

T.C.  
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

ROMATOİD ARTRİT HASTALARINDA ANTI-CCP, MCP-1  
VE ANTI-MCV DÜZEYLERİNİN ANKİLOZAN SPONDİLİT  
VE NORMAL POPULASYONLA KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayhan IRAK

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Timur PIRILDAR

Manisa, 2010

## İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ	4
II. GENEL BİLGİLER	
1. Romatoid Artrit Tanımı, Tarihçesi ve Epidemiyolojisi	6
2. Etyoloji ve Patogenez	7
3. Klinik Öykü ve Fizik Muayene	14
4. Tanı ve Laboratuvar	16
5. Romatoid Artritte Otoantikolar	20
6. Romatoid Artrit ve Anti-CCP, Anti-MCV Antikolarlar	29
7. Romatoid Artrit ve MCP-1	37
III. GEREÇ VE YÖNTEM	40
IV. BULGULAR	43
V. TARTIŞMA	56
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
VII. ÖZET	69
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	71
IX. KAYNAKLAR	73

## ÖNSÖZ

İç Hastalıkları ihtisası yaptığım beş yıl boyunca eğitimim için her türlü desteği veren bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Hakan Yüceyar, Prof. Dr. Seyhun Kürşat, Prof. Dr. Ülkü Ergene, Doç. Dr. Timur Pırıldar, Doç. Dr. Bilgin Özmen, Doç. Dr. Cengiz Kırmaz, Doç. Dr. Zeliha Hekimsoy, Doç. Dr. Ender Ellidokuz ve Yard. Doç. Dr. Mine Miskioğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez danışmanım Doç. Dr. Timur Pırıldar'a asistanlık dönemimde olduğu gibi tezimin hazırlanışında vermiş olduğu destek için teşekkür ederim. Doç. Dr. Cevval Ulman ve Doç. Dr. Fatma Taneli'ye yardımları için teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığım tüm doktor, hemşire, hasta bakıcı ve personel arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında sonsuz destek ve sevgileriyle her zaman yanımda olan biricik eşim Hatice, dünya tatlısı kızım Elif Defne ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Ayhan IRAK

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid Artrit (RA), dünya popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen en yaygın otoimmün hastalıklardan biridir. Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik, hormonal ve enfeksiyöz ajanlar üzerinde durulmaktadır. Romatoid Artrit ile HLA-DR4 ve HLA sınıf II DR1 doku grubu arasında güçlü bir ilişki vardır(1.2). Diğer birçok otoimmün hastalıkta olduğu gibi kadınlarda daha sık görülmekte olup kadın / erkek oranı 2:1 ile 4:1 arasında değişmektedir.

Romatoid Artrit eklemlerin sinovyal membranlarında kronik inflamasyonla karakterizedir. Hastalığın ilk belirtisi, genellikle parmak eklemlerinde meydana gelen ağrı ve şişlik olup, daha sonra büyük eklemler, özellikle diz, dirsek, omuz etkilenir. Aktive olmuş inflamatuvar mediatörler, sinovyal membranları infiltre ederek kemik ve kıkırdakta hasara yol açarlar. Deri altında romatoid nodüller oluşur. Romatoid Artrit sistemik bir hastalık olduğu için daha ileri aşamalarda vücudun diğer bölümleri ve organları etkilenir(3).

Uygun tedavi ile eklem dokusundaki hasarın önüne geçilebilmesi açısından RA tanısının erken konulması çok önemlidir. Hastalığın başlangıç şekli hastadan hastaya farklılık göstermektedir. Tipik semptomları olanlarda sıklıkla hastalığın ilk yıllarında tanı kolaylıkla konulabilir. Romatoid Artritin'in en sık klinik sunumu periferik, simetrik inflamatuvar artropatidir. Çoğu zaman hastalığın ilk dönemlerinde klinik bulgular belirgin değildir. Yavaş ilerleme gösteren atipik semptomlara sahip birçok hastada tanı koymak için uzun zaman geçebilir. Bu nedenle tanı için spesifik ve sensitif serolojik testlere ihtiyaç vardır.

Romatoid Faktör(RF); RA şüphesi olan vakalarda bugüne kadar en yaygın kullanılan testtir. Romatoid Artrit'li hastaların %79'unda RF pozitifdir. Romatoid Faktör, RA için sensitif fakat spesifik olmayan bir parametredir. Romatoid Artrit dışında diğer otoimmün hastalıklarda, çeşitli

enfeksiyonlarda ve sağlıklı bireylerde de yüksek serum RF düzeyleri saptanabildiğinden dolayı, tanısal değeri dűşüktür.

Son zamanlarda, RA'lı hastaların %40-60'ında epidermal flagrin (filaman agrege edici protein)'e karđı spesifik otoantikolar tanımlanmıştır. Sitrulin, flagrin molekülünde bulunan nadir bir aminoasittir. Son araştırmalarda sitrullinin, flagrindeki antijenik epitopun yapısal bir parçası olduğu gösterilmiştir. Siklik peptid içeren sitrulin antikoları (Anti-CCP(anti-cyclic citrullinated peptide) RA için yeni ve RF'den çok daha spesifik bir parametre olarak bildirilmektedir. CCP'ye karđı oluşan antikolar, çoğunlukla IgG sınıfındadır ve RA için %97 oranında spesifiktir. Hastaların %79'unda hastalığın erken aşamasında tespit edilebilir. Bu antikolar sitrulin içeren sentetik peptidlerin geliştirilmesi sayesinde ELİSA yöntemiyle kolayca tespit edilebilmektedir(3).

Anti-Modified Citrullinated Vimentin(Anti-MCV) de, Citrullinated vimentine karđı gelişmiş bir otoantikordur. Anti-MCV düzeyinin RA tanısında ve prognozu belirlemede RF ile kombine edilmesi veya RF ve Anti-CCP'nin tek başına kullanımına göre bir hayli faydalı bulunmuştur(4).

Monosit kemoatraktan protein-1(MCP-1), ise endotel hücreleri fibroblastlar, monositler, T hücreleri ve pek çok hücre tarafından salınan ve inflamatuvar yanıtı düzenleyen bir kemokindir. ELİSA yöntemi ile saptanabilen bu kemokin RA hastalarında hastalık semptomları belirgin hale gelmeden önce kanda yüksek düzeyde saptanabilmektedir(5).

Romatoid Artrit eklemlerde deformite bırakan progresif, sistemik inflamuar bir hastalıktır. Hastalığın erken tanısı ve tedavisi ile eklemlerde deformite gelişimi ve sistemik tutulum engellenebilmektedir. Biz bu alışmamızda RA hastaları ile Ankilozan spondilit hastaları ve sağlıklı gönüllülerde Anti-CCP, Anti-MCV ve MCP-1 düzeylerini inceleyerek bu testlerle ile RA arasındaki ilişkiyi saptamayı, bu sonuçların işığında romatoid artrit erken tanı ve tedavisini amaçladık.

## II. GENEL BİLGİLER

### 1. 1. ROMATOİD ARTRİT TANIMI, TARİHÇESİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ

Romatoid artrit; nedeni bilinmeyen, sinoviyal hücre proliferasyon ve inflamasyonunun eklemde destrüksiyon yapması ile karakterize kronik, otoimmün, multisistemik, inflamatuvar bir hastalıktır(6,7,8). Hastalığın en belirgin özelliği, periferik eklemleri simetrik şekilde tutan inflamatuvar sinovittir. Sabah tutukluğu, aktiviteyle semptomlarda düzelme gibi karakteristik özellikleri olan RA'nın klinik seyri hastadan hastaya büyük değişiklikler gösterebilmektedir. Bazı hastalarda az sayıda, hafif seyirli ve kısa süreli eklem tutulumları olmakla birlikte çoğu hastada yoğun tedaviye rağmen kemik ve kıkırdakta belli bir hasara varan ilerlemeler olmakta, tendon kılıfı da tutulmakta ve bu süreç; ciddi işlev kaybı ve sakatlık ile önemli organ hasarına yol açarak sonlanmaktadır.

Yaklaşık 3000 yıl önce yaşamış Amerika yerlilerinin bedenlerinde RA ile ilgili değişiklikler bulunması hastalığın eski çağlarda da olduğunu göstermektedir(9).

İlk olarak Romatoid artrit ismini 1858'de Archibald Garrod ve oğlu Alfred kullanmışlardır. Fakat bu tanım o dönemde sadece inflamatuvar poliartiti değil, poliartiküler osteoartriti de içermekteydi. 1922'de sadece inflamatuvar poliartiti içeren tanımlama yapılırken, 1972 ve 1987 yıllarında seronegatif artritler de bu kapsamdan çıkarılmıştır(10,11).

Romatoid artrit dünya genelinde görülen bir hastalık olup yapılan çalışmalarda erişkin toplumda prevalansı %0,5-1, yıllık insidansı ise %0,03'tür. Genel olarak, Asya ve Afrika'da, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'ya göre RA daha az sıklıkla gözlenir. Afrika'da Xhosa kabilesine mensup bireylerden kırsal kesimde yaşayanlarda RA prevalansı düşük iken, şehirlere taşınanlarda RA normal sıklıkta görülmüştür. Diğer taraftan, Amerika'da yaşayan Pima, Chippewa ve Yakima halklarında ise prevalans Amerika'lı topluma göre daha fazladır. Romatoid artrit insidansı Avrupa'da kuzeyden güney ülkelerine doğru gidildikçe azalmaktadır (12,13,14).

Ülkemizde RA epidemiyolojisi ile ilgili veriler oldukça kısıtlıdır. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalı tarafından İzmir Narlıdere ve Balçova Bölgesinde 2835 kişiyle yüz yüze görüşülerek yapılan bir çalışmada 20 yaş üzeri nüfusta RA kaba sıklığı % 0.5 olarak bulunmuştur. Yaş ve cinsiyete göre düzeltme yapıldığında genel popülasyondaki prevalans % 0.36 olarak hesaplanmıştır. Bu oran, Yunanistan ve İtalya gibi diğer Akdeniz ülkelerinde bildirilen oranlara benzemektedir.

