51). Sinoviyal membrandaki CD4+ T lenfositler çoğunlukla CD45RO+ hafıza hücreleridir ve tip 1 yardımcı T lenfosit (T helper1, Th1)

fenotipinde oldukları görülür, yani Th1 hücreleri için spesifik olan kemokin reseptörleri (CCR4, CCR5, CXCR3) taşırlar (51, 63-66). İmmünohistokimyasal çalışmalar romatoid sinoviyumda CD4+CD25+ immüno-regülatör T lenfositlerin (Treg) rölatif eksikliğine işaret etmektedir. Bu durumun süpresör aktivitede azalmaya ve inflamasyona neden olabileceği düşünülmektedir (49, 67).

Biyopsi çalışmaları tutulan eklemlerde sinoviyumdakine benzer şekilde ekleme komşu kemik iliğinde de lenfositik infiltrasyon olduğu, bu infiltrasyonun şiddetiyle orantılı olarak osteoklast sayısının arttığını göstermiştir. Bu durum tutulan eklemlerdeki periartiküler osteoporozdan sorumlu mekanizma olabilir (68).

Romatoid sinoviyumda polimorfonükleer lökositlerin çok az olması, buna karşılık sinoviyal sıvıda yüksek oranlarda bulunmasının sebebi nötrofillerin VLA-4 (*Very Late Antigen-4*) molekülünü eksprese edememelerine bağlıdır. Bu nedenle nötrofiller sinoviyal dokudaki VCAM-1'e bağlanamayarak sinoviyal sıvıya geçerler. Oysa lenfositler yüksek miktarda VLA-4 molekülü (CD29/CD49d) eksprese ederler ve böylece sinoviyal dokudaki VCAM-1 ve fibronektine bağlanarak sinoviyumda yüksek sayılara ulaşırlar (69).

Normal sağlıklı insanlardan elde edilen sinoviyal fibroblastların aksine RA'li hastalardan elde edilen sinoviyal fibroblastlar farelere transver edildiklerinde eklem kırıkdağı ve subkondral kemikğe invaze olarak yıkıma ve erozonlara neden olmaktadır. Bu sinoviyal hücrelerde DNA hasarı olmasına rağmen apoptozise uğramadıkları görülmüştür. Bu durumun major tümör süpressör gen olan p53 genindeki somatik bir mutasyon sonucu olabileceği düşünülmektedir. Deneysel hayvan modellerinde p53 geni fonksiyon kayıpları sinoviyal hücrelerde azalmış apoptoz, sinoviyal hiperplazi ve kırıkdağ invazyonuyla sonuçlanmıştır (70, 71). RA'li hastalarda yıkıcı enzimler olan matriks metalloproteinazlarının (collagenase, elastase, gelatinase, stromelysin) en önemli kaynağı sinoviyal fibroblastlardır. Tetrasiklinler bu enzimlerin yapısında bulunan çinko veya kalsiyum ile şelat yaparak enzimatik aktivitelerini inhibe ederler. Bu etkileri nedeniyle RA tedavisinde kullanılabilirler (72). Fibroblast benzeri sinoviyal hücrelerin bir diğer önemli özelliği de adenzin deaminaz aktivitelerinin yüksek olmasıdır. Böylece antiinflamatuvar bir molekül olan adenzinin eklemdeki düzeyi azalmaktadır. Tedavide kullanılan temel ilaçlardan biri olan metotreksat adenzin üretimini arttırarak etki etmektedir (73).

Romatoid sinoviyumda ayrıca multinükleer hücelere ve artmış miktarda mast hücelerine de ratlanmaktadır. Multinükleer hüceler önemli miktarda matriks metalloproteinaz enzimi üretebilme yeteneğine sahiptir (74). Mast hüceleri romatoid sinoviyumda önemli derecede artmıştır. Bu hüceler çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri, histamin, prostaglandin ve lökotrienleri sekrete etmelerinin yanında matriks metalloproteinazlarını aktive eden tryptase enzimini sekrete ederek inflamasyonda rol alır (75).

1.3.3. Romatoid artritte sinoviyal sıvı

Normal eklemlerde fizyolojik miktarda bulunan sinoviyal sıvı eklem lubrikasyonu için gereklidir. Artritli eklemlerde ise artmış vasküler geçirgenliğe bağlı olarak sinoviyal sıvı miktarında dramatik bir artış görülür. Sinovital membranda CD4+ T lenfositler dominant iken sinoviyal sıvıda polimorfonükleer lökositler (nötrofiller) dominant hücelerdir, bununla birlikte T lenfositler (özellikle CD8+), makrofajlar, NK hüceler ve fibrblastlar da görülür. Bu lökosit geçişinde kompleman 5a, lökotrien-B4 ve PAF (*Platelet Activating Factor*) ve IL8 gibi kemotaktik faktörler önemli rol oynar. Polimorfonükleer lökositlerin mononükleer hücelere göre eklem sıvısına daha fazla geçiş nedeni daha az adezyon molekülü eksprese etmeleri olabilir (19, 76-79).

Eklem aralığına geçen polimorfonükleer lökositler burada antijen-antikor kompleksleri veya hücre parçacıkları tarafından aktive edilir. Aktive olan bu lökositlerde serbest oksijen radikalleri, araşidonik asit metabolitleri (prostaglandinler, lökotrien-B4), IL1-beta üretimi artar, degranülasyon yolu ile ortama çeşitli yıkıcı enzimler (collagenase, elastase, myeloperoxidase, lysozyme) salınır. Bunlar bir yandan eklem yapılarına direkt yıkıcı etki gösterirken diğer yandan sinoviyal inflamasyonu şiddetlendirirler (19, 21, 23, 80).

Romatoid sinoviyal sıvının oksijen düzeyi düşüktür. Hipoksi ve iskemi bir yandan neovaskülarizasyon ve vasodilatasyonu uyararak ortama lökosit göçünü arttırırken diğer yandan sinoviyal hücelerden matriks metalloproteinazlarının salınımını arttırır, ayrıca siklooksijenaz enzimi aktivasyonu ile prostaglandin yapımını arttırır (81).

1.4. Romatoid artrit ve immün sistem

Normal sağlıklı bir kişide immün yanıt doğal immün sistem hücreleri (makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, NK hücreler) ve komplemanın antijenle karşılaşması sonucu başlar. Antijen ortadan kaldırılırken doğal immün sistem hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ortama daha çok fagositer hücre çeker. Burada antijenle karşılaşan dendritik hücreler lenfoid dokulara göç ederek buralardaki T ve B lenfositlerde klonal ekspansiyona neden olur (82-84). İmmün yanıt giderek spesifikleşir yani T ve B lenfositlerde antijene spesifik reseptörler ortaya çıkar, başlangıçta sekrete edilen non-spesifik IgM tipi antikorların yerini spesifik IgG tipi antikorlar almaya başlar. CD8 pozitif T lenfositler enfekte hücreleri direkt lizise uğrattırken, CD4 pozitif T lenfositler bir yandan B lenfosit cevabını yönetir, diğer yandan fagositer hücrelerin patojeni nötralize etme yeteneğini artırır. Patojenin ortadan kaldırılması ile doğal immün sistem hücrelerinin aktivitesi giderek azalır, T lenfosit klonunda apoptozis başlar ve inflamatuvar yanıt zamanla söner. Aktifleşmiş T ve B lenfositlerin bir kısmı hafıza T ve B lenfositlerine dönüşerek aynı patojenle ikinci karşılaşmada daha hızlı bir immün yanıt oluşmasını sağlar. Eğer başlangıçtaki immün yanıt kontrol altına alınamazsa inflamasyon kronikleşir, bu durumda doğal ve adaptif immün sistem hücreleri aralıksız olarak aktivitelerine devam eder ve sonuçta otoimmün hastalıklar ortaya çıkar (21, 23, 83, 84).

Romatoid artrit patogenezinin hem doğal hem de adaptif immünitenin katıldığı bilinmektedir. Tetiği çeken esas mekanizma genetik olarak yatkın bir kişide, bilinmeyen endojen veya eksojen bir antijenin sinoviyal dokuda doğal immün sistem hücrelerini aktive etmesidir. Sonuçta açığa çıkan inflamatuvar sitokinler sinoviyal makrofajları ve sinoviositleri aktive eder, bu hücreler de inflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri üreterek eklemde daha fazla lökosit çeker. Ayrıca eklemdeki antijenleri işleyerek lenfoid organlara göç eden dendritik hücreler buralarda T ve B lenfositleri aktive eder. Aktive olan bu lenfositler de kemokinlerin etkisiyle eklemde göç eder. Bu lenfositler eklemde inflamatuvar yanıtın daha da şiddetlenmesine ve devamlılık kazanmasına neden olur. Sonuçta polimorfonükleer lökositler, sinoviositler ve kondrositlerden salınan yıkıcı enzimler ve artan osteoklastik aktivite eklemde kalıcı hasara yol açarlar (19, 21, 23).

Otoimmünitenin RA patogenezinde önemli bir rol oynadığı görüşü ilk olarak bir otoantikor olan RF'ün keşfiyle desteklenmiştir. Otoantikörlerin tespit edilmesi hastalarda otoreaktif B lenfosit klonlarının olduğunu göstermektedir. Yine bazı MHC Class II moleküllerinin hastalığa yatkınlığı arttırması da bu moleküllerce sunulan antijenleri tanıyan CD4 pozitif T lenfositlerin patogenezinde önemli bir rol aldığını desteklemektedir. Geleneksel hastalık modifiye edici ilaçlara dirençli RA hastalarının tedavisinde kullanıma giren T ve B lenfositlere yönelik ilaçların (abatacept, rituximab) başarılı olması da otoimmüniteye işaret etmektedir. T ve B lenfositler adaptif immün yanıtın efektör hücreleridir ve otoimmün hastalıkların patogenezinde önemli rol oynarlar (19, 85).

1.4.1. T lenfositler

Sağlıklı bir yetişkinde kandaki lökositlerin yaklaşık %20'sini lenfositler oluşturur. Bunların yaklaşık %75'i T lenfosit (timus bağımlı lenfositler), %15'i B lenfosit (kemik iliği bağımlı lenfositler), %10'u da NK hücrelerden oluşmaktadır (82-84). T lenfositler adaptif immün yanıtın başlatılması ve sürdürülmesinde görevli efektör hücrelerdir. T lenfosit prekürsörleri kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden (*stem cell*) kaynaklanarak timusa göç eder. Bu multipotent hücrelerin T lenfositlere farklılaşması timik stromadan gelen *foxN* (*forkhead box*) ve *notch* gibi sinyaller sayesinde olur. Timusta T lenfositler olgunlaşırken timik korteksten medullaya doğru hareket ederler. Olgunlaşmamış (immatür) T lenfositler başlangıçta çift (*double*) negatiftir; yani T lenfosit yüzey markırları olan CD4 ve CD8 moleküllerinin hiç birini taşımazlar. Bu aşamadaki T lenfositler tam olgun bir T hücre reseptörüne (TCR = *T cell receptor*) de sahip değildir, ancak TCR kompleksine dahil olan CD3 yüzey markırını taşırlar. Daha sonra bu immatür T lenfositler double pozitif hale gelirler; yani hem CD4 hem de CD8 yüzey moleküllerini taşırlar. Bu arada TCR de tam olarak gelişir. Bir sonraki aşamada ise T lenfositler tek (*single*) pozitif hale gelirler; yani CD4 veya CD8 moleküllerinden sadece birini yüzeylerinde taşırlar. T lenfositlerin fonksiyonları da bu yüzey markırlarına göre belirlenmiş olmaktadır. Timusta single pozitif everede self antijenlere karşı reaksiyon veren lenfositler ortadan kaldırılır buna klonal delesyon veya negatif seleksiyon denir. Timusta bu potansiyel olarak zararlı T lenfosit klonlarının yok edilmesi santral tolerans olarak adlandırılır (19, 21, 23, 82-84).

T lenfositler antijenlerin neden olduğu TCR uyarısı ya da sitokinler tarafından aktive edilebilirler. TCR aslında immüoglobülin familyasına mensup kompleks bir moleküldür, antijen tanımakla görevli dört protein zinciri ve uyarıyı hücre içine iletmekle görevli CD3 ve zeta protein zincirinden oluşur. TCR'ler her bir antijene spesifik olarak farklı farklı sentezlenebilmektedir, bu durum adaptif immünitinin temel özelliğidir. Her bir T hücre klonu bir antijen spesifik TCR taşır. Daha sonra tekrar aynı antijenle karşılaşıldığında klonal ekspansiyon gelişir. TCR uyarıldığında ilk olarak protein kinazlar aracılığı ile tirozin fosforilasyonu gelişir. Sonrasında hücre içi serbest kalsiyum artarak sitokin transkripsiyonunu uyaran NFAT (*Nuclear Factor of Activated T Cells*), NF-kB (*Nuclear Factor-kappa B*), Fos ve Jun gibi molekülleri aktive eder (19, 82, 84). Sitokinler de kendi özel reseptörlerine bağlanarak T lenfositleri aktive edebilmektedir. Sitokin reseptörleri uyarıldığında JAK'lar (*Janus Kinase*) fosforilasyon yoluyla STAT'ları (*Signal Transducers and Activators of Transcription*) aktifleştirirler. STAT'lar da hücre nükleusunda sitokin transkripsiyonunu uyarırlar (82, 86, 87).

T lenfositlerin tam uyarılabilmesi ve maksimal aktivite gösterebilmeleri için TCR aracılı antijenik uyarı ile birlikte ikincil bir uyarıya (*co-stimulation*) ihtiyaç vardır. Bu uyarı T lenfositler üzerinde bulunan CD28 ile antijen sunan hücreler üzerinde bulunan CD80/86 yüzey moleküllerinin birleşmesi, ya da T lenfositler üzerindeki CD40L ile yine antijen sunan hücrelerdeki CD40 moleküllerinin birleşmesi aracılığı ile sağlanabilmektedir. Romatoid sinoviyumda co-stimulatory moleküllerin yüksek oranda bulunduğu ve bunların sinoviyumda immün yanıtın devamlılığını sağlamada önemli olduğu bilinmektedir (88-90). Bu ikincil uyarı yollarının bloklanması RA tedavisinde etkili olabilecek güncel yöntemlerden biridir. Abatacept RA tedavisinde yeni kullanıma giren ve T lenfositlerin maksimal aktivasyonu için gerekli olan CD28-CD80/86 aracılı ikincil uyarıyı engelleyerek etki gösteren bir biyolojik ajandır. Klinik araştırmalar abatacept'in RA hastalarında klinik remisyon sağlamanın yanı sıra ve radyolojik progresyonda azalttığını göstermektedir (85, 91).

1.4.1.1. CD4 pozitif T lenfositler

Cluster Differentiation 4 pozitif T lenfositler MHC Class II molekülleri ile sunulan antijenleri tanıyabildikleri için MHC Class II sınırlı (*restricted*) T lenfositler

olarak bilinirler. Bu lenfositler fonksiyonları bakımından yardımcı T lenfositler ve düzenleyici T lenfositler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Düzenleyici T lenfositler (*Treg = T regulatory*) periferik immün tolerans için önemlidir. Treg'ler T lenfosit proliferasyonu ve sitokin salınımını inhibe ederek immün yanıtı sınırlandıran hücrelerdir. Bu hücreler timusta oluşursa doğal (*natural*) Treg, periferik dokularda TGF-beta uyarısı ile oluşursa uyarılmış (*induced*) Treg olarak adlandırılır. Treg hücreleri yüzeylerinde CD4 dışında CD25 ve CD27 moleküllerini de taşırlar, yani bu hücreler CD4+CD25+CD27+ T lenfositlerdir. RA'li hastalardan elde edilen Treg hücrelerinde fonksiyonel bozukluklar bildirilmiştir (19, 92). Romatoid sinoviyumda CD4+CD45RO+ hafıza T hücrelerinin hakim olduğu yaklaşık yirmi yıl önce gösterilmiştir (66).

Th lenfositlerin Th1 ve Th2 olmak üzere farklı fonksiyonları olan iki alt grubu tanımlanmıştır. Th hücreleri diğer immün sistem hücrelerinin fonksiyonlarını düzenlerler. Bunlardan Th1 hücreleri esas olarak proinflamatuvar sitokinler üretir ve hücrel immün yanıtı uyarır. Th2 hücreleri ise anti-inflamatuvar sitokinler üretir ve humoral immün yanıtı uyarır. Th hücrelerinin farklılaşmasında makrofajlar ve dendritik hücrelerden salgılanan sitokinler önemli rol oynar. Naif bir CD4 pozitif T lenfosit makrofaj ve dendritik hücrelerden salgılanan IL12 ile karşılaştığında Th1 yönünde farklılaşır. Th1 hücreleri başta RA olmak üzere pek çok otoimmün hastalıkta kilit rol oynar (93). Th1 hücreleri tarafından sekrete edilen sitokinler (IL2, IL3, INF-gama, TNF-alfa) hücrel immüniteyi aktive ederler. Temel Th1 sitokini olan INF-gama makrofajlarca fagosite edilmiş patojenlerin yok edilmesini hızlandırmanın yanı sıra MHC class I moleküllerinin üretimini de artırır. Böylece hücre içi patojenlerle savaşı güçlendirmiş olur. Bu sebeple Th1 hücre fonksiyonlarını bozan çeşitli mutasyonlar (IL12 ve INF-gama aksının bozulması) hücrel immün yanıtta yetersizliğe neden olarak başta mikobakteriler olmak üzere hücre içi enfeksiyonlara yatkınlığı artırır. INF-gama ve IL12 reseptörleriyle ilişkili JAK mutasyonlarında hiperimmünglobülin E sendromu olarak adlandırılan bir immünyetmezlik tablosu oluşur. Diğer taraftan major Th1 sitokini olan interferon-gama'nın Th2 hücrelerini inhibe ettiği de bilinmektedir (94).

Naif CD4 pozitif T lenfositler IL4 ile uyarıldıklarında ise Th2 hücrelerine dönüşürler. Th2 hücreleri IL4, IL5, IL10 ve IL13 sitokinlerini sekrete etmektedir. Bu

sitokinler hümoral immüneyi uyararak alerjik reaksiyonlarda (bronşiyal asthna, atopik dermatit gibi) ve helmint enfeksiyonlarında görev alırlar. IL4 B lenfositleri uyararak Ig sentezini arttırır, mast hücrelerini aktive eder, IL5 eozinofilleri uyararak eozinofiliye neden olur. Diğer taraftan IL4 ve IL10'un Th1 hücrelerini inhibe ettiği de bilinmektedir. İnhibitör sitokinler olarak bilinen IL4 ve IL10 makrofajları inhibe eder, MHC class I moleküllerinin sentezini azaltır, eksikliklerinde ise otoimmün hastalıklara yatkınlık artar (82, 94).

