

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ROMATOLOJİ BİLİM DALI**

**KOLLAJEN İLE UYARILAN DENEYSEL ARTRİT
MODELİNDE LAPATİNİB TEDAVİSİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Metin ÖZGEN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet IŞIK**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Ahmet IŞIK

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

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

TEŞEKKÜR

Bu tezimin oluŐunu ve tamamlanmasında katkıları olan Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. Emir DÖNDER, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Prof. Dr. Kazım ŐAHİN, Doç. Dr. Nurhan ŐAHİN, Yrd. Doç. Dr. Ferda DAĐLI, ArŐ. Gör. Dr. Ahmet KARATAŐ ve ArŐ. Gör. Cemal ORHAN'a teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışma, kollajen ile uyarılan artrit modelinde, epidermal büyüme faktör reseptörü ile ilişkili tirozin kinaz inhibitörü olan lapatinibin etkinliğini araştırmayı hedeflemiştir.

30 adet Wistar albino dişi rat, üç gruba randomize edildi (her grupta n=10). Grup-I kontrol grubu, Grup-II artrit grubu ve Grup-III lapatinib grubu olarak belirlendi. Artrit oluşturmak için, Grup-II ve III ratlara, intradermal inkomplet Freund adjuvanı ile kombine edilen tavuk tip II kollajeni uygulandı. Artrit oluştuktan bir gün sonra, 14. gün, Grup-III ratlara, oral gavaj ile 30 mg/kg/gün dozda lapatinib tedavisi başlandı ve ratların sakrifiye edildiği 29. güne kadar tedaviye devam edildi. Analizler için, ratların gövde kanları ve arka pençeleri alındı. Serum tümör nekroz faktör (TNF)- α , interlökin (IL)-17, malondialdehid (MDA) düzeyleri ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, eklem dokusunda nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) ve hem oksijenaz-1 (HO-1) ekspresyonları, pençelerde perisinovyal inflamasyon ve kırık-kemik destrüksiyonu değerlendirildi.

Grup-I ile karşılaştırıldığında, Grup-II'de TNF- α , IL-17 ve MDA düzeylerinde artış, SOD, CAT, GPx aktivitelerinde ve Nrf2, HO-1 ekspresyonlarında azalma vardı. Histopatolojik değerlendirmelerde, Grup-II rat eklemlerinde yaygın perisinovyal inflamasyon ve belirgin kırık-kemik destrüksiyonu vardı. Lapatinib tedavisi ile TNF- α , IL-17, MDA düzeylerinde azalma, SOD, CAT, GPx aktivitelerinde ve Nrf2, HO-1 ekspresyonlarında artış, perisinovyal inflamasyon ve kırık-kemik destrüksiyonunda azalma belirlendi.

Bu çalışma, CIA modelinde lapatinibin inflamatuvar yolakları ve oksidatif stresi baskıladığını, sinovyal hiperplaziyi önlediğini gösteren ilk çalışmadır. Lapatinib, RA tedavisi için etkin bir seçenek olabilir.

Anahtar kelimeler: Romatoid artrit, anjiogenez, epidermal büyüme faktör reseptörü, lapatinib.

ABSTRACT

LAPATINIB TREATMENT IN THE COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS MODEL

The purpose of this study was to investigate the therapeutic effect of lapatinib on collagen-induced arthritis (CIA) in rats.

Thirty Wistar albino female rats were randomized to three groups (n=10 in each group): Group-I as the control group, Group-II as the arthritis group, Group-III as the lapatinib group were assigned. Arthritis was induced by intradermal injection of chicken type II collagen combined with incomplete Freund's adjuvant in Group-II and III rats. One day after the onset of arthritis, Group-III rats were given lapatinib (30 mg/kg/day) via oral gavage until they were killed on day 29. The trunk bloods and paws of the rats were obtained for further analysis. Tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-17, malondialdehyde (MDA) levels and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) activities in serum, and articular tissue nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) expressions, perisynovial inflammation and cartilage-bone destruction were determined in the paws.

When compared with Group-I, TNF- α , IL-17, and MDA levels were increased, and SOD, CAT, GPx activities and the expressions of Nrf2 and HO-1 were decreased in Group-II. Histopathological analysis demonstrated the extensive perisynovial inflammation and marked cartilage-bone destruction in Group-II rats. Lapatinib treatment decreased the levels of TNF- α , IL-17, MDA, and increased the activities of SOD, CAT, GPx and the expressions of Nrf2 and HO-1, and decreased the perisynovial inflammation and cartilage-bone destruction in the paws.

Conclusion: Our present study is the first report to identify that lapatinib suppresses inflammatory pathways and oxidative stress, and prevents synovial hyperplasia in CIA model. Lapatinib may be an effective option for the treatment of RA.

Key words: Rheumatoid arthritis, angiogenesis, epidermal growth factor receptor, lapatinib.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Romatoid Artrit	2
1.1.1.1. Romatoid Artrit Epidemiyolojisi	2
1.1.1.2. Romatoid Artrit Etyolojisi	2
1.1.1.3. Romatoid Artrit Patogenezi	4
1.1.1.4. Romatoid Artrit Kliniği	4
1.1.1.5. Romatoid Artritte Laboratuvar	5
1.1.1.6. Romatoid Artrit Tedavisi	6
1.1.2. Lapatinib	9
2. GEREÇ VE YÖNTEM	11
2.1. Deney Hayvanları	11
2.2. Deneysel Uygulamalar	11
2.3. Artritin Uyarılması ve Lapatinib Tedavisi	11
2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	12
2.5. Histopatolojik Değerlendirme	12
2.6. Biyokimyasal Değerlendirmeler	12
2.6.1. Serum Sitokin Düzeyleri	12
2.6.2. Serum Malondialdehid Düzeyleri	13
2.6.3. Serum Anti-oksidan Enzim Aktiviteleri	13
2.7. Western Blot Analizler	13
2.8. İstatistiksel Analizler	14

3. BULGULAR	15
3.1. Klinik Artrit Skorlaması	15
3.2. Histopatolojik Değerlendirme	16
3.3. Biyokimyasal Değerlendirme	16
3.3.1. Serum Proinflamatuvar Sitokin Düzeyleri	16
3.3.2. Serum Malondialdehid Düzeyleri	18
3.3.3. Serum Anti-oksidan Enzim Aktiviteleri	18
3.4. Western Blot Analizler	22
4. TARTIŞMA	24
5. KAYNAKLAR	277
6. ÖZGEÇMİŞ	355

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. RA sınıflandırma kriterleri	7
Tablo 2. Klinik bulgulara göre artrit skorlaması	12
Tablo 3. Histopatolojik olarak inflamasyon şiddetinin değerlendirilmesi	13
Tablo 4. Histopatolojik olarak artrit şiddetinin değerlendirilmesi	13
Tablo 5. Çalışma gruplarının klinik ve laboratuvar verileri	15

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kollojen ile artrit oluşturulan ratlarda 29. gün klinik artrit skorları	16
Şekil 2. Çalışma gruplarında eklem ve perisinovyal doku histolojik görünümüleri	17
Şekil 3. Kollojen ile artrit oluşturulan ratlarda inflamasyon skorları	18
Şekil 4. Kollojen ile artrit oluşturulan ratlarda kırıkta-kemik destrüksiyon skorları	19
Şekil 5. Çalışma gruplarında serum TNF- α düzeyleri	19
Şekil 6. Çalışma gruplarında serum IL-17 düzeyleri	20
Şekil 7. Çalışma gruplarında serum malondialdehid düzeyleri	20
Şekil 8. Çalışma gruplarında süperoksit dismutaz aktiviteleri	21
Şekil 9. Çalışma gruplarında serum katalaz aktiviteleri	21
Şekil 10. Çalışma gruplarında serum glutatyon peroksidaz aktiviteleri	22
Şekil 11. Çalışma gruplarında eklem dokusu Nrf2 ekspresyonları (üst) ve oransal karşılaştırmaları (alt)	23
Şekil 12. Çalışma gruplarında eklem dokusu hemoksijenaz ekspresyonları (üst) ve oransal karşılaştırmaları (alt)	23

KISALTMALAR LİSTESİ

ACR	: American College of Rheumatology
Anti-CCP	: Anti Siklik Sitrülinli Peptid Antikorları
CAT	: Katalaz
CRP	: C-reaktif Protein
CTLA	: Sitotoksik T Lenfosit Antijen
DMARD	: Disease Modifying Antirheumatic Drug
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
ESH	: Eritrosit Sedimantasyon Hızı
EULAR	: European League Against Rheumatism
FDA	: Food and Drug Administration
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
HLA	: Human Lökosit Antijen
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
H&E	: Hematoksilen-Eosin
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
JIA	: Juvenil İdiopatik Artrit
MAPK	: Mitogen-activated Protein Kinase
MDA	: Malondialdehid
MHC	: Major Histokompatibilite Kompleksi
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
PD	: Perisinovyal Doku
PI3K	: Phosphatidylinositol 3-kinase
PTPN22	: Protein Tirozin Fosfataz Non-reseptör 22
RA	: Romatoid Artrit
RF	: Romatoid Faktör
SLE	: Sistemik Lupus Eritamatozus
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STAT	: Signal Transducers and Activators of Transcription

TCR : T Hücre Reseptörü
TNF : Tümör Nekroz Faktör
VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ

Romatoid artrit (RA), etyopatogenezi tam olarak bilinmeyen, kronik sinovyal inflamasyon, kıkırdak ve kemik erozyonları ile karakterize bir hastalıktır. RA'da gelişen deformitelerin patogeneğinde, anjiogenez ve sinovyal hiperplazinin önemli rolü vardır (1-5). RA'nın en erken lezyonlarından biri olan anjiogenez, hiperplastik sinoviyumu yapılandırarak, eklemlerdeki kıkırdak ve kemikte yıkıma neden olur (2,4). Anjiogenez, hiperplastik sinoviyumun beslenmesine ek olarak, inflamatuvar hücrelerin bölgeye göçünü sağlayarak, hastalığa özgü bir mikroçevre oluşumu ve sinovyal inflamasyonun süregenliğine katkı yapar (2). Anjiogenez, RA patogeneğine yalnızca kan sunumu ile katkı yapmaz, endotelial hücreler aktive olduğu zaman proinflamatuvar sitokinler sentezleyerek sinovyal inflamasyonda artışa neden olur (2). Ek olarak, RA'da sentezlenen anjiogenik faktörler, direkt olarak osteoklast ve osteoklast öncüllerini de aktive ederek, eklem hasarına katkı yapmaktadırlar (2). Anjiogenez inhibisyonu ile artrit şiddeti, sinovyal hiperplazi ve eklemlerdeki kemik ve kıkırdakta yıkımın azaldığı gösterilmiştir (3-5).

Histopatolojik çalışmalarda, romatoid sinoviyumda epidermal büyüme faktör (*epidermal growth factor*) (EGF), ErbB-2 ve diğer doku büyüme faktörleri reseptörlerinin arttığı (6, 7) ve bu durumun sinovyal hiperplazi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (6). EGF'nin RA patogeneğindeki diğer bir önemli görevi, anjiogenez ile ilişkilidir. EGF reseptör (EGFR) blokajı, direkt olarak önemli anti-anjiogenik etkilere yol açtığı gibi (8), dolaylı olarak güçlü anjiogenik etkileri olan diğer faktörlerin de sentezini baskılar (8, 9). Ek olarak, EGF'nin eklem yıkımında önemli rol aldığı bilinen matriks metalloproteinaz (MMP) sentezini uyardığı gösterilmiştir (10). Bu veriler, EGFR inhibisyonunun RA'daki eklem yıkımını önleyebileceğini düşündürmektedir. Yeni bir tirozin kinaz inhibitörü olan lapatinib, EGFR ile ilişkili tirozin kinazı inhibe eder (11). Lapatinib, EGFR inhibisyonuna ek olarak, RA tedavisinde altın standart olarak kabul edilen metotreksatın etkinliğinde anahtar enzimlerden biri olan timidilat sentazı da inhibe eder (11).