Hastalık, bebek ve yaşlılar dahil her yaştaki bireyleri etkiler, ancak, en sık olarak 40-50 yaşındaki kadınlarda ortaya çıkmaktadır. Romatoid Artrit, 45 yaşın altındaki erkeklerde çok sık değildir, ancak yaşın artmasıyla insidans hızlı bir şekilde artar. Kadınlarda insidans 45 yaşa kadar artar, 75 yaşa kadar plato çizer ve sonrasında ise azalır(15).

Pekçok çalışmada, RA'lı hastalarda genel toplumla karşılaştırılığında mortalitenin artmış olduğu gösterilmiştir. Romatoid Artrit'te kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal, hematolojik ve infeksiyöz hastalıklar nedeniyle ölüm riskinin artmış olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır(16).

## **1.2 ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ**

Romatoid artrit etiyolojisi son 30 yılda yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Genetik, çevresel, hormonal, infeksiyöz etkenler ve otoimmünite pek çok çalışmada üzerinde en çok durulmuş olası nedenlerdir(17).

### **1.2.1a GENETİK**

Bireyin genetik zemini, RA'ya yatkınlık ve hastalığın şiddeti üzerine kritik rol oynamaktadır. Dikkatli yapılan çalışmalarda monozygot ikizlerde %15 konkordans gözlenmiştir ki, bu oran dizigot ikizlerden 4 kat fazladır ve genetik faktörlerin rolünü desteklemektedir(18).

Hastalığın genetik geçiş mekanizması karışık ve muhtemelen birçok geni içermektedir. En çok etkili olan genler sınıf II major histokompatibilite (MHC) lokusu üzerinde bulunmaktadır. Romatoid artrit belli HLA-DR haplotiplerin beta zincirindeki özel dizilim ile güçlü bir ilişkisi vardır. Bu "ortak epitop" 70-74. aminoasitleri (glutamin, lösin, arginin, alanin, alanin) içerir ve QKRAA olarak bilinir. Bu ortak epitop yapının hem RA gelişimine yatkınlık oluşturduğu, hem de eklem hasarını ve eklem dışı tutulumları arttırdığı ileri sürülmüştür(19,20).

### **1.2.1b CİNSİYET VE HORMONAL FAKTÖRLER**

Romatoid Artrit, kadınlarda daha sık görülmekte ve daha şiddetli seyretmektedir. Kadın / erkek oranı 2:1 ile 4:1 arasında değişmektedir. Cinsiyet farklılığının muhtemel nedeni hormonal durumun immün fonksiyon üzerine etkisi ile ilişkili olduğu düşünölmektedir(17).

Romatoid artritli gebeler, gebeliğin 3. trimestirinde % 75'e varan oranda iyileşme ve remisyon gösterir. Ancak, gebelik sonrası olguların % 80-90'ında hastalık tekrar alevlenmektedir. Gebelik boyunca olan koruyucu mekanizma muhtemelen IL-10 gibi baskılayıcı sitokinlerin salınımı veya hücre sel immünitedeki değişikliklere bağlı olduğu düşünölmektedir.

Östrojenler, T hücrelerinin antijen stimölasyon etkisini baskılar, T hücre supresör aktiviteyi azaltırlar. Progesteron ise T hücre supresör aktiviteyi artırır, fakat lenfosit proliferatif etki gösteren antijeni inhibe eder.

Androjenlerin erkekleri otoimmün hastalıklardan korudukları ileri sürölmüştür. Romatoid artritli erkeklerde ortalama testosteron düzeylerinin kontrollerden %25 daha düşük olduğu saptanmıştır. Testesteron, T hücre supresör aktiviteyi artırır, fakat sitotoksik hücre aktivitesini inhibe eder(22,23).



### 1.2.1c ENFEKSİYÖZ AJANLAR

Romatoid Artrit'e etken olan ajanlar arasında enfeksiyöz nedenler üzerinde de çok durulmakla birlikte, bugüne kadar herhangi bir mikroorganizma ortaya çıkarılamamıştır. Ancak insanlarda birçok bakteri (Mycoplasma Fermantas, Proteus Mirabilis, Mycobacterium Tuberkulozis, E. Coli), virüs (Retro Virüs, Ebstein- Barr Virüs, İnsan Herpes Virüs Tip 6, Parvovirüs B-19) ve spiroketler (Lyme artriti) poliartrit oluşturabilirler(24).

Romatoid Artrit'li hastaların sinovyalardan bakterilerin izole edilebilmesi için çeşitli çalışmalar yapılmışsa da başarılı olunamamıştır. Genetik olarak yatkın kişilerde, mikroorganizmaların meydana getirdiği T hücre reaktivitesindeki küçük değişimler veya mikroorganizmaların girişi ile konakta yeni antijenlerin oluşması hastalığı başlatmak için yeterli olabilir(17).

İnfeksiyon etkenlerinin artrit oluşturmasında değişik teoriler öne sürülmektedir;

1) Düşük düzeyde de olsa dirençli olarak devam eden infeksiyonlar aynı zamanda artritogenik antijen salgılayabilir.

2) Mikrobik infeksiyonlar sitokin salınımına neden olabilir.

3) Bakteri-virus proteinleri ile doku proteinleri arasında çapraz reaksiyon gelişebilir.

Virüslerden en çok suçlanan retroviruslardır. Human T cell lymphotropic virus tip I'in RA'ya benzer kronik artrite neden olduğu bildirilmiştir(2). Hem RA hem de osteoartritli hastaların sinovyumunda parvovirus B19'a rastlanmıştır(3). Romatoid artritli hastaların EBV ile infekte B hücre sayıları ve EBV antikör titreleri sağlıklı insanlardan yüksek bulunmuştur. Özellikle HLA-DR4 pozitif RA'lı hastalarda EBV replikasyon antijenlerinden gp110 a karşı azalmış T hücre cevabı, EBV enfeksiyonun zayıf kontrolüne ve artmış EBV yüküne neden olur. Ortadan kaldırmayan EBV'ye karşı antikörler kronik immün kompleks hastalığı için aday oluşturur(25).

### 1.2.1d OTOİMMUNİTE

Otoimmun hastalıkların immun yanıtta bozukluk sonucunda ya da bir infeksiyon sonrasında geliştiğine inanılmaktadır. Başlangıçta hastalık tek bir eksojen antijen ya da otoantijen tarafından tetiklenebilmekle birlikte, kronik inflamatuvar yanıt geliştikten sonra salgılanan self-antijenler ana tetikleyici antijenin yerine geçerek patolojik süreci devam ettirebilirler.

Romatoid Artrit ile ilgili otoantijenlerin başında immunglobulinlerin Fc kısmına karşı gelişen bir antikor olan RF gelmektedir. Hastaların çoğunda RF bulunmakla birlikte hastalığı başlatan faktör olduğunu gösterir bir kanıt bulunmamaktadır (26).

Nükleik asit ve proteinlerine karşı gelişen antikorlar RA serolojisinde yer almakta ve otoantijenik fonksiyonlarının olabileceği düşünülmektedir(27).

Isı Şok Proteinler (HSP) anormal bir ısı değişimi, anoksi veya glukoz düşüklüğü gibi durumlarda ortaya çıkan ve antijenik uyarı zincirini başlatan proteinlerdir. Mycobacterium tuberculosis gibi bakteri proteinlerinin HSP'ye benzer yapıda oldukları görülmüştür. Bu proteinlerin çapraz reaksiyon vererek antijenik uyarıyı başlatma yeteneğine sahip oldukları düşünülmektedir.

Romatoid Artrit'li hastalarda otoantikor yanıtını başlatan diğer molekül de "calpain" inhibitörü olan "calpastatin"lerdir. Calpain ekstrasellüler matriksi yıkan bir enzimdir ve RA'lı hastaların inflamasyonlu eklemlerindeki sinoviyal sıvılarda bol miktarda bulunmaktadır. Sinoviyumda yer alan fibroblastlar, immun hücreler, endotelial hücreler ve matriks proteinleri potansiyel bir otoantijen görevi görür(22).

### 1.2.1e DİĞER NEDENLER

**Diyet:** Zeytinyağı ve balıkyağı tüketiminin koruyucu, selenyum ve bakır eksikliğinin ise RA ile bağlantılı olabileceği bildirilmiştir.

**Sigara ve alkol:** Sigaranın doza bağlı olarak RA şiddetini arttırdığı bildirilmiştir. RA ile alkol tüketimi arasında negatif bir ilişki saptanmıştır.

**Evcil hayvanlar:** Kontrollü bir çalışmada RA'lı hastaların prepubertal dönemde kedi ile yakın temaslarının olduğu gözlenmiştir. Daha zayıf bir ilişki kuşlarla da bulunmuştur.

**Negatif ilişkiler:** Gut ve RA nadiren birlikte bulunurlar. Şizofreni hastalarının RA'ya yakalanma riskinin normal popülasyona göre 4-6 kat daha az bulunmuştur (24).

### 1.2.2 PATOGENEZ

Humoral ve hücrel bağışıklık sistemi RA patogenezinde birlikte rol oynar. İmmun yanıtın ilk basamağı bir peptid dizisinin antijen sunan hücreler tarafından T hücrelere sunulmasıdır. Makrofajlar, dendritik hücreler, B hücreleri, fibroblastlar ve endotelial hücreler antijen sunan hücreler olarak fonksiyon yaparlar. T hücreleri, antijenleri ancak reseptörleri vasıtasıyla tanıyabilirler. T hücre reseptör fenotipleri fonksiyonel olarak da farklılık gösterir. En çok bulunan CD4'ün yanısıra daha az olarak CD8 ve fonksiyonel olarak inaktif olan CD45 fenotipi bulunmaktadır(28).

Burada devreye doku grubu antijenleri girmektedir(Major Histocompatibility Complex-MHC). MHC 6. kromozomun kısa kolu üzerinde yer alır ve Klas I, Klas II ve Klas III proteinlerini kodlarlar. HLA moleküllerinin asıl fonksiyonu antijenlerin T hücre reseptörlerince tanınmasını sağlamaktadır. Çalışmalar HLA klas II genleri ile RA arasındaki ilişki üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu grupta yer alan HLA-DR4 ve HLA-DR1'in tek başlarına hastalığı başlatıcı değil ama hastalığa yatkınlığı ve hastalığın ciddiyetini artıran faktörler oldukları kabul edilmektedir (29,30,31,32).