Son yıllarda yapılan çalışmalar bazı CD4 pozitif T lenfositlerin ne INF-gama ne de IL4 sekrete ettiğini, buna karşılık diğer bazı proinflamatuvar sitokinleri (IL17, IL6, IL22, TNF-alfa) salgıladıklarını göstermiştir. Bu CD4 pozitif T lenfositlere Th17 hücreleri adı verilmiştir. Th17 hücrelerinin oluşumu IL4 ve INF-gama tarafından baskılanırken TGF-beta, IL6 ve IL23 tarafından uyarılmaktadır. Th17 hücreleri hücre dışı patojenlerle mücadelede önemli gibi görünmektedir. RA dahil pek çok otoimmün hastalıkta IL17 düzeyleri yüksek bulunmuştur (95). Ancak Th17 ile ilgili veriler ağırlıklı olarak hayvan deneylerine dayanmaktadır. İnsanlarda Th17 hücrelerini diğerlerinden tam olarak ayırmak kolay değildir, çünkü insanlarda IL7⁺INF-gama⁺ T lenfositler gibi farklı sitokinleri birlikte sentezleyebilen T lenfositler görülebilmektedir (96).

1.4.1.2. CD8 pozitif T lenfositler

Cluster Differentiation 8 pozitif T lenfositler sitotoksik T lenfositler olarak da bilinir. Bu lenfositler MHC Class I ile sunulan antijenleri tanıdıkları için MHC Class I sınırlı (*restricted*) lenfositler olarak da bilinirler. MHC class I molekülleri hücre içi antijenleri sunduğu için bu lenfositler esas olarak intraselüler enfeksiyonlara (virüs, protozoa, bakteri) ve malign hücrelere karşı savunmada görev alırlar. Sitotoksik T lenfositler birkaç mekanizmayla hedef hücreleri yok ederler. Bu mekanizmalardan birisi NK hücreler gibi perforin ve granzimler ile hedef hücreyi direkt lizise uğratmaktır. Bir diğer mekanizma sitotoksik T lenfositlerden sekrete edilen Fas molekülünün hedef hücredeki FasL ile birleşerek direkt apoptoza neden olmasıdır. Bunlar dışında sitotoksik T lenfositler sekrete ettikleri TNF-alfa ve INF-gama ile fagositer hücreleri ortama çağırarak hedef hücreye saldırıyı arttırırlar. Enfeksiyonun sona ermesi ile CD8⁺ T lenfositlerin çoğu apoptoza uğrar, bir kısmı ise hafıza T

lenfositlerine dönüşerek reenfeksiyon sırasında daha hızlı immün yanıt verilmesini sağlar (93, 94).

1.4.2. B lenfositler

Adaptif immün yanıtın bir diğer efektör hücresi B lenfositlerdir. Erişkin insanda B lenfositler kemik iliğinde üretilirler. Olgunlaşan B lenfositler dalak ve lenf nodları gibi lenfoid dokulara yerleşir ve burada antijenlerle karşılaşır. B lenfositlerin esas görevi humoral immünite için immünoglobülin (Ig) sentezi yapmaktır. Bu hücrelerin bir diğer önemli görevi ise T lenfositlere antijen sunmaktır. Olgun B lenfositler yüzeylerinde IgM, IgD ve CD20 moleküllerini taşırlar. Plazma hücrelerine dönüştüklerinde ise bu yüzey moleküllerinin hiç birini taşımazlar ve plazma hücrelerine özgü CD38 molekülünü taşımaya başlarlar (82, 83).

B lenfositler yüzeylerinde bulunan özel B hücre reseptörü (*BCR = B cell receptor*) aracılığıyla antijenleri tanırlar. BCR aslında hücre membranına bağlı IgM veya IgD molekülüdür. Tıpkı TCR'de olduğu gibi BCR de her antijen için spesifik olarak sentezlenebilir, bu yetenek adaptif immün yanıt için son derece önemli bir özelliktir. BCR aktivasyonu B lenfositlerde proliferasyona neden olur. B lenfositlere özgü bir transmembran protein olan CD19 BCR aktivasyonu sonucu oluşan uyarıyı daha da güçlendirir. Ayrıca BCR'ye bağlanan antijenler hücre içine alınarak burada işlendikten sonra MHC class II molekülleriyle birleştirilip CD4+ T lenfositlere sunulur, böylece T lenfositler de uyarılmış olurlar. Antijenle karşılaşarak aktive olan B lenfositler T lenfositlerden yardım aramaya başlar. Eğer yardım bulamazlarsa immün yanıt geliştirmezler ve anergi olur. T lenfositlerden yardım bulmaları halinde B lenfositler proliferasyon olarak IgM üreten kısa ömürlü odaklar oluştururlar. Daha sonra antijen tipine göre bu IgM üretimi IgG, IgA veya IgE tipine döner. Bu dönüşüm T lenfositlerden gelen uyarıya (costimulatory signal) bağlıdır. IL4 IgG ve IgE, IL10 IgG ve IgA, TGF-beta ise IgA'ya dönüşümü uyarır. B lenfositler daha sonra ya uzun ömürlü hafıza B lenfositlerine (memory B cell) ya da kısa ömürlü olan plazma hücrelerine dönüşürler. IL 2, IL6, IL10, IL21 plazma hücrelerine dönüşümü stimüle ederken B lenfosit yüzeyinde CD40-CD40L etkileşimi hafıza B lenfositlerine dönüşümü stimüle eder. Hafıza B lenfositleri aynı antijenle ikinci karşılaşmada çok daha hızlı yanıt vermekle görevlidir. Plazma hücrelerinden de az bir kısmı hafıza plazma hücrelerine dönüşerek kemik iliğinde kalabilmektedir. Plazma hücreleri B

lenfositlerin aksine yüzeylerinde Ig ve CD20 taşımazlar, kendilerine özgü olan CD38 molekülünü taşırlar. CD 20 molekülü RA tedavisinde kanda B lenfosit sayısını düşürerek etki eden rituximabın hedefidir (83, 84, 94).

B lenfositler ve plazma hücreleri tarafından üretilen Ig'ler otoimmün hastalıklarda önemli rol oynarlar. İki ağır zincir ve iki hafif zincir olmak üzere dört polipeptid zincirinden oluşurlar. Bu zincirlerin değişken (Fab) ve sabit (Fc) bölümleri vardır. Fab bölgesi antijen tanımak ve bağlamakla görevlidir ve antijenlere spesifik olarak sentezlenebilmektedir. Fc bölgesi ise kompleman bağlama ve fagositer hücrelerdeki Fc reseptörlerine bağlanmada görev alır. Hafif zincirler iki farklı tipte iken (kappa ve lamda), ağır zincirler dört farklı tipte (*mu, gamma, delta, epsilon, alpha*) olabilmektedir. Ağır zincir tipine göre Ig'ler M, G, D, E ve A sınıflarına ayrılırlar (82, 83).

Romatoid artritli hastaların çoğunun kan örneğinde RF ve anti-CCP başta olmak üzere çeşitli otoantikörler görülmektedir. Ayrıca komplemanı aktive ederek lokal inflamasyona katkıda bulunan immün komplekslere de rastlanmaktadır. Deneysel hayvan modellerinde eklem proteinlerine karşı gelişmiş antikör ejeksiyonu sinovite neden olmakla birlikte bu durum genellikle geçici olmuştur. Çünkü inflamasyonun devamı için T lenfositlerin yardımıyla B lenfosit aktive olması ve bu suretle antikör üretiminin sürekli olması gereklidir. Son yıllarda RA tedavisinde kullanılmaya başlanan rituximab B lenfositlere karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikördür ve periferik B lenfosit sayısını azaltarak etki gösterir. Bu ilaçla hastalığın kontrol altına alınabilmesi RA'li hastalarda B lenfositlerin aktif olarak inflamasyon sürecine katkı sağladığını göstermektedir (97).

Romatoid faktörler Ig G'nin Fc kısmına karşı gelişmiş otoantikörlerdir. Klasik olarak rutin laboratuarlarda bakılan RF IgM yapısında olmakla birlikte IgG ve IgA yapısında olan RF'ler de mevcuttur. IgM yapısındaki RF'ün RA için sensitivitesi yaklaşık %70, spesifitesi %80 civarındadır. Diğer otoimmün hastalıkların çoğunda, kronik enfeksiyonlarda, malignitelerde, kronik akciğer ve karaciğer hastalıklarında da RF pozitifliği görülebilmektedir. Bununla birlikte sağlıklı bireylerin de %5'inde RF pozitif olabilmektedir. . Sağlıklı bireylerde görülen RF'lerin antijen affinitesi düşüktür. Oysa RA'li hastalarda sentezlenen RF'ler hafif zincirlerinin değişken bölgesinde somatik mutasyonlar içerir ve buna bağlı olarak affiniteleri oldukça

yüksektir (98, 99). Kanda RF pozitifliğine RA gelişiminden yıllarca önce rastlanabilir. RF pozitifliği RA'li hastalar için kötü prognoz göstergesidir, RF pozitif hastalarda eklem yıkımı daha erken ve şiddetli olmaktadır (100). Romatoid artritli hastaların sinoviyumlarından elde edilen B lenfositler RF sekrete edebilmektedir. Bu da RF'lerin lokal olarak eklemlerde üretildiğini göstermektedir. Ig'lere karşı niçin antikor geliştiği henüz bilinmemektedir. Ancak RA'li hastaların sinoviyumlarında ve sinoviyal sıvılarında bulunan ve görevi bilinmeyen p205 adlı bir protein suçlanmaktadır. Ig ağır zincirleriyle moleküler benzerlik gösteren bu protein T lenfositleri aktive ederek B lenfositlerden antikor sentezine neden olabilmektedir. Bu antikorlarda moleküler benzerlik nedeniyle Ig'lerle çapraz reaksiyon verebilmektedir (23, 101).

Anti-CCP antikorlar da RF'e benzer şekilde RA'li hastalar için prognostik değer taşıyan otoantikorlardır. Hastalıktan yıllarca önce kan örneklerinde pozitif bulunabilirler. Bu antikorların pozitif olması hastalığın şiddetli ve yıkıcı seyredeceğini düşündürür. Anti-CCP antikorların RA tanısı için sensitivitesi %80 iken spesifitesi %90'ın üzerindedir. Anti-CCP antikor pozitifliği RA dışındaki hastalıklarda (psöriatik artrit, otoimmün hepatit, pulmoner tüberküloz) çok nadir bildirilmiştir. Sigara içenlerde lokal olarak bronşlarda anti-CCP antikorların oluşabildiği görülmüştür. Peptidlerdeki arginin aminoasitinin citrullin aminoasiti ile değiştirilmesi sonucu citrullinated peptidler ortaya çıkar. RA'li hastaların eklemlerinde kollajen, fibronektin ve fibrinojenin bu şekilde citrulline edildiği görülmektedir. RF'lere benzer şekilde anti-CCP antikorlar da esas olarak sinoviyal membrandaki B lenfositler tarafından sentezlenirler ve antijen-antikor kompleksleri oluşturarak ve kompleman sistemini aktive ederek inflamasyona katkıda bulunurlar (102-104).

1.4.3. Doğal öldürücü hücreler

Bir lenfosit alt tipi olmalarına rağmen NK hücreleri antijenlere spesifik yeni reseptörler geliştiremedikleri için adaptif immünitinin değil doğal immünitinin bir parçası olarak kabul edilir. NK hücreleri kendi reseptörleri aracılığı ile tümör hücrelerini ve virüsle enfekte hücreleri tanıyarak bu hücreleri direkt lizise uğratar. NK hücreleri ayrıca interferon-gama salgılayarak T lenfositleri uyarır. Hücre içi

viral, fungal, protozoal ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmada NK hücreleri önemli rol oynar (105).

1.4.4. Mast hücreleri

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar mast hücrelerinin yokluğunda inflamatuvar artritlerin gelişemediğini göstermektedir. Mast hücrelerinin kompleman, otoantikorlar ve sitokinler tarafından aktive edilmesi bu hücrelerden histamin, TNF ve çeşitli proteazların salınımına ve sonuçta sinoviyal fibroblast, kondrosit ve makrofajların uyarılarak matriks metalloproteinazları aracılığıyla eklem hasarına yol açar (106).

1.5. Romatoid artritte eklem hasarı

Romatoid artritte eklem hasarında ekleme göç eden lökositler ve eklemin yapısal hücreleri (sinoviyositler, kondrositler, osteoklastlar) birlikte rol oynamaktadır. Proinflamatuvar sitokinler endotel hücrelerini uyararak inflamatuvar hücrelerin sinoviyuma geçişini düzenleyen adezyon moleküllerinin sentezini uyarır. *E selectin* ve *P selectin* inflamatuvar hücrelerin endotel yüzeyinde yuvarlanmasını (*rolling*) sağlayan adezyon molekülleridir. VCAM-1 ICAM-1 ise inflamatuvar hücreleri endotel üzerinde sabitlenerek sinoviyuma geçişini sağlar. Zamanla sinoviyal doku hipertrofiye uğrar ve giderek çevre dokular ve eklem içine doğru uzanır. Bir taraftan hipertrofiye uğramış sinoviyumun (*pannus*) direkt kemik ve kıkırdak invazyonu diğer taraftan proinflamatuvar sitokinler ile uyarılan polimorfonükleer lökositler, sinoviyositler ve kondrositlerden sekrete edilen matriks metalloproteinazları eklemde (kıkırdak, eklem kapsülü, tendonlar) yıkıma neden olmaktadır (19, 21, 76, 77). Kıkırdak yıkımıyla eş zamanlı olarak TNF-alfa ve IL18 tarafından uyarılan T lenfosit ve kemik iliği stromal hücrelerinin yüzeyinde RANKL ekspresyonu artar, bu molekül osteoklastogenezi uyararak kemik yıkımına (kemik erozyonları ve periartiküler osteopeni) neden olur (107, 108).

1.5.1. Kıkırdak yıkımı

Hipertrofik romatoid sinoviyum (*Pannus*) kıkırdak ile komşu olduğu bölgelerden (eklemin marjinal bölgeleri) başlayarak kıkırdak içerisine invaze olur. *Pannus* ve kıkırdağın birleştiği bölgede sinoviyositler tarafından sekrete edilen metalloproteinazların kıkırdağı yıkıma uğrattığı görülür. Sinoviyal sıvıdaki polimorfonükleer lökositler de anjijen-antikor kompleksleri ve kompleman

tarafından aktive edilerek yıkıcı enzimler sekrete ederler. Eklem kıkırdagının yüzeyel tabakasında antijen-antikor kompleksleri (RF-IgG, anti-CCP-CCP), tip II kollajene karşı gelişmiş antikorlar ve aktive kompleman komponentleri görülür. Ayrıca kıkırdak yüzeyinde nötrofillerin oluşturduğu küçük apse odaklarına da rastlanabilir. Hücre dışı matriks yıkımına çok çeşitli enzimler katılmaktadır. Bunlar matriks metalloproteinazları (*collagenase, elastase, gelatinase, stromelysin, aggrecanase*), serin proteazlar (*trypsin, chymotrypsin*) ve *cathepsin*'ler olarak sıralanabilir. Erken evrede görülen *stromelysin* ve *aggrecanase* enzimlerinin oluşturduğu proteoglikan kaybı geri dönüşümlüdür, fakat ilerleyen evrelerde *collagenase* enziminin oluşturduğu tip II kollajen yıkımı geri dönüşümsüz hasara neden olur. Kıkırdak yapısı bozulduğunda mekanik stresler de hasarı hızlandırıcı etki gösterir (76-79, 109-112).

1.5.2. Kemik yıkımı

Tutulan eklemlerde oluşan fokal kemik erozyonları RA'in karakteristik özelliğidir ve eklem fonksiyon kaybının en önemli nedenidir. Fokal erozyonlar dışında RA'li hastalarda periartiküler ve yaygın osteoporoz ve artmış kırık riski de görülmektedir. Kemik yıkımında rol oynayan hücresel ve moleküler mekanizmalar kıkırdak yıkımında rol alanlardan farklıdır. Sinoviyosit, kondrosit ve nötrofiller kıkırdak yıkımında rol oynarken kemik yıkımından sorumlu esas hücre makrofajlardan köken alan osteoklastlardır. Osteoklastlar *pannus* ile kemik arası yüzeyde ve subkondral bölgede yoğunlaşırlar (113). Osteoklast kemik doku ile arasında asidik bir ortam oluşturarak bu bölgeye *cathepsin-K* (bir tür proteaz) salgılayarak kemik yıkımını gerçekleştirir (114). Romatoid artritte ilerleyici bir kemik yıkımı olmasına rağmen her hangi bir kemik onarım yanıtının oluşmaması önemli bir özelliktir. Oysa ankilozan spondilit ve psöriatik artrit gibi hastalıklarda kemik yıkımına yanıt olarak yeni kemik oluşumu şeklinde bir onarım süreci gelişmektedir (115, 116).

Kemik erozyonlarındaki en önemli reseptör-ligand ikilisini RANK (*Receptor Activator of NF-kappa-B*) ve onun ligandı olan RANKL oluşturmaktadır. Bir hücre membran reseptörü olarak görev yapan RANK osteoklastların ve monositlerin yüzeyinde bulunur. RANK-RANKL birleşmesi sonucu oluşan sinyaller monositlerin osteoklastlara dönüşümünü uyardığı gibi osteoklastların da aktivitesini artırır.

RANKL fibroblast benzeri sinoviyositler ve T lenfositler tarafından eksprese edilen bir hücre yüzey moleküldür. TNF-alfa, IL1, IL17 ve IL18 sinoviyositlerin ve T lenfositlerin RANKL ekspresyonunu stimüle eder. Dolayısı ile bu sitokinler kemik yıkımını uyarılmış olurlar. Anti-TNF ajanlarla ya da IL1 reseptör antagonistleriyle yapılan tedavilerde klinik yanıt alınamasa bile kemik erozyonlarının yavaşlaması bunu desteklemektedir. RANK-RANKL sisteminin doğal inhibitörü OPG (*Osteoprotegerin*) diye adlandırılan *soluble* bir reseptördür. Serbest halde dolaşan OPG sinoviyosit ve T lenfosit yüzeyinde bulunan RANKL ile birleşerek onun osteoklast ve monosit yüzeyindeki RANK ile birleşmesini engeller. Böylece osteoklastogenez ve osteoklast aktivasyonunu inhibe ederek erozyon gelişimini engeller. Ancak bu doğal inhibitör RA'li hastalarda rölatif olarak yetersiz kalmaktadır (107, 108, 117).

Osteoklastogenez ve osteoklast aktivitesini arttıran RANK-RANKL sinyalinin aksine Wnt-Wnt reseptör sinyali kemik yapımını uyarmaktadır. Wnt mezankimal progenitor hücrelerin adipositlere ve kondrositlere dönüşümünü inhibe ederek onların osteoblastlara farklılaşmasını stimüle eder. Wnt sinyali ayrıca osteoblastlardan OPG salınımını uyararak osteoklastogenezini de inhibe eder (118, 119). *Dickkopf* (DKK) ailesi bir grup *soluble* proteindir ve Wnt reseptörlerine bağlanarak Wnt sinyalini inhibe ederler, böylece kemik yapımını baskırlar (100). Yapılan çalışmalar RA'li hastalarda hem kanda hem de sinoviyal sıvıda DKK düzeylerinin yüksek olduğunu, oysa ankilozan spondilitli hastalarda DKK düzeylerinin sağlıklı kişilere göre önemli ölçüde düşük olduğunu göstermiştir. Anti-TNF tedavi ile RA'li hastalarda erozyonların durdurulması ve DKK düzeylerinin normal seviyelere inmesi paralellik gösterir (116).