Kollajen ile uyarılan deneysel artrit modeli, günümüzdeki araştırmalarda en sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Ratlarda ilk kez bu yöntemi, Trentham ve ark. 1977 yılında tanımlamışlardır (12). Sonraki yıllarda, bu model, pek çok çalışmada artrit oluşturulması için kullanılmıştır. Adjuvan ile uyarılan artrit, pristan ile uyarılan

artrit ve streptokok hücre duvarı ile uyarılan artrit modelleri de sık kullanılan diğer deneysel modellerdir (13).

Bu çalışmanın amacı, kollajen ile uyarılan artrit modelinde lapatinib tedavisinin etkinliğini araştırmaktır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Romatoid Artrit

Romatoid artrit, genel olarak periferik küçük eklemleri tutan, kronik otoimmün inflamatuvar bir hastalıktır. Artrit, eklem hasarı, kronik inflamasyon ve tedavide kullanılan ilaçlar, bu hastalarda eklemlerde ağrı, hareket kısıtlılığı ve deformitelere, insülin direnci artışı ve aterogeneze neden olur. Sonuçta, hastaların yaşam kalitesi bozulur, iş gücü kaybı, morbidite ve mortalitede artış ortaya çıkar.

1.1.1.1. Romatoid Artrit Epidemiyolojisi

Romatoid artrit en sık görülen inflamatuvar eklem hastalığıdır. Dünyanın hemen her bölgesinde görülmekte ve genel olarak prevalansı % 0.5-1 olarak kabul edilmektedir (14).

1.1.1.2. Romatoid Artrit Etyolojisi

Romatoid artritin etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. RA etyolojisinde rol oynayan birçok faktör bulunmaktadır.

Monozigot ikizlerdeki konkordansın dizigotlardakinden daha fazla olması genetik faktörlerin hastalığın ortaya çıkışındaki rolünü göstermektedir. Romatoid artrit gelişim riskinin %50'sinden genetik faktörler sorumlu tutulmaktadır (15). Otuzdan fazla genetik bölge RA ile ilişkilendirilmiştir. Bunlardan, insan lökosit antijeni (HLA) ve protein tirozin fosfataz non-reseptör 22 (*protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22*) (PTPN22) genleri en fazla öne çıkmış olanlardır.

Romatoid artritin en güçlü genetik ilişkisi, HLA geni ile (15). HLA-DR molekülü iki zincirden oluşur: polimorfizm göstermeyen α zinciri ve yüksek derecede polimorfizm gösteren β zinciri. HLA-DR molekülünün β zincirinin 440 farklı aleli bulunmaktadır. HLA-DR4'ün, HLA-DRB1*0401, 0404 ve 0405 gibi hastalıkla ilişkili olan allelleri, hastalıkla ilişkili olmayan diğer HLA-DRB1 allellerinden, polimorfizm gösteren β zincirinin 'hipervariable' bölgesinde, 70.-74. aminoasitler arasında, sınırlı bir segmentte aminoasit dizilişleri açısından farklılık göstermektedirler. Bu bölge, ortak (*shared*) epitop olarak adlandırılır (15). Ortak

epitop, hastalıkla ilişki gösteren diğer HLA-DRB1 allellerinde de bulunur. Ortak epitop içindeki 70. ve 71. rezidüleri, peptid-büyük doku uygunluk kompleksi (*major histocompatibility complex*, MHC) bağlanmasını doğrudan etkilemektedir. MHC klas II molekülleri, antijenik peptidleri bağlayarak T hücrelerine sunarlar. Hastalıkla ilişkili HLA genleri normal popülasyonda da bulunabilir. Ancak, bu genleri taşıyanlarda RA gelişimi 20 kat daha fazladır. Ortak epitop varlığı, RA gelişimi için risk faktörü olmasının yanı sıra, romatoid faktör (RF) ve anti-siklik sitrülünli peptid (anti-CCP) antikor pozitifliği ile ilişkili olup, daha ağır eroziv bir hastalığı işaret etmektedir. Ortak epitop taşıyan hastaların tedavilere daha dirençli olduğu bilinmektedir (15).

Protein tirozin fosfataz non-reseptör 22 gen polimorfizmi, RA ile en güçlü ilişki (1.8 kat artırır) gösteren ikinci gendir. Protein tirozin fosfataz, sinyal transdüksiyonunda önemli rol oynar ve T hücre reseptörü (TCR) sinyal yolağının çok önemli bir parçasıdır. PTPN22 geninin kodladığı ‘protein lenfoid tirozin fosfataz’, T hücre aktivasyonunun güçlü bir inhibitörü olarak bilinir (15). PTPN22 gen polimorfizmlerinin, RA dışında, sistemik lupus eritematoz, juvenil idiyomatik artrit, Graves hastalığı ve jeneralize vitiligo ile de ilişkili olduğu bilinmektedir (15).

Romatoid artrit, kadınlarda erkeklerden 3 kat fazladır. Bununla birlikte, kadınlardaki bu artışın nedeni açık değildir. Bu artışa, seks hormonlarının neden olabileceği düşünülmektedir. Gebelik ve oral kontraseptiflerin, RA gelişiminde koruyucu etkisi vardır (16). RA semptomlarında gebelik boyunca baskılanma, doğum sonrasında ise artış olduğu bilinmektedir (16).

Sigara, RA için en öne çıkan ve bugün için kanıtlanan tek çevresel risk faktörüdür. Sigara, günlük tüketim ve içim süresi ile ilişkili olarak, hem anti-CCP pozitif, hem de anti-CCP negatif RA riskini artırır. Ortalama ‘40 paket yılı’ sigara içen bir kişinin RA riski, iki kat artmaktadır (16).

Alkol, RA riskini azaltıyor olabilir. Danimarka çalışmasında (17) alkol alışkanlığı olan bireylerin daha düşük anti-CCP pozitif RA gelişim riski gösterdiği belirlenmiştir. Fazla alkol tüketen bireylerde (>80 gr etanol/hafta), düşük düzeyde alkol tüketen veya hiç tüketmeyen bireylere göre, RA riskinin %40-50 oranında azaldığı gösterilmiştir (17). Bu risk azalmasının, ortak epitop taşıyıcılarında daha belirgin olduğu belirlenmiş ve alkol-ortak epitop etkileşimi için kanıt olarak ileri sürülmüştür (18).

Vitamin D, kemik ve mineral homeostazında rol oynar. Ayrıca, proinflamatuvar yanıt inhibitörü olan vitamin D reseptörü aracılığıyla, doğal ve edinsel immün sistem üzerinde düzenleyici rolü vardır. *Iowa Women's Health Study* (19), vitamin D alımı ile RA arasında negatif bir ilişki saptamıştır. Ancak, sonraki bir çalışmada (20) bu ilişki gösterilememiştir.

Bugüne kadar, RA etyolojisinde rol oynadığı düşünülen bir mikroorganizma tam olarak ortaya konulamamıştır.

1.1.1.3. Romatoid Artrit Patogenezi

Romatoid artrit, primer olarak sinoviyumu etkiler. Hastalığın ilk haftasında, doku ödemi ve fibrin birikimi olmaktadır. Tip A (makrofaj benzeri) ve tip B (fibroblast benzeri) sinoviositlerden oluşan 1 ya da 2 katlı hücre dizisi şeklindeki sinovya, hiperplaziye uğrayarak çoğalır ve 10 veya daha fazla katlı olur (21). Sinovyal hiperplaziden kaynaklanan doku olarak adlandırılan 'pannus', eklem erozyonundan sorumludur. Pannus dokusunda, fibroblast benzeri hücreler çoğunlukta olmak üzere T ve B lenfositlerden oluşan belirgin bir mononükleer hücre infiltrasyonu vardır (21).

Pannus dokusunda pek çok sitokin düzeyinin artmış olduğu izlenmekle birlikte, en belirgin artışlar tümör nekroz faktör (TNF) ve interleükin (IL) -1 düzeylerinde görülür (22). Proinflamatuvar sitokinler, eklem erozyonunun anahtar hücresi olan fibroblast benzeri hücrelerden, doku yıkımına neden olan, MMP'lerin salınmasına neden olur. Ayrıca, her iki sitokin de lenfosit kemotaksisini, angiogenezi, damar geçirgenliğini artırır. IL-1, daha çok hastalığın yıkıcı etkilerinden sorumludur. TNF- α ise proliferatif ve inflamatuvar etkilerden sorumludur (23, 24)

İmmün yanıtın erken ve en önemli komponenti, CD4+ T lenfositlerdir. RA patogenezinin tetikleyicisi bilinmese de dokudaki inflamatuvar sürecin CD4+T hücre aktivasyonu ile başladığı bilinmektedir.

1.1.1.4. Romatoid Artrit Kliniği

Genel olarak, üst ekstremitelerin küçük eklemleri etkilenir. Eklem tutulumu simetrik olup, hastaların çoğunluğu yarım saatten uzun süren sabah tutukluğundan yakınmaktadır. Sabah tutukluğu, ağrıdan haftalar veya aylar önce başlayabilmektedir. Gece hareketsiz kalma nedeniyle, interstisyel alandaki ödem gelişimi ile ilişkilendirilmektedir. Sabah kalktıktan sonra, kasların hareketiyle birlikte, bu sıvı

lenfatik sistem tarafından drene edilmekte ve tutukluk geçmektedir. İlerleyen dönemlerde, eklemlerde erozyon ve deformiteler gelişir.

Eklem ağrısı ve/veya sabah tutukluğu, hastaların çoğunda birkaç hafta ile birkaç ay arasında gelişmektedir. %15 kadar hastada ise hastalığın 1-2 gün gibi kısa bir sürede, akut olarak başladığı gözlenir.

Hastaların yaklaşık %40'ında, aktif ve ağır seyirli olgularda daha fazla olmak üzere, eklem dışı tutulum görülmektedir (24). Subkutan nodüller, seröz zarların tutuluşu, akciğer fibrozu, keratokonjonktivitis sikka, kronik hastalık anemisi, romatoid vaskülit, tuzak nöropatiler ve amiloidoz en sık görülen eklem dışı bulgulardandır (24).

1.1.1.5. Romatoid Artritte Laboratuvar

Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri normal değerlerin üzerinde saptanır. Özgül olmamalarına karşın, hastalık aktivitesini yansıtırlar. Bu nedenle, hastalık izleminde sık başvurulan testlerdir (25).

Romatoid artritli hastalarda, kronik hastalık anemisi saptanabilmektedir ve hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir. Hastalık remisyona girerse anemi düzelebilir. Trombositoz hastalık aktivitesini yansıtmaktadır (24).

Romatoid faktör, immünglobulin (Ig) G'nin Fc parçasına karşı oluşmuş olan bir antikordur (26). RF; IgM, IgG veya IgA yapısında olabilir. Rutin laboratuvar incelemelerinde bakılmakta olan, IgM yapısındaki RF'dir. Bu test, RA tanısında sıklıkla kullanılmasına karşın, RA için özgül değildir (27). RF'nin RA tanısı için özgüllüğü % 60-85, duyarlılığı % 68-81 oranında değişmektedir (28). Sağlıklı bireylerin % 5'inde pozitif olarak saptanmaktadır. Yaşla birlikte, bu pozitiflik % 15'lere kadar çıkabilmektedir (29).