Romatoid artritte temel patoloji, eklem kıkırdağı ve subkondral kemiğin ektopik ve hiperplastik bir sinovya tarafından yıkılmasıdır. Sonuçta RA'lı hastalarda sinovyum; sistemik immün yanıtı oluşturan efektör bir organ gibi çalışır. Synovial eklem aralığında T hücreleri, makrofajlar ve plazma hücreleri gibi inflamasyon hücreleri birikir. Sinovitin

ciddiliği ve gelişimi bu hücrelerin birikimi ve aktivasyonuna ve sitokinlerin salınımına bağlıdır.

Sinovyal membran, intima ve subintima şeklinde 2 tabakadan oluşmaktadır. İntima TipA sinovyal hücre ve TipB sinovyal hücre olmak üzere iki tip hücre içerir. TipA sinovyal hücre Fc reseptörleri taşıması ve fagositoz yapma yeteneği nedeniyle makrofaj benzeri hücre olarak tanımlanır. İntima bir epitel dokusunun tipik özelliklerini taşımaz. Bazal membranı veya sinovyositler arasında sıkı intersellüler bağlantı bulunmaz.

Subintima, değişik oranlarda lipid, kollagen lifler ve daha az organize fibröz dokudan oluşan bir matriks içinde lenfatikler, kan damarları ve sinir uçları içeren gevşek, vasküler bir bağ doku stromasıdır. Glikozaminoglikanların yapımını ve vasküler yapılara filtrasyonunu sağlar.

İmmun cevabın erken ve en önemli komponentini oluşturan CD4+ T lenfositler postkapiller ve venüller etrafında, makrofaj ve dentritik hücrelere yakın pozisyonda bulunur. CD8+ T lenfositler ise daha az sayıda ve tüm dokuda bulunur.

Romatoid artrit patogenezinde başlangıç stimülüs bilinmese de dokudaki inflamuar süreç CD4+ T hücre aktivasyonu ile başlamaktadır. Aktive olan bu hücreler, IFN- $\gamma$  ve IL-2 gibi sitokinleri salgılayarak diğer T lenfosit hücrelerini, makrofajları ve fibroblastları uyarır. IFN- $\gamma$  monosit / makrofaj hücrelerinin sentez ve sekresyon fonksiyonlarını aktive eder. Aktive olan makrofajlardan sürekli IL-1 ve TNF- $\alpha$  salgılanır. IFN- $\gamma$  ile inkübasyondan sonra monositler morfolojik, metabolik ve fenotipik değişiklikler gösterirler. MHC sınıf II ve Fc reseptörleri tanımlamaya başlarlar. IFN- $\gamma$ , kollagen sentezini önleyen bir kapasiteye de sahiptir. Buna rağmen RA'lı hastaların sinovyal sıvı ölçümlerinde IFN- $\gamma$  düzeyleri çok düşük tespit edilmiştir. IFN- $\gamma$  ile TNF- $\alpha$ 'nın birbirlerine zıt etkileri vardır. IFN- $\gamma$ 'nın RA'lı hastalarda düşük saptanmasının nedeni TNF- $\alpha$ 'nın bu hastalarda artmış olmasından kaynaklanabilir.

Yardımcı T lenfositler tarafından aktive edilen B lenfositler, plazma hücrelerine dönüşerek İmmunglobulin(Ig) ve RF salgırlar. Salgılanan

Ig'ler sinovyal membran, sinovyal sıvı ve eklem kıkırdağındaki antijenlerle birleşerek immun kompleksleri oluştururlar. Eklem boşluğuna serbestçe yayılan immun kompleksler, komplemanı aktive ederek kemotaktik faktörlerin salınmasına yol açarlar. Kemotaktik faktörler damarsal geçirgenliği arttırırlar, polimorfonükleer lökositlerin ve monositlerin bu bölgede toplanmasını sağlarlar. Bu hücreler, immun kompleksleri fagosit ederek doku hasarına neden olan prostoglandin, lökotrien, serbest radikal ve proteolitik enzimlerin yapım ve serbestleşmesine neden olurlar. Mast hücrelerinden salgılanan histamin gibi vazoaktif peptitler de inflamatuvar bölgeye inflamatuvar hücrelerin girişini sağlarlar (17). Sonuçta sinovyumı kaplayan hücrelerin sayısında artışla birlikte mononükleer hücrelerin perivasküler alanda infiltrasyonu görölmektedir. Bu dönem, ışık mikroskopuyla incelendiğinde; sinovyumı kaplayan hücrelerin hipertrofi ve hiperplazisi, mikrovasküler hasar, tromboz, neovaskülarizasyon gibi fokal veya segmental damarsal değişiklikler ve küçük kan damarları etrafında toplanmış mononükleer hücre infiltrasyonları şeklinde görölür (17).

Romatoid Artrit patogenezinde sitokinler önemli role sahiptir. Sitokinler, hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi, hücrelerin büyüme ve farklılaşmasını, immun cevabın regülasyonunu sağlayan proteinlerdir. İmmun sistem hücreleri tarafından salgılanırlar. Romatoid Artrit'de, sinovyada sitokinlerin düzeyleri artar. En belirgin artışlar, TNF- $\alpha$  ve IL-1'de görölür. Her iki sitokin de lenfosit kemotaksisini, anjiyogenezisi, damar geçirgenliğini ve metalloproteinaz üretimini arttırırlar. Ayrıca IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, granülositmonosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi sitokinlerin de önemli rolü olduğu gösterilmiştir. RA'li hastalarda trombosit sayısı, C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A ve gama globulin yüksekliği, IL-6'nın aşırı üretilmesiyle açıklanmaya çalışılmıştır (33). Diğer pro-inflamatuvar sitokinler nitrik oksit, prostoglandinler, lökotrienler ve oksijen radikallerini içerir.

Romatoid sinovitin neovaskularizasyonunu hipoksi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi faktörler stimüle eder. Vasküler endotel üzerinde E-Selektin ve intercellüler adezyon molekülleri de bol miktarda bulunur (34). Hastalığın kronik fazında sinovyal tabakada hücre infiltrasyonu, özellikle tip A ve tip B sinovyal hücrelerde artma olmaktadır. Hücre artışı sonucu villöz oluşumlar meydana gelir ve pannus oluşur. Pannusların etkili olduğu alan kırık ile kemiğin birleştiği bölgelerdir. Pannusta bulunan makrofajların salgıladıkları proteinaz ve kollajenazların yıkıcı etkileri sonucu subkondral kemikte erozyonlar başlar. Pannus, kartilajı harab ederken eklem aralığı gittikçe daralır. Ayrıca subkondral kemik boyunca da ilerler ve bu bölgede yüzeysel kistik oluşumların ortaya çıkmasına neden olur. Sonuçta eklemlerde zamanla deformiteler gelişmeye başlar (34). Romatoid Artrit'te klinik belirtiler sinovyal membranda T lenfosit aktivasyonu belirginleştiği zaman başlar. Bu dönem eklemlerde şişlik, hareket kısıtlılığı ve ağrı ile klinik bulgu verir.

### **1.3.KLİNİK ÖYKÜ VE FİZİK MUAYENE**

Sistemik inflamatuvar bir hastalık olan RA'nın erken dönemde hastalığa özgü özellikleri yoktur ve hastalığın karakteristik özellikleri zaman içerisinde gelişir. Klinik belirtiler oldukça değişken olup hastalık tipik olarak sinsi başlar, semptomlar haftalar ile aylar içerisinde yavaş ilerler. Daha az olarak hastalık akut başlangıçlıdır ve poliartikülerdir. Her iki elin metakarpofalangeal ve proksimal interfalangeal eklemlerinin etkilendiği simetrik poliartrit, en karakteristik erken dönem klinik özelliktir. Eklemlerde şişlikle beraber katılık, sıcaklık, duyarlılık ve ağrı olup, karakteristik olarak semptomlarda artma vardır. Sinoviyum proliferasyonu ve ödem mekanik olarak eklem hareketlerini bozmaları nedeniyle katılığa katkıda bulunurlar.

Tutulan eklem sayısı değişken olmakla birlikte süreç çoğunlukla poliartiküler şekle dönüşür. Hastalıkta hemen hemen her eklem

etkilenebilir. Genellikle çevresel eklemlerin tutulması, servikal vertebra hariç aksiyel iskeletin ise etkilenmemesi beklenir. En sık tutulan eklemler metakarpofalangeal ve proksimal interfalangeal eklemleri, el bilekleri, dirsekler, ayak bilekleri, metatarsofalangeal eklemler ve temporomandibular eklemlerdir. Omuz, kalça, sternoklavikular ve krikoarytenoid eklem tutulumuna daha az rastlanır(35).

Hastaların çoğunda halsizlik, yorgunluk, düşük derece ateş ve depresyon gibi sistemik semptomlar artrit gelişmeden haftalar, aylar öncesinden başlayabilir. Özellikle hastalığın başlangıcındaki semptomlar karakteristik olarak dalgalanma gösterdiği için tanı konulması aylarca gecikebilir.

Hastalığın tanısının konulması ve hastalığın ilerlemesini değerlendirmek için tam bir fizik muayene yapılması şarttır. Ağrı ve şişkinlik romatoid artrit için eklemlerdeki karakteristik özelliklerdir. Şişkinlik sinoviyal hipertrofi veya efüzyona bağlı olabilir. Bu bulgu el ve ayakların küçük eklemlerinde en belirgin olarak ortaya çıkar. Septik artrit ve gut artritinin aksine, tutulan eklem muayenede ılık olmasına karşın, sıcaklık ve kızarıklık romatoid artrit beliren özellikleri değildir.