1.6. İnflamasyonu yönlendiren sitokinler

1.6.1. Makrofaj ve fibroblast kaynaklı sitokinler

Sinoviyal makrofajlar ve tip B sinoviyositler (fibroblast benzeri sinoviyal hücreler) romatoid sinoviyumdaki sitokinlerin ana kaynağıdır ve tutulan eklemdaki pek çok proinflamatuvar sitokin [TNF-alfa, IL1, IL6, IL7, IL8, IL12, IL15, IL16, IL18, IL32, GM-CSF (*Granulocyte Monocyte-Coloni Stimulating Factor*), M-CSF (*Macrophage-Coloni Stimulating Factor*)] üretiminden sorumludur. Bu proinflamatuvar sitokinlerin oluşturduğu otokrin ve parakrin uyarılar inflamasyonu

genişletmek yanında sürekliliğini de sağlarlar. Sinoviyal hücrelerce oluşturulan bu sitokin ağı RA tedavisinde anti-sitokin tedaviler için ilham kaynağı olmuştur (120).

Sinoviyumda bir yandan bu proinflamatuvar sitokinler açığa çıkarken, diğer yandan da inflamasyonu kontrol altına almaya çalışan çeşitli anti-inflamatuvar sitokinler ve moleküller üretilmektedir. Bunlar IL4, IL10, TGF-beta, *soluble* TNF-alfa reseptörleri, IL1-reseptör antagonisti ve IL18 bağlayıcı protein olarak sıralanabilir. Ancak anti-inflamatuvar sitokin ve moleküllerin konsantrasyonu proinflamatuvar sitokinlere göre çok düşük olduğundan inflamasyonu baskılamada yetersiz kalmaktadır (19).

Sinoviyal makrofaj kaynaklı bir sitokin olan TNF-alfa inflamasyondaki en önemli sitokindir. Hücre membranına bağlı olarak sentez edildikten sonra proteolitik bir enzim tarafından (TACE = *TNF convertase*) serbestleştirilir. TNF-alfa aslında TNF sperfamilyası olarak adlandırılan ilişkili bir grup sitokinden en meşhur olanıdır. Bu grupta bulunan diğer yeler RANKL (osteoklast aktivasyonunu uyarır), Fas ligand (apoptozu uyarır) ve CD30 olarak sayılabilir. TNF-alfa hücre membranındaki kendi özel reseptörlerine bağlanarak T ve B lenfosit proliferasyonunu uyarır, antijen sunan hücrelerden GM-CSF salınımını arttırır, endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin üretimini arttırır, fibroblastlardan diğer proinflamatuvar sitokinlerin (IL1, IL6, IL8), metalloproteinazların ve prostaglandinlerin salınımını uyarır, kondrositlerde proteoglikan sentezini azaltır, RANKL sentezini arttırarak monositlerin osteoklastlara farklılaşmasını uyarır. Ayrıca Treg hücrelerinin aktivitesini azalttığı da gösterilmiştir (121-123). Anti-TNF-alfa tedavisi alan hastalarda klinik iyileşmenin yanı sıra kemik yıkımı ve erozyon gelişimi de engellenebilmiştir. Anti-TNF-alfa tedavisi alan hastalarda osteoklastogenezi uyarıcı RANKL düzeylerinin düştüğü, buna karşın osteoklastogenezi inhibe eden osteoprotegerin (OPG) düzeylerinin arttığı grlmştir. Bu durum TNF-alfanın inflamasyonda ve eklem hasarında kilit rol oynadığı görüşünü desteklemektedir (123).

Bir diğer önemli proinflamatuvar sitokin olan IL1 de esas olarak sinoviyal makrofajlarca sentezlenir. Hücre membranına bağlı olan formu inaktiftir ve IL1-alfa olarak adlandırılır. Aktif form olan IL1-beta ise bir sistein proteaz olan *caspase-1* (*IL1 converting enzyme*) tarafından hücre membranından serbestleştirilir. IL1 kendi

özel reseptörü olan IL1-reseptör-1 aracılığı ile etki gösterir, zira IL1-reseptör-2 inaktif bir tuzak reseptördür. IL1-reseptör-1 aktivasyonu inflamatuvar mediyatörlerin (IL6, GM-CSF, prostaglandinler, kemokinler ve collogenase) sentezini arttırır. TNF-alfa, GM-CSF, Ig-Fc reseptör aktivasyonu, antijen-antikor kompleksi, kollajen parçaları eklemde IL1 üretimini stimüle etmektedir. Doğal bir protein olan IL1-reseptör antagonisti IL1'i n reseptörüyle birleşmesini engelleyerek inflamasyonu kontrol altında tutmaya çalışır. Fakat RA'li hastalarda IL1-reseptör antagonistinin düzeyi göreceli olarak yetersiz kalmaktadır. Dışardan verilen IL1-reseptör antagonisti RA'li hastalarda orta derecede klinik yanıt sağlamaktadır (94).

Interleukin 7 sinoviyal makrofajlar ve sinoviyal fibroblastlardan sekrete edilen proinflamatuvar bir sitokindir ve RA'li hastaların sinoviyal sıvısında yüksek düzeylerde bulunmuştur. Bu sitokin T lenfositleri ve makrofajları stimüle eder. Ayrıca osteoklast aktivitesini arttırarak eklemde erozyon gelişimini hızlandırabilir (124).

Interleukin 15 sinoviyal makrofajlardan kaynaklanan bir proinflamatuvar sitokindir. RA'li hastaların sinoviyal membranında IL15 üretimi yüksek düzeydedir. IL18 ile birlikte TNF üretimini stimüle etmeder, T lenfositler üzerinde uyarıcı etkisi olduğu bilinmektedir (125).

Tumor necrosis factor-alfa ve IL1 tarafından uyarılan sinoviyal makrofaj ve fibroblastlar önemli bir proinflamatuvar sitokin olan IL18 üretirler. IL18 yapısal olarak IL1-beta ile benzerdir ve IL15 ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerin üretimini stimüle etmektedir. IL18 sinoviyal makrofajlardan TNF-alfa, IL1-beta, IL8, GM-CSF, INF-gama yapımını arttırır. Ayrıca IL12 ile sinerjistik çalışarak Th1 tipi immün yanıtı uyardığı da bilinmektedir. Romatoid sinoviyumda artmış IL18 düzeyleri akut faz reaktanlarıyla korelasyon gösterir. IL18'i bağlayan endojen bir protein bu sitokinin aktivitesini inhibe edebilmektedir. Bu bağlayıcı protein gelecekte potansiyel bir tedavi ajanı olabilir (126-128).

Romatoid artritli hastaların sinoviyal sıvısında yüksek düzeylerde IL6 bulunmaktadır. Bu proinflamatuvar sitokinin eklemdeki esas kaynağı sinoviyal fibroblastlar yani tip B sinoviyositlerdir. IL6 esas olarak IL11 ile birlikte plazma hücrelerinin olgunlaşmasını sağlar. Ayrıca karaciğerden akut faz proteinlerinin (C-reaktif protein gibi) sentezini uyaran başlıca sitokin IL6'dır. RA'li hastalarda serum

CRP, alfa-1-antitripsin, fibrinojen ve haptoglobin seviyeleri ile IL6 seviyeleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Ayrıca endotel hücrelerini uyararak özel reseptörler ve adezyon moleküllerinin yapımını arttırır. Yine osteoklastogenezi stimüle ederek kemik yıkımına katkıda bulunur. Anti-TNF tedavi alan hastalarda IL6 düzeyleri dramatik bir şekilde düşmektedir (129, 130).

Bu sitokinler dışında romatoid artrit patogenezinde rol oynayan çok sayıda kemokin vardır. Sinoviyal dokuda üretilen C-C ve C-X-C kemokinleri mononükleer ve polimorfonükleer lökositleri ekleme çekmektedir. IL15 makrofaj kaynaklı bir sitokindir ve T lenfositleri aktive eder. Makrofajlar tarafından ortama salınan IL12 ise yardımcı T lenfositlerin Th1 tipine farklılaşmasını uyarır. Koloni stimüle eden faktörler (M-CSF, GM-CSF) hem sinoviyal makrofajlar hem de tip B sinoviositlerden salgılanır ve sırasıyla osteoklastogenezi ve makrofaj aktivasyonunu uyarırlar (94).

Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) sinoviyal makrofajlar tarafından üretilir. Antijen sunan dendritik hücrelerde MHC moleküllerinin üretimini arttırarak dolaylı yoldan T lenfosit aktivasyonunu arttırır (131). Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) ise osteoklast gelişimi ve aktivasyonunda önemlidir, dolayısıyla osteopeni ve erozyonların oluşumunda rol alır. M-CSF tarafından uyarılan monosit ve makrofajların üzerinde bulunan RANK ile osteoblastların veya T lenfositlerin yüzeyinde bulunan RANKL'nin birleşmesi sonucu bu monosit ve makrofajlar osteoklastlara dönüşürler (132).

Transforming growth factor-beta anti-inflamatuar bir sitokindir. T ve B lenfosit proliferasyon ve aktivasyonunu inhibe eder, makrofajların TNF üretimini azaltır, metalloproteinaz salınımını inhibe eder, böylece eklem kıkırdağını korumuş olur (133). Deneysel artrit modellerinde sistemik yoldan verilen TGF-beta'nın inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir (134).

1.6.2. T lenfosit kaynaklı sitokinler

T lenfositler ve ürettikleri sitokinler otoimmün hastalıklarda önemli rol oynar. Progenitör naif CD4 pozitif T lenfositler antijenik uyarının tipi ve ortamda bulunan sitokinlere bağlı olarak 3 farklı yardımcı T lenfositten birine (Th1, Th2, Th17) dönüşür. Th1 alt grubu hücrel immün yanıtı destekler ve INF-gama, IL2, IL3, TNF-alfa sitokinlerini üretir. Th2 alt grubu ise humoral immün yanıtı destekler ve

IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 ve IL-25 sitokinlerini üretir. Son yıllarda tanımlanan Th17 hücreleri ise güçlü proinflatuar etkileri olan IL17, IL21, IL22 ve TNF-alfa sitokinlerini üretir. Kontrol dışına çıkan bir Th1 aktivitesi hücrel immünite aracılı hastalıklara (RA, otoimmün tiroidit, tip I diyabet, multipl skleroz, vs.) yol açarken Th2 aktivitesi hücrel immünite aracılı hastalıklara (sistemik lupus eritematozus, atopi, bronşial asthma, vs.) neden olabilmektedir (96, 135, 136).

Romatoid artritte sinoviyal membran ağırlıklı olarak Th1 hücreler tarafından infiltre edilmesine rağmen yapılan sitokin analizleri şaşırtıcı sonuçlar vermiştir. Yerleşmiş RA'te sinoviyumda Th1 sitokinleri olan INF-gama ve TNF-alfa ile birlikte Th2 sitokini olan IL10 düzeylerinin de yükseldiği görülmektedir. Ayrıca CD4 pozitif T lenfositleri Th1 hücrelere dönüştüren ve makrofaj kaynaklı bir sitokin olan IL12 düzeyleri de yüksek bulunmaktadır. Diğer taraftan bir Th1 hücre sitokini olan IL2 ve Th2 hücreleri tarafından üretilen IL4, IL5 ve IL13 sitokinleri ise eklemde yoktur ya da çok düşük seviyededir (5). Erken RA olgularında yapılan araştırmalar IL2 düzeylerinin hastalık başlangıcında aslında yüksek olduğunu göstermektedir (137). Kronik RA olgularındaki düşük IL2 düzeylerinin sebebi sinoviyumda toplanan Th1 hücrelerin kronik antijenik stimülasyon sonucu yorulması ve çoğunlukla hafıza tipi Th1 hücrelerine dönüşmesi olabilir, hafıza tipi T hücreleri B lenfositleri aktive edebilme yeteneklerinin yüksek olmasına karşın IL2 üretim kapasiteleri oldukça düşüktür (66). Kronik olgularda düşük bulunan Th2 sitokinlerinin (IL4, IL13) hastalığın başlangıç evrelerinde yine yüksek olduğu bulunmuştur. İlerleyen evrelerde bu sitokinlerdeki azalmanın sebebi olarak Th2 gelişimini uyarıcı IL4 reseptöründeki bir defekt ve buna bağlı Th2 farklılaşmasının yavaşlaması öne sürülmüştür (137, 138). Hastalığın alevlenme dönemlerinde Th2 sitokin düzeyleri azalırken remisyon dönemlerinde artmaktadır. Bu da Th2 aktivitesinin inflamasyonu baskılamaya yönelik bir çaba olduğunun göstergesi olabilir (6).

Th2 hücreleri tarafından sekrete edilen IL4, IL10 ve IL13 anti-inflatuar sitokinlerdir ve Th1 hücre farklılaşmasını ve proinflatuar sitokinlerin üretimini inhibe ederek inflamasyonu baskıladıkları düşünülür. Deneysel artrit modellerinde sistemik IL4 ve IL10 verilen kobaylarda eklemdeki inflamasyonun gerilediği görülmüştür (139). Ancak RA'li hastalarda bu sitokinlerin inflamasyonu baskılayabilecek düzeyin çok altında olduğu görülmektedir (19, 140).

Romatoid artritli hastaların sinoviyal membranında artmış IL17 düzeyleri tespit edilmektedir. Deneysel çalışmalar IL17'nin TNF-alfa ve IL1 ile sinerjik olarak çalıştığını ve böylece makrofaj ve fibroblastları aktive ederek proinflamatuvar sitokin salınımını uyardığını göstermektedir (141, 142). Th17 hücreleri tarafından sekrete edilen IL17'nin osteoklast aktivitesini arttırdığı ve yüksek sinoviyal IL17 düzeylerinin radyolojik progresyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir (143). İnsan sinoviyal doku kültürlerine IL17 eklendiğinde IL6 düzeylerinin yükseldiği, siklooksijenaz-2 aktivitesi ve prostaglandin E2 üretiminin arttığı ve kıkırdak yıkımının hızlandığı görülmüştür. Th17 hücrelerinin kronik inflamasyondan sorumlu olabileceği düşünülmektedir (144). Ancak Th17 ile ilgili veriler ağırlıklı olarak hayvan deneylerine dayanmaktadır. İnsanlarda Th17 hücreleri ile ilgili daha fazla veriye ihtiyaç vardır. Çünkü insanda Th hücre tipleri birbirinden ayırmak deney hayvanlarındaki kadar kolay değildir, insanlarda farklı sitokinleri birlikte üretebilen T lenfositlere (örn: IL17⁺INF-gama⁺) rastlanabilmektedir (96).

Bu gün için RA etyopatogenezi halen tam olarak anlaşılamamış, çok çeşitli hücre ve moleküler mekanizmaları içeren karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte doğal ve adaptif immünite arasında sıkı bir etkileşim vardır ve her iki sistem de aktif olarak inflamasyona katılmaktadır. Bu güne kadar yapılan çalışmalar hastalığa yol açan spesifik bir patolojik mekanizma ortaya çıkaramamıştır. Çünkü hem çeşitli sitokinleri hedefleyen tedaviler (TNF-alfa antagonistleri, IL1 reseptör antagonisti, IL6 reseptör antagonisti), hem de T veya B lenfositleri hedefleyen tedaviler (CTLA4-IgG füzyon proteini, anti-CD20 monoklonal antikoları) hastalığı kontrol altına alabilmektedir (85).

Şüphesiz ki hastalık etyopatogenezinin aydınlatılarak bu süreçte rol alan esas hücre ve moleküllerin ortaya çıkarılması yeni ve daha etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesiyle sonuçlanacaktır. Bu konudaki çalışmalar artarak devam etmektedir. Bu bağlamda üzerinde durulan önemli bir araştırma konusu da etyopatogenezde rol oynayan T lenfositlerdir. T lenfositlerin RA etyopatogenezinde merkezi bir öneme sahip olduğu yirmi yılı aşkın bir süredir bilinmektedir (145). Romatoid sinoviyumda proinflamatuvar sitokinler lehine olan dengesizlik T lenfositlerde aktivasyon ve proliferasyona neden olur. Romatoid artritte aktive olarak otoimmün reaksiyonu yöneten T lenfositler ağırlıklı olarak Th1 hücreleridir (90, 146, 147). Ancak yapılan

araştırmalar RA'li hastalarda Th2 hücre aktivitesinde de bir artış olabileceğine işaret etmektedir (16-18). Th1 ve Th2 hücre hakimiyetinin olduğu iki ayrı hastalığın aynı anda aynı kişilerde bulunabileceği yönünde veriler mevcuttur (148). Hastalığın erken evrelerinde antiinflamatuvar sitokinleri üreterek inflamasyonu baskılamaya yönelik olan Th2 aktivitesi kronik dönemde B lenfosit aktivasyonuna neden olarak immün yanıtı ve dolayısıyla da hastalık aktivitesini arttırıyor olabilir (6, 9).

Lenfositler farklı farklı fonksiyonlar üstlenmelerine rağmen birbirilerine çok benzemeleri nedeniyle morfolojik olarak birbirilerinden ayırt edilemezler. Ancak yüzeylerinde bulunan protein yapısındaki bazı özel moleküllerin (markırlar) monoklonal antikolar aracılığıyla tespit edilmesi lenfositleri ve hücre popülasyonlarını tanımlamaya ve birbirilerinden ayırmaya yardımcı olur. Günümüzde bu yüzey markırları özel bir numaralandırma sistemine göre (Cluster Differentiation = CD) adlandırılmaktadır (82).

Hücre membranında bulunan bir tip 2 integral proteini olan CD26 molekülü Th1 hücre yüzeyinde yüksek miktarlarda eksprese edilmektedir. Hücre yüzeyinde eksprese edilen CD26'nın bir kısmı serbest halde plazma ve vucut sıvılarına salınmaktadır. Bu serbest form (*soluble* CD26 = sCD26) plazma ve vucut sıvılarında ELISA yöntemi ile ölçülebilmektedir (12). Bu özelliği sayesinde CD26 otoimmün hastalıklarla ilgili araştırmalarda Th1 hücre markırı olarak kullanılmaktadır. Romatoid artrit hastalarında hastalık şiddeti ile korele olarak T lenfositlerin yüzeyinde CD26 ekspresyonu artmaktadır. Benzer şekilde periferik kandaki CD26+ hücre sayısı da hastalık şiddeti ile ilişkili olarak artış göstermektedir. IL2 ve IL12'nin T lenfositlerde CD26 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (14, 149). Anti-TNF antikolar ile tedavinin ise T lenfositlerde CD26 down-regülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (150).