Anti-siklik sitrülünli peptid antikörleri, sitrülün peptidlerine karşı oluşmuş otoantikörlerdir (30). Birçok çalışmada, RF'den daha özgül oldukları gösterilmiştir. RA'nın erken dönemlerinde, RF'den daha önce saptanabilmektedir (31). Anti-CCP'nin, RA tanısı için özgüllüğü % 91-98, duyarlılığı % 41-67 oranında değişmektedir (28, 32). Gelişecek eroziv RA'nın önceden öngörülmesinde, Anti-CCP varlığı önemlidir (33).

Konvansiyonel radyografi ile hastalığın geç bulguları olarak erozyonlar, eklem aralığında daralma, eklem kırırdağının kaybı ve ekleme komşu kemik

dokusunda osteopeni saptanabilmektedir. Buna karşın, manyetik rezonans görüntüleme ve kas iskelet sistemi ultrasonografisi, eklemlerdeki inflamatuvar ve destrüktif değişiklikleri hastağın çok erken dönemlerinde gösterebilmektedir (34).

Romatoid artrit tanısını kolaylaştırmak ve bir standarda bağlamak açısından, sınıflandırma kriterleri oldukça yol göstericidir. American College of Rheumatology (ACR) ve European League Against Rheumatism (EULAR) tarafından 2010 yılında RA için yeni sınıflandırma/tanı kriterleri tanımlanmıştır (Tablo 1) (35). Bu sınıflandırmada, en az bir eklemden sinoviyal varlığında, bu sinoviyayı açıklayacak başka bir hastalığı (gut, reaktif artrit gibi) olmayan, ve toplam puanı ≥ 6 olan hastalar RA olarak sınıflandırılırlar.

1.1.1.6. Romatoid Artrit Tedavisi

Eklem hasarının ve fonksiyon kaybının önlenmesi ve ağrının azaltılması, RA tedavisinde temel amaçlardır. Hastalığın prognostik faktörleri göz önüne alınarak uygun tedavi düzenlenmelidir.

Eklemlerde inflamasyonun belirgin olduğu dönemlerde, aşırı hareketlerden kaçınılması travmatik hasarı önler. Buna karşın, kas gücünün korunması açısından, hastaların belirli bir düzeyde hareket etmesi gereklidir. Fizik tedavi, uğraşı tedavisi ve cerrahi tedaviler diğer ilaç dışı tedavi yöntemleridir. Hastaların ağrısını azaltmak için, temel etkili ilaçların etkisinin başlayacağı süreye kadar, steroid ve steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar köprü ilaçlar olarak kullanılmaktadır.

Romatoid artrit tedavisinde steroidlerin uygun dozlarda kullanılması önemlidir. En sık kullanılan prednisolon için bu doz, 5-7.5 mg/gün kabul edilmektedir. Yaşlı, gebe, böbrek ve gastrointestinal sorunu olan hastalarda “düşük doz steroid” (günde 5-7,5 mg prednisolon eşdeğeri) uygun bir seçenektir.

Temel etkili ilaçlara erken dönemde başlanması gereklidir. İlk seçilecek ilaçlar; metotreksat, leflunomid, sulfasalazin ve klorokin/hidroksiklorokindir. Bunlar tek başlarına kullanılabildikleri gibi, ikili ve/veya üçlü kombinasyonlar şeklinde de verilebilirler (36).

Metotreksat; günümüzde RA tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçtır. Bir folik asit antagonistidir. Erozyon gelişmesini yavaşlatır. Ancak, tam remisyon sağlanması seyrekdir. Metotreksat, haftada bir gün ve tercihen tek doz olarak

kullanılır. Metotreksatın siklosporin-A, sulfasalazin veya hidroklorokin ile birlikte kullanılması, tek başına metotreksata göre daha etkilidir (36).

Tablo 1. RA sınıflandırma kriterleri (35)

	Puan
A.Eklem tutulumu	
1 büyük eklem *	0
2-10 büyük eklem	1
1-3 küçük eklem #	2
4-10 küçük eklem	3
>10 eklem (en az 1 küçük eklem)	5
B.Seroloji (Sınıflandırma için en az bir test sonucu gereklidir) ††	
Negatif RF ve negatif anti-CCP	0
Düşük pozitif RF veya düşük pozitif anti-CCP	2
Yüksek pozitif RF veya yüksek pozitif anti-CCP	3
C.Akut faz reaktanları (Sınıflandırma için en az bir test sonucu gereklidir)	
Normal CRP ve normal sedimentasyon	0
Anormal CRP veya anormal sedimentasyon	1
D.Semptomların süresi	
<6 hafta	0
≥6 hafta	1

* Büyük eklemler omuzlar, dirsekler, kalçalar, dizler ve ayak bilekleridir.

Küçük eklemler el bilekleri, metokarpofalangeal eklemler, proksimal interfalangeal eklemler, metatarsofalangeal eklemlerdir.

†† Düşük pozitif değer, normalin üst sınırından daha yüksek fakat 3 katından daha az değerlerdir. Yüksek pozitif değer, normalin üst sınırından 3 kat daha fazla olan değerlerdir.

Sulfasalazin; erozyon gelişimini yavaşlatır. Günlük ortalama dozu 2 gram'dır. Etkisi diğer ilaçlara göre hızlı başlar (1-2 ay). Bulantı, karın ağrısı, baş ağrısı ve deri döküntüsü daha sık; hemoliz, lökopeni, trombositopeni ve oligospermi daha seyrek bildirilmiş olan yan etkileridir.

Anti-malaryal ilaçlar; eroziv olmayan, hafif seyirli hastalığı olanlarda veya kombine tedavilerde kullanılmaktadır. Diğer ilaçlara göre daha az etkili bulunmuşlardır. Erozyonları azalttıkları gösterilememiştir.

Leflunomid; etkisini pirimidin sentez inhibisyonu ile göstermektedir. Yarılanma ömrü yaklaşık iki haftadır. RA'da önerilen kullanım dozu, oral olarak 100

mg/gün üç gün yükleme dozundan sonra, günde 10-20 mg'dır. Leflunomid tedavisinin, fonksiyonel işlevsellikte belirgin düzelme sağladığı ve radyolojik erozyonları önlediği gösterilmiştir (37). Gebelikte veya gebe kalmayı düşünenlerde, teratojenik olması nedeniyle, kullanılmamalıdır (36).

Günümüzde giderek daha az kullanılan ilaçlar; intramuskuler ve/veya oral altın tuzları, D-penisilamin ve diğer temel etkili ilaçlara dirençli olgularda kullanılan azatioprin ve siklosporin-A'dır.

Biyolojik tedavi ajanları, RA tedavisine çok olumlu katkılar sağlamış olan ilaçlardır. TNF- α 'nın, sitokin ağında diğer inflamatuvar sitokinleri indüklediği, TNF- α inhibisyonu ile artrit baskılandığı gösterilmiş ve böylece RA'da TNF- α 'yı hedef alan tedavi yöntemleri geliştirilmiştir (38). Anti-TNF ilaçlar, makrofaj ve fibroblastlardan salınan ve RA'da inflamatuvar yanıtın oluşmasında merkezi bir rol oynayan TNF- α 'nın etkilerini antagonize etmektedirler. Etkilerini, tip 1 TNF reseptörü (p55) ve tip 2 TNF reseptörüne (p75) bağlanarak gösterirler.

İnfliksımab, kimerik anti-TNF- α antikorudur. 0. 2. 6. haftalarda ve daha sonra 6-8 haftada bir 3-5 mg/kg dozunda iv olarak kullanılır (38). İnfliksımab kullanan hastaların yaklaşık yarısında ilaca karşı otoantikolar geliştiğinden, bu nötralizan antikoların üretimini inhibe etmek için, eşzamanlı metotreksat tedavisi uygulanmaktadır.

Etanercept, TNF reseptörü füzyon proteini. TNF- α molekülüne bağlanarak, TNF reseptörü ile etkileşime girmesini önler. TNF- β (lenfotoksin) bağlama özelliği de vardır. Yarılanma ömrü, 4-12 gündür. Haftada iki kez 25 mg veya haftada bir 50 mg subkutan olarak uygulanmaktadır (39).

Adalimumab, rekombinant insan monoklonal anti-TNF- α antikorudur (38). En önemli avantajı, daha az immünojenik olması ve yarı ömrünün daha uzun olmasıdır. Adalimumabın yarı ömrü 10-20 saattir ve 40 mg dozunda 15 günde bir deri altına yapılmaktadır (40, 41).

Anti-TNF ilaçların yan etkileri arasında, tüberküloz ve malignite gelişimi ön plana çıkmaktadır (42). Anti-TNF ilaçlar, tüberküloz aktivasyonuna neden olabilmektedirler. Bu nedenle, anti-TNF ilaç tedavisine başlamadan önce akciğer grafisi ve tüberkülin cilt testi mutlaka yapılmalıdır (43).

Anakinra rekombinant IL-1 reseptör antagonistidir. Tek başına ya da metotreksat ile kombine olarak kullanılabilir. Yarı ömrü yaklaşık altı saattir. Subkutan 100 mg/gün dozunda uygulanmaktadır.

Rituksimab, anti-CD20 monoklonal antikorudur. Lenfoma tedavisinde uzun zamandır kullanılmaktadır. B hücre depleksyonu yapmaktadır. Komplemana bağlı sitotoksosite, antikor aracılı hücrel sitotoksosite ve apoptoz yaparak etkisini göstermektedir (44). Önemli bir yan etki görülmemiş, iyi tolere edilmektedir. En sık görülen yan etkisi, infüzyon reaksiyonudur. İnfüzyon reaksiyonu, çoğunlukla ilk infüzyon sırasında gelişir ve ikinci infüzyonda azalmaktadır (45). Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration-FDA) tarafından, 2005 yılında, bir veya daha fazla TNF antagonistine yeterli yanıt alınamayan aktif RA'lı hastalarda kullanım onayı verilmiştir. Rituksimab 2 hafta arayla 2 kez 1000 mg iv infüzyon şeklinde verilmektedir. Daha sonraki uygulamaların ne zaman yapılacağı konusu tartışmalıdır. Metotreksat ile kombine kullanılmalıdır

Sitotoksik T lenfosit antijen (CTLA)-4, T hücresi üzerinde bulunan, aktivasyon sonrasında eksprese olan ve T hücresi down regülasyonuna aracılık eden bir moleküldür. Abatsept, CTLA-4'ün ekstraselüler komponentinin, insan IgG1 Fc parçasına füze edilmesiyle elde edilmiştir. CD28'den daha yüksek afinitesi nedeniyle, CD28'in karşıt reseptörü olan CD80/CD86'ya bağlanmasını önler. Abatsept, FDA tarafından, biyolojik TNF antagonistlerine yeterli yanıt alınamayan aktif RA'lı hastaların tedavisi için onay almıştır. Uygulanması 10 mg/kg dozunda, her 4 haftada bir iv infüzyon şeklindedir.

Tosilizumab, IL-6 monoklonal antikorudur. Anti-TNF tedavilere yanıt alınamayan, orta ve ağır RA hastaları için geliştirilmiştir. Monoterapi veya metotreksat ya da diğer DMARD'lar ile birlikte kombine olarak kullanılabilir. Aylık 4-8 mg/kg dozunda iv olarak uygulanmaktadır (46).

1.1.2. Lapatinib

Tip 1 Tirozin kinaz reseptörler ailesi ErbB1, ErbB2, ErbB3 ve ErbB4'ten oluşur. ErbB1 EGFR-1, ErbB2 ise EGFR-2 (HER2) olarak da bilinir (47). Çok bölgeli (multidomain) protein yapısındaki bu reseptörler; ekstraselüler ligand bağlanma bölgesi (ligand-binding domain), transmembran bölgesi ve intraselüler tirozin kinaz bölgesi içerirler (47). ErbB3, tirozin kinaz aktivitesine sahip değildir.