Efüzyon şişliğe katkıda bulunduğu ve eklem basıncı fleksiyonla arttığında sinoviyumun bir kısmının hapsedilerek eklem geri kalan kısmından ayrılması sonucu kist oluşabilir. Bir çok eklemde kist görülebilir, ancak en sık bilineni dizdeki Baker kistidir. Baker kisti rüptüre olduğu zaman akut tromboflebiti taklit eden bir tabloya neden olabilir.

Eklem muayenesinde pasif harekette ağrı ve duyarlılık olması inflamasyonu gösteren hassas bulgulardır. Bu nedenle eklem muayene edilirken nazikçe ama sıkı basınç uygulamak önemlidir. Metakarpofalangeal ve proksimal interfalangeal eklem bölgelerinin lateral olarak sıkılması ve yumruk sıkma gücünün değerlendirilmesi, duyarlılığı ve eklem hareketlerinde kısıtlılığı saptamada oldukça yararlıdır.

Parmak eklemlerinde hiperfleksiyon ve hiperekstansiyon (düğme iliği ve kuğu boynu deformiteleri), volar subluksasyon, ulnar deviasyon,

halluks valgus çekiç parmak gözle görülebilen değişiklikler olup hastalık süresi 10 yılı geçmiş hastaların çoğunda oluşmaktadır(36). Bu deformiteler hastalığın geç dönem belirtileri olup fiziki zorlanma ve tutulan eklem yerel anatomisinden kaynaklanır. Romatoid Artrit hastalarının %10'undan fazlasında hastalığın ilk iki yılında içerisinde el küçük eklemlerinde deformite gelişmektedir (35).

Romatoid artritli hastaların yaklaşık %30'unda, genellikle hastalık yerleştikten sonra cilt altı nodülleri oluşur. Bu nodüller alttaki kemik yada üstlerindeki deriye yapışık değildir. En sık proksimal ulnanın ekstansör yüzünde yerleşir ve basınca maruz kalan diğer bölgelerde de görülebilir.

#### **1.4 TANI VE LABORATUAR**

Hastalığın erken döneminde RA tanısı koymak zordur. Doğru tanıya ulaşmada geç kalınmasının nedenleri; az sayıda eklem tutulumu, asimetrik tutulum, intermittan artralji yakınmaları, sadece konstitüsyonel yakınmaların bulunması ve RF negatifliği gibi RA için tipik olmayan bulgularla başlayabilmesidir. Kronik sistemik inflamuar bir hastalık olan RA tanısını kolaylaştırmak ve bir standarda bağlamak amacıyla 1987 yılında Amerikan Romatizma Derneği (ARA) tarafından belirlenmiş klasifikasyon kriterleri oldukça yol göstericidir. Romatoid Artrit hastalığın aktivitesine göre erken, ilerleyici ve geç hastalık olarak sınıflandırılır.

**Erken hastalık ;** Klinik olarak eklem harabiyeti henüz yoktur, radyolojik olarak kemik ve kıkırdak yıkımı görülmez. Hastalığı bu evrede yakalamak çok önemlidir. Çünkü erken evrede inflamasyon yoğundur. Kemik erozyonu oluşum hızı fazladır, daha sonra platoya ulaşır. Yine bu dönemde remisyon daha çok oluşur. Hastaların bir kısmı bu evrede kalır, diğerlerinde ise ilerlemeye devam eder. Bu evrede bazı parametrelerin varlığı prognozun iyi olmadığını gösterir. Bunlar;

- Kontrol edilemeyen inatçı poliartrit
- Yüksek titrede RF pozitifliği
- İmmün kompleks varlığı



- Yüksek riskli HLA alellerinin varlığı
- Ekstraartiküler bulguların varlığı

**İlerleyici hastalık;** Tedaviye rağmen hastalık aktivitesi devam eder. İnatçı poliartrite ve radyolojik olarak yaygın kemik erozyonları vardır.

**Geç hastalık;** Kesin eklem hasarının olduğu ve bazı komplikasyonların eşlik ettiği evreyi tanımlar. Olguların çoğunda hastalık süresi uzundur. Hasar oranı hastalığın şiddetini yansıtır.

1- Sabah tutukluğu;	Eklem ve çevrelerinde en az 1 saat süren sabah tutukluğu
2- 3 veya daha fazla eklemdede artrit;	En az 3 eklemdede hekim tarafından kaydedilen yumuşak doku şişliği veya sinovyal sıvı artışı ile beraber olan artrit.
3- El eklemlerinde artrit;	El bileği, MKF ve PİF eklemlerinin en az birinde artrit.
4- Simetrik artrit;	Vücudun iki yarısında aynı bölgedeki eklemlerin aynı anda tutulması; bilateral PİF, MKF veya mutlak simetri olmaksızın bilateral MTF eklemlerin artrit.
5- Romatoid nodüller;	Kemik çıkıntıları üzerinde, ekstansör yüzeylerde veya eklemlerin çevresinde hekim tarafından gözlenen derialtı nodüller.
6- Romatoid faktör;	Herhangi bir metod ile saptanan romatoid faktör pozitifliği
7- Radyolojik değişiklikler;	Ön-arka el ve bilek radyografilerinde erozyonlar ve /veya periartiküler osteopeni.

*Tablo-1 1987 (ARA) Kriterleri*

Bir hastayı RA olarak kabul etmek için sayılan kriterlerden en az 4 tanesinin bulunması gerekir. İlk 4 kriterin en az 6 haftadır devam ediyor olması gerekir. Bu kriterlerin kullanılması ile RA tanısında % 90 oranında sensitivite, % 89 oranına spesifite sağlanabilmektedir(37).

**Sabah Tutukluğu:** Romatoid artrit (RA) tanısında kullanılan Amerikan Romatizma Birliği (American Collage of Rheumatology-ACR) kriterlerinden altısı klinik ve laboratuvar ölçüm temeline dayanırken, sadece sabah tutukluğu hasta tarafından tanımlanan bir kriterdir. Sabah tutukluğu aynı zamanda RA remisyon kriterleri içinde de yer almaktadır (62). Her iki durumda da hastanın ifadesine göre belirlenen sabah tutukluğu, bu nedenle diğer kriterlere kıyasla subjektif bir değerlendirme yöntemidir(63).

İnflamatuvar olaylarda sabah tutukluğu, tutulan eklemin sinovya ve periartiküler dokularındaki ödeme bağlıdır. Normal bir uyku paternini takiben, uykuda interstisiyel sıvının redüstrisyonuna bağlı olarak sabah en belirgin halini alır (64). Sabah tutukluğu her ne kadar bu organik temellere bağlı olsa da, ağrı gibi nispeten subjektif bir semptomdur.

RA'da hastalığın Şiddeti ile korelasyon gösteren iki temel laboratuvar testi, eritrosit sedimantasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyidir (65,66). Özellikle CRP daha fazla olmak üzere bu iki parametre hastalığın aktivasyon derecesi ile yakın ilişki gösterir (66).

### **LABORATUAR BULGULARI**

Romatoid artrit için spesifik bir laboratuvar testi yoktur. Hastalığın başlangıç evresinde ve hastalık seyri boyunca laboratuvar değerleri farklı olabilir. Hastanın aldığı tedaviye göre laboratuvar değerleri deđiŐebilmektedir. Başlangıç döneminde karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri normal olan hastanın aldığı tedaviyle ilişkili olarak böbrek ve karaciğer fonksiyonunu yansıtan testlerde bozulma meydana gelebilir. Hastalarda tam kan sayımı yapıldığında hafif, normokrom veya hipokrom normositer anemi görülebilir. Anemi genellikle inflamatuvar sitokinlerin (IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) kemik iliği üzerine supresif etkisi nedeniyle ortaya çıkan kronik hastalık anemisidir. Kronik hastalık anemisi dışında RA'lı hastalarda demir eksikliği anemisi de görülebilir. Steroid tedavisi alan aktif RA hastalarında beyaz küre sayısı sıklıkla yüksektir. Trombositler RA'lı hastalarda sıklıkla artmıştır ve sıklıkla anemi, lökositoz ile koreledir.

Eklem dışı bulgular ve tutulan eklem sayısı ile de korelasyon gösterir. Serum albumin düzeyleri, akut faz cevabı olarak azalmış üretim nedeniyle düşük bulunur. Hastalık aktivitesi nedeniyle metabolizması da artmıştır. Alfa-2 globulin, fibrinojen, gama globulinler (Ig G, M ve A) artar. Bu değişiklikler RA'ya özgü olmayıp bütün inflamatuvar ve enfeksiyöz durumlarda görülürler. Ancak hepsi hastalık aktivitesi ile uyumludur. Hastalarda eritrosit sedimentasyon hızı ve C reaktif protein düzeyleri genellikle artar(38,39,40).

Hastalığın ileri dönemlerinde laboratuvar bulguları gelişen komplikasyonlara bağlı olarak farklılıklar gösterebilir. Anemi derinleşebilir, ek olarak folik asit ve B12 eksikliği de görülebilir. Trombositoz belirginleşebilir. Felty sendromuna bağlı olarak nütropeni ve daha nadiren lökopeni ortaya çıkabilir.