Cluster Differentiation 30 yüzey molekülü esas olarak tip 2 sitokin üreten CD4+ T lenfosit klonlarıyla, başka bir değişle Th2 hücreleri ile ilişkilidir. Bu nedenle kan ve vucut sıvılarında ELISA yöntemi ile ölçülen *soluble* CD30 (sCD30) düzeyleri immünolojik çalışmalarda Th2 aktivitesini monitörize etmek amacıyla kullanılabilir (9, 11, 13). Yapılan araştırmalar RA hastalarında plazma *soluble* CD30 düzeylerinin yükseldiğini göstermektedir (16, 17, 9). Erken hastalık döneminde sCD30 düzeyleri ile C-reaktif protein (CRP) düzeyleri arasında negatif

bir korelasyon bulunmuş ve yüksek sCD30 düzeylerinin hastalık modifiye edici ilaçlara iyi yanıtın göstergesi olduğu bildirilmiştir (17). Fakat kronik RA hastalarında CRP düzeyleri ile sCD30 düzeyleri arasında aynı negatif ilişki gösterilememiştir (151).

Çalışmamızın amacı RA'li hastalarda serum sCD26 ve sCD30 düzeylerini benzer yaş grubundaki sağlıklı kontrollerle karşılaştırarak Th1 ve Th2 hücrelerindeki aktivite artışını göstermek, sCD26 ve sCD30 düzeylerinin çeşitli hastalık aktivite göstergeleri ile ilişkisini araştırarak bu iki molekülün RA takibindeki olası yerini değerlendirmektir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Hasta grubu

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilimdalı'na bağlı Romatoloji polikliniğinde RA tanısıyla takip edilen 48 hasta (38 bayan, 10 erkek) ve kontrol grubu olarak 30 sağlıklı gönüllü (22 bayan, 8 erkek) alındı. Hasta grubunda RA tanısı için American College of Rheumatology (ACR) tarafından 1987 yılında yayınlanan sınıflandırma kriterleri kullanıldı (152). Bununla birlikte çalışmaya alınacak RA'li hastalarda en az bir yıldır RA tanısıyla takip ediliyor olma şartı arandı. Ayrıca hastaların kullanmakta oldukları hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlarda (disease modifying antirheumatic drugs = DMARD) son 3 aydır her hangi bir değişikliğe gidilmemiş (doz değişiklikleri hariç) olma şartı arandı. RA dışında başka bir otoimmün hastalığı olanlar (sekonder sjögren sendromu hariç), akut ya da kronik bir enfeksiyonu olanlar, malignitesi olanlar, bilinen ciddi bir akciğer, karaciğer veya böbrek hastalığı olanlar, her hangi bir endokrin hastalığı olanlar ve gebe bayanlar çalışma dışı bırakıldı. Hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda çalışmaya dahil edilebilmek için 20 yaşından küçük, 70 yaşından büyük olmama şartı arandı. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile benzer olan sağlıklı gönüllüler arasından seçildi.

Çalışmamız Sağlık Bakanlığı Elazığ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'nın 06.01.2010 tarihli ve 07 numaralı kararıyla etik açıdan uygun bulunmuştur. Çalışmanın finansal desteği Türkiye Romatizma Araştırma ve Savaş Derneği Elazığ Şubesi tarafından sağlanmıştır. Katılımcıların tamamından yazılı aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

2.2. Klinik değerlendirmeler

Hastalar RA takibinde kullanılan hastalık aktivite göstergeleri açısından değerlendirildi. Geçen hafta içerisinde hastanın hissettiği ağrı şiddeti görsel analog skala (visual analog scale = VAS) ile değerlendirildi (0 = ağrı yok, 100 = en şiddetli ağrı). Hastaların genel sağlık durumu hasta ve hekim tarafından ayrı ayrı VAS ile değerlendirildi (0 = muhtemel en iyi durum, 100 = muhtemel en kötü durum). Benzer şekilde halsizlik ve yorgunluk şiddeti hasta tarafından yine VAS (0-100) ile değerlendirildi. Sabah tutukluğu süresi dakika olarak belirlendi. Hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi için belirlenmiş toplam 28 eklem üzerinden şiş eklem

sayısı ve hassas eklem sayıları (0-28) belirlendi (153). Daha sonra şiş ve hassas eklem sayıları, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve hastanın genel sağlık durumunu VAS ile değerlendirmesinden elde edilen sonuçlar kullanılarak hastalık aktivite skoru 28 (DAS28) hesaplandı (154). DAS28 skoru hastalık aktivitesine göre 9.4 (en yüksek hastalık aktivitesi) ile 0 (en düşük hastalık aktivitesi) arasında değişebilmektedir. Bu sisteme göre DAS28 skoru >5.1 olan hastalar yüksek hastalık aktivitesi, >3.2 ve ≤ 5.1 olan hastalar orta hastalık aktivitesi, ≤ 3.2 olan hastalar ise düşük hastalık aktivitesi olarak sınıflandırılır. Biz de bu kriterlere uygun olarak çalışmamızdaki hastaları DAS28 skoruna göre 2 gruba ayırdık; DAS28 ≤ 3.2 olan hastaları düşük hastalık aktivitesi grubu, DAS28 >3.2 olanları ise orta/yüksek hastalık aktivitesi grubu olarak değerlendirdik (155). Ayrıca RA tanısından itibaren geçen süreye göre hastaları erken (hastalık süresi ≤ 2 yıl) ve geç (hastalık süresi >2 yıl) RA olarak iki gruba ayırdık.

Hastaların genel durumu (fonksiyonel disabilite) sağlık değerlendirme anketinin (health assessment questionnaire = HAQ) Türkçe versiyonu ile değerlendirildi (156). HAQ günlük yaşam aktiviteleri ile ilgili 8 temel alanı (giyinme ve kendine bakım, doğrulma, yemek yeme, yürüme, hijyen, uzanma, kavrama, aktiviteler) değerlendirmektedir. Her bir alanda 2 ya da 3 soru bulunmaktadır. Bu sekiz alandaki en yüksek skorlar toplanarak sonuç 8'e bölünür ve 0 (muhtemel en iyi durum) ile 3 (muhtemel en kötü durum) arasında değişen bir HAQ skoru elde edilir (157).

2.3. Laboratuvar değerlendirmeleri

Hastaların rutin kontrolleri için bakılan biyokimya, tam kan sayımı, tam idrar tetkiki, ESR, CRP ve RF sonuçları kaydedildi. Kontrol grubundaki sağlıklı gönüllülere de benzer tetkikler yaptırılarak sonuçları kaydedildi. Hastalar ve sağlıklı kontrollerden sitratlı tüplere alınan kan örnekleri 2000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları -80 derecede saklandı. Yeterli hasta ve sağlıklı kontrol sayısına ulaşıldığında serum sCD26 ve sCD30 düzeyleri sandwich ELISA yöntemi ile ticari ELISA kitleri (Biovendor) kullanılarak ölçüldü.

2.4. Radyografik değerlendirme

Hasta grubunda son 6 ay içerisinde çekilmiş olan standart el-el bilek direkt radyografileri kullanılarak 1995 yılında modifiye edilen Larsen skoru hesaplandı.

Modifiye Larsen skorlamasında her iki elde toplam 24 eklem bölgesi 0 ile 5 arasında puanlanarak toplam bir skor elde edilir (minimum skor 0, maksimum skor 120) (Tablo 1). Bu skorlama sisteminde 2-5. metakarpofalangeal eklemler (her iki elde toplam $2 \times 4 = 8$ eklem), 2-5. proksimal interfalangeal eklemler (her iki elde toplam $2 \times 4 = 8$ eklem) ve son olarak el bileği 4 bölgeye ayrılarak (her iki elde toplam $2 \times 4 = 8$ eklem bölgesi) değerlendirilir (158).

Tablo 1. Modifiye Larsen skorlaması

Skor	Bulgu
0	Normal bulgular, eklem aralığı korunmuş, erozyon yok
1	1 mm çapından küçük erozyonlar veya eklem aralığında daralma
2	1 mm çapından büyük bir veya birkaç erozyon
3	Belirgin derecede erozyonlar
4	Şiddetli erozyonlar, orijinal kemik sınırları kısmen korunmuştur, eklem aralığı genellikle kaybolmuştur
5	Mutilan değişiklikler, orijinal kemik sınırları tamamen kaybolmuştur

2.5. İstatistiksel analizler

Veriler parametrik ve non-parametrik istatistiksel yöntemler ile analiz edildi. Tanımlayıcı değerler sayı, yüzde, ortalama \pm standart sapma, minimum ve maksimum olarak belirtildi. Gruplar arası karşılaştırmada kategorik değişkenler için ki-kare testi, sürekli değişkenler için T testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında T testi yerine Mann-Whitney U testi kullanılırken, kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında çapraz tabloda (*cross-tabulation*) gözlerden her hangi birinde 5'den az katılımcı olduğunda ki-kare testi yerine Fisher's exact test kullanıldı. Korelasyon analizleri için Spearman korelasyon testi uygulandı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Romatoid artritli hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ($p = 0.641$) ve cinsiyet ($p = 0.552$) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Tablo 2). Romatoid artrit grubunda ortalama hastalık süresi 5.5 ± 4.5 yıldır. Hastalardan 33'ünde (%68.8) RF pozitif bulundu. Fizik muayenede 3 (%6.25) hastada subkutan romatoid nodül tespit edildi. Altı (%12.5) hastada sekonder Sjögren sendromu mevcuttu.

Tablo 2. Romatoid artritli hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda demografik, klinik ve laboratuvar özellikler

	RA Grubu (N = 48)	Kontrol Grubu (N = 30)	P
Yaş (yıl)	49.75±11.84 (22-70)	51.03±11.65 (22-70)	0.641
Cinsiyet			0.552
Kadın	38 (79.2)	22 (73.3)	
Erkek	10 (20.8)	8 (26.7)	
Hastalık süresi (yıl)	5.5±4.5 (1-18)	—	—
Sabah tutukluğu süresi (dakika)	84.58±77.04 (10-300)	—	—
Ağrının şiddeti (0-100 mm VAS)	50.16±24.92 (10-94)	—	—
Halsizlik-Yorgunluk (0-100 mm VAS)	55.06±24.69 (21-100)	—	—
Hastanın GSD (0-100 mm VAS)	51.81±24.58 (8-100)	—	—
Hekimin GSD (0-100 mm VAS)	46.66±30.74 (5-96)	—	—
Şiş eklemlerin sayısı (0-28)	1.06±2.08 (0-10)	—	—
Hassas eklemlerin sayısı (0-28)	4.22±4.42 (0-17)	—	—
ESR (mm/saat)	29.60±15.87 (3-68)	19.9±6.8 (3-29)	0.002*
CRP (g/dL)	23.19±22.91 (3-109)	3.77±0.63 (3.36-4.87)	0.001*
RF (IU/mL)	158.12±233.1 (10-949)	9.82±0.57 (8.69-10.3)	0.001*
RF Pozitif	33 (68.8)	0	
Negatif	15 (31.2)	30 (100)	
DAS28 (0-9.4)	4.03±1.48 (1.79-7.03)	—	—
HAQ skoru (0-3)	1.27±0.75 (0-3)	—	—
Modifiye Larsen skoru (0-120)	28.08±22.66 (6-118)	—	—

* $P < 0.05$ (istatistiksel olarak anlamlı sonuç)

Tablodaki değerler sayı (%), ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. RA = Romatoid artrit, VAS = Görsel analog skala, GSD = Genel sağlık değerlendirme, ESR = Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP = C-reaktif protein, RF = Romatoid faktör, DAS = Hastalık aktivite skoru, HAQ = Sağlık değerlendirme anketi

Hastalarımızın tamamı kortikosteroid kullanmaktaydı ve ortalama prednisolon dozu 7.5 ± 3.38 (2.5-20) mg/gündü. Metotreksat kullanan hasta sayısı 27 (%56.3), sülfosalazin kullanan hasta sayısı 8 (%16.7), hidroklorokin kullanan hasta sayısı 8 (%16.7) olarak bulundu. Tedavi protokollerine bakıldığında 14 (%29.2) hasta monoterapi şeklinde sadece prednisolon kullanırken, geriye kalan 34 (%70.8) hasta prednisolon ile birlikte bir veya daha fazla DMARD kullanmaktaydı. En sık tercih edilen tedavi protokolü metotreksat + prednisolon kombinasyonuydu. Tablo 3 hastaların tedavi protokollerine göre dağılımını göstermektedir.

Tablo 3. Romatoid artritli hastaların tedavi protokollerine göre dağılımı

Tedavi protokolü	N (%)
Prednisolon (monoterapi olarak)	14 (29.2)
Sülfosalazin + Prednisolon	5 (10.4)
Hidroklorokin + Prednisolon	2 (4.2)
Metotreksat + Prednisolon	18 (37.5)
Metotreksat + Sülfosalazin + Prednisolon	3 (6.3)
Metotreksat + Hidroklorokin + Prednisolon	6 (12.5)

Tablodaki değerler sayı (%) olarak ifade edilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında RA'li hastalarda serum sCD30 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p = 0.008$, %95 CI: 3.97–25.33), serum sCD26 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p = 0.011$, %95 CI: -274.51–36.73) (Tablo 4).

Tablo 4. Romatoid artritli hastalar ve kontrol grubunda serum sCD30 ve sCD26 düzeylerinin karşılaştırılması

	RA Grubu (N = 48)	Kontrol Grubu (N = 30)	P
sCD30 (ng/mL)	30.91 ± 28.46 (4-152)	16.26 ± 8.88 (1.8-38)	0.008*
sCD26 (ng/mL)	503.54 ± 295.42 (165-1845)	659.16 ± 175.94 (330-1165)	0.011*

* $P < 0.05$ (istatistiksel olarak anlamlı sonuç)

Tablodaki değerler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. CD = Cluster differentiation, RA = Romatoid artrit, CI = Confidence interval (güven aralığı)

Romatoid artritli hastalar DAS28 skoruna göre kendi içinde gruplandırıldığında yüksek/orta hastalık aktivitesi olanlarda düşük hastalık aktivitesi olanlara göre serum

sCD30 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p = 0.018$, %95 CI: 3.54–35.42), serum sCD26 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0.594$, %95 CI: -128.64–222.21) (Tablo 5). Bu iki grubun serum sCD30 ve sCD26 düzeylerini etkileyebilecek yaş, cinsiyet, hastalık süresi, kullanılan ortalama steroid ve metotreksat dozları açısından istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Yüksek/orta hastalık aktivitesi olan romatoid artritli hastalar ile düşük hastalık aktivitesi olanların karşılaştırılması

	Yüksek/Orta Hastalık Aktivitesi (N = 28)	Düşük Hastalık Aktivitesi (N = 20)	P
Yaş (yıl)	49.96±13.88 (22-70)	49.45±8.53 (35-65)	0.884
Cinsiyet Kadın	22 (78.6)	16 (80)	0.904
Erkek	6 (21.4)	4 (20)	
Hastalık süresi (yıl)	5.48±4.1 (1-16)	5.52±5.12 (1-18)	0.974
Prednisolon dozu (mg/gün)	7.76±3.62 (2.5-20)	7.12±3.06 (2.5-15)	0.522
Metotreksat dozu (mg/hafta)	11.36±2.33 (7.5-15)	10.46±1.87 (7.5-15)	0.281
ESR (mm/saat)	36.60±15.24 (14-68)	19.80±10.91 (3-40)	<0.001*
CRP (g/dL)	35.17±23.19 (8-109)	6.41±5.10 (3-22)	<0.001*
RF (IU/mL)	238.75±277.59 (10-949)	45.24±43.80 (10.3-137)	0.003*
RF Pozitif	19 (67.9)	14 (70)	0.875
Negatif	9 (32.1)	6 (30)	
DAS28 (0-9.4)	5.07±0.98 (3.43-703)	2.56±0.45 (1.79-3.16)	<0.001*
HAQ (0-3)	1.69±0.59 (0.5-3)	0.69±0.54 (0-1.87)	<0.001*
Modifiye Larsen Skoru (0-120)	28.85±21.81 (6-88)	27.0±24.32 (8-118)	0.783
sCD30 (ng/mL)	39.03±34.42 (8-152)	19.55±9.29 (4-36)	0.018*
sCD26 (ng/mL)	523.03±339.69 (165-1845)	476.25±224.86 (240-1045)	0.594

*P <0.05 (istatistiksel olarak anlamlı sonuç)

Tablodaki değerler sayı (%), ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. DAS = Hastalık aktivite skoru, CI = Confidence interval (güven aralığı), ESR = Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP = C-reaktif protein, RF = Romatoid faktör, DAS = Hastalık aktivite skoru, HAQ = Sağlık değerlendirme anketi, CD = Cluster differentiation

Erken ve geç dönemdeki RA'li hastalar karşılaştırıldığında gruplar arasında serum sCD30 ve sCD26 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (sırasıyla p = 0.419 ve p = 0.123) (Tablo 6). Bu iki grup arasında serum sCD30 ve sCD26 düzeylerini etkileyebilecek klinik ve laboratuvar parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görüldü (Tablo 6).

Tablo 6. Erken ve geç RA olgularının karşılaştırılması

	Erken RA (N = 15)	Geç RA (N = 33)	P
Yaş (yıl)	49.0±13.39 (23-69)	50.09±11.27 (22-70)	0.771
Cinsiyet Kadın	11 (73.3)	27 (81.8)	0.502
Erkek	4 (26.7)	6 (18.2)	
Hastalık süresi (yıl)	1.6±0.38 (1-2)	7.27±4.39 (3-18)	<0.001
Prednisolon dozu (mg/gün)	7.83±2.96 (5-15)	7.34±3.58 (2.5-20)	0.650
Metotreksat dozu (mg/hafta)	10.0±2.31 (7.5-15)	11.18±1.93 (7.5-15)	0.182
ESR (mm/saat)	34.26±18.24 (6-68)	27.48±14.45 (3-61)	0.173
CRP (g/dL)	24.43±29.25 (3.3-109)	22.62±19.89 (3-69)	0.802
RF (IU/mL)	110.86±171.58 (10.3-656)	179.60±255.74 (10-949)	0.349
RF Pozitif	10 (66.7)	23 (69.7)	0.834
Negatif	5 (33.3)	10 (30.3)	
DAS28 (0-9.4)	3.89±1.57 (1.96-6.66)	4.09±1.46 (1.79-7.03)	0.663
HAQ (0-3)	1.11±0.79 (0-2.12)	1.35±0.73 (0.25-3)	0.315
Modifiye Larsen Skoru (0-120)	19.86±7.23 (6-30)	31.81±26.17 (6-118)	0.090
sCD30 (ng/mL)	25.93±9.39 (10-45)	33.18±33.67 (4-152)	0.419
sCD26 (ng/mL)	405.66±139.14 (165-710)	548.03±336.42 (215-1845)	0.123

*P <0.05 (istatistiksel olarak anlamlı sonuç), Tablodaki değerler sayı (%), ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. RA = Romatoid artrit, ESR = Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP = C-reaktif protein, RF = Romatoid faktör, DAS = Hastalık aktivite skoru, HAQ = Sağlık değerlendirme anketi, CD = Cluster differentiation

Romatoid artrit tedavisinde en sık tercih edilen DMARD olan metotreksatın serum sCD30 ve sCD26 düzeyleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla sadece prednisolon alan hastalar ile metotreksat + prednisolon alan hastaları karşılaştırdık.