Ancak, ligand bağlanma bölgesi içermektedir. EGF ve *transforming growth factor-α*, ErbB reseptörlerini uyaran peptid ligand ailesindedir. Ekstraselüler liganda bağlanma ile reseptör uyarıldığında, sinyal kaskadındaki proteinleri harekete geçer ve tirozin otoposforilasyonu ve tirozin kinaz aktivitesi başlar. HER2'nin ekstraselüler ligand bağlanma bölgesi yoktur ve diğer ErbB reseptörlerine yardımcı (*coreseptor*) olarak çalışır (48).

Çok sayıda sinyal yolları ErbB reseptörleri tarafından aktive edilmektedir. *Mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K), *phospholipase Cγ* ve *signal transducers and activators of transcription* (STAT) yolları bunlardandır (48). Sonuçta; hücre-siklus ilerlemesi, apoptoz, anjiogenez ve hücre adhezyon fonksiyonları düzenlenir (48). ErbB hedefli tirozin kinaz inhibitörleri, klinik uygulamalara girmiştir. Onkoloji pratiğinde kullanılan bazı ilaçlar bulunmaktadır. Romatizmal inflamatuvar hastalıklarda, henüz kullanımı onaylanmış bir tirozin kinaz inhibitörü bulunmamasına karşın, prelinik çalışmalarda etkin sonuçlar gözlenmektedir.

Lapatinib, *4-anilinoquinoline* türevi olan bir tirozin kinaz inhibitörüdür (47). EGFR-1 ve HER2'nin intraselüler tirozin kinaz bölgelerine reversibl olarak bağlanır ve substrat fosforilasyonunu inhibe eder (49). Böylece, MAPK ve PI3K gibi önemli pek çok yolağın akışını durdurur. Sonuç olarak, hücre siklus ilerlemesi, apoptoz, anjiogenez ve hücre adhezyonunu etkilemektedir (49, 50). Lapatinibin inhibitör konsantrasyonu (IC₅₀), diğer tirozin kinaz inhibitörlerinden 1000 kat daha düşüktür.

Prelinik çalışmalarda, kemirgenlerde ve köpeklerde kardiyak toksisite izlenmemiştir. Lapatinib kullanımına ilişkin en sık bildirilen yan etki ishaldir ve gastrointestinal epitelin lokal olarak etkilenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bölünmüş düşük dozlarda kullanım, bu yan etkiyi azaltabilir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için, Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındı. Çalışma, standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde (FÜDAM) yapıldı.

2.1. Deney Hayvanları

Deneplerde kullanılan Wistar albino cinsi ratlar, FÜDAM'dan alındı. Ratlar, % 55±5 nisbi nem bulunan, havalandırma sistemine sahip bir ortamda, özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Ratların beslenmesinde, Elazığ Yem Fabrikası'ndan sağlanan pelet şeklindeki standart rat yemleri kullanıldı. Ratlara kafeslerde özel bölümlere yerleştirilmiş ve uç kısımlarında damlalık bulunan özel şişeler ile su verildi. Deney hayvanlarının buldukları ortam sıcaklığı 22-24°C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta bırakıldı.

2.2. Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr olan, 8-10 hafta yaşlarda, 30 adet Wistar albino dişi rat kullanıldı. Ratlar, Grup I (kontrol grubu), Grup II (artrit grubu), Grup III (lapatinib grubu) olarak, randomize şekilde 3 gruba ayrıldı (her grupta n=10).

2.3. Artritin Uyarılması ve Lapatinib Tedavisi

Tavuk sternumundan elde edilmiş tip 2 kollajen (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), 0.1 M asetik asit ile karıştırılarak çözündürüldü (1mg/ml). Kollajen solüsyonu, inkomplet Freund's adjuvanı (Difco Laboratories, Detroit, USA) ile eşit oranda emülsifiye edildi (12). Hazırlanmış olan bu solüsyon, artritis indüksiyonu için Grup II ve III'teki ratlara kuyruk dorsalinden (100 µg/rat) ve arka pençelerinden (her birine 50 µg) intradermal olarak (toplam: 200 µg/rat) uygulandı. İlk uygulamadan 7 gün sonra, kuyruk dorsalinden, booster enjeksiyon (100 µg/rat) yapıldı.

Kollajen enjeksiyonu yapıldıktan sonra, tüm ratlar artritis gelişimi ve klinik artritis skorlaması açısından her gün değerlendirildi. Klinik artritis skorlaması, her iki arka pençede, 0-4 arasında puanlama yapılarak değerlendirildi (Tablo 2) (51). Grup

III'teki ratlara artrit gelişiminden bir gün sonra 30 mg/kg/gün dozunda lapatinib (GlaxoSmithKline İlaçları, İstanbul, Türkiye) tedavisi orogastrik sonda ile başlandı.

Tablo 2. Klinik bulgulara göre artrit skorlaması (51)

Klinik bulgu	Skor
Artrit yok	0
Ayak ya da ayak bileğinde hafif eritem ve ödem	1
Pençede hafif eritem ve ödem	2
Pençede orta düzeyde eritem ve ödem	3
Pençede belirgin ödem ve ankiloz, hareket kısıtlılığı	4

2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Tüm ratlar, 29. gün, dekapitasyon ile sakrifiye edilerek çalışma sonlandırıldı. Ratların gövde kan örnekleri alındı ve arka bacakları daha sonraki histopatolojik analizler için diz altından ampute edildi. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve serumlar çalışılacağı güne kadar -20°C'de saklandı. Doku örnekleri, % 10'luk formalin solüsyonu ile tespit edildi.

2.5. Histopatolojik Değerlendirme

Formalin solüsyonu ile tespit edilmiş olan doku örnekleri, % 10'luk nitrik asit ile dekalsifiye edilerek (30 gün), parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan alınan kesitler, Hematoksilen-Eosin (H&E) ile boyandı. Işık mikroskopunda X40, X100, X200 ve X400 büyütmede, patoloji laboratuvarında bir uzman patolog tarafından incelenerek, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, pannus oluşumu ve eklem çevresindeki kemik yıkımları değerlendirildi (52, 53). 0-4 arasında puanlama yapılarak histopatolojik skorlama yapıldı (Tablo 3 ve 4).

2.6. Biyokimyasal Değerlendirmeler

2.6.1. Serum Sitokin Düzeyleri

Serum TNF- α (İnvitrogen, Camarillo, CA, USA) ve IL-17 (Usen Life Science Inc., China) düzeyleri uygun ticari kitler kullanılarak Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile çalışıldı.

Tablo 3. Histopatolojik olarak inflamasyon şiddetinin değerlendirilmesi (52)

Perisinovyal doku (PD) inflamasyon şiddeti	Skor
Normal PD	0
PD inflamasyonu, agregat yok	1
PD inflamasyon, yer yer küçük fokal agregatlar	2
PD orta düzeyde inflamasyon, çok sayıda küçük agregat	3
PD yaygın inflamasyon ve büyük agregatlar	4

Tablo 4. Histopatolojik olarak artrit şiddetinin değerlendirilmesi (53)

Artrit şiddeti	Skor
Normal kıkırdak ve kemik dokusu	0
Sinovyal hiperplazi ya da hipertrofi	1
Pannus ya da yüzeyel kıkırdak erozyonu	2
Subkondral erozyon, hafif kemik erozyonu	3
Belirgin kemik erozyonu	4

2.6.2. Serum Malondialdehid Düzeyleri

Serum malondialdehid (MDA) ölçümleri yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazında (HPLC: High Performance Liquid chromatography, Shimadzu, Japonya) yapıldı.

2.6.3. Serum Anti-oksidan Enzim Aktiviteleri

Serum süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx), aktivitesi uygun ticari kitler (Cayman Chemical, Company, Ann Arbor, MI, USA) kullanılarak, ELISA yöntemi ile çalışıldı.

2.7. Western Blot Analizler

Eklem dokusu örneklerinde *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) ve *hem oksijenaz-1* (HO-1) ekspresyonları western blot ile çalışıldı. Rat eklem dokuları, homojenizasyon solusyonunda [50 mM Tris-HCl (pH=8.0), 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, % 1 Triton X-100, % 0.26 sodyum deoksişolat, 50 mM sodyum florid, 10 mM b-gliserofosfat, 0.1 mM sodyum ortovanadat, 10 lg/ml löpeptin ve 50 lg/ml fenilmetilsülfonil florid] mekanik homojenizatör yardımıyla soğuk ortamda

homojenize edildi. Homojenatlar +4°C'de 2 dakika 14.000 g'de santrifüj edildi. Eklem dokusu homojenatlarındaki protein konsantrasyonu, %10 SDS içeren poliakrilamid jel ve elektroforez sistemi yardımıyla belirlendi ve nitroselüloz membrana aktarım gerçekleştirildi. Nitroselüloz blotlar, 2 kez 5 dakika süreyle tampon solusyonlar ile yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar % 1'lik sığır serum albumini ile bloklandı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar, primer antikorlar ile +4°C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Blotlar, yıkanıp, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-mouse immünoglobulinle inkübasyona bırakıldı. Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solusyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5-10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda, DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra, nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları, analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

2.8. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak gösterildi. İstatistiklerin hazırlanmasında *SPSS 11.00* bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc., Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Analizlerde *Kruskal Wallis* ve *Mann-Whitney U* testleri kullanıldı. $P<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Artrit Skorlaması

Kollajen ile artrit uyarılmasından 13-14 gün sonra Grup II ve Grup III'teki tüm ratlarda artrit gelişti. Grup III 29. gün artrit skoru, kendi grubunun 14. gün skoru ile karşılaştırıldığında daha düşüktü ($p<0.001$) (istatistiksel anlamlılık tablo 5'de gösterilmedi). Grup III'ün 29. gün artrit skoru, Grup II'nin 29. gün artrit skoru ile karşılaştırıldığında düşüktü ($p<0.001$) (Tablo 5) (Şekil 1).

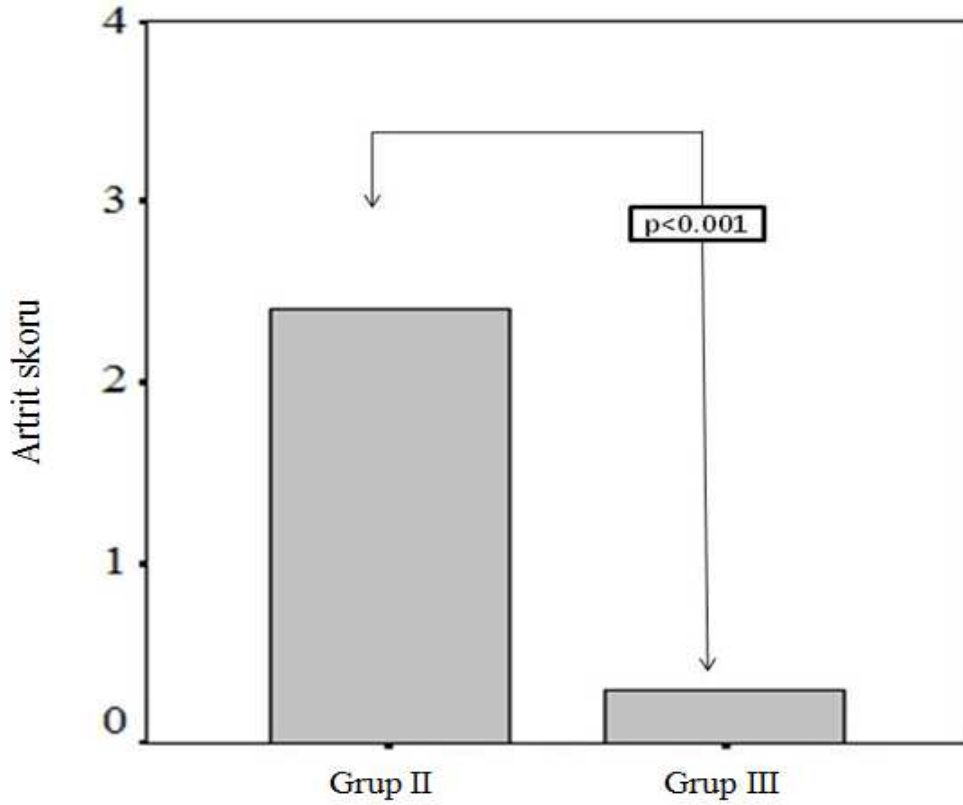
Tablo 5. Çalışma gruplarının klinik ve laboratuvar verileri