### **1.5 ROMATOİD ARTRİTTE OTOANTİKORLAR**

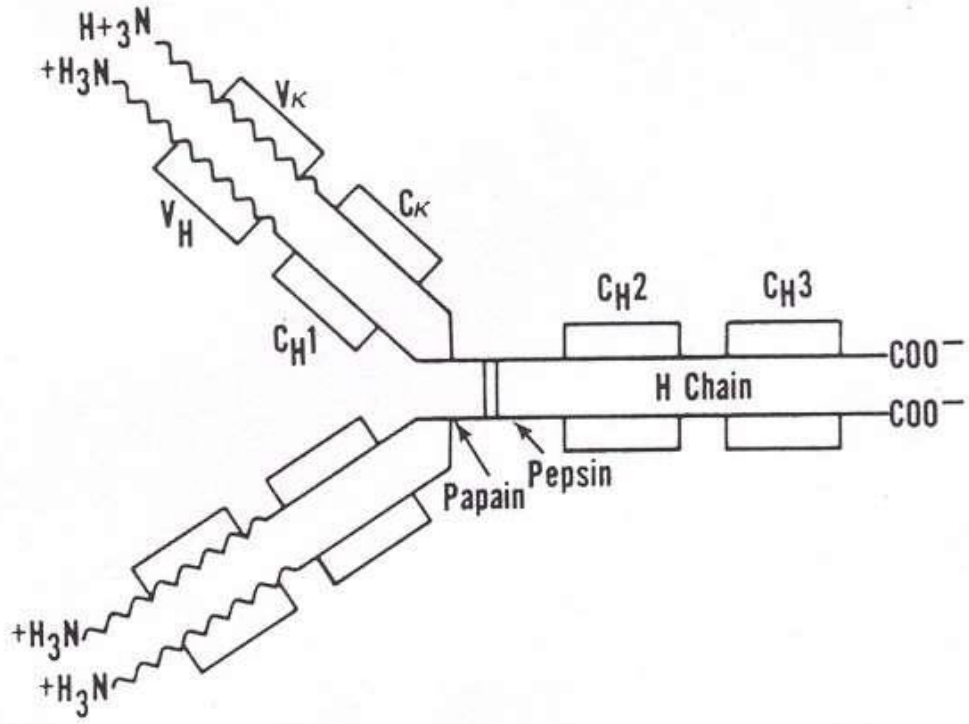
Romatoid Artrit tanısı koymakta yaşanan güçlükler, gerçek bir hastalığa spesifik serolojik marker olmamasına bağlı olabilmektedir. Hastalık tanısı için erken dönemde kullanılabilecek sensitivitesi ve spesifitesi yüksek serolojik testlere ihtiyaç vardır. Romatoid hastaların serumlarında pek çok otoantikor saptanabilir. Saptanan antikorların çoğu başka otoimmün hastalıklarda saptanabilir ve nedenle romatoid artrite spesifik değildir.

NON-SPEŞİFİK OTOANTİKORLAR	SPEŞİFİK ANTİKORLAR
Romatoid faktör	Anti-GPI(glukoz-6fosfat izomeraz)
Anti – RA33 (anti- hn RNP-A2)	Sa protein
Anti – calpastatin	Heavy Chain Binding Protein(p68)
Anti nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA)	Citrulline içeren proteinler
Anti – nükleer antikorlar (ANA)	Anti-Perinükleer Faktör
Anti – kollagen tip II	Anti-Keratin Antikor
Anti – fibronektin	Anti-Flagrin
Kardiolipin	Anti-CCP

*Tablo-2 Romatoid artrit seyrinde saptanabilen antikorlar*

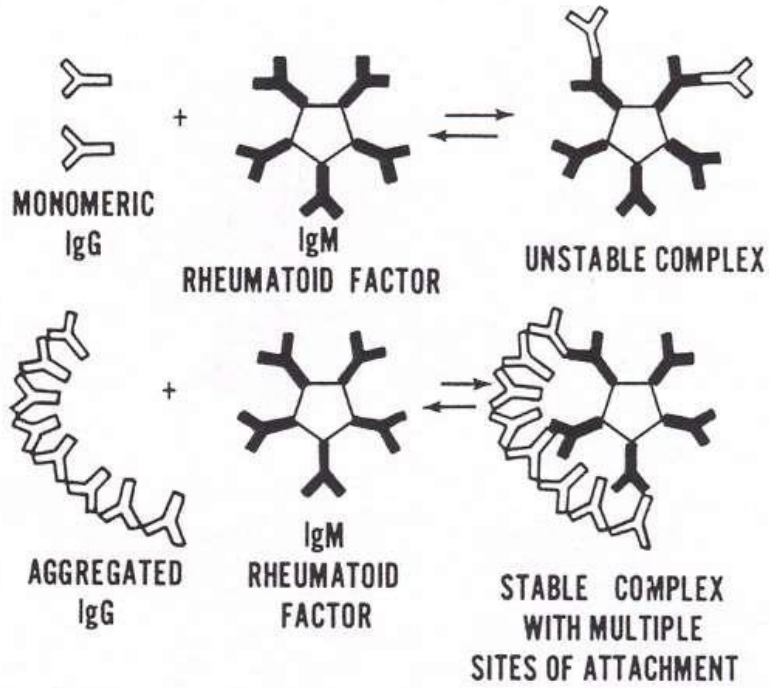
**Romatoid faktör:**

İlk kez 1940 yılında Waaler, romatoid artritli hastaların serumlarında IgG antikorları ile duyarlılaştırılmış kırmızı kan hücrelerini aglutine eden bir faktör gözlemiştir (41). Bunu takiben bu faktör romatoid faktör (RF) olarak isimlendirilmiştir. Romatoid faktör, insan IgG moleküllerinin (Şekil 1) Fc bölgesi (CH2, CH3 bölümleri)'ne karşı gelişen antikorlardır (42). Bu antikorlar, ekstrevasküler bir immün kompleks hastalığı olan romatoid artrit belirlenici antikorlarıdır (42, 43, 44).



Şekil 1: IgG molekülünün yapısı

Romatoid artritli hastaların sinovyal sıvıları, çok sayıda immunglobulin agregatları ve azalmış kompleman düzeyleri içerir. Bu bulgular, RF'lerin romatoid eklem ve sinovyal dokuda immun kompleks formasyonuna (Şekil 2), kompleman tüketimine ve kronik doku hasarına yol açabileceğini düşündürmektedir (42,45,46).



Şekil 2: IgG IgM Romatoid faktör IgG velgM kompleksi

Romatoid Faktör, 1987 yılında Amerikan Romatizma Birliği tarafından RA'nın laboratuvar kriterlerine dahil edilmiştir. Romatoid Faktörler IgM, IgE, IgA ve IgG sınıfından olabilirler. En sık görüleni IgM'dir ve RA hastalarının % 60–80'inde bulunur. Immunglobulin G, RF'nin kendiliğinden bağlanma kapasitesi vardır; bu kapasite immün sistemi aktive edebilen komplekslerin oluşumuna yol açar (47). Agresif eklem inflamasyonu olan olgularda anlamlı derecede daha sık görülmesine rağmen, RF'nin RA semptomları ile doğrudan ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir. Klinik olarak aşikar RA'sı olan hastaların %20'sinde RF negatif olabilir (43, 44). Ancak RF, RA'ya spesifik değildir ve sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi sistemik romatolojik hastalıklar, çeşitli bakteriyel ve viral infeksiyonlar, kriyoglobulinemi, paraziter hastalıklar ve hatta sağlıklı kişilerde de sıkça bulunur. Sistemik lupus eritematozus'lu hastaların yaklaşık üçte biri RF pozitifdir (42,43,44). Romatoid Faktör için duyarlı kantitatif immunassaylere dayanarak bir çok sağlıklı kişide düşük seviyede RF bulunduğu inanılmaktadır. Bazı Romatoid artrit

hastalarında RF, RA'nın belirti ve bulgularının ortaya çıkmasından 6 ay kadar sonra pozitifleşebilir. Romatoid Faktör halen RA hastalarını RF pozitif (seropozitif) ve RF negatif (seronegatif) olarak ayırmak için temel testlerden biridir. Bir RA hastasında RF'nin yokluğu Reiter sendromu, SLE, infeksiyonlar ve metabolik hastalıklar gibi diğer artrit nedenlerini araştırmayı gerektirir. Romatoid Faktörün juvenil romatoid artritte sıklıkla negatif olduğu unutulmamalıdır. Romatoid Faktör negatif erişkin RA'lerin bazıları, juvenil romatoid artrit'in yetişkin yaşta başlayan formunu temsil edebilir (42, 43, 44).

Monoklonal ve poliklonal RF çalışmalarında, bazı nükleer bileşenler gibi IgG'den başka maddelere karşı polireaktif RF bağlanma spesifitesi gösterilmiştir (43). Polireaktif RF genellikle düşük afinitelidir ve sıklıkla IgM yapısındadır. Çapraz reaktivite özelliklerinin klinik ve genetik önemi iyi bilinmemektedir (44,48).

RA'ya spesifik olmamasına rağmen RF pozitifliği RA'nın prognozunun belirlenmesinde önemli bir belirteçtir. RF varlığı daha aktif hastalıkla ve kemik erozyonlarının gelişmesi ile ilişkilidir (49).

#### ***Romatoid Faktörün IgA ve IgM izotipleri***

Geleneksel aglutinasyon yöntemleri genellikle IgM-RF'yi ölçer. IgG ve IgA gibi izotipler enzim ilintili immün test(ELISA) veya radyoimmunoassaylerle tespit edilebilirler (50). Jonsson ve arkadaşları, IgM ve IgA izotiplerinin kombine yükselmesinin RA için yüksek spesifitede olduğuna ve RA dışı hastalıklarda nadir görüldüğüne dair bulgular elde etmişlerdir. Bu çalışmada, RA hastalarında diğer RF pozitif hastalarla karşılaştırıldığında iki veya daha fazla RF izotipinde yükselme tespit edilmiştir. IgM ve IgA-RF'nin kombine yükselmesi RF pozitif RA hastalarında % 52 oranında bulunurken, diğer RF pozitif hastaların yalnızca % 4'ünde bulunmuştur (51,52). Jonsson ve arkadaşları, RA spesifik RF izotipi paterninin tespitinin hastalığın kliniği tamamen farklılaşmadan, RA'nın erken döneminde özellikle yardımcı olabileceği sonucuna varmışlardır (52,53).



Çalışmaların bir çoğu, IgA RF pozitifliğinin daha aktif RA, artmış eklem hasarı ve daha yüksek eklem dışı tutulum sıklığı ile ilişkili olduğunu ileri sürmektedirler (53). Ancak, diğer çalışmalar IgA RF pozitifliğinin daha agresif RA ve artmış eklem hasarı ile ilişkili olmadığını bildirmektedirler (50). Houssien ve arkadaşları, RF'yi ölçmek için farklı antijenlerin kullanımının RF izotipleri ve klinik değişkenlik arasındaki ilişkileri değiştirip değiştirmediğini araştırdılar. IgM ve IgA RF izotipleri tavşan IgG ve at IgG antijenleri ile ölçüldü. Tavşan IgG'sine karşı IgA RF ve IgM RF'leri pozitif olan RA hastalarında, negatif hastalara göre hastalık aktivitesi ve radyolojik hasar oranı daha yüksekti. At IgG'sinin antijen olduğu ölçümlerde bu farklılıklar benzerdi veya yoktu. Yalnızca IgM RF'si pozitif olan hastalarda hastalık, IgA RF pozitif (IgM RF (+) veya (-)) hastalardan daha hafif seyrediyordu (50).