Sonuç olarak bu iki tedavi grubu arasında serum sCD30 ve sCD26 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık (sırasıyla $p = 0.309$ ve $p = 0.197$) (Tablo 7). Gruplar ESR ve CRP açısından istatistiksel olarak eşitlendiğinde de iki grup arasında anlamlı bir fark görülmedi (sırasıyla $p = 0.092$ ve $p = 0.212$). Kullanılan prednisolon dozları açısından da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p = 0.408$).

Tablo 7. Prednisolon monoterapisi alan romatoid artritli hastalarla metotreksat + prednisolon alan hastaların karşılaştırılması

	Prednisolon (N = 14)	Mtx+Prednisolon (N = 18)	P	P^{&}
Yaş (yıl)	55.64±12.80 (23-69)	48.77±9.80 (35-70)	0.960	—
Cinsiyet Kadın	11 (78.6)	14 (77.8)	0.957	—
Erkek	3 (21.4)	4 (22.2)		
Hastalık süresi (yıl)	5.64±4.33 (1-15)	5.41±4.61 (1-16)	0.889	—
Prednisolon (mg/gün)	7.85±4.02 (5-20)	6.80±3.06 (2.5-15)	0.408	—
ESR (mm/saat)	45.14±15.42 (22-68)	20.50±10.23 (3-40)	<0.001*	—
CRP (g/dL)	43.10±28.38 (6-109)	11.28±12.20 (3-52)	<0.001*	—
RF (IU/mL)	257.75±276.57 (10-826)	70.46±152.28 (10.3-656)	0.021*	—
RF Pozitif	11 (78.6)	9 (50)	0.098	—
Negatif	3 (21.4)	9 (50)		—
DAS28 (0-9.4)	5.44±1.26 (2.89-7.03)	3.33±1.15 (1.96-5.17)	<0.001*	—
HAQ (0-3)	1.74±0.46 (0.5-2.25)	1.20±0.93 (0-3)	0.057	—
Modifiye Larsen Skoru (0-120)	31.28±22.93 (6-80)	32.94±28.85 (8-118)	0.862	—
sCD30 (ng/mL)	42.85±43.27 (8-152)	30.66±22.26 (10-88)	0.309	0.092
sCD26 (ng/mL)	566.07±408.96 (165-1845)	422.50±190.58 (225-1000)	0.197	0.212

*P < 0.05 (istatistiksel olarak anlamlı sonuç)

P[&] = ESR ve CRP değerlerine göre düzeltilmiş P değeri

Tablodaki değerler sayı (%), ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. Mtx = Metotreksat, ESR = Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP = C-reaktif protein, RF = Romatoid faktör, DAS = Hastalık aktivite skoru, HAQ = Sağlık değerlendirme anketi, CD = Cluster differentiation

Yaptığımız korelasyon analizlerinde serum sCD30 ve sCD26 düzeylerinin yaş ve hastalık süresi ile anlamlı bir ilişkisi bulunamadı (Tablo 8). Serum sCD30 düzeyleri hastalık aktivitesi ile ilişkili tüm klinik (halsizlik-yorgunluk hariç) ve laboratuvar parametreleri ile pozitif korelasyon gösterirken, serum sCD26 düzeyleri aynı parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermedi. Serum RF düzeylerinin sCD30 ve sCD26 düzeyleri ile anlamlı bir korelasyonu yoktu. Ayrıca radyolojik hasar ile (modifiye Larsen skoru) serum sCD30 ve sCD26 düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 8).

Tablo 8. Romatoid artritli hastalarda (N = 48) serum sCD30 ve sCD26 düzeyleri ile çeşitli klinik ve laboratuvar parametreler arasındaki ilişki

	sCD30		sCD26	
	P	R	P	R
Yaş	0.696	-0.580	0.496	0.101
Hastalık süresi	0.282	-0.159	0.347	0.139
Sabah tutukluğu	0.023*	0.327	0.240	0.173
Ağrı şiddeti	0.003*	0.417	0.273	0.162
Halsizlik-Yorgunluk	0.066	0.267	0.185	0.195
Hastanın GSD	0.001*	0.506	0.407	0.122
Hekimin GSD	0.001*	0.470	0.403	0.124
Şiş eklem sayısı	0.002*	0.444	0.321	0.146
Hassas eklem sayısı	0.001*	0.475	0.171	0.201
ESR	0.007**	0.383	0.882	-0.022
CRP	0.005*	0.399	0.167	0.203
RF	0.615	0.075	0.168	0.202
DAS28	0.001*	0.471	0.284	0.158
HAQ skoru	0.038*	0.300	0.415	0.121
Modifiye Larsen skoru	0.869	-0.024	0.574	0.083

*P < 0.05 (istatistiksel olarak anlamlı sonuç)

R = Spearman's correlation coefficient (Spearman korelasyon katsayısı)

CD = Cluster differentiation, GSD = Genel sağlık değerlendirmesi, ESR = Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP = C-reaktif protein, RF = Romatoid faktör, DAS = Hastalık aktivite skoru, HAQ = Sağlık değerlendirme anketi

4. TARTIŞMA

Bu vaka-kontrol çalışmasının amacı RA'li hastalarda serum sCD26 ve sCD30 düzeylerini araştırmak, bunların hastalık aktivite ve sonuç göstergeleri ile olan ilişkisini değerlendirmektir. Çalışmamızın sonuçlarına dayanarak 3 önemli çıkarım yapılabilir. Bunlardan birincisi serum sCD26 düzeylerinin RA'li hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmasıdır. İkincisi serum sCD30 düzeylerinin RA'li hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olması ve hastalık aktivite göstergeleri ile pozitif korelasyon göstermesidir. Üçüncüsü ise metotreksat kullanımının RA'li hastalarda serum sCD26 ve sCD30 düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığıdır.

Otoimmün hastalıklardaki temel problem self toleransın kırılmasıdır. İmmün sistem dışardan gelen zararlı antijenlere karşı organizmayı korumak yerine self antijenlere karşı kronik bir inflamasyonu sürdürür (159). Elimizdeki kanıtlar RA etyopatogenezinde T lenfosit disfonksiyonuna işaret etmektedir. Yapılan araştırmalar T lenfositlerde erken yaşlanma ve buna bağlı kısalmış T lenfosit ömrünün immün sistemde kronik proliferatif strese yol açtığını, sonuçta self antijenlere karşı reaksiyon gösteren T lenfosit klonlarının proliferasyonu göstermektedir (160, 161). Son on yıl içerisinde RA tedavisi inflamasyonu yönlendiren proinflamatuvar sitokinlerin nötralizasyonuna yönelmiştir. Anti-sitokin tedaviler hastalığı kontrol altına alabilse de sinoviyumdaki devam eden T lenfosit infiltrasyonu nedeniyle ilaç kesildiğinde hastalık aktivitesi tekrar artmaktadır (1). Bu nedenle hastalığın patogenezinde rol oynayan efektör hücrelere yönelik tedavi stratejileri üzerinde çalışılmaktadır. Geçmişte alemtuzumab (anti-CD52 monoklonal antikoru) ile T lenfosit sayısının azaltılması denenmiştir (162). Bu gün abatacept (*soluble* CTLA4-IgG füzyon proteini) ile T lenfosit co-stimülasyonunun inhibe edilmesi RA tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır. Yine rituximab (anti-CD20 monoklonal antikoru) ile periferik kanda dolaşan B lenfosit sayısının azaltılması da tedaviye dirençli RA olgularında başarılı sonuçlar vermektedir (85).

Otoimmün hastalıklarda T lenfositler inflamasyonu yönlendiren orkestra şefi olarak görev yaparlar (1). CD4+ T lenfositler proliferasyonları sırasında ortamda bulunan sitokinler tarafından Th1 veya Th2 alt gruplarına farklılaştırılırlar. Bu sayede ortaya çıkacak olan immün yanıtta proinflamatuvar sitokinler ve hücrel

immünitenin mi, yoksa anti-inflamatuar sitokinler ve hümorale immünitenin mi hakim olacağı belirlenmiş olur. Hücresele immünite Th1 hücreleri tarafından yönlendirilirken hümorale immünite Th2 hücreleri tarafından yönlendirilmektedir (2). Romatoid sinovitte tespit edilen sitokin paterni Th1 hücrelerin hakimiyetini desteklemektedir; artritikle eklemlerde TNF-alfa, IL12 ve INF-gama sitokinleri yüksek düzeylerde bulunurken IL4 nadiren tespit edilmektedir (1, 3, 4). Bununla birlikte tutulan eklemlerde IL10 ve IL6 sitokinlerinin de bulunması Th2 hücrelerinde bir aktivite artışına işaret etmekte ve bu hücrelerin de hastalık seyrinde önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir (1, 3, 6). Th1 ve Th2 polarizasyonlu hastalıkların aynı kişide birlikte bulunabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (148). Günümüzde artritikle eklemlerdeki inflamasyon şiddetinin sinoviyumda bulunan proinflamatuvar (Th1 tipi) sitokinlerle anti-inflamatuar (Th2 tipi) sitokinler arasındaki dengesizliğe bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu görüş DMARD kullanımıyla remisyona giren RA'li hastalarda eklem düzeyinde Th1/Th2 sitokin imbalansının düzelmesiyle desteklenmektedir (7, 8).

Cluster Differentiation 26 molekülü hücre membranında bulunan bir tip II transmembran glikoproteinidir ve dipeptidil peptidaz-IV (DPP-IV) enzim aktivitesi göstermektedir (10). Vucutta CD26 dışında DPP-IV enzim aktivitesi gösteren farklı moleküller de tanımlanmıştır. Ancak sistemik DPP-IV aktivitesinin en önemli aktörü CD26 olduğundan CD26 ve DPP-IV birbirinin sinonimi olarak kullanılmaktadır (163, 164). Yapılan araştırmalar serum ve sinoviyal sıvıdaki DPP-IV aktivitesi ile sCD26 düzeyleri arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon olduğuna ve dolayısıyla DPP-IV aktivitesinde sCD26 düzeylerinin belirleyici faktör olduğuna işaret etmektedir (15). CD26 molekülü damar endotel hücrelerinde ve karaciğer, böbrek, pankreas ve overler gibi sekretuar organlarda yapısal olarak bulunmakla birlikte buralardaki CD26 ekspresyonunun sabit olduğuna inanılır (12). RA'li hastalarda periferik kandaki CD26+ T lenfosit sayısı ve bu lenfositlerdeki CD26 ekspresyonu artmıştır. CD26+ T lenfositlerde TCR stimulasyonu sonucu ortaya çıkan proinflamatuvar sitokin paternine dayanılardan CD26 molekülünün Th1 hücre markırı olarak kullanılabilceği düşünülmektedir (14, 149, 150). Ayrıca Th1 tipi sitokinler olan IL12 ve IL2 ile uyarılan T lenfositlerde CD26 ekspresyonunun artması da bu görüşü desteklemektedir (165). Hücre yüzeyinde eksprese edilen

CD26'nın bir kısmı serbest halde plazma ve vucut sıvılarına salınmaktadır. Vucut sıvılarına geçen bu *soluble* form (sCD26) ELISA yöntemi ile ölçülerek klinik araştırmalarda kullanılabilir (12).

İnaktif T lenfositlerin yüzeyinde düşük miktarlarda CD26 ekspresyonu görülürken, aktifleşen T lenfositlerde CD26 ekspresyonunda hızlı bir artış (*up-regulation*) görülmesi T lenfosit fonksiyonlarında CD26'nın önemli bir role sahip olduğuna işaret etmektedir (166, 167). CD26 molekülünün yüksek bir affinite ile adenosin deaminaz (ADA) enzimini bağladığı ve böylece ekstraselüler ortamda anti-inflamatuar bir molekül olan adenosin düzeylerini azalttığı bildirilmiştir. Düşük adenosin düzeyi RA'li hastalarda istenmeyen bir durumdur, zira metotreksatın anti-inflamatuar etkisini ekstraselüler ortamda adenosin düzeyini arttırarak gösterdiği bilinmektedir (168). İn-vitro çalışmalar ve deneysel hayvan modelleri CD26'nın T lenfositlerin transendoteliyal migrasyonunu arttırarak inflame dokuda toplanmalarında rolü olduğunu göstermiştir (169, 170). Bu açıdan RA patogenezinde yüksek düzeyde CD26 eksprese eden T lenfositlerin artan transendoteliyal migrasyon yeteneği sayesinde inflamasyonu başlatmak üzere sinoviyal dokuya geçtikleri düşünülmektedir (171, 172).

Romatoid artritli olgularda hastalık şiddeti ile ilişkili olarak T lenfositlerin yüzeyinde CD26 ekspresyonu artmaktadır (171-173). Ayrıca periferik kanda ve sinoviyal sıvıda CD26+ T lenfosit sayısının da hastalık şiddeti ile orantılı olarak arttığı görülmektedir (14, 149, 171-173). Ancak beklenenin aksine elde edilen çalışmaların sonuçları RA'li hastalarda sağlıklı kontrollerle veya osteoartritli olgularla karşılaştırıldığında serum ve sinoviyal sıvıda sCD26 düzeyinin ve DPP-IV aktivitesinin daha düşük olduğunu göstermektedir (14, 15, 174, 175). Ayrıca hastalık aktivite göstergeleri ile (şiş eklem sayısı, hassas eklem sayısı, DAS28, serum CRP düzeyleri) serum DPP-IV aktivitesi arasında negatif korelasyon olduğu da bildirilmiştir (14, 15, 175-177). Yapılan bir araştırmada RA'li hastalar yüksek serum CRP düzeyi olanlar ve düşük serum CRP düzeyi olanlar şeklinde iki gruba ayrıldığında yüksek serum CRP düzeyi olan grupta serum DPP-IV aktivitesi ve sCD26 düzeyleri anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Yine aynı çalışmadan bildirilen sonuçlara göre serum sCD26 düzeyleri ile CRP düzeyleri arasında negatif bir korelasyon görülmektedir (15). Ancak RA'li hastalarda DPP-IV aktivitesiyle ilgili

farklı sonuçlar da bildirilmiştir. Mantle ve ark. (178) yaptıkları çalışmada RA'li hastalar ve sağlıklı kontroller arasında serum DPP-IV aktiviteleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Biz ise yaptığımız bu çalışmada RA'li hastalarda serum sCD26 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu, ancak hastalık aktivite göstergeleri ile serum sCD26 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı sonucuna vardık. Çalışmamızın sonuçlarına göre yüksek/orta hastalık aktivitesi olan RA'li hastalarla düşük hastalık aktivitesi olanlar arasında bir fark olmadığı gibi erken RA'li olgularla yerleşmiş RA'li olgular arasında da serum sCD26 düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Romatoid artrit dışında diğer bazı otoimmün hastalıklarda, immün süpresyonda, HIV enfeksiyonunda, malignitelerde ve irradyasyon sırasında da düşük serum DPP-IV aktivitesi ya da düşük sCD26 düzeyleri bildirilmiştir (12). İnflamatuar bağırsak hastalığında hastalık aktivitesi ve serum CRP düzeyleri yüksek olan olgularda serum sCD26 düzeyleri düşük bulunmuştur (179). Yine benzer şekilde sistemik lupus eritematozus hastalarında da kontrol grubuna göre düşük DPP-IV enzim aktivitesi ve hastalık aktivitesiyle negatif korelasyon görülmektedir (180).

Romatoid artritli hastalarda Th1 hücre aktivitesi ve dolayısıyla CD26 eksprese eden hücre sayısı arttığı halde sCD26/DPP-IV düzeylerinin serum ve sinoviyal sıvıda niçin düşük bulunduğu tam olarak bilinmemektedir. Olası bir mekanizma aktive olan T lenfositlerde nonspesifik proteazların azalması ve bu nedenle hücre yüzeyinden CD26 serbestleşmesinde azalma olabilir. Bir diğer neden ise sCD26'nın kollajenle çapraz bağ yapması ve sinoviyal hücreler tarafından internalize edilmesi olabilir (12, 14). Deneysel artrit modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda da artritik hayvanlarda serum sCD26 düzeyleri ve DPP-IV enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığını gözlemlenmiştir (15, 181). CD26/DPP-IV enzimi proinflamatuvar sitokinlerin (TNF α , IL1) ve kemokinlerin proteoliz yoluyla inaktivasyonunda görev alır. Bu nedenle kanda ve sinoviyal sıvılarda CD26/DPP-IV enzim aktivitesinin azalması proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin yarı ömrünün uzamasına neden olarak RA patogenezinde rol oynayabilir (12, 15, 182).

Deneysel artrit modellerinde sistemik CD26/DPP-IV inhibitörlerinin doza bağımlı olarak anti-artritik etki gösterdiği bildirilmiştir (183, 184). Bir diğer Th1

hücre aracılı otoimmün hastalık olan multipl sklerozun deneysel hayvan modellerinde de sistemik DPP-IV inhibitörlerinin hastalık progresyonunu hem klinik hem de histopatolojik olarak yavaşlattığı gösterilmiştir (185, 186). Yapılan araştırmalar CD26/DPP-IV inhibitörlerinin in-vitro olarak T lenfosit proliferasyonunu ve IL2 sekresyonunu inhibe ettiğini ve in-vivo olarak deney hayvanlarında antikor üretimini azalttığını göstermiştir (187, 188). Ayrıca CD26/DPP-IV inhibitörlerinin T lenfositlerin inflame dokuya geçişini baskıladığı, yine bu hücrelerde DNA sentezini ve TNF-alfa üretimini de inhibe ettiği gösterilmiştir (189). DPP-IV inhibitörlerinin in-vitro olarak T lenfosit fonksiyonlarını baskılaması ve in-vivo olarak deneysel hayvan modellerinde artrit üzerinde olumlu etkiler göstermiş olmasına rağmen daha sonra yapılan çalışmalarda genetik olarak CD26/DPP-IV eksikliği oluşturulan farelerde (CD26/DPP-IV null) artrit daha şiddetli seyretmesi ve proinflatuar kemokin düzeylerinin daha yüksek bulunması bir paradoks oluşturmaktadır (15). Bu durum ilk çalışmalarda kullanılan DPP-IV inhibitörlerinin nonselektif olmasıyla açıklanabilir (186-188, 190-192). Daha sonraki çalışmalarda kullanılan selektif DPP-IV inhibitörlerinin (des-fluro sitagliptin gibi) T lenfosit fonksiyonlarını (proliferasyon, IL2 üretimi) ve antikor üretimini etkilemediği görülmüştür (193, 194). Sonuçlar arasındaki bu farklılık önceki çalışmalarda kullanılan nonselektif inhibitörlerin DPP-IV ile birlikte diğer enzimleri de (DPP-II, DPP-VIII ve DPP-IX gibi) inhibe etmesine bağlanmıştır (194). Selektif DPP-IV enzim inhibitörlerinin T lenfosit fonksiyonlarını baskılamaması ve DPP-IV null deney hayvanlarında T lenfosit yanıtlarının normal bulunması birlikte değerlendirildiğinde T lenfosit fonksiyonları için CD26/DPP-IV aktivitesinin zorunlu olmadığı düşünülebilir. Ancak insanlarda DPP-IV enzimi hayvanlardan farklı olarak ADA enzimi ve CD45 molekülü ile ilişkili olduğundan T lenfositler için co-stimulatör fonksiyonu olabilir (182). İnsan T lenfositlerinin yüzeyinde bulunan CD26/DPP-IV molekülüne bağlı ADA enzimi adenosini parçalayarak onun anti-inflatuar etkisini ve T lenfosit proliferasyonunu inhibe edici etkisini azaltabilir (195).