	Grup-I (Kontrol) (n=10)	Grup-II (Artrit) (n=10)	Grup-III (Lapatinib) (n=10)
14. gün artrit skoru	-	1.4±0.7	1.6±0.5
29. gün artrit skoru	-	2.4±0.5	0.3±0.5 ^e
İnflamasyon skoru	-	4.0±0.0	2.1±0.7 ^e
Destrüksiyon skoru	-	3.9±0.3	1.2±0.4 ^e
TNF-α (pg/mL)	25.6±5.0	62.7±12.9 ^b	26.4±3.3 ^d
IL-17 (pg/mL)	29.5±8.3	65.7±8.9 ^b	47.0±6.5 ^{b,d}
MDA (μmol/L)	0.58±0.23	1.6±0.2 ^b	0.92±0.13 ^{b,d}
SOD (U/mL)	12.0±7.3	3.4±1.6 ^b	5.4±1.1 ^{b,c}
CAT (nmol/dk/mL)	0.33±0.07	0.12±0.08 ^b	0.24±0.02 ^{a,d}
GPx (nmol/dk/mL)	335±179	179±45 ^b	307±62 ^d

*Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi. TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, MDA: Malondialdehid, SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutasyon peroksidaz.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ^a $p<0.05$, ^b $p<0.01$

Artrit grubu ile karşılaştırıldığında ^c $p<0.05$, ^d $p<0.01$, ^e $p<0.001$



Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 1. Kollojen ile artrit oluşturulan ratlarda 29. gün klinik artrit skorları

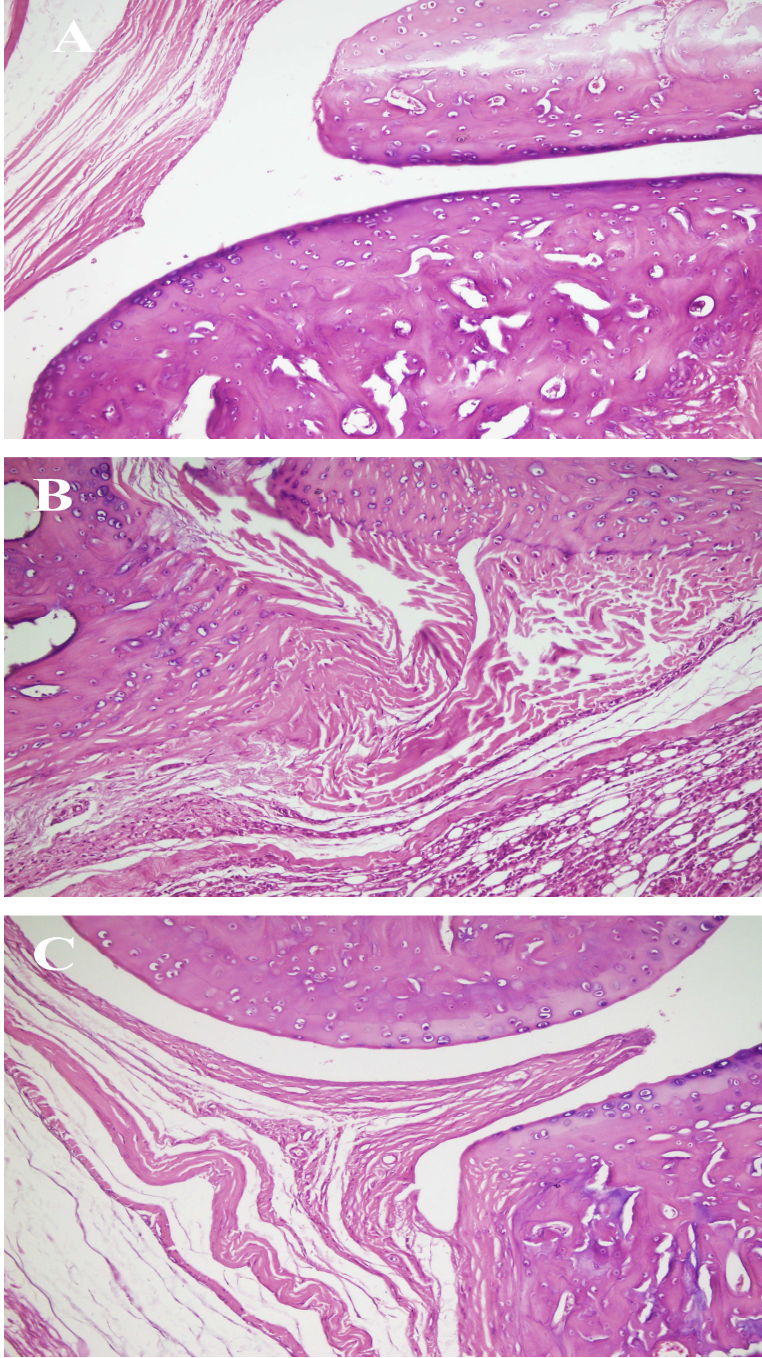
3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Grup III ratlardan alınan eklem doku örneklerinin histopatolojik skorlamasında, inflamasyon ve destrüksiyon skorlarında, Grup II ile karşılaştırıldığında, anlamlı azalma vardı (her ikisi için $p < 0.001$) (Tablo 5) (Şekil 2-4).

3.3. Biyokimyasal Değerlendirme

3.3.1. Serum Proinflamatuvar Sitokin Düzeyleri

Grup II'de TNF- α ve IL-17 düzeyleri, Grup I ile karşılaştırıldığında, yüksekti (her ikisi için $p < 0.01$). Grup III'te, TNF- α ve IL-17 düzeyleri, Grup II ile karşılaştırıldığında, düşüktü (her ikisi için $p < 0.01$). Grup III TNF- α düzeyleri Grup I'den farklı, IL-17 düzeyleri Grup I'den yüksekti (IL-17 için $p < 0.01$) (Tablo 5) (Şekil 5-6).



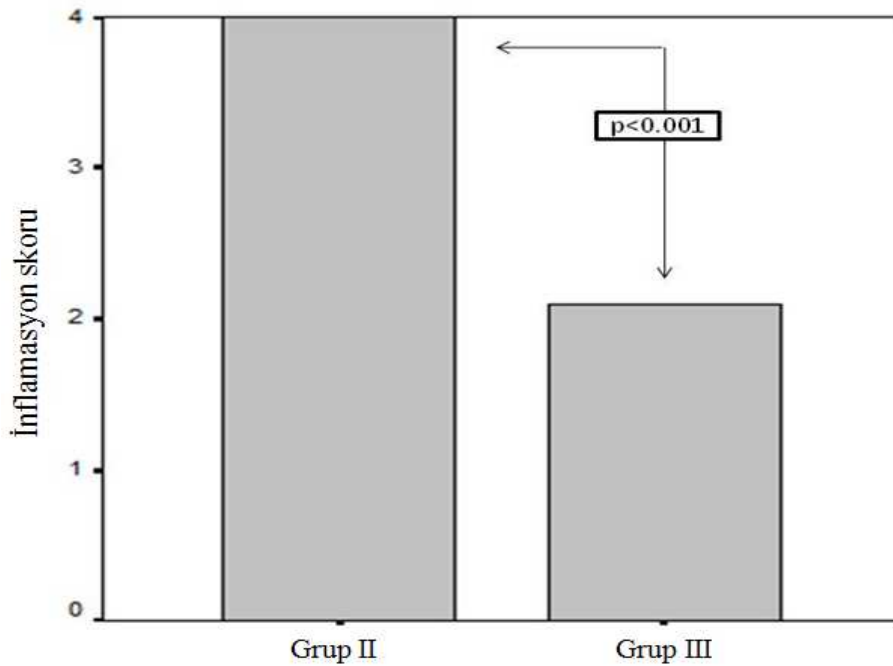
Şekil 2. Çalışma gruplarında eklem ve perisinovyal doku histolojik görünümleri (A-C) (H&E X400). A: Grup I (kontrol grubu) ratlarda normal bir perisinovyal doku ve kıkırdak-kemik dokusu. B: Grup II (artrit grubu) ratlarda perisinovyal dokuda belirgin inflamasyon ve kıkırdak-kemik destrüksiyonu. C: Grup III (lapatinib grubu) ratlarda perisinovyal dokuda ılımlı inflamasyon ve subkondral kıkırdak-kemik destrüksiyonu.

3.3.2. Serum Malondialdehid Düzeyleri

Grup II serum MDA düzeyi, Grup I ile karşılaştırıldığında, yüksekti ($p<0.01$). Grup III serum MDA düzeyleri, Grup I'den yüksek ve Grup II'den düşüktü (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.01$) (Tablo 5) (Şekil 6).

3.3.3. Serum Anti-oksidan Enzim Aktiviteleri

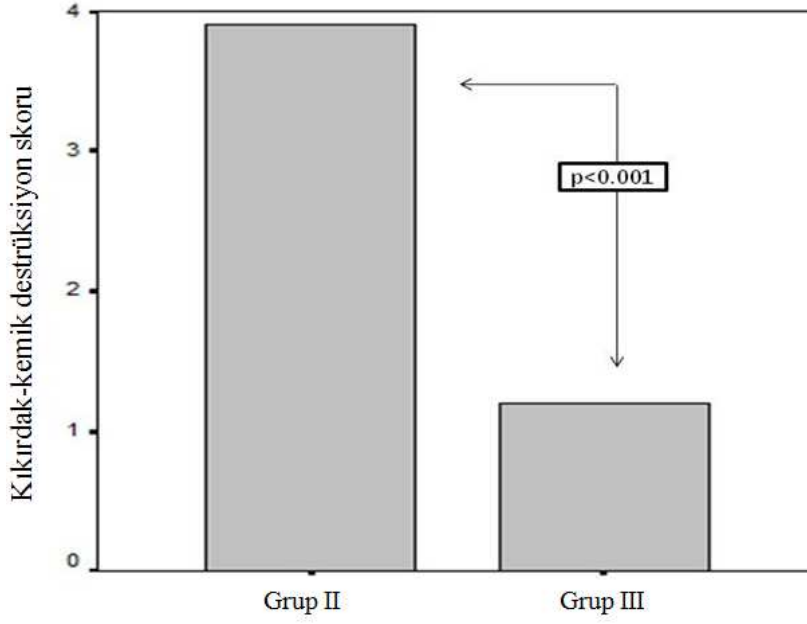
Grup II SOD, CAT, GPx aktiviteleri, Grup I ile karşılaştırıldığında, düşüktü (her biri için $p<0.01$). Grup III SOD, CAT, GPx aktiviteleri, Grup II ile karşılaştırıldığında, yüksekti (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$). Grup III SOD, CAT, aktiviteleri, Grup I ile karşılaştırıldığında, düşüktü (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.05$). Grup III ve Grup I arasında GPx aktivitesi açısından ise anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 5) (Şekil 7-9).



Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

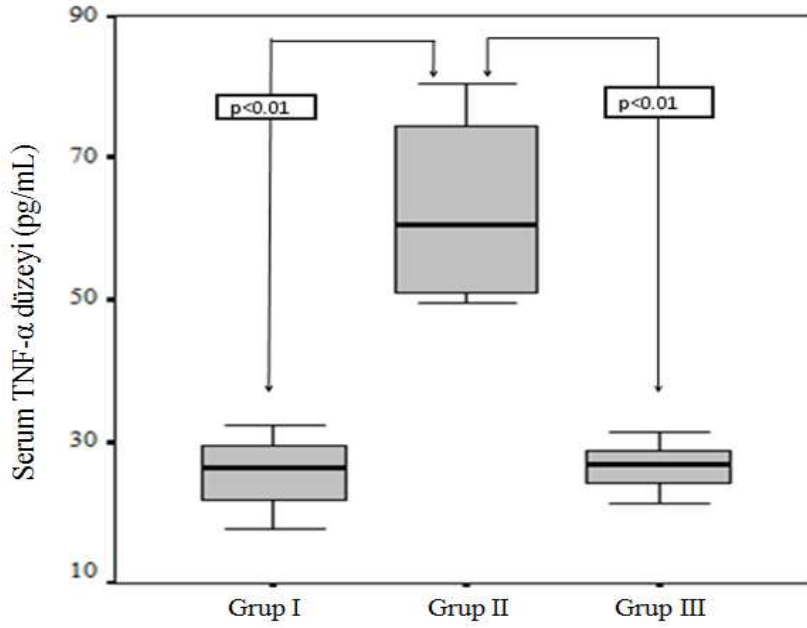
Şekil 3. Kollojen ile artrit oluşturulan ratlarda inflamasyon skorları



Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 4. Kollojen ile artrit oluşturulan ratlarda kıkırdak-kemik destrüksiyon skorları

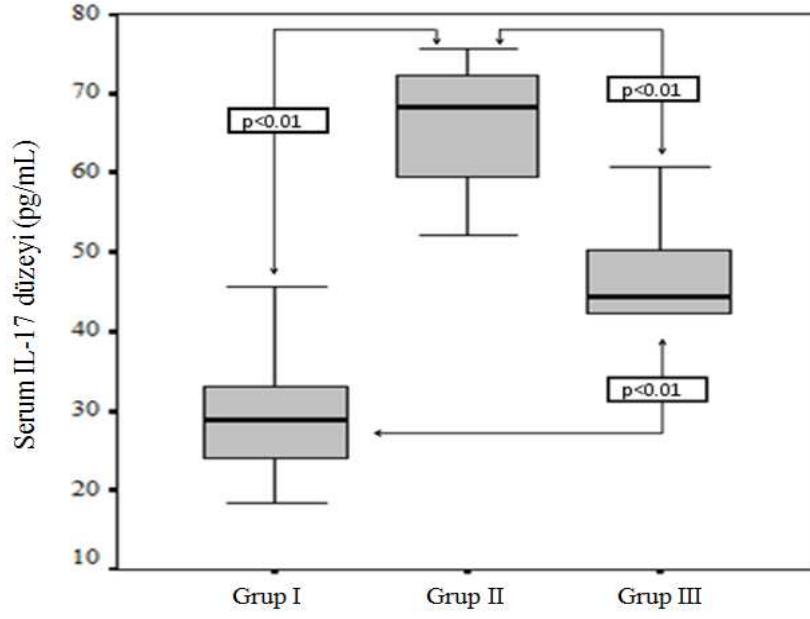


Grup I: Kontrol grubu

Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 5. Çalışma gruplarında serum TNF-α düzeyleri

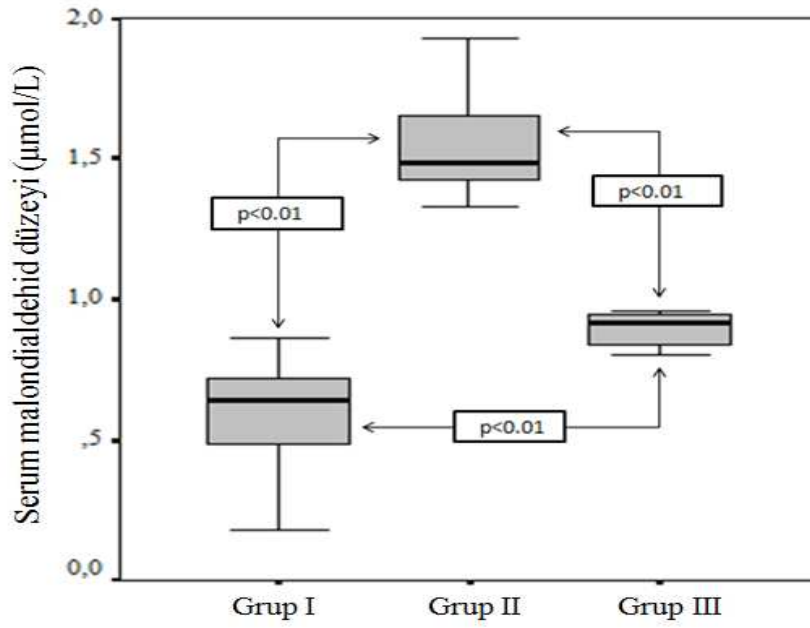


Grup I: Kontrol grubu

Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 6. Çalışma gruplarında serum IL-17 düzeyleri

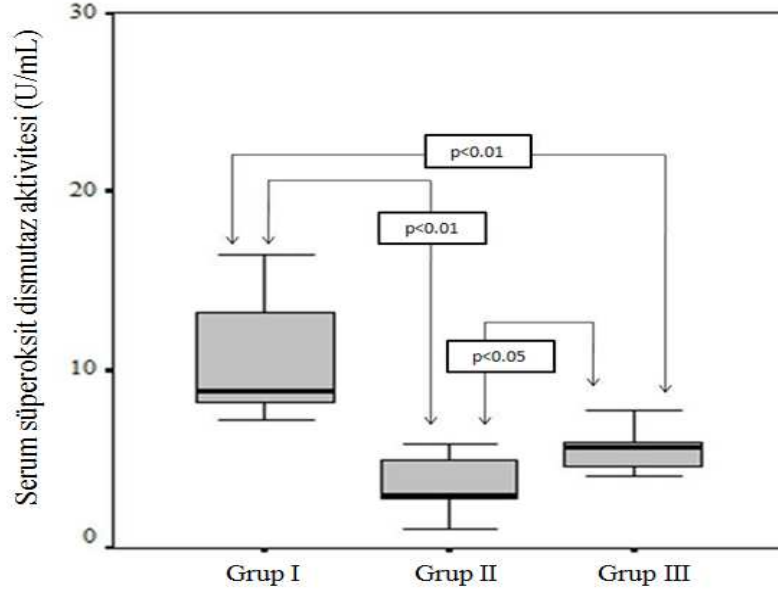


Grup I: Kontrol grubu

Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 7. Çalışma gruplarında serum malondialdehid düzeyleri

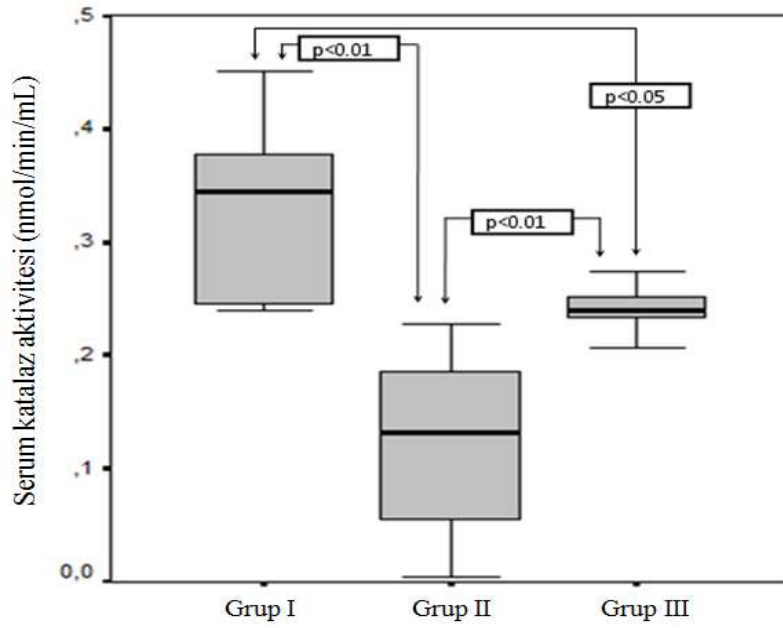


Grup I: Kontrol grubu

Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 8. Çalışma gruplarında süperoksit dismutaz aktiviteleri

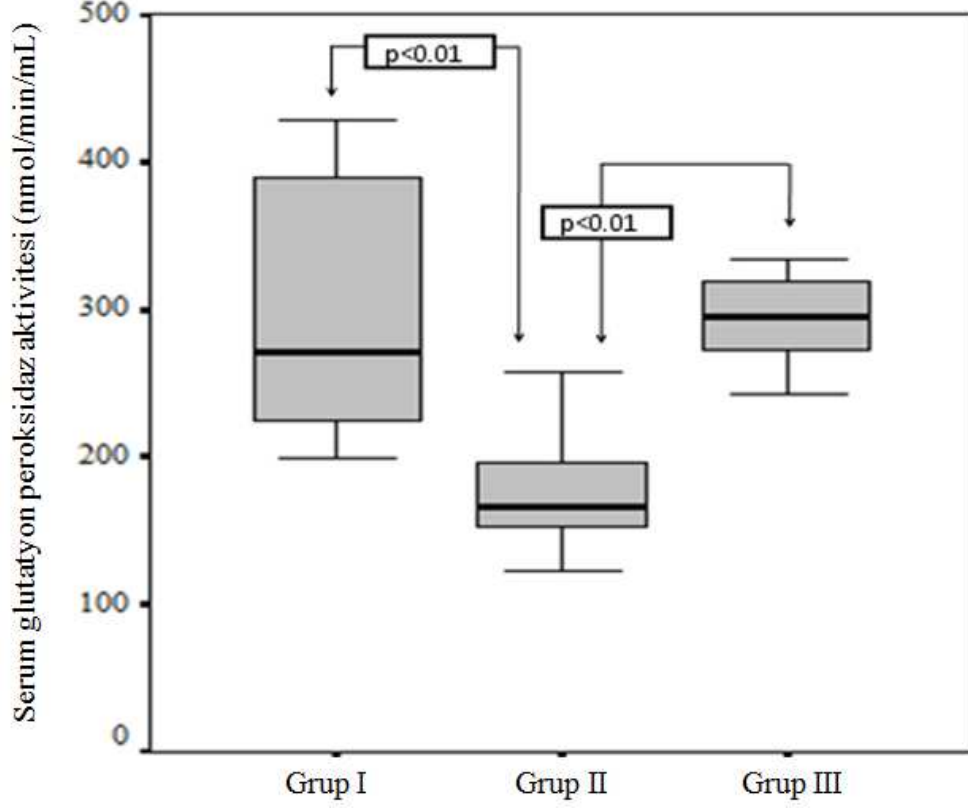


Grup I: Kontrol grubu

Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 9. Çalışma gruplarında serum katalaz aktiviteleri