Jonsson ve arkadaşları (54), IgA RF subklaslarının klinik etkilerini araştırdılar. IgA RF'si yüksek olan RA hastalarının neredeyse tümünde (50,51) her iki IgA RF subklasında artış gözlediler, diğer grupta bu oran % 67 idi ( IgA RF'si yüksek olan bireyler için romatik olmayan semptomların 20/30'u). Eklem dışı tutulumu olan RA hastalarında, IgA RF ve her iki subklasın konsantrasyonlarının yüksek olmasına eklem dışı lezyonları olmayan hastalara göre daha sık rastlanır. Her iki IgA RF subklasının konsantrasyonlarındaki yüksekliğin RA için IgA RF yüksekliğinden daha spesifik olabileceğini bulmuşlardır.

IgG RF, şiddetli RA'sı olan hastaların bir çoğunun serum ve sinovyumunda bulunur (55). IgG RF için rutin ölçüm yöntemlerinde bazı zorluklar mevcuttur: IgG RF'nin kolayca ölçülebilmesi için ortamda sıklıkla mevcut olan polivalan IgM RF'nin jel filtrasyonu veya diğer yöntemlerle ortadan kaldırılması gerekir. IgG RF soğukta çökebilir, sıklıkla monoklonaldır ve kriyoglobulinemi veya RA dışı hastalıklarda da tespit edilebilir (56). Romatoid vaskülit veya hiperviskozite sendromu olan hastalarda IgG RF seviyeleri tedaviye yanıtın izleminde yardımcı olabilir (57).

**Anti-RA33 antikoru:** RA33; 33 kDa molekül ağırlıklı bir antijendir. RA'lı hastaların %36'sında Anti-RA33 antikoru tespit edilmiştir. Sağlıklı bireylerin sadece %1'inde Anti-RA33 bulunur. Anti-RA33'ün artrit erken döneminde bir laboratuvar parametresi olarak kullanılabilmesi öne sürülmektedir. Bununla birlikte SLE'li hastaların %25'inde ve karışık bağ dokusu hastalığı olan olgularda da Anti-RA33 bulunmaktadır. (3,60)

Romatoid Artrit'li olgularda çok çeşitli otoantikoru bulunmakla birlikte bunların çoğunluğu RA için özgül değildir. Dolayısıyla tanı amaçlı laboratuvar parametresi olarak kullanımları sınırlıdır. Bu parametreler arasında sinovyal proteinlerden olan kalpastatin, kıkırdak proteinlerinden fibronektin ve kollajen, antifosfolipid antikoru ve antinötrofil sitoplazmik antikoru (ANCA) bulunmaktadır(2,3).

**Kalpain,** kalsiyum bağımlı bir nötral sistein proteinaz'dır. Kalpain düzeylerinin sinovyal iltihabında arttığı tespit edilmiştir. Kalpain'in sinovyal hücreler tarafından salgılandığı ve RA'de kıkırdak yıkımında rol oynayabileceği öne sürülmektedir.

**Kalpastatin,** kalpain'in doğal bir inhibitörüdür. RA'li olguların %45'inde serumda kalpastatin'e karşı otoantikoru saptanmıştır. Anti kalpastatin antikoru; sistemik skleroz, miyozit ve SLE'li olgularda da tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada sağlıklı bireylerde de RA'li olgulardaki otoantikoru miktarıyla karşılaştırılabilecek düzeylerde anti kalpastatin antikoru rastlanmıştır. Antikollajen otoantikoru SLE gibi diğer otoimmün bozukluklarda da görülebildiğinden RA'ya özgül otoantikoru değildirler. Romatoid Artrit'in patogenezinde otoantikoru rolü kesin olarak belirlenememiş olmakla birlikte, bu otoantikoru hastalığın bir sonucu olarak da ortaya çıkabilirler(60).

Romatoid Artrit'li olguların %14'ünde anti fibronektin antikoru görülür. Antinötrofil sitoplazmik antikoru, RA'lı hastaların üçte birinde bulunmasına rağmen yine de RA için özgül bir otoantikoru değildir. Diğer otoimmün bozukluklar ve çeşitli infeksiyon hastalıklarında da bu

antikorlara rastlanabilir. Antifosfolipid antikorları da benzer oranda RA olgularında bulunabilir(2,3).

**Sa proteini:** Aslen plasental doku kalıntısı olan Anti-Sa son zamanlarda vimentinin sitrulin eklenmiş formu olarak tanımlanmıştır. Bu açıdan Sa, filaggrin / siklik sitrulin peptid (CCP) otoantijen ailesinin içerisinde yer alabilir. Tarihsel olarak Anti-Sa antikorları ilk kez bir Fransız hastada tanımlanmıştır. Reaktif olan bu antikorlar RA için yüksek spesifik olduğu bulunmuştur. Sonraki çalışmalarda değişik populasyonlarda test edilerek RA spesifitesinin %95 üzeri olduğu doğrulanmıştır. Bu antikor duyarlılığı hastalığın değişik aşamasında farklıydı, hastalığın ileri evresinde %47 iken erken RA'da %20-25 dolayındaydı(61). Romatoid Artrit'li olguların %40'ında serumda Sa antijenine karşı otoantikorlar bulunmaktadır (60-61).

**Ağır Zincir Bağlayıcı Protein (p68):** RA'li olguların %64'ünde bu proteine karşı otoantikorlar vardır. RA için oldukça özgül bir antikör olarak gözükmesine rağmen henüz kesin bir fikir birliğine varılamamıştır. Bu ağır zincir bağlayıcı protein, hücrede endoplazmik retikulum ve sitoplazmada saptanabilir. Stres altında (ısı şoku) tekrar nukleusa geri döner. Bu proteinin fizyolojik olmayan lokasyonu nedeniyle RA gelişimi sırasında antijenik olabileceği öne sürülmektedir.(3,60)

**Glukoz-6-fosfat izomeraz (GPI) :** Anti-GPI antikorları RA'de lokal olarak sinovyal sıvıda, serumdaki düzeylerden daha yüksek değerlerde bulunur. Yapılan bir çalışmada RA'li olguların %64'ünde bu otoantikör tespit edilmiştir. Fakat kontrol grubunda anti-GPI antikorlarına rastlanmamıştır.(60,61)

**Anti perinükleer faktör (APF):** APF antikorları, diferansiye yanak mukoza hücrelerinin sitoplazmasındaki granüllerin protein kısmına karşı oluşan antikordur. APF, nispeten duyarlılığı yüksek (RA'li olguların %49-91'inde) ve kuvvetli özgüllük (%73-99) gösteren bir antikördür. Toplumda az sayıda bireyden donör olarak faydalanılarak perinükleer faktör eksprese edebilen diferansiye yanak mukoza hücreleri elde edilebilir.

Antikorun düzeyleri indirekt immunfloresans yöntemiyle ölçülmektedir. Anti perinükleer faktör oldukça duyarlı ve özgül bir test olmasına rağmen pratik olarak tayin edilmesi zor olduğundan rutin tanı kriteri olarak tercih edilmemektedir(3,41).

**Anti keratin antikorları (AKA):** AKA, bir epitel proteini olan filaggrine karşı oluşan antikorlardır. Anti keratin antikorları da APF antikorları gibi aynı antijene karşı oluşur. Romatoid Artrit'li hastaların %36-59'unun serumunda bu antikora rastlanır. Romatoid Artrit için oldukça özgül (%88-99) otoantikordur. Anti keratin antikorları , indirekt immunfloresans yöntemi ile tayin edilir. Anti perinükleer faktörde olduğu gibi bu antikorların tayininde de benzer zorluklarla karşılaşıldığından her ikisi de RA için potansiyel laboratuvar testi olabilmelerine rağmen teknik güçlüklerden dolayı tercih edilmemektedir(41.61).

**Anti filaggrin antikorları (AFA):** Profilaggrin, yanak mukoza hücrelerinin keratohiyalin granüllerinde bulunur. Hücre farklılaşması sırasında filaggrin alt birimlerine parçalanır. Daha sonra filaggrin yapısındaki arginin aminoasit kalıntıları enzimatik olarak posttranslasyonel modifikasyona uğrayarak sitrulin amino asidi oluşur. Filaggrin'in otoantijenik yapısı için sitrulin mutlaka gereklidir. APF ve AKA testlerinde filaggrin antijenine karşı otoantikorlar tespit edilir. AFA, RA için oldukça özgül (%99) bir testtir. AKA ile birlikte AFA bakıldığında duyarlılık %64, özgüllük yine %99'dur. AFA çok özgül bir test olmasına rağmen diğer parametrelerde olduğu gibi analiz yöntemindeki teknik zorluklardan dolayı uygulanması yaygınlık kazanmamıştır.

**Anti-CCP Antikorları:** Filaggrin antijenini saf olarak elde etmek çok zordur. Sitrulin'in antijenik yapısı için mutlaka gerekli olduğu anlaşıldıktan sonra sitrulin peptidlerinin antijen olarak kullanılması fikri öne sürülmüştür. Bu amaçla başta dokuz farklı sitrulin peptidi birleştirilerek test duyarlılığı %76'ya ve özgüllüğü %96'ya yükselmiştir(58). Bu test daha sonra geliştirilip ve basitleştirilerek RA otoantikorları tarafından en iyi şekilde tanınan tek bir siklik peptid kullanılmaya başlanmıştır. Anti-CCP

antikorları, sitrulin peptidlerine karşı oluşan otoantikorlardır. Son zamanlarda yapılan klinik çalışmalar, Anti-CCP'nin RA için oldukça özgül (%98) ve duyarlı (%68-75) bir test olduğunu göstermektedir.