Deneysel çalışmalarda oldukça kafa karıştırıcı ve çelişkili sonuçlar veren DPP-IV inhibitörlerinin RA'li hastalarda nasıl sonuç vereceği henüz bilinmemektedir. Ancak şu vurgulanmalıdır ki dolaşan T lenfositlerde DPP-IV aktivitesinin sistemik olarak bloklanması faydalı olabilir, diğer taraftan sinoviyal sıvıdaki DPP-IV

aktivitesinin bloklanması proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerin yarılanma ömrünü uzatarak inflamasyonu arttırabilir. Bu nedenle farmakolojik olarak hücre yüzeyine bağlı DPP-IV aktivitesini baskılayan, ancak ekstraselüler sıvılardaki DPP-IV aktivitesini baskılamayan ajanların geliştirilmesi hedeflenmelidir (12).

Tumor necrosis factor reseptör süperfamilyasından bir hücre yüzey molekülü olan CD30'un Th2 tipi (anti-inflamatuar) sitokin sekrete eden CD4+ T hücre klonlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (9, 11, 196). Yüzeyinde CD30 eksprese eden T lenfositlerin aktivasyonu sonucu CD30 molekülünün 85 kD ağırlığındaki *soluble* formu (sCD30) serbest halde vucut sıvılarına geçer. Vucut sıvılarındaki sCD30'un ELISA yöntemi ile ölçülebilmesi CD30+ hücre aktivitesini belirlemede kolay ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir (196). Bronşial asthma ve atopi gibi Th2 aracılı otoimmün hastalıklarda yüksek serum sCD30 düzeylerinin kanda ve etkilenmiş dokularda artmış CD30+ hücre sayısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (197). İlginç olarak Hashimoto tiroiditi ve Sjögren sendromu gibi Th1 aracılı çeşitli otoimmün hastalıklarda da yüksek sCD30 düzeyleri bildirilmiştir (198, 199).

Romatoid artritli hastalarda yapılan araştırmalar kontrol grubuyla kıyaslandığında hasta grubunda sCD30 düzeylerinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (9, 16-18, 200). Biz de bu çalışmalarla uyumlu olarak RA'li hastalarda serum sCD30 düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulduk. RA patogenezinde Th1 hücreler baskın olmasına karşın romatoid sinoviyumda bulunan CD30+ T lenfositlere bağlı olarak sCD30 düzeylerinin yükseldiği düşünülmektedir (16, 200). Romatoid sinoviyumdan elde edilen CD30+ T lenfositlerin anti-inflamatuar sitokinler olan IL4 ve IL10 üretebildikleri gösterilmiştir (200). RA'li hastalarda serum sCD30 düzeylerinin yüksek bulunması Th2 hücrelerin inflamasyonu baskılama çabasının basit bir göstergesi olabilir (6). Erken hastalık döneminde serum sCD30 düzeyleri ile CRP düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu ve yüksek sCD30 düzeyinin DMARD'lara iyi yanıtın belirleyicisi olduğu bildirilmiştir (17). Ancak serum sCD30 düzeyleri ile CRP düzeyleri arasındaki negatif korelasyon kronik RA olgularında doğrulanamamıştır (6, 151). Bu durum zaman içerisinde CD30+ T lenfositlerin anti-inflamatuar sitokinler olan IL4 ve IL10 üretebilme yeteneklerinin azalmasına bağlı olabilir. Bir diğer olası mekanizma ise kronik dönemde Th2 tipi sitokinlerin B lenfositleri aktive ederek inflamasyonu

arttırıcı yani zararlı etkilerinin ön plana çıkması olabilir (9, 196). Kronik RA olgularında serum sCD30 düzeyleri ile RF düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon bu görüşü destekleyebilir (151). Ancak biz serum sCD30 düzeyleri ile RF düzeyleri arasında bir ilişki bulamadık. Ayrıca Gerli ve ark. (17) erken RA olgularında geç olgulara göre daha yüksek serum sCD30 düzeyleri bildirmelerine rağmen çalışmamızda erken RA olguları ile yerleşmiş RA olguları arasında serum sCD30 düzeyleri açısından anlamlı bir fark tespit edemedik.

Çalışmamızın bir diğer önemli sonucu da hastalık aktivitesiyle serum sCD30 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmasıdır. DAS28 skoruna göre yüksek/orta hastalık aktivitesi olan grupta düşük hastalık aktivitesi olan gruba göre serum sCD30 düzeyleri daha yüksekti. Ayrıca serum sCD30 düzeylerinin hastalık aktivitesiyle ilişkili tüm klinik ve laboratuvar parametreleriyle pozitif korelasyon gösterdiğini belirledik. Daha önceki çalışmalarda da bizim sonuçlarımıza benzer şekilde serum sCD30 düzeylerinin tutulan eklem sayısı, ESR ve CRP düzeyleri gibi hastalık aktivite göstergeleri ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (16, 201). Bununla birlikte hastalık aktivitesiyle serum sCD30 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildiren yazarlar da vardır (18, 202).

Diğer taraftan çalışmamızda eklem hasarını değerlendirmek için yaptığımız radyolojik skorlama sonuçları ile serum sCD30 düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edemedik. Benzer şekilde Tur ve ark. (18) da sCD30 düzeyleri ile radyolojik skorlamalar arasında anlamlı bir ilişki bulamamıştır.

Romatoid artrit tedavisinde son 10 yıl içerisinde görülen hızlı gelişmelere rağmen metotreksat halen ilk ve en sık tercih edilen DMARD olma özelliğini korumaktadır (22, 203, 204). Tedavide altın standard olarak kabul edilen metotreksatın RA'li hastalardaki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bir folik asit antagonisti olan metotreksatın muhtemel etki mekanizmaları antiproliferatif etki, immünsüpresif etki ve anti-inflamatuar etki olarak sıralanabilir. Metotreksat pürin ve primidin sentezini inhibe ederek lenfositler üzerinde antiproliferatif ve immünsüpresif etki gösterebilirse de RA tedavisinde kullanılan düşük dozların farklı etki mekanizmaları olabilir. Düşük doz metotreksatın ekstraselüler ortamda adenosin düzeyini arttırarak nötrofil kemotaksisini inhibe ettiği, proinflamatuar (Th1 tipi) sitokin düzeylerini düşürdüğü, anti-inflamatuar (Th2 tipi) sitokin düzeylerini

arttırdığı ve böylece anti-inflamatuar etki gösterdiği düşünülmektedir (205, 206). Ratlarda tip II kollajenle oluşturulan bir deneysel artrit modelinde düşük doz metotreksat tedavisinin nonspesifik immünsüpresif ya da antiproliferatif etki göstermediği, ancak immünomodülatör etkisi olduğu bildirilmiştir. Düşük doz metotreksat alan ratlarda T lenfositlerin antijenik stimülasyon karşısında normal proliferatif yanıt sergilediği görülmüştür. Metotreksat verilen ratlarda CD4+CD25+ Treg hücrelerinin arttığı, Th1/Th2 hücreleri arasındaki dengenin Th2 yönüne kaydığı, proinflamatuar (Th1 tipi) sitokin düzeylerinin azaldığı ve anti-inflamatuar (Th2 tipi) sitokin düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir (207). Biz de çalışmamızda düşük doz metotreksat kullanımının serum sCD26 ve sCD30 düzeylerine etkisini araştırarak dolaylı yoldan Th1 ve Th2 hücreleri üzerindeki etkisine ışık tutmaya çalıştık. Yaptığımız analizlerde sadece prednisolon kullanan hastalarla metotreksat + prednisolon kullanan hastalar arasında serum sCD26 ve sCD30 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamadık. PubMed üzerinde yaptığımız literatür taramasında RA'li hastalarda metotreksat kullanımının bu markırlar üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık. Bu nedenle sonuçlarımızın daha geniş çalışmalarla doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

Otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayan efektör hücrelerin belirlenmesi, bu hücrelerin aktivitesini yansıtan kolay ölçülebilir biyokimyasal parametreler ve bunların hastalık aktivitesiyle ilişkisinin belirlenmesi tedavi ve takipte yeni ufuklar açabilir. Th2 hücre markırı olarak kullanılan serum sCD30 düzeylerinin RA'li hastalarda yüksek bulunması Th1 hücre aracılı otoimmün bir hastalık olan RA patogenezinde Th2 hücrelerinde de bir aktivite artışı olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca serum sCD30 düzeylerinin hastalık aktivite göstereleri ile pozitif korelasyon göstermesi bu molekülün gelecekte RA takibinde kullanılabilmesini düşündürmektedir. Th1 hücre aktivitesiyle ilişkili olarak hücre yüzeyinde ekspresyonu artan CD26 molekülünün serumdaki *soluble* düzeyleri (sCD26) beklenen aksine düşük bulunmuştur. Ayrıca serum sCD26 düzeylerin hastalık aktivitesiyle bir ilişkisi tespit edilememiştir.

5. KAYNAKLAR

1. Choy EHS, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001; 344: 907-916.
2. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today* 1997;18:163-166.
3. Miossec P, van den Berg W. Th1/Th2 cytokine balance in arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 2105-2115.
4. Dolhain RJEM, Van der Heiden AN, Ter Haar NT, Breedveld FC, Miltenburg AMM. Shift toward T lymphocytes with a T helper 1 cytokine-secretion profile in the joints of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 9: 1961-1969.
5. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 429-442.
6. Gerli R, Pitzalis C, Lunardi C. The role of T cell cytokines in modulating joint inflammation in rheumatoid arthritis. *IMAJ* 2002; 4 (Suppl): 949-952.
7. Rudwaleit M, Yin Z, Siegert S, Grolms M, Radbruch A, Braun J, Sieper J. Response to methotrexate in early rheumatoid arthritis is associated with a decrease of T cell derived tumor necrosis factor α , increase of interleukin 10, and predicted by the initial concentration of interleukin 4. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 311-314.
8. Kim WU, Cho ML, Kim SI, Yoo WH, Lee SS, Joo YS, et al. Divergent effect of cyclosporin on Th1/Th2 type cytokines in patients with severe, refractory rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27: 324-331.
9. Gerli R, Lunardi C, Vinante F, Bistoni O, Pizzolo G, Pitzalis C. Role of CD30+ T cells in rheumatoid arthritis: a counter-regulatory paradigm for Th1-driven diseases. *Trends Immunol* 2001; 22: 72-77.
10. Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand J Immunol* 2001; 54: 249-264.
11. Del Prete GF, De Carli M, Almerigogna F, Daniel CK, D'Elis MM, Zancuoghi G, et al. Preferential expression of CD30 by human CD4+ T cells producing Th2-type cytokines. *FASEB J* 1995; 9: 81-86.

12. Sedo A, Duke-Cohan JS, Balaziová E, Sedová LR. Dipeptidyl peptidase IV activity and/or structure homologs: contributing factors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Arthritis Research Therapy* 2005; 7: 253-269.
13. Falini B, Pileri S, Pizzolo G, Durkop H, Flenghi L, Stirpe F, et al. CD30 (Ki-1) molecule: a new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as a tool for diagnosis and immunotherapy. *Blood* 1995; 85: 1-14.
14. Cordero OJ, Salgado FJ, Mera-Varela A, Nogueira M. Serum interleukin-12, interleukin-15, soluble CD26, and adenosine deaminase in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2001; 21: 69-74.
15. Busso N, Wagtman N, Herling C, Chobaz-Peclat V, Bischof-Delaloye A, So A, Grouzmann E: Circulating CD26 is negatively associated with inflammation in human and experimental arthritis. *Am J Pathol* 2005; 166: 433-442.
16. Gerli R, Muscat C, Bistoni O, Falini B, Tomassini C, Agea E, et al. High levels of the soluble form of CD30 molecule in rheumatoid arthritis (RA) are expression of CD30+ T cell involvement in the inflamed joints. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 547-550.
17. Gerli R, Bistoni O, Lunardi C, Giacomelli R, Tomassini C, Biagini G, Pitzalis C. Soluble CD30 in early rheumatoid arthritis as predictor of good response to second line therapy. *Rheumatology (Oxford)* 1999; 38: 1282-1284.
18. Tur BS, Ataman S, Süldür N, Düzgün N, Atay MB. Soluble CD30 levels in patients with rheumatoid arthritis. *Turk J Rheumatol* 2009; 24: 131-135.
19. Waldenburger JM, Firestein GS. Rheumatoid arthritis: Epidemiology, pathology and pathogenesis. Klippel JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH (editors). *Primer on the Rheumatic Diseases*. Thirteenth Edition, New York: Springer Science, 2008: 122-132.
20. O'Dell JR. Rheumatoid arthritis: The clinical picture. Koopman WJ, Moreland LW (editors). *Arthritis and Allied Conditions*. Fifteenth Edition, Birmingham: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 1165-1194.
21. David A. Fox. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. Koopman WJ, Moreland LW (editors). *Arthritis and Allied Conditions*. Fifteenth Edition, Birmingham: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 1089-1116.

22. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyo J, Finney C, Curtis JR. American College of Rheumatology 2008 Recommendations for the Use of Nonbiologic and Biologic Disease-Modifying Antirheumatic Drugs in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 762-784.
23. Maini RN, Feldmann M. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. Maddison PJ, Isenberg DA, Woo P, Glass DN (editors). *Oxford Textbook of Rheumatology*. Third Edition, Atlanta: Oxford Press, 1998: 983-1004.
24. Silman A, Pearson J. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2002; 4: 265-272.
25. du Montcel ST, Michou L, Petit-Teixeira E, Osorio J, Lemaire I, Lasbleiz S, et al. New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1063-1068.
26. Firestein, GS, Echeverri, F, Yeo, M, Zvaifler NJ, Green DR. Somatic mutations in the p53 tumor suppressor gene in rheumatoid arthritis synovium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 10895-10900.
27. Maas K, Westfall M, Pietenpol J, Olsen NJ, Aune T. Reduced p53 in peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis is associated with loss of radiation-induced apoptosis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1047-1057.
28. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 1205-1213.
29. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van MAH, Chen W, van Gaalen FA, Jawaheer D, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3433-3438.
30. Schönland SO, Lopez C, Widmann T, Zimmer J, Bryl E, Goronzy JJ, Weyand CM. Premature telomeric loss in rheumatoid arthritis is genetically determined and involves both myeloid and lymphoid cell lineages. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 13471-13476.

31. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 38-46.
32. Andras P. Mechanism of viral pathogenesis in rheumatic disease. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 454-461.
33. Kamanlı A, Çalaşyer İ, Kaya A. Romatoid artritli hastalarda human parvovirüs B19 IgG ve IgM antikor düzeyleri. *Turk J Rheumatol* 2001; 16: 138-142.
34. Nissim A, Winyard PG, Corrigan V, Fatah R, Perrett D, Panayi G, et al. Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3829-3838.
35. Baeten D, Steenbakkens PG, Rijnders AM, Boots AM, Veys EM, De Keyser F. Detection of major histocompatibility complex/human cartilage gp-39 complexes in rheumatoid arthritis synovitis as a specific and independent histologic marker. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 444-51.
36. Grinnell, S, Yoshida, K, Jasin, HE. Responses of lymphocytes of patients with rheumatoid arthritis to IgG modified by oxygen radicals or peroxynitrite. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 80-83.
37. Kinloch, A, Lundberg, K, Wait, R, Wegner N, Lim NH, Zendman AJ, et al. Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2287-2295.
38. Van Eden W, Wick G, Albani S, Cohen I. Stress, heat shock proteins, and autoimmunity: how immune responses to heat shock proteins are to be used for the control of chronic inflammatory diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1113: 217-237.
39. Terato K, Harper DS, Griffiths MM, Hasty DL, Ye XJ, Cremer MA, Seyer JM. Collagen-induced arthritis in mice: synergistic effect of *E. coli* lipopolysaccharide bypasses epitope specificity in the induction of arthritis with monoclonal antibodies to type II collagen. *Autoimmunity* 1995; 22: 137-147.
40. He X, Kang AH, Stuart JM. Accumulation of T cells reactive to type II collagen in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27: 589-93.

41. Cope AP, Patel SD, Hall F, Congia M, Hubers HA, Verheijden GF, et al. T cell responses to a human cartilage autoantigen in the context of rheumatoid arthritis-associated and nonassociated HLA-DR4 alleles. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1497-1507.
42. Uesugi M, Hayashi T, Jasin HE. Covalent cross-linking of immune complexes by oxygen radicals and nitrite. *J Immunol* 1998; 161: 1422-1427.
43. Doyle HA, Mamula MJ. Post-translational protein modifications in antigen recognition and autoimmunity. *Trends Immunol* 2001; 22: 443-449.
44. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2113-2121.
45. Backlund J, Carlsen S, Hoger T, Holm B, Fugger L, Kihlberg J, et al. Predominant selection of T cells specific for the glycosylated collagen type II epitope (263e270) in humanized transgenic mice and in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 9960-9965.
46. Takizawa Y, Suzuki A, Sawada T, Ohsaka M, Inoue T, Yamada R, Yamamoto K et al. Citrullinated fibrinogen detected as a soluble citrullinated autoantigen in rheumatoid arthritis synovial fluids. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 1013-1020.
47. Auger I, Sebbag M, Vincent C, Balandraud N, Guis S, Nogueira L, et al. Influence of HLA-DR genes on the production of rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrinogen. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 342434-32.
48. Lee HS, Irigoyen P, Kern M, Lee A, Batliwalla F, Khalili H, et al. Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1745-1753.
49. Kidd BL, Moore K, Walters MT, Smith JL, Cawley MID. Immunohistological features of synovitis in ankylosing spondylitis: a comparison with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 92-98.

50. Meijer CJL, de Graaff CB, Lafeber GJM, Cats A. In situ localisation of lymphocyte subsets in synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis with monoclonal antibodies. *J Rheumatol* 1982; 9: 359-365.
51. Duke O, Panayi GS, Janossy G, Poulter LW. An immunohistological analysis of lymphocyte subpopulations and their microenvironment in the synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 1982; 49: 22-30.
52. Bresnihan B, Tak PP, Emery P, Klareskog L, Breedveld F. Synovial biopsy in arthritis research: five years of concerted European collaboration. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 506-511.
53. Hale LP. Pathology of rheumatoid arthritis and associated disorders. Koopman WJ, Moreland LW (editors). *Arthritis and Allied Conditions*. Fifteenth Edition, Birmingham: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 1117-1140.
54. Soden M, Rooney M, Whelan A, Feighery C, Bresnihan B. Immunohistological analysis of the synovial membrane: search for predictors of the clinical course in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 673-676.
55. Szekanecz Z, Besenyei T, Szentpetery A, Koch AE. Angiogenesis and vasculogenesis in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22: 299-306.
56. Distler JH, Wenger RH, Gassmann M, Kurowska M, Hirth A, Gay S, et al. Physiologic responses to hypoxia and implications for hypoxia-inducible factors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 10-23.
57. De Busk LM, Chen Y, Nishishita T, Chen J, Thomas JW, Lin PC. Tie2 receptor tyrosine kinase, a major mediator of tumor necrosis factor alpha-induced angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2461-2471.
58. Folkman J, D'Amore PA. Blood vessel formation: what is its molecular basis? *Cell* 1996; 87:1153-1155.
59. Nagashima M, Asano G, Yoshino S. Imbalance in production between vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27: 2339-2342.