Grup I: Kontrol grubu

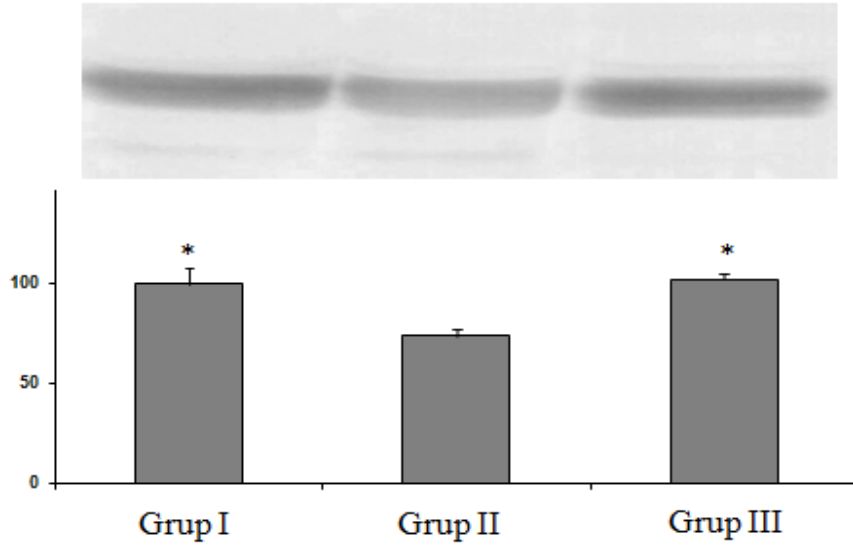
Grup II: Artrit grubu

Grup III: Lapatinib grubu

Şekil 10. Çalışma gruplarında serum glutatyon peroksidaz aktiviteleri

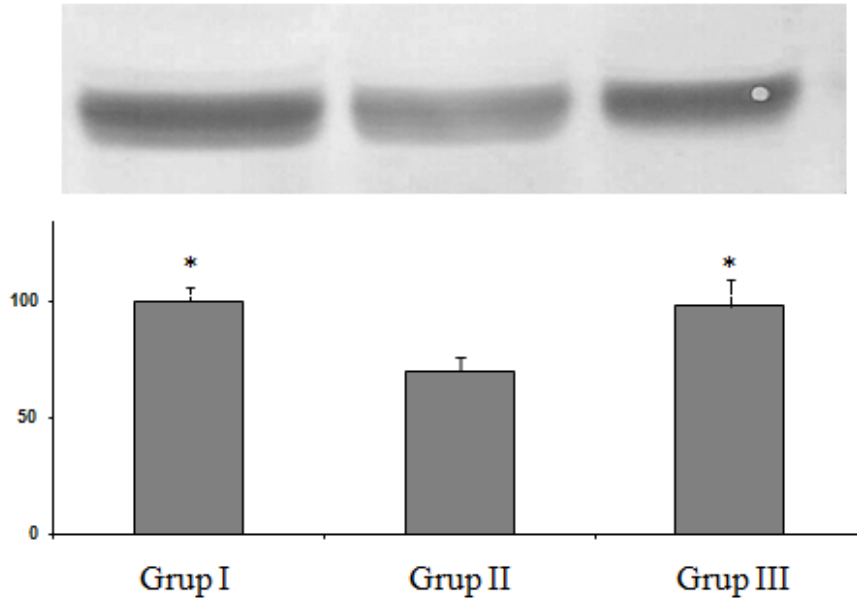
3.4. Western Blot Analizler

Grup I ile karşılaştırıldığında, Grup II'de Nrf2 ve HO-1 ekspresyonlarında azalma vardı (her ikisi için $p < 0.05$). Lapatinib tedavisi ile Nrf2 ve HO-1 ekspresyonlarında artış belirlendi (her ikisi için $p < 0.05$) (Şekil 11-12).



* Artrit grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Şekil 11. Çalışma gruplarında eklem dokusu Nrf2 ekspresyonları (üst) ve oransal karşılaştırmaları (alt)



* Artrit grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Şekil 12. Çalışma gruplarında eklem dokusu hemoksjenaz ekspresyonları (üst) ve oransal karşılaştırmaları (alt)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, kollajen ile uyarılan deneysel artrit modelinde, bir tirozin kinaz inhibitörü olan lapatinib tedavisinin etkinliği araştırılmıştır. İnkomplet Freund's adjuvanıyla emülsifiye edilen tip II tavuk kollajeninin 1. ve 8. gün uygulanması Wistar albino cinsi dişi ratlarda, 12.-13. günlerde artrit gelişimine neden oldu. Herhangi bir tedavi uygulanmayan artrit grubundaki ratlarda perisinovyal doku (PD)'da yaygın inflamasyon, sinovyal hipertrofi ve hiperplazi, pannus formasyonu, belirgin kıkırdak ve kemik erozyonu vardı. Ek olarak, proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-17 ve MDA serum düzeyleri arttı ve SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri azaldı. Lapatinib tedavisi ise klinik olarak artrit skorunda azalmaya, histopatolojik olarak PD inflamasyonu ve kıkırdak-kemik erozyonunu gerilettilti, serum TNF- α ve IL-17 düzeylerini azalttı ve anti-oksidan enzim aktivitelerini artırdı.

Romatoid artrit, eklemlerde inflamasyon ve destrüksiyona neden olan ve yaşam kalitesini bozan bir hastalıktır. Son yıllarda, RA tedavisinde tedavi yöntemlerinde olumlu gelişmeler sağlanmıştır. Konvansiyonel tedavilere yanıtız dirençli hastalarda, metotreksat ve bir biyolojik ajanın kombinasyonu ile iyi sonuçlar alınmaktadır. Tüm bu iyi gelişmelere karşın, yine de bu tedavilere yanıtız hastalarla karşılaşmaktadır. Ek olarak, tedavi giderleri de oldukça artmıştır. Düşük maliyetli etkin tedavilere gereksinim devam etmektedir.

Anjiogenez, RA patogeneğinde önemli yer tutan ve kıkırdak-kemik destrüksiyonuna yol açan sinovyal hiperplazinin en erken lezyonudur. Erken RA hastalarında, sinovyal hiperplazi ve mononükleer hücre infiltrasyonundan önce vasküler yoğunlukta değişim olduğu gösterilmiştir (1, 54). Ek olarak, sinovyal vasküler yoğunluğun sinovyal hiperplazi ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile korele olduğu ve daha şiddetli eklem destrüksiyonunun bir belirteci olduğu bildirilmektedir (55). Hiperplastik sinovyumun yapılandırılmasına ek olarak, anjiogenez, inflamatuvar hücrelerin o bölgeye göçünü sağlayarak, inflamatuvar mikroçevrenin süregenliğini sağlamaktadır (1). Deneysel artrit modelinde, potent bir proanjiogenik sitokin olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'ne karşı geliştirilen antikolar ile yapılan anjiogenez inhibisyonunun, artrit şiddetini ve sinovyal hiperplaziyi gerilettiltiği gösterilmiştir (5). EGFR'ye karşı geliştirilen antikolar ile anjiogenezin inhibe edildiği gösterilmiş olmasına karşın (8), EGFR

blokajının artrit tedavisindeki yeri şimdye kadar araştırılmamıştır. Bu çalışmada, EGFR tirozin kinaz inhibitörü olan lapatinib tedavisinin kollajen ile uyarılan artrit modelinde, kıkırdak ve kemik destrüksiyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Günümüzde, TNF- α 'nın inflamatuvar eklem hastalığı patogeneğinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. RA hastalarında, TNF- α ekspresyonu sinovyal membranda ve özellikle de kıkırdak-pannus bileşkesinde olmaktadır (55). TNF- α sinovyal fibroblast proliferasyonunu, kıkırdak ve kemik rezorpsiyonunu ve sinovyal hücrelerden kollejenaz sentezini uyarır (55, 56). Endoteyal hücrelerden adhezyon molekülleri sentezini uyararak, nötrofil ve lenfositleri inflamatuvar bölgeye yönlendirir (57). TNF- α , bunlara ek olarak, diğer proinflamatuvar sitokinlerin de sentezini artırmaktadır (55). Anti-TNF ilaçlar ile inflamatuvar eklem hastalıklarında elde edilen başarılı sonuçlar da TNF- α 'nın inflamasyondaki önemini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda, kollajen ile artrit uyarılması TNF- α düzeyinde artışa neden olmuş ve lapatinib tedavisi ile TNF- α baskılanmıştır. Olasılıkla, lapatinibin bu etkisi de, inflamasyonun baskılanmasına ve kıkırdak-kemik destrüksiyonunun önlenmesine katkı yapmaktadır.

İnterlökin-17, başlıca CD4+ T (Th17) hücrelerden sentezlenen bir sitokindir. Bununla birlikte, diğer immün hücrelerden de sentezlendiği bilinmektedir. TNF- α ile sinerjistik etki gösterir ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin sentezini uyarır (58, 69). RA'da, IL-17, degradasyona neden olan enzimlerin sinovyal fibroblastlardan salınmasını başlatmaktadır (58). Ayrıca, yine bu degradatif enzimleri sentezleyen kondrosit ve makrofajları aktive eder ve bu da eklem destrüksiyonuna neden olur (60). Kıkırdak ve kemik destrüksiyonundaki en önemli enzimler, MMP'lardır. IL-17'nin sinovyal hücreler, fibroblastlar ve makrofajlardan MMP sentezini artırdığı gösterilmiştir (60). Ek olarak, IL-17'nin kemik rezorpsiyonunda önemli rol oynadığı bilinen osteoklastları aktive ettiği ve kıkırdak destrüksiyonuna katkı yaptığı düşünülen nitrikoksit ve prostoglandin E2 sentezini uyardığı gösterilmiştir (61, 62). RA'da, IL-17'nin eklem destrüksiyonundaki rolünü göstermek için, Chabaud ve ark. (63) rekombinant fare IL-17'sinin normal fare eklemine enjekte edildiğinde eklem destrüksiyonuna neden olduğunu belirlemişlerdir. Lubberts ve ark. (64) ise kollajen ile uyarılan artrit modelinde, anti-IL-17 antikoru tedavisinin kıkırdak ve kemik

erozyonunu önlediğini kanıtlamışlardır. Çalışmamızda, lapatinib tedavisinin IL-17 düzeyini azalttığı ve kıkırdak ve kemik destrüksiyonunu önlediği belirlenmiştir.

Reaktif oksijen radikalleri inflamatuvar durumlarda, özellikle inflamatuvar eklem hastalıklarında, aşırı şekilde artar. Bunların arasında superoksit anyonu (O_2^-) inflamasyonda önemli rol oynamaktadır. SOD enzimi ve diğer anti-oksidan enzimler, reaktif oksijen radikallerini nötralize ederler ve yüksek derecede agresif olan bu ürünlerin yapmış olduğu hasarları önlerler (65). Reaktif oksijen radikalleri, sitokinler ve prostoglandinlerle birlikte, inflamatuvar odaklardan bolca üretilirler ve bu durum, azalmış anti-oksidan enzim düzeyleri ile ilişkilidir (65). Reaktif oksijen ürünleri, kıkırdak hasarının gelişmesinde önemli rol oynarlar (65-67). İntraartiküler SOD uygulamasının ve SOD mimetiklerin, klinik iyileşme ve inflamasyon düzeyinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (68, 69). Bizim çalışmamızda, lapatinib tedavisi anti-oksidan enzim düzeylerini artırmıştır. Lapatinib tedavisi, anti-oksidan etki göstermiş, inflamasyonu ve kıkırdak-eklem destrüksiyonunu azaltmıştır.