### **1.6 ROMATOİD ARTRİT VE ANTİ-CCP ANTİMCV ANTİKORLAR**

RA hastalarının çok yüksek bir oranında sitruline peptidlere karşı gelişmiş IgG antikörlerinin bulunduğu gözlemine son zamanlarda büyük ilgi gösterilmektedir. Bu anti-sitrulin antikörleri RA'da nispeten daha erken ortaya çıkarlar (58) ve hastalık için yüksek oranda özgüldürler (% 98). Birçok farklı laboratuvar tarafından yapılan bir seri çalışmada bu antikörlerin hedefinin, memeli deri ve özefagus epitel hücrelerinin terminal diferansiyasyonunun ileri safhalarında eksprese edilen bir protein olan filagrin olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu antikörlerin posttranslasyonel olarak değiştirilmiş veya sitruline edilmiş filagrini hedef aldıkları da bulunmuştur (59). Posttranslasyonel sitrulinasyon işlemi belirli polipeptidlerdeki argininlerin deiminasyonunu içerir ve Ca<sup>++</sup> bağımlı peptidilarginin deiminaz (PAD) enzimi tarafından katalize edilir (67). Bu biyokimyasal işlem sonucu, pozitif yüklü argininler polar ama yüksüz sitrulinlere dönüşür. Sitruline edilmiş peptidlerin yapılarındaki bu değişimler bunları RA'daki IgG antikörlerinin hedefi haline getirir. Arginin içeren bu peptidler değişen özellikleri sayesinde, paylaşılan epitopu (SE) eksprese eden MHC Klas II moleküllerindeki P4 olarak bilinen pozitif yüklü peptid-bağlayıcı pakete 100 kat fazla afinite ile bağlanabilirler (ör; HLA- DRB1\* 0101, 0401 ve 0404) (68). RA için koruyucu olan HLA-DRB1\*0402 aleli, arginin (69) ve muhtemelen sitruline bağlanabilen negatif yüklü bir P4 bağlayıcı pakete sahiptir. Bu kompleks için yüksek afinitesi olan T hücreleri bu nedenle periferik lenfoid dokularda eksprese edilmezler. Bu da HLA-DRB1\*0402 aleli olan hastaların neden RA kliniği geliştiremeyeceğini açıklayabilir. DR4-IE transgenik fareler, sitruline edilmiş peptidlerle duyarlılaştırıldığında, RA'daki bağışık yanıtın önemli bir bölümünü teşkil

ettiği düşünölen CD4 Th1 yanıtları üretmişlerdir. Bu gözlemler, sitruline edilmiş peptidlere karşı oluşan bağışık yanıtın SE'yi kodlayan MHC Klas II genleri tarafından yönlendirildiğini vurgulamaktadır. Bu bulgular, RA'lı hastalarda yapılan ve anti-sitruilin antikörleri ile SE arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösteren diğör çalışmalarla uyumludur (70). Bu deneysel gözlemler RA'da sık gözlenen iki özellik ile bağlantılıdır: SE'nin yüksek eksprese edilme oranı ve anti-sitruilin antikörlerin sık ve oldukça spesifik olarak bulunmasıdır.

Bu bulgularla Romatoid artrit patogenezi arasındaki bağlantı nedir sorusu gündeme gelebilir. Birçok deneysel gözlem, sitruline karşı oluşan yanıtların RA inflamasyonunun patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Öncelikle, RA'lı hastaların sinovyal dokusunda sitruline edilmiş proteinlerin (fibrinojenin sitruline edilmiş alfa ve beta zincirleri ve sitruline edilmiş vimentin) bulunduğu gösterilmiştir (71,72). Sitruline edilmiş proteinlerin, RA hastalarının derin sinovyal dokularındaki interstisyel birikimlerde ve sinovyadaki monosit/makrofaj benzeri hücrelerin sitoplazmalarında bulunduğu düşünölmektedir (71,73). Benzer şekilde bazı deneysel artrit modellerinde sitruline edilmiş proteinler sinovyal dokuda bulunabilir (74) ki bu durum inflamasyonun bu işlemi belki de PAD (peptidilarginin deiminaz) aktivitesini artırarak düzenlediğini düşündürmektedir. Uygun bir konakta (ör; SE eksprese eden bir kişi) bu sitruline edilmiş proteinler, eklemdaki yerel immün yanıtın hedefi olabilirler. SE için transgenik olan farelere sitruline edilmiş fibrinojenin verilmesi ile RA'ya benzeyen artrit indüklenebileceği gösterilmiştir. Transgenik olmayan farelerde veya sitruline edilmemiş ve değiştirilmemiş fibrinojen verilen farelerde ise artrit indüklenememiştir (75).

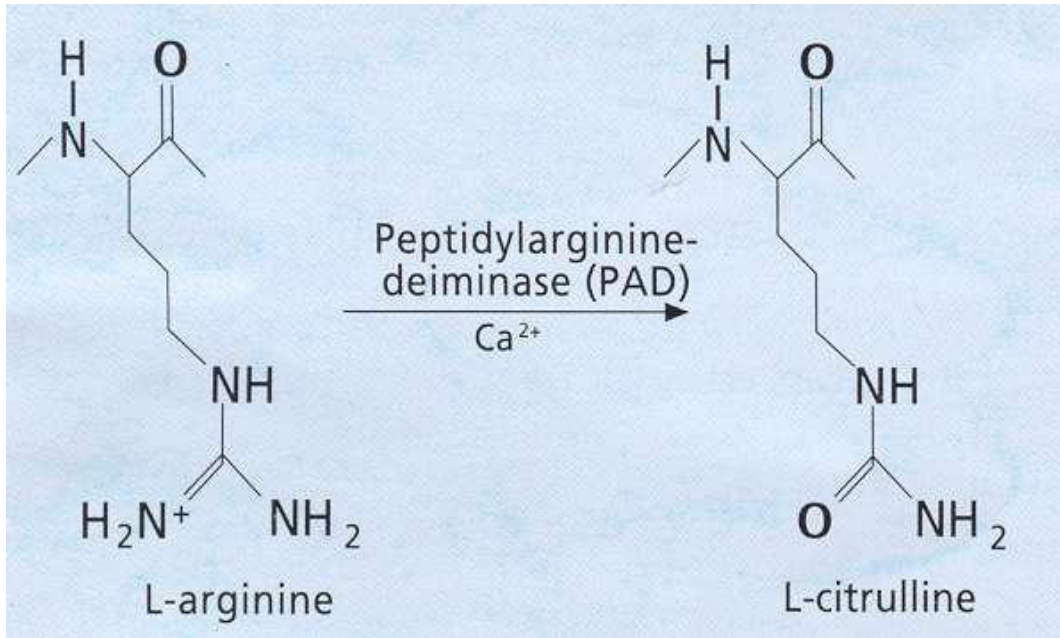
Devam eden çalışmalar, PAD ekspresyonunu etkileyen genetik faktörlerin RA hastalarında bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu PAD haplotipindeki RA hastaları sitruline edilmiş peptidleri daha yüksek oranda üretebilirler, bu da MHC Klas II SE'si olan genetik olarak yatkın kişilerde Th hücrelerinin ve IgG anti-sitruilin antikörlerinin aktivasyonu ile

sonuçlanabilir. SitruLine edilmiş proteinler inflamasyonlu sinovyal dokuda üretildiklerinden (76), bu antijenler immun sistem tarafından hedef görülerek kronik inatçı sinovite neden olabilecek inflamatuvar işlemleri başlatabilirler. Eğer sitruLine karşı gelişen yanıt RA'nın başlamasında ve devam etmesinde önemli bir rol oynuyorsa, bu yolları hedef alan yeni tedavi şekilleri geliştirilebilir. En belirli hedeflerden biri, sinovyumdaki sitruLine edilmiş peptidlerin üretiminden sorumlu olan bir veya daha fazla PAD izoenzimi aktivitesinin baskılanması veya bloke edilmesidir. Diğer yaklaşımlar, IgG anti-sitruLine antikorlarının üretimine yol açan CD4 Th yanıtlarının manipüle edilmesi olabilir. Hayvan modellerindeki artritlerde yapılmakta olan bu çalışmalar, RA patogenezinin kavranmasında yeni bir sayfa açmakta ve tedavisi için yeni stratejilerin geliştirilmesini öngörmektedir.

1964 yılında diferansiye olan bukkal mukoza hücrelerinin sitoplazmasındaki keratohiyalin granüllerde bulunan bir protein bileşenine karşı gelişen yüksek derecede spesifik bir RA antikor sistemi tanımlanmıştır. Antijen, perinükleer faktör antikorun aktivitesi de antiperinükleer faktör (APF) olarak isimlendirilmiştir (77). APF antikorları nispeten yüksek bir sensitivite (çalışılan hasta grubunda RA hastalarının %49-91'inde bulunuyorlardı) ile güçlü bir spesifiteyi (%73-99) göstermekteydi (78). APF testi, çeşitli uygulama elverişsizlikleri nedeniyle popüler hale gelememiştir. Perinükleer faktör içerecek kadar diferansiye olabilmiş bukkal mukoza hücresi elde edilebilmesi güçlüğü ve antikor aktivitesinin yalnızca indirekt immunfloresan tekniği ile ölçülebilmesi zorlukları oluşturur (78).