60. Koch AE, Volin MV, Woods JM, Kunkel SL, Connors MA, Harlow LA, et al. Regulation of angiogenesis by the C-X-C chemokines interleukin-8 and epithelial neutrophil activating peptide 78 in the rheumatoid joint. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 31-40.
61. Gerritsen ME, Kelley KA, Ligon G, Perry CA, Shen CP, Carley WW. Regulation of the expression of intercellular adhesion molecule 1 in cultured human endothelial cells derived from rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 593-602.
62. Lally F, Smith E, Filer A, Stone MA, Shaw JS, Nash GB, et al. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3460-3469.
63. van der Voort R, van Lieshout AW, Toonen LW, Slöetjes AW, van den Berg WB, Figdor CG, et al. Elevated CXCL16 expression by synovial macrophages recruits memory T cells into rheumatoid joints. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1381-1391.
64. Ruth JH, Haas CS, Park CC, Amin MA, Martinez RJ, Haines GK, et al. CXCL16-mediated cell recruitment to rheumatoid arthritis synovial tissue and murine lymph nodes is dependent upon the MAPK pathway. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 765-78.
65. Norii M, Yamamura M, Iwahashi M, Ueno A, Yamana J, Makino H. Selective recruitment of CXCR3⁺ and CCR5⁺ CCR4⁺ T cells into synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis. *Acta Med Okayama* 2006; 60: 149-157.
66. Kohem CL, Brezinschek RI, Wisbey H, Tortorella C, Lipsky PE, Oppenheimer MN. Enrichment of differentiated CD45RB^{dim}, CD27⁻ memory T cells in the peripheral blood, synovial fluid, and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 844-854.
67. Moore K, Walters MT, Garvey EM, Cawley MID, Smith JL. Immunoregulatory subsets of CD4⁺ lymphocytes within rheumatoid sinovial membranes and the effect of therapy with disease modifying drugs. *Br J Rheumatol* 1987; 26: 55-56.
68. Bugatti S, Caporali R, Manzo A, Vitolo B, Pitzalis C, Montecucco C. Involvement of subchondral bone marrow in rheumatoid arthritis: lymphoid neogenesis and in situ relationship to subchondral bone marrow osteoclast recruitment. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3448-3459.

69. Morales-Ducret J, Wayner E, Elices MJ, Alvaro-Gracia JM, Zvaifler NJ, Firestein GS. Alpha 4/beta 1 integrin (VLA-4) ligands in arthritis. Vascular cell adhesion molecule-1 expression in synovium and on fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol* 1992; 149: 1424-1431.
70. Aupperle KR, Boyle DL, Hendrix M, Seftor EA, Zvaifler NJ, Barbosa M, Firestein GS. Regulation of synoviocyte proliferation, apoptosis, and invasion by the p53 tumor suppressor gene. *Am J Pathol* 1998; 152: 1091-1098.
71. Catrina AI, Ulfgren AK, Lindblad S, Grondal L, Klareskog L. Low levels of apoptosis and high FLIP expression in early rheumatoid arthritis synovium. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 934-936.
72. Smith GN, Jr Mickler EA, Hasty KA, Brandt KD. Specificity of inhibition of matrix metalloproteinase activity by doxycycline: relationship to structure of the enzyme. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1140-1146.
73. Nakamachi Y, Koshiha M, Nakazawa T, Hatachi S, Saura R, Kurosaka M, et al. Specific increase in enzymatic activity of adenosine deaminase 1 in rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 668-674.
74. Wilkinson, LS, Pitsillides, AA, Edwards, JC. Giant cells in arthritic synovium. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 182-184.
75. Marone, G. Mast cells in rheumatic disorders: mastermind or workhorse? *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 245-249.
76. Harris ED, DiBona DR, Krane SM. A mechanism for cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Trans Assoc Am Physicians* 1970; 83: 267-276.
77. Mohr W, Wessinghage D. The relationship between polymorphonuclear granulocytes and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol* 1978; 37: 81-86.
78. Jasin HE. Autoantibody specificities of immune complexes sequestered in articular cartilage of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1985; 28: 241-248.
79. Jasin HE, Taurog JD. Mechanisms of disruption of the articular cartilage surface in inflammation. Neutrophil elastase increases availability of collagen type II epitopes

for binding with antibody on the surface of articular cartilage. *J Clin Invest* 1991; 87: 1531-1536.

80. Konttinen YT, Ainola M, Valleala H. Analysis of 16 different matrix metalloproteinases (MMP-1 to MMP-20) in the synovial membrane: different profiles in trauma and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 691-697.
81. Demasi, M, Cleland, LG, Cook-Johnson, RJ, James, MJ. Effects of hypoxia on the expression and activity of cyclooxygenase 2 in fibroblast-like synoviocytes: interactions with monocyte-derived soluble mediators. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2441-2449.
82. Camcıoğlu Y. İmmün sisteme giriş; terimler, genel nitelikler ve immün sistemi oluşturan unsurlar. Camcıoğlu Y, Günnür Deniz (editörler). *Temel İmmünoloji. Birinci Baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007: 1-20.*
83. İkincioğulları A. Hümorale immün yanıtlar; B lenfosit aktivasyonu ve antikor üretimi. Camcıoğlu Y, Günnür Deniz (editörler). *Temel İmmünoloji. Birinci Baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007: 123-142.*
84. Demiralp-Ekşioğlu E. Edinsel immün sistemde antijen tanıma; lenfosit antijen reseptörlerinin yapısı ve immün repertuarın gelişimi. Camcıoğlu Y, Günnür Deniz (editörler). *Temel İmmünoloji. Birinci Baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007: 63-82.*
85. Chen G. Immunotherapy of rheumatoid arthritis targeting inflammatory cytokines and autoreactive T cells. *Arch Immunol Ther Exp* 2010; 58; 27-36.
86. Davis SJ, van der Merwe PA. The kinetic-segregation model: TCR triggering and beyond. *Nat Immunol* 2006; 7: 803-807.
87. O'Shea JJ, Husa M, Li D, Watford W, Roberts JL, Buckley RH, et al. Jak3 and the pathogenesis of severe combined immunodeficiency. *Mol Immunol* 2004; 41: 727-737.
88. Liu MF, Kohsaka H, Sakurai H, Azuma M, Okumura K, Saito I, Miyasaka N. The presence of costimulatory molecules CD86 and CD28 in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 110-114.

89. MacDonald KP, Nishioka Y, Lipsky PE, Thomas R. Functional CD40 ligand is expressed by T cells in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1997; 100: 2404-2414.
90. Falgarone G, Semerano L, Rulle S, Boissier MC. Targeting lymphocyte activation to treat rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2009; 76: 327-332.
91. Genovese MC, Becker JC, Schiff M, Sherrer Y, Kremer J, Birbara C, et al. Abatacept for rheumatoid arthritis refractory to tumor necrosis factor alpha inhibition. *N Engl J Med* 2005; 353: 1114-1123.
92. Kronenberg M, Rudensky A. Regulation of immunity by self reactive T cells. *Nature* 2005; 435: 598-604.
93. Laky K, Fowlkes BJ. Receptor signals and nuclear events in CD4 and CD8 T cell lineage commitment. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 116-121.
94. Elias K, Siegel R, O'Shea JJ. Molecular and cellular basis of immunity and immunological diseases. Klippel JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH (Editors). *Primer on the Rheumatic Diseases*. Thirteenth Edition, New York: Springer Science, 2008; 94-107.
95. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity* 2006; 24: 677-688.
96. Cope AP. T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2008; 10 (Suppl 1): S1.
97. Cambridge G, Edwards JC. B-cell targeting in rheumatoid arthritis and other immunediseases. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 394-403.
98. Randen I, Brown D, Thompson KM, Hughes JN, Pascual V, Victor K, et al. Clonally related IgM rheumatoid factors undergo affinity maturation in the rheumatoid synovial tissue. *J Immunol* 1992; 148: 3296-301.
99. Dorner T, Egerer K, Feist E, Burmester GR. Rheumatoid factor revisited. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 246-253.
100. van Zeben D, Hazes JM, Zwinderman AH, Cats A, van der Voort EA, Breedveld FC. Clinical significance of rheumatoid factors in early rheumatoid arthritis: results of a follow up study. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 1029-35.

101. Blass S, Schumann F, Hain NA, Engel JM, Stuhlmüller B, Burmester GR. p205 is a major target of autoreactive T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 971-980.
102. Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshina S, Tokuhira S, Yamamoto K. Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 40-50.
103. Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen F, van't Hof M, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-1835.
104. Reparon SC, van Esch WJ, van Kooten C, Schellekens GA, de Jong BA, van't Hof WJ, et al. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 41-47.
105. Brigl M, Bry L, Kent SC, Gumperz JE, Brenner MB. Mechanism of CD1d-restricted natural killer T cell activation during microbial infection. *Nat Immunol* 2003; 4: 1230-1237.
106. Woolley, DE. The mast cell in inflammatory arthritis. *N Engl J Med* 2003; 348: 1709-11.
107. Dai SM, Shan ZZ, Xu H, Nishioka K. Cellular targets of interleukin-18 in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1411-1418.
108. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004; 292: 490-495.
109. Lees M, Taylor DJ, Woolley DE. Mast cell proteinases activate precursor forms of collagenase and stromelysin, but not of gelatinases A and B. *Eur J Biochem* 1994; 223: 171-177.
110. Constantin A, Lauwers-Cancès V, Navaux F, Abbal M, van Meervijk J, Mazieres B, et al. Stromelysin 1 (matrix metalloproteinase 3) and HLA-DRB1 gene polymorphisms: Association with severity and progression of rheumatoid arthritis in a prospective study. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1754-1762.

111. Liu M, Sun H, Wang X, Koike T, Mishima H, Ikeda K, et al. Association of increased expression of macrophage elastase (matrix metalloproteinase 12) with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3112-3117.
112. Mathsson L, Lampa J, Mullazehi M, Rönnelid J. Immune complexes from rheumatoid arthritis synovial fluid induce FcγRIIa dependent and rheumatoid factor correlated production of tumour necrosis factor-α by peripheral blood mononuclear cells. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R64.
113. Walsh NC, Crotti TN, Goldring SR, Gravallese EM. Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone. *Immunol Rev* 2005; 208: 228-251.
114. Salminen-Mankonen HJ, Morko J, Vuorio E. Role of cathepsin K in normal joints and in the development of arthritis. *Curr Drug Targets* 2007; 8: 315-323.
115. Walsh NC, Crotti TN, Goldring SR, Gravallese EM. Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone. *Immunol Rev* 2005; 208: 228-251.
116. Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med* 2007; 13: 156-163.
117. Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 253-259.
118. Baron R, Rawadi G, Roman RS. Wnt signaling: a key regulator of bone mass. *Curr Top Dev Biol* 2006; 76: 103-27.
119. Goldring SR, Goldring MB. Eating bone or adding it: the Wnt pathway decides. *Nat Med* 2007; 13: 133-4.
120. Arend WP. Physiology of cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 45: 101-106.
121. Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. TNF α--a pivotal role in rheumatoid arthritis? *Br J Rheumatol* 1992; 31: 293-298.

122. Valencia X, Stephens G, Goldbach-Mansky R, Wilson M, Shevach EM, Lipsky PE. TNF downmodulates the function of human CD4+CD25+ T-regulatory cells. *Blood* 2006; 108: 253-261.
123. Catrina AI, af Klint E, Ernestam S, Catrina SB, Makrygiannakis D, Botusan IR, et al. Anti-tumor necrosis factor therapy increases synovial osteoprotegerin expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 76-81.
124. van Roon JA, Verweij MC, Wijk MW, Jacobs KM, Bijlsma JW, Lafeber FB. Increased intraarticular interleukin-7 in rheumatoid arthritis patients stimulates cell contact-dependent activation of CD4(+) T cells and macrophages. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1700-17010.
125. McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, Field M, Liew FY. Interleukin-15 mediates T cell-dependent regulation of tumor necrosis factor-alpha production in rheumatoid arthritis. *Nat Med* 1997; 3: 189-195.
126. Dayer JM. Interleukin-18, rheumatoid arthritis, and tissue destruction. *J Clin Invest* 1999; 104: 1337-1339.
127. Dai SM, Matsuno H, Nakamura H, Nishioka K, Yudoh K. Interleukin-18 enhances monocyte tumor necrosis factor alpha and interleukin-1beta production induced by direct contact with T lymphocytes: implications in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 432-443.
128. Joosten LA, Radstake TR, Lubberts E, van den Bersselaar LA, van Riel PL, van Lent PL, et al. Association of interleukin-18 expression with enhanced levels of both interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in knee synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 339-342.
129. Guerne PA, Zuraw BL, Vaughan JH, Carson DA, Lotz M. Synovium as a source of interleukin 6 in vitro. Contribution to local and systemic manifestations of arthritis. *J Clin Invest* 1989; 83: 585-592.
130. Houssiau FA, Devogelaer JP, van Damme J, de Deuxchaisnes CN, van Snick J. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 784-788.

131. Alvaro-Gracia JM, Zvaifler NJ, Firestein GS. Cytokines in chronic inflammatory arthritis. IV. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor-mediated induction of class II MHC antigen on human monocytes: a possible role in rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 1989; 170: 865-875.
132. Ziolkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, Luszczkiewicz G, Wilan P, Dziewczopolski W, et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1744-1753.
133. Roberts AB, Sporn MB. Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta). *Growth Factors* 1993; 8: 1-9.
134. Brandes ME, Allen JB, Ogawa Y, Wahl SM. Transforming growth factor beta 1 suppresses acute and chronic arthritis in experimental animals. *J Clin Invest* 1991; 87: 1108-1113.
135. Berner B, Akça D, Jung T, Muller GA, Reuss-Borst MA. Analysis of Th1 and Th2 cytokines expressing CD4+ and CD8+ T cells in rheumatoid arthritis by flow cytometry. *J Rheumatol* 2000; 27: 1128-1135.
136. McInnes IB, Liew FY. Cytokine networks--towards new therapies for rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2005; 1: 31-39.
137. Raza K, Scheel-Toellner D, Lee CY, Pilling D, Curnow SJ, Falciani F, et al. Synovial fluid leukocyte apoptosis is inhibited in patients with very early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R120.
138. Prots I, Skapenko A, Wendler J, Mattyasovszky S, Yoné CL, Spriewald B, et al. Association of the IL4R single nucleotide polymorphism I50V with rapidly erosive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1491-500.
139. Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, Whitty GA, Piccoli DS, Hamilton JA. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 3803-3807.

140. Yudoh K, Matsuno H, Nakazawa F, Yonezawa T, Kimura T. Reduced expression of the regulatory CD4⁺ T cell subset is related to Th1/Th2 balance and disease severity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 617-627.
141. Zrioual S, Toh ML, Tournadre A, Zhou Y, Cazalis MA, Pachot A, et al. IL-17RA and IL-17RC receptors are essential for IL-17A-induced ELR⁺ CXC chemokine expression in synoviocytes and are overexpressed in rheumatoid blood. *J Immunol* 2008; 180: 655-663.
142. Chabaud M, Durand JM, Buchs N, Fossiez F, Page G, Frappart L, Miossec P. Human interleukin-17: A T cell-derived proinflammatory cytokine produced by the rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 963-970.
143. Kirkham BW, Lassere MN, Edmonds JP, Juhasz KM, Bird PA, Lee CS, et al. Synovial membrane cytokine expression is predictive of joint damage progression in rheumatoid arthritis: a two-year prospective study (the DAMAGE study cohort). *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1122-1131.
144. Stamp LK, James MJ, Cleland LG. Paracrine upregulation of monocyte cyclooxygenase-2 by mediators produced by T lymphocytes: role of interleukin 17 and interferon-gamma. *J Rheumatol* 2004; 31: 1255-1264.
145. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum* 1990; 33: 768-773.
146. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 397-440.
147. Boissier MC, Assier E, Falgarone G, Bessis N. Shifting the imbalance from Th1/Th2 to Th17/treg: the changing rheumatoid arthritis paradigm. *Joint Bone Spine* 2008; 75: 373-375.
148. Kero J, Gissler M, Hemminki E, Isolauri E. Could TH1 and TH2 diseases coexist? Evaluation of asthma incidence in children with celiac disease, type 1 diabetes, or rheumatoid arthritis: a register study. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 781-783.
149. Cordero OJ, Salgado FJ, Vinuela JE, Nogueira M. Interleukin-12 enhances CD26 expression and dipeptidyl peptidase IV function on human activated lymphocytes. *Immunobiology* 1997; 197: 522-533.

150. Salgado FJ, Vela E, Martin M, Franco R, Nogueira M, Cordero OJ. Mechanisms of CD26/dipeptidyl peptidase IV cytokine dependent regulation on human activated lymphocytes. *Cytokine* 2000; 12: 1136-1141.
151. Nakamura T, Lee RK, Nam SY, Al-Ramadi BK, Koni PA, Bottomly K, et al. Reciprocal regulation of CD30 expression on CD4+ T cells by IL-4 and IFN-g. *J Immunol* 1997; 158: 2090-2098.
152. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShare DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-324.
153. Fuchs HA, Pincus T. Reduced joint counts in controlled clinical trials in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 470-475.
154. Prevoe MLL, van't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LBA, van Riel PLCM. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 44-48.
155. Fransen J, Stucki G, van Riel PL. Rheumatoid Arthritis measures: Disease Activity Score (DAS), Disease Activity Score-28 (DAS28), Rapid Assessment of Disease Activity in Rheumatology (RADAR), and Rheumatoid Arthritis Disease Activity Index (RADAI). *Arthritis Rheum* 2003; 49 (Suppl 9): 214-224.
156. Kucukdeveci AA, Sahin H, Ataman S, Griffiths B, Tennant A. Issues in cross-cultural validity: example from the adaptation reliability and validity testing of a Turkish version of the Stanford Health Assessment Questionnaire (HAQ). *Arthritis Care Res* 2004; 51: 14-19.
157. Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 137-145.
158. Larsen A. How to apply Larsen score in evaluating radiographs of rheumatoid arthritis in long-term studies. *J Rheumatol* 1995; 22: 1974-1975.
159. Weyand CM, Fujii H, Shao L, Goronzy JJ. Rejuvenating the immune system in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5: 583-588.