Sonuç olarak, kollajen ile uyarılan deneysel artrit modelinde, artrit patogenezinde önemli rol oynayan anjiogenezi inhibe eden EGFR tirozin kinaz inhibitörü lapatinib, kıkırdak ve kemik destrüksiyonunda önemli rolleri olan TNF- α ve IL-17 düzeylerini baskılamakta, anti-oksidan aktiviteyi artırmakta ve kıkırdak-kemik destrüksiyonunu önlemektedir. Bu özellikleri ile lapatinib, RA tedavisinde umut verici bir ajan gibi gözükmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Hirohata S, Sakakibara J. Angioneogenesis as a possible elusive triggering factor in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1999; 353: 1331.
2. Pap T, Distler O. Linking Angiogenesis to bone destruction in arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1346-1348.
3. Clavel G, Bessis N, Boissier MC. Recent data on the role for angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2003; 70: 321–326.
4. Nagashima M, Tanaka H, Takahashi H, Tachihara A, Tanaka K, Ishiwata T, et al. Study of the mechanism involved in angiogenesis and synovial cell proliferation in human synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis using SCID mice. *Lab Invest* 2002; 82: 981–988.
5. Sone H, Kawakami Y, Sakauchi M, Nakamura Y, Takahashi A, Shimano H, et al. Neutralization of vascular endothelial growth factor prevents collagen-induced arthritis and ameliorates established disease in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281: 562–568.
6. Kusada J, Otsuka T, Matsui N, Hirano T, Asai K, Kato T. Immuno-reactive human epidermal growth factor (h-EGF) in rheumatoid synovial fluids. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1993; 67: 859–865.
7. Satoh K, Kikuchi S, Sekimata M, Kabuyama Y, Homma MK, Homma Y. Involvement of ErbB-2 in rheumatoid synovial cell growth. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 260-265.
8. Perrotte P, Matsumoto T, Inoue K, Kuniyasu H, Eve BY, Hicklin DJ, et al. Anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits angiogenesis in human transitional cell carcinoma growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 257-265.

9. Goldman CK, Kim J, Wong WL, King V, Brock T, Gillespie GY. Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells: a model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Mol Biol Cell* 1993; 4: 121-133.
10. Zhang Z, Song T, Jin Y, Pan J, Zhang L, Wang L, Li P. Epidermal growth factor receptor regulates MT1-MMP and MMP-2 synthesis in SiHa cells via both PI3-K/AKT and MAPK/ERK pathways. *Int J Gynecol Cancer* 2009; 19: 998-1003.
11. Kim HP, Yoon YK, Kim JW, Han SW, Hur HS, Park J, et al. Lapatinib, a dual EGFR and HER2 tyrosine kinase inhibitor, downregulates thymidylate synthase by inhibiting the nuclear translocation of EGFR and HER2. *PLoS One* 2009; 16: 5933.
12. Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. *J Exp Med* 1977; 146: 857-868.
13. Hoffmann M, Hayer S, Steiner G. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis; induction of arthritogenic autoimmune responses by proinflammatory stimuli. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1173: 391-400.
14. Gabriel SE. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001; 27: 269-281.
15. Bowes J, Barton A. Recent advances in the genetics of RA susceptibility. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 399-402.
16. Tobón GJ, Youinou P, Saraux A. The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: rheumatoid arthritis. *J Autoimmun* 2010; 35: 10-14.
17. Pedersen M, Jacobsen S, Klarlund M, Pedersen BV, Wiik A, Wohlfahrt J, et al. Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: 133.

18. Källberg H, Jacobsen S, Bengtsson C, Pedersen M, Padyukov L, Garred P, et al. Alcohol consumption is associated with decreased risk of rheumatoid arthritis: results from two Scandinavian case-control studies. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 222-227.
19. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 72-77.
20. Costenbader KH, Feskanich D, Holmes M, Karlson EW, Benito-Garcia E. Vitamin D intake and risks of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in women. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 530-535.
21. Shiozawa S, Shiozawa K, Fujita T. Morphologic observations in the early phase of the cartilage-pannus junction. Light and electron microscopic studies of active cellular pannus. *Arthritis Rheum* 1983; 26: 472-478.
22. Weyand CM. New insights into the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 1: 3-8.
23. Goldring SR, Gravallesse EM. Pathogenesis of bone erosions in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 195-199.
24. Turesson C, Jacobsson L, Bergström U. Extra-articular rheumatoid arthritis: Prevalance and mortality. *Rheumatology* 1999; 38: 668-674.
25. Pincus T, Sokka T. Laboratory tests to assess patients with rheumatoid arthritis: advantages and limitations. *Rheum Dis Clin North Am* 2009; 35: 731-734.
26. Steiner G, Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. *Arthritis Res* 2002; 2: 1-5.
27. Lipsky PE. Rheumatoid arthritis laboratory findings. Braunwald E, Fauci SA Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (editors). *Harrisons Principles of Internal Medicine*, 15th, New York: Mcgraw-Hill, 2001: 1928-1937.

28. Bas S, Perneger TV, Seitz M, Tiercy JM, Roux-Lombard P, Guerne PA. Diagnostic tests for rheumatoid arthritis. Comparison of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and igm rheumatoid factors. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 809-814.
29. Westwood OM, Nelson PN, Hay FC. Rheumatoid factors: What's new? *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 379-385.
30. Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. Use and significance of anti-ccp autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 20-25.
31. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. A study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 380-386.
32. van Jaarsveld CH, ter Borg EJ, Jacobs JW, Schellekens GA, Gmelig-Meyling FH, van Booma-Frankfort C, et al. The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17: 689-697.
33. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 427-430.
34. Mevorach D, Paget SA. Romatoid artrit. Yazıcı Y, Erkan D, İnce A (çeviri editörleri). *Romatoloji ve klinik ortopedi el kitabı, tanı ve tedavi, dördüncü baskı, İstanbul: Nobel tıp kitapevleri, 2004: 192-229.*
35. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: An american college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 2569-2581.

36. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyo J, Finney C, Curtis JR, et al. American College of Rheumatology. 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.
37. Pinto P, Dougados M. Leflunomide in clinical practice. *Acta Reumatol Port* 2006; 31: 215-224.
38. Scott DL, Kingsley GH. Tumor necrosis factor inhibitors for rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2006; 355: 704-712.
39. Cush JJ, Kavanaugh A. Tnf- α blocking therapies. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (editors). *Rheumatology*, fourth edition, volume 1, Spain: Mosby-Elsevier, 2008: 501-517.
40. Ertenli İ. Romatoid artritite yeni tedaviler. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 25: 60-64.
41. Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, Moreland LW, Weisman MH, Birbara CA, et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: The armada trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 35-45.
42. Fleischmann R, Yocum D. Does safety make a difference in selecting the right tnf antagonist? *Arthritis Res Ther* 2004; 2: 12-18.
43. Winthrop KL. Risk and prevention of tuberculosis and other serious opportunistic infections associated with the inhibition of tumor necrosis factor. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 602-610.
44. Atzeni F, Doria A, Maurizio T, Sarzi-Puttini P. What is the role of rituximab in the treatment of rheumatoid arthritis? *Autoimmun Rev* 2007; 6: 553-558.

45. Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Burmester GR, Sieper J, et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2007; 3: 2-22.
46. Furst DE, Keystone EC, Fleischmann R, Mease P, Breedveld FC, Smolen JS, et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 2-29.
47. Tevaarwerk AJ, Kolesar JM. Lapatinib: a small-molecule inhibitor of epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 tyrosine kinases used in the treatment of breast cancer. *Clin Thera* 2009; 31: 2332-2348.
48. Hynes NE, Horsch K, Olayioye MA, Badache A. The ErbB receptor tyrosine family as signal integrators. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8: 151-159.
49. Rusnak DW, Lackey K, Affleck K, Wood ER, Alligood KJ, Rhodes N, et al. The effects of the novel, reversible epidermal growth factor receptor/ErbB-2 tyrosine kinase inhibitor, GW2016, on the growth of human normal and tumor-derived cell lines in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2001; 1: 85-94.
50. Hirata A, Ogawa S, Kometani T, Kuwano T, Naito S, Kuwano M, et al. ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 2002; 62: 2554-2260.
51. Larsson P, Kleinau S, Holmdahl R, Klareskog L. Homologous type II collagen-induced arthritis in rats. Characterization of the disease and demonstration of clinically distinct forms of arthritis in two strains of rats after immunization with the same collagen preparation. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 693-701.
52. Choi J, Yoon BJ, Han YN, Lee KT, Ha J, Jung HJ, Park HJ. Antirheumatoid arthritis effect of *rhus verniciflua* and of the active component, sulfuretin. *Planta Med* 2003; 69: 899-904.
53. Barsante MM, Roffe E, Yokoro CM, Tafuri WL, Souza DG, Pinho V, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of atorvastatin in a rat model of adjuvant-induced arthritis. *Eur J Pharmacol* 2005; 516: 282-289.

54. Rooney M, Condell D, Quinlan W, Daly L, Whelan A, Feighery C, Bresnihan B. Analysis of the histologic variation of synovitis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 956-963.
55. Li P, Schwarz EM. The TNF-alpha transgenic mouse model of inflammatory arthritis. *Springer Semin Immunopathol* 2003; 25: 19-33.
56. Dayer JM, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med* 1985; 162: 2163.
57. Cavender D, Saegusa Y, Ziff M. Stimulation of endothelial cell binding of lymphocytes by tumor necrosis factor. *J Immunol* 1987; 139: 1855-1860.
58. Li X, Yuan FL, Lu WG, Zhao YQ, Li CW, Li JP, Xu RS. The role of interleukin-17 in mediating joint destruction in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 397: 131-135.
59. Van Bezooijen RL, Van Der Wee-Pals L, Papapoulos SE, Löwik CW. Interleukin 17 synergises with tumour necrosis factor alpha to induce cartilage destruction in vitro. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 870-876.
60. Koenders MI, Kolls JK, Oppers-Walgreen B, van den Bersselaar L, Joosten LA, Schurr JR, et al. Interleukin-17 receptor deficiency results in impaired synovial expression of interleukin-1 and matrix metalloproteinases 3, 9, and 13 and prevents cartilage destruction during chronic reactivated streptococcal cell wall-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3239-3247.
61. Kamiya S, Nakamura C, Fukawa T, Ono K, Ohwaki T, Yoshimoto T, et al. Effects of IL-23 and IL-27 on osteoblasts and osteoclasts: inhibitory effects on osteoclast differentiation. *J Bone Miner Metab* 2007; 25: 277-285.
62. LeGrand A, Fermor B, Fink C, Pisetsky DS, Weinberg JB, Vail TP, et al. Interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-17 synergistically up-regulate nitric oxide and prostaglandin E2 production in explants of human osteoarthritic knee menisci. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2078-2083.

63. Chabaud M, Page G, Miossec P. Enhancing effect of IL-1, IL-17, and TNF-alpha on macrophage inflammatory protein-3alpha production in rheumatoid arthritis: regulation by soluble receptors and Th2 cytokines. *J Immunol* 2001; 167: 6015-6020.
64. Lubberts E, van den Bersselaar L, Oppers-Walgreen B, Schwarzenberger P, Coenen-de Roo CJ, Kolls JK, et al. IL-17 promotes bone erosion in murine collagen-induced arthritis through loss of the receptor activator of NF-kappa B ligand/osteoprotegerin balance. *J Immunol* 2003; 170: 2655-2662.
65. Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine* 2007; 74: 324-329.
66. Sandhu JK, Robertson S, Birnboim HC, Goldstein R. Distribution of protein nitrotyrosine in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1173-1181.
67. Mathy-Hartert M, Martin G, Devel P, Deby-Dupont G, Pujol JP, Reginster JY, et al. Reactive oxygen species downregulate the expression of pro-inflammatory genes by human chondrocytes. *Inflamm Res* 2003; 52: 111-118.
68. Goebel KM, Storck U, Neurath F. Intrasynovial orgotein therapy in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1981; 1: 1015-1017.
69. Salvemini D, Cuzzocrea S. Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine. *Crit Care Med* 2003; 31: 29-38.

6. ÖZGEÇMİŞ

1977 Fatsa/Ordu doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Fatsa, lise öğrenimimi İzmir Atatürk Lisesi'nde bitirdim. Tıp eğitimimi 1994-2000 yılları arasında 19 Mayıs Üniveristesi Tıp Fakültesi'nde, uzmanlık eğitimimi 2001-2006 yılları arasında Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda tamamladım. 2008 yılından beri Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı – Romatoloji Bilim Dalı'nda başladığım yan dal eğitimime devam etmekteyim.

Evliyim ve üç çocuğum vardır.

Yabancı dilim İngilizce'dir.