160. Shao L, Fujii H, Colmegna I, Oishi H, Goronzy JJ, Weyand CM. Deficiency of the DNA repair enzyme ATM in rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 2009;206:1435-1449.
161. Fujii H, Shao L, Colmegna I, Goronzy JJ, Weyand CM. Telomerase insufficiency in rheumatoid arthritis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2009; 106: 4360-4365.
162. Jendro MC, Ganten T, Matteson EL, Weyand CM, Goronzy JJ. Emergence of oligoclonal T cell populations following therapeutic T cell depletion in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1242-1251.
163. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)—role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept* 1999; 85: 9-24.
164. Sedo A, Malik R. Dipeptidyl peptidase IV-like molecules: homologous proteins or homologous activities? *Biochim Biophys Acta* 2001; 1550: 107-116.
165. Yamabe T, Takakura K, Sugie K, Kitaoka Y, Takeda S, Okubo Y, et al. Induction of the 2B9 antigen/dipeptidyl peptidase IV/CD26 on human natural killer cells by IL-2, IL-12 or IL-15. *Immunology* 1997; 91: 151-158.
166. Morimoto C, Schlossman SF. The structure and function of CD26 in the T-cell immune response. *Immunol Rev* 1998; 161: 55-70.
167. Reinhold D, Kahne T, Steinbrecher A, Wrenger S, Neubert K, Ansorge S, Brocke S. The role of dipeptidyl peptidase IV (DP IV) enzymatic activity in T cell activation and autoimmunity. *Biol Chem* 2002; 383: 1133-1138.
168. Cronstein BN, Naime D, Ostad E. The antiinflammatory effects of methotrexate are mediated by adenosine. *Adv Exp Med Biol* 1994; 370: 411-416.
169. Ohnuma K, Munakata Y, Ishii T, Iwata S, Kobayashi S, Hosono O, et al. Soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV induces T cell proliferation through CD86 upregulation on APCs. *J Immunol* 2001; 167: 6745-6755.
170. Ikushima H, Munakata Y, Iwata S, Ohnuma K, Kobayashi S, Dang NH, Morimoto C. Soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enhances transendothelial migration via its interaction with mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Cell Immunol* 2002; 215: 106-110.

171. Muscat C, Bertotto A, Agea E, Bistoni O, Ercolani R, Tognellini R, et al. Expression and functional role of 1F7 (CD26) antigen on peripheral blood and synovial fluid T cells in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Immunol* 1994; 98: 252-256.
172. Mizokami A, Eguchi K, Kawakami A, Ida H, Kawabe Y, Tsukada T, et al. Increased population of high fluorescence 1F7 (CD26) antigen on T cells in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1996; 23: 2022-2026.
173. Gerli R, Muscat C, Bertotto A, Bistoni O, Agea E, Tognellini R, et al. CD26 surface molecule involvement in T cell activation and lymphokine synthesis in rheumatoid and other inflammatory synovitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 80: 31-37.
174. Hagihara M, Ohhashi M, Nagatsu T. Activities of dipeptidyl peptidase II and dipeptidyl peptidase IV in mice with lupus erythematosus-like syndrome and in patients with lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 1987; 33: 1463-1465.
175. Kamori M, Hagihara M, Nagatsu T, Iwata H, Miura T. Activities of dipeptidyl peptidase II, dipeptidyl peptidase IV, prolyl endopeptidase, and collagenase-like peptidase in synovial membrane from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Biochem Med Metab Biol* 1991; 45: 154-160.
176. Kullertz G, Boigk J. Dipeptidyl peptidase IV activity in the serum and synovia of patients with rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol* 1986; 45: 52-56.
177. Scholzova E, Sedova L, Mares V, Balaziová E, Vlasicova K, Nytrova P, et al. Dipeptidyl peptidase IV activity and/or structure homologues (DASH) - the novel players in pathogenesis of rheumatoid and psoriatic arthritides. *Eur J Biochem* 2004; 271: 104-105.
178. Mantle D, Falkous G, Walker D. Quantification of protease activities in synovial fluid from rheumatoid and osteoarthritis cases: comparison with antioxidant and free radical damage markers. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 45-58.
179. Hildebrandt M, Rose M, Ruter J, Salama A, Monnikes H, Klapp BF. Dipeptidyl peptidase IV (DP IV, CD26) in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 1067-1072.

180. Kobayashi H, Hosono O, Mimori T, Kawasaki H, Dang NH, Tanaka H, Morimoto C. Reduction of serum soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enzyme activity and its correlation with disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002; 29: 1858-1866.
181. Fujita K, Hagihara M, Nagatsu T, Iwata H, Miura T. The activity of dipeptidyl peptidase II and dipeptidyl peptidase IV in mice immunized with type II collagen. *Biochem Med Metab Biol* 1992; 48: 227-234.
182. Boonacker E, Van Noorden CJ. The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV. *Eur J Cell Biol* 2003; 82: 53-73.
183. Tanaka S, Murakami T, Nonaka N, Ohnuki T, Yamada M, Sugita T. Anti-arthritic effects of the novel dipeptidyl peptidase IV inhibitors TMC-2A and TSL-225. *Immunopharmacology* 1998; 40: 21-26.
184. Tanaka S, Murakami T, Horikawa H, Sugiura M, Kawashima K, Sugita T. Suppression of arthritis by the inhibitors of dipeptidyl peptidase IV. *Int J Immunopharmacol* 1997; 19: 15-24.
185. Steinbrecher A, Reinhold D, Quigley L, Gado A, Tresser N, Izikson L, et al. Dipeptidyl peptidase IV in inflammatory CNS disease. *Adv Exp Med Biol* 2000; 477: 145-153.
186. Steinbrecher A, Reinhold D, Quigley L, Gado A, Tresser N, Izikson L, et al. Targeting dipeptidyl peptidase IV (CD26) suppresses autoimmune encephalomyelitis and up-regulates TGF-beta 1 secretion in vivo. *J Immunol* 2001; 166: 2041-2048.
187. Kubota T, Flentke GR, Bachovchin WW, Stollar BD. Involvement of dipeptidyl peptidase IV in an in vivo immune response. *Clin Exp Immunol* 1992; 89: 192-197.
188. Williams YN, Baba H, Hayashi S, Ikai H, Sugita T, Tanaka S, et al. Dipeptidyl peptidase IV on activated T cells as a target molecule for therapy of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2003; 131: 68-74.
189. Reinhold D, Hemmer B, Gran B, Steinbrecher A, Brocke S, Kahne T, et al. Dipeptidyl peptidase IV (CD26): role in T cell activation and autoimmune disease. *Adv Exp Med Biol* 2000; 477: 155-160.

190. Flentke GR, Munoz E, Huber BT, Plaut AG, Kettner CA, Bachovchin WW. Inhibition of dipeptidyl aminopeptidase IV (DP-IV) by Xaa-boroPro dipeptides and use of these inhibitors to examine the role of DP-IV in T-cell function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1556-1559.
191. Reinhold D, Bank U, Buhling F, Tager M, Born I, Faust J, et al. Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV (DP IV, CD26) induces secretion of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) in stimulated mouse splenocytes and thymocytes. *Immunol Lett* 1997; 58: 29-35.
192. Schon E, Jahn S, Kiessig ST, Demuth HU, Neubert K, Barth A, et al. The role of dipeptidyl peptidase IV in human T lymphocyte activation. Inhibitors and antibodies against dipeptidyl peptidase IV suppress lymphocyte proliferation and immunoglobulin synthesis in vitro. *Eur J Immunol* 1987; 17: 1821-1826.
193. Vora KA, Porter G, Peng R, Cui Y, Pryor K, Eiermann G, Zaller DM. Genetic ablation or pharmacological blockade of dipeptidyl peptidase IV does not impact T cell-dependent immune responses. *BMC Immunology* 2009; 10: 19.
194. Lankas GR, Leiting B, Roy RS, Eiermann GJ, Beconi MG, Biftu T, et al. Dipeptidyl peptidase IV inhibition for the treatment of type 2 diabetes: potential importance of selectivity over dipeptidyl peptidases 8 and 9. *Diabetes* 2005; 54: 2988-2994.
195. Dong RP, Tachibana K, Hegen M, Munakata Y, Cho D, Schlossman SF, Morimoto C. Determination of adenosine deaminase binding domain on CD26 and its immunoregulatory effect on T cell activation. *J Immunol* 1997; 159: 6070-6076.
196. Gerli R, Pitzalis C, Bistoni O, Lunardi C. CD30 molecule and autoimmune diseases. *Recent Res Devel Allergy Clin Immunol* 2001; 2: 79-85.
197. Leonard C, Tormey V, Faul J, Burke CM, Poulter LW. Allergeninduced CD30 expression on T cells of atopic asthmatics. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 780-786.
198. Ruggeri RM, Barresi G, Sciacchitano S, Trimarchi F, Benvenga S, Trovato M. Immunoexpression of the CD30 ligand/CD30 and IL-6/IL-6R signals in thyroid autoimmune diseases. *Histol Histopathol* 2006; 21: 249-256.
199. Gerli R, Calligaris-Cappio F, Bistoni O, Berter MT, Giacomelli R, Falini B. Soluble CD30 in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17: 389-90.

200. Gerli R, Pitzalis C, Bistoni O, Falini B, Costantini V, Russano A, et al. CD30+ T cells in rheumatoid synovitis: mechanisms of recruitment and functional role. *J Immunol* 2000; 164: 4399-4407.
201. Savolainen E, Matinlauri I, Kautiainen H, Luosujarvi R, Kaipainen-Seppanen O. Serum soluble CD30 in early arthritis: a sign of inflammation but not a predictor of outcome. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: 922-925.
202. Ichikawa Y, Yoshida M, Yamada C, Horiki T, Hoshina Y, Uchiyama M. Circulating soluble CD30 levels in primary Sjögren's syndrome, SLE and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 759-760.
203. Sokka T, Pincus T. Contemporary disease modifying antirheumatic drugs (DMARD) in patients with recent onset rheumatoid arthritis in a US private practice: methotrexate as the anchor drug in 90% and new DMARD in 30% of patients. *J Rheumatol* 2002; 29: 2521-2524.
204. Pavy S, Constantin A, Pham T, Gossec L. Methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: clinical practice guidelines based on published evidence and expert opinion. *Joint Bone Spine* 2006; 73: 388-395.
205. Seitz M. Molecular and cellular effects of methotrexate. *Curr Opin Rheumatol* 1999; 11: 226-232.
206. Chan ES, Cronstein BN. Molecular action of methotrexate in inflammatory diseases. *Arthritis Res* 2002; 4: 266-273.
207. Xinqiang S, Fei L, Nan L, Yuan L, Fang Y, Hong X, et al. Therapeutic efficacy of experimental rheumatoid arthritis with low-dose methotrexate by increasing partially CD4+CD25+Treg cells and inducing Th1 to Th2 shift in both cells and cytokines. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 463-471.

6. EKLER

Ek 1. Aydınlatılmış onam formu örneği

Aydınlatılmış Onam Formu

Sayın Hasta,

Katılmanız istenen bu çalışma, “Romatoid artritli hastalarda serum soluble CD26 ve CD30 düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi” adını taşımaktadır. Bu belge, çalışmada kullanılan prosedürler ve çalışmadan ayrılma özgürlüğünüz konusunda sizi bilgilendirmeyi amaçlamaktadır. Çalışma ile ilgili her türlü konuyu ve belgeyi doktorunuzla tartışmaktan kaçınmayın. Katılmaya karar verirsiniz, sizden onam formunu imzalamanız istenecektir. Katılmanız tamamıyla gönüllülük temelindedir; eğer katılmaya karar verirsiniz, bu gelecekte alacağınız herhangi bir tedaviyi etkilemeyecektir. Ayrıca çalışmanın herhangi bir aşamasında çalışmadan ayrılma hakkına da sahipsiniz. Çalışma ile ilgili sorularınız için Dr. Hasan Ulusoy’a (0424) 2333555 – 2021/2022 no’lu telefonlardan ulaşabilirsiniz.

Bu çalışmanın kapsamında yapılacak olan tetkikler için sizden veya güvencesi altında bulunduğunuz, resmi ya da özel kurum ve kuruluştan ücret talep edilmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size de bir ücret ödenmeyecektir. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılacaktır. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Araştırmaya katılan katılımcılardan yapılacak tetkikler için bir defaya mahsus 5 mililitre kan alınacaktır. Kan alma sırasında az bir acı duyabilirsiniz, çok düşük bir ihtimalle kanamanın uzaması ve enfeksiyon riski vardır. Muayane sırasında hastalığınızın şiddetini belirlemek için sizden bir adet anket formunu (HAQ = Sağlık Değerlendirme Anketi) doldurmanız istenecektir. Çalışma boyunca yukarıda size anlatılan testler ve kan tahlilleri yalnızca bir kez uygulanacaktır.

İmzalamış olduğunuz Bilgilendirilmiş Onam Formu’nun bir örneği size verilecektir. Sorumlu doktora haber vermek kaydıyla, bu çalışmadan istediğiniz an çıkabilirsiniz. Bu çalışmaya katılmayı reddetmeniz ya da sonradan çekilmeniz halinde, hiçbir sorumluluk altına girmiyorsunuz ve bu durumun şimdi ya da gelecekte ihtiyacınız olan tıbbi bakımı hiçbir şekilde etkilemeyecektir. Çalışmaya katılmayı kabul etmediğiniz takdirde tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır.

Eğer sağlıklı gönüllüler olarak kontrol grubuna alınıyorsanız bu çalışmanın size bir faydası bulunmamaktadır. Buna rağmen sizden bir defaya mahsus 5 mililitre kan alınarak “Romatoid artritli hastalarda serum soluble CD26 ve CD30 düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi” adlı çalışmada kullanılacaktır. Kan alma sırasında az bir acı duyabilirsiniz, çok düşük bir ihtimalle kanamanın uzaması ve enfeksiyon riski vardır. Katılmanız tamamıyla gönüllülük temelindedir; eğer katılmaya karar verirsiniz, bu gelecekte alacağımız herhangi bir tedaviyi etkilemeyecektir. Ayrıca çalışmanın herhangi bir aşamasında çalışmadan ayrılma hakkına da sahibsiniz. Çalışma ile ilgili sorularınız için Dr. Hasan Ulusoy’a (0424) 2333555 – 2021/2022 no’lu telefonlardan ulaşabilirsiniz.

Katılımcının (gönüllü) beyanı:

“Romatoid artritli hastalarda serum soluble CD26 ve CD30 düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi” konulu çalışmanın genel amaçları konusunda bilgilendirilmiş bulunuyorum. Çalışmanın amacı ve yapısı, olası riskleri ve rahatsızlıkları konusunda tarafıma ayrıntılı bir açıklama yapıldı ve bunları tamamıyla anlamış bulunuyorum. Sorumlu doktora haber vermek kaydıyla, bu çalışmadan istediğim zaman çıkabilirim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan ayrılmam durumunda, hiçbir sorumluluk altına girmeyeceğim ve bu durumun şimdi ya da gelecekte tıbbi bakımımı hiçbir şekilde etkilemeyeceği açıklandı. Bu çalışmanın kapsamında yapılacak olan tetkikler için benden veya güvencesi altında bulunduğum, resmi ya da özel kurum ve kuruluştan ücret talep edilmeyecektir. Çalışmaya katılmam nedediyle bana da bir ücret ödenmeyecektir. Çalışma ile ilgili bilgiler kimliğim belirtilmeden bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılacaktır. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

İmzalamış olduğum Bilgilendirilmiş Onam Formu’nun bir örneği bana verilecektir.

Tarih:

...../...../.....

Katılımcının Adı Soyadı:İmzası

Adresi :

.....

Araştırmacının Adı Soyadı:.....İmzası

Tanığın Adı Soyadı:.....İmzası

Ek 2. Hasta formu örneği

Romatoid Artritli Hastalarda Serum Soluble CD26 ve CD30 Düzeylerinin

Hastalık Aktivitesi İle İlişkisi

Adı Soyadı:

Yaşı:

Cinsiyeti:

Tel:

Dosya No:

Hastalık süresi (yıl):

Kullandığı ilaçlar ve süresi (güncel tedavisi):

Sabah tutukluğu (dakika):

Geçen hafta içerisindeki ağrı şiddeti (VAS):

0	100
---	-----

Halsizlik yorgunluk (VAS):

0	100
---	-----

Hastanın global değerlendirmesi (VAS):

0	100
---	-----

Hekimin global değerlendirmesi (VAS):

0	100
---	-----

Şiş eklem sayısı (28):

Hassas eklem sayısı (28):

DAS28:

HAQ skoru (0-3):

ESR:

CRP:

RF:

sCD26:

sCD30:

Larsen skoru (0-120):

Ek 3. Sağlık değerlendirme anketi

HAQ (SAĞLIK DEĞERLENDİRME ANKETİ)					Skor
GEÇEN HAFTAKİ AKTİVİTELERİNİZİ EN İYİ TANIMLAYAN SEÇENEĞİ İŞARETLEYİNİZ.					
	Hiç zorlanmadan	Biraz zorlanarak	Çok zorlanarak	Yapamıyorum	
1. <u>Giyinme ve kuşanma:</u> Giyinebiliyor musunuz (düğme ilikleme ve ayakkabı bağlamak dahil)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Saçınızı yıkayabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
2. <u>Ayağa kalkma:</u> Kolsuz bir sandalyeden kalkabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yatağa yatıp kalkabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
3. <u>Yemek yeme:</u> Etinizi kesebiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dolu bir bardağı veya fincanı ağzınıza götürebiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Karton süt/meyve suyu kutusu açabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
4. <u>Yürüme:</u> Evin dışında düz alanda yürüyebiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Beş basamak çıkabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
5. <u>Hijyen:</u> Tüm vücudunuzu yıkayıp kurulayabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Küvete girebiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tuvalete girip çıkabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
6. <u>Uzanma:</u> Başınız hizasındaki 2,5 kiloluk bir nesneyi (örn. bir torba şeker) alabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eğilip yerden elbise veya eşya alabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
7. <u>Kavrama:</u> Araba kapısını açabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Daha önce açılmış kavanozları açabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Muslukları açıp kapatabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
8. <u>Aktiviteler:</u> Getir-götür işleri veya alışverişe gidebiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Arabaya binip inebiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Evi süpürmek gibi ev işleri yapabiliyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
1. HAQ skor					

7. ÖZGEÇMİŞ

04.04.1976 tarihinde Samsun'un Çarşamba ilçesi Kuşçulu köyünde dünyaya geldim. İlk, orta ve lise öğrenimimi Çarşamba'da tamamladıktan sonra 1993 yılında Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde öğrenimime başladım. 1999 yılında tıp fakültesinden mezun olduktan sonra aynı üniversitede kardiyoloji anabilim dalında ihtisasa başladım. Ancak 8 ay sonra bu bölümden ayrılarak yine aynı üniversitenin Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalında uzmanlık eğitimine başladım. Burada üç yıl araştırma görevlisi olarak çalıştıktan sonra 2004 yılında Ankara Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne geçerek ihtisasımı bu hastanede I. FTR Kliniğinde tamamladım. Ardından 2005 yılında Tokat Turhal Devlet Hastanesi'nde Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon uzmanı olarak 4 ay görev yaptım. Daha sonra Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesinde Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalında 1 yıl öğretim görevlisi, 2 yıl yardımcı doçent olarak akademik faaliyetlerime devam ettim. 2008 yılı Mayıs döneminde Tıpta Yan Dal Uzmanlık Sınavını kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Romatoloji ihtisasına başladım. Halen Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı bünyesinde Romatoloji Bilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmalarımı sürdürmekteyim.