1979 yılında stratum korneumun keratinize epiteline yönelen RA'ya spesifik antikorlar tanımlanmıştır (79). Bu antikorlar, antijenik substrat olarak sıçan ve insan özefagusunu kullanan indirekt immunfloresan yöntemi ile RA serumlarının % 36-59'unda % 88-99 spesifite ile tespit edilebilir (78,79). Birçok çalışma, APF ve AKA antikorlarının aynı antijeni hedeflediğini göstermiştir; epitelyal protein filagrin (80). AKA'nın

sensitivitesi, APF'den düşük olmakla birlikte, her iki antikorun varlığı ve titreleri birbiri ile, RF'nin varlığı ile ve hastalığın şiddeti ile koreledir (81). APF ve AKA'nın ortak antijeni olan filagrin, epitelyal hücrelerin sitoskeletal yapılarının organizasyonunda yer alır (çok rijit sitoskeletal yapıları oluşturmak üzere keratin filamanlarını çapraz bağlar). 10-12 filagrin alt ünitesi içeren büyük, yoğun bir şekilde fosforile edilmiş öncü protein profilagrinden sentezlenir (82). Epitelyal hücrelerin diferansiyasyonu sırasında profilagrinden defosforilasyon, sitrulinasyon ve proteolitik olarak 10-12 filagrin alt birimine yıkılmayı içeren çok basamaklı bir süreçten geçer (83,84). Son olarak oluşan filagrin alt üniteleri, keratinleri proteolitik degradasyondan koruyan yoğun makrofibriller oluşturmak üzere keratin filamanlarına bağlanırlar (85,86). Sonunda, arginin rezidülerinin %20 kadarı enzimatik olarak sitrulin rezidülerine deamine edilir (82). Temel aminoasit argininin nötral rezidü sitruline dönüşümü, peptidilarginin deaminaz tarafından katalize edilir (Şekil 3 ). Filagrinin otoantijenitesinde son derece önemli olduğu gösterilen modifikasyonu budur.



Şekil 3: Peptidil-argininin, peptidil-sitruline enzimatik dönüşümü



Olgun filagrinin APF ve AKA antikollarının hedefi olduğu bilgisine dayanarak (87,88,89), sentetik sitrulin içeren peptidler geliştirilmiş ve RA serumu ile etkileşimleri test edilmiştir. Sitrulin, protein translasyonu sırasında protein yapısına katılmadığından standart olmayan bir aminoasittir. Ancak, peptidilarginin deaminaz enziminin katalize ettiği arginin rezidülerinin post-translasyonel modifikasyonu ile üretilebilirler (58). Enzim ilintili immun test (ELİSA) ile filagrin dizilerinden elde edilen sitrulin içeren bir peptid kullanılarak, RA'lı hasta serumlarının yaklaşık %48'inde % 98 spesifite ile antikolar saptanmıştır. Yalnızca sitrulin içeren peptidler reaktif olup sitrulinin başka bir aminoasit ile değiştirildiği peptidler pek aktif bulunmamıştır; bu durum sitrulin grubunun APF ve AKA tarafından tanınan antijenik determinant olduğuna işaret etmektedir. Bu veriler, sıçan özefagusundan veya insan epidermisinden saflaştırılan filagrinin hem RA serumu hem de spesifik anti sitruline protein antikoları ile etkileştiğini gösteren gözlemlerle desteklenmiştir (59). RA serumu, sitrulin içeren farklı peptidlere karşı belirgin şekilde çeşitli reaktivite modelleri göstermektedir; bu da sitrulin rezidülerini içeren aminoasitlerin epitop antijenitesindeki önemine ve APF , AKA gibi antisitruline protein aktivitelerinin şiddetli poliklonal yanıtlar olduğuna dikkati çekmektedir. Bu antikoların RA'lı hastaların sinovyumlarında lokal olarak üretildikleri belirtilmiştir. Bu durum RA hastalarının sinovyumlarında antisitruline proteinlere spesifik B hücrelerinin antijenle indüklenen maturasyonuna yol açan sitruline proteinlerin varlığını düşündürmektedir. Ancak filagrin, sinovyumda değil epitelyal hücrelerin diferansiyasyonunda salınmaktadır (90).

Romatoi Artrit'li hasta serumunda filagrin benzeri olmayan çoğu sitrulin içeren (sitruline edilmiş) protein / peptidin, RA serumundaki antikolar tarafından tanınacağı ve hepsinin farklı sensitivite ve spesifitede olacağı ileri sürülmüştür. Filagrin eklemden bulunmadığından sitrulin içeren başka proteinlerin RA sinovyumunda bulunduğunu ileri sürmek mantıklı

olur. Bu nedenle anti-filagrin antikorlarının (AFA) bir veya daha fazla sinovyal sitruline proteine karşı gelişen bir yanıtın köken aldığı ve sitruline filagrin ile reaksiyonlarının çapraz etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Filagrin, alt üniteleri arasında yoğun dizilim varyasyonu gösteren (~ % 40) oldukça heterojen bir proteindir (82). Ayrıca, değişken fosforilasyon (filagrin alt ünitesi başına ortalama 22 potansiyel fosforilasyon bölgesi) ve değişken sitrulinasyon (91) aşırı yük heterojenitesine yol açar. Bu özellikler nedeniyle filagrin, sitruline epitoplara doğal bir kütüphanesi olarak tanımlanabilir. Bu özelliği, onu sinovyal sitruline proteinlerin bir benzeri yapar. Romatoid Artrit yağ dokusunda AFA'lar yerel plazma hücreleri tarafından üretilirler ve serumdan daha yüksek düzeyde bulunurlar (92). Bundan başka, anti-CCP pozitif RA hastalarının sinovyumundaki B lenfositleri spontan olarak anti-CCP antikorları üretirken, periferik kan B lenfositleri veya anti-CCP negatif RA hastalarının B lenfositleri üretmezler (93). Bu durum, RA inflamasyon bölgesinde CCP-spesifik B hücrelerinin antijenle yönetilen bir maturasyona uğradığını düşündürmektedir. Bu olası antijenlerden biri, sitruline edilmiş fibrin yeni tanımlanmıştır (71). Sitruline edilmiş fibrinin ve diğer sitruline edilmiş antijenlerin RA patofizyolojisindeki olası rolü henüz açıklığa kavuşmamıştır (94).

Anti-CCP, diğer parametrelere göre birkaç nedenden dolayı daha avantajlıdır: Anti-CCP, APF ve AKA kadar özgül bir testtir. Diğer parametrelere göre analiz kolaylığı avantajı vardır. İmmunofloresans metoduna bağlı teknik zorluklar, anti-CCP için ELISA yöntemi ile aşılmıştır. Anti-CCP antikorları duyarlılığı hafif düşük olmasına rağmen RA'da çok erken evrede serumda saptanabilmektedir. Bu otoantikorlar, RA için prognoz takibinde kullanılabilecek iyi bir parametre olarak gözükmektedir. Anti-CCP antikorları eroziv ve eroziv olmayan RA ayırıcı tanısında çok güçlü bir parametredir. RA'de anti-CCP, RF ile birlikte bakıldığında prognoz takibi açısından çok daha etkili olabilir.

Anti-CCP pozitif olan RA'lı olgularda radyolojik olarak eklem hasarı , negatif olanlara göre daha belirgindir. Bu, anti-CCP antikorlarının prognoz açısından önemli olduğunu göstermektedir. Bu antikorların belirli aralıklarla tayini klinik takipte faydalı olabilir. Romatoid Artrit'li olgularda yapılan bir çalışmada anti-CCP ve IgM-RF parametreleri karşılaştırılmış ve IgM RF'nin anti-CCP'ye göre daha duyarlı (%62) fakat daha az özgül(%84) bir test olduğu görülmüştür. Bu hastalarda anti-CCP ve IgM-RF beraber bakıldığında, tek başına anti-CCP'ye göre özgüllüğün %98'den %99.6'ya yükseldiği görülmüştür. Anti-CCP reaktivitesi ile erken evredeki artrit arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır(41).

RA'in erken tanısı için yapılan klinik çalışmalarda kalıcı artrit ile en güçlü korelasyonun anti-CCP pozitifliği ve semptomların devamlılığı arasında olduğu gösterilmiştir. Artrit olgularında erken evrede anti-CCP ile korelasyonun anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu da anti CCP'nin erken evrede tanı kriteri olarak kullanılabilmesini desteklemektedir. Erken dönemde RA tanısı, tedavi stratejisinin belirlenmesine yardımcı olabilir. Gerekirse çok güçlü bir tedavi uygulanarak eklem hasarının ilerlemesi geciktirilebilir ve hastalığın doğal gidişi iyileştirilebilir.

Erken evrede RA'in poliartrit'li olgulardan ayırıcı tanısında anti CCP'in IgM-RF ile birlikte bakılması tek başına IgM-RF'e göre daha değerlidir. Anti-CCP testinin özgüllüğünü sağlayan bir diğer kriterin RA'te inflamasyon bölgesinde antijen cevabına karşı olgunlaşan CCP'ye özgü B lenfosit hücrelerinin varlığı olduğu ileri sürülmektedir. Anti-CCP pozitif RA'lı olguların sinovyal sıvılarından alınan örneklerde B lenfositlerin spontan olarak anti-CCP antikorları ürettiği görülmüştür. Periferik B lenfositler veya anti-CCP negatif olguların sinovial sıvısındaki B lenfositler ise bu antikorları üretmez.

RA'in erken evresinde anti-CCP antikorları ile IgM-RF parametrelerinin duyarlılık ve özgüllüğünü incelemek amacıyla klinik bir çalışma yapılmıştır. Anti CCP, RA'te erken tanı koyulması ve sinoviti olan

hastalarda erken dönemde RA'in saptanmasının yanısıra RA'in SLE gibi diğer bağ dokusu hastalıklarından da ayırıcı tanısında değerli bir parametredir. Yapılan tüm çalışmalar sitrülün antijenlerinin RA'in tanısında, prognozunda ve tedavinin düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğunu ileri sürmektedir(37,41).

Vimentin mezenşimal hücreler ve makrofajlar içinde bulunan bir ara filamandır. Sinovyum ve fibroblast benzeri sinovyositlerde de bulunabilir. İn vivo olarak sitrullinemez, fakat makrofajların apoptozisi sonucu meydana gelebilir. Anti-CMV antikolar, RA hastalarında apoptotik materyalin yetersiz temizlenmesi sonucu ortaya çıkabilir.

Christian Dejaco ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, RA tanısı için yeni geliştirilmiş bir ELİSA yöntemi ile genetik olarak modifiye edilmiş sitrullenmiş vimentin düzeyi ile ELİSA ile bakılan anti-CCP düzeylerini karşılaştırmış (114). Çalışmaya 631 hasta serumu alınarak anti-CCP ve anti MCV çalışılmıştır. Anti-MCV için cut-off değeri 20 U / ml alındığında 170 hastanın değeri pozitif saptanmış (%26.9), anti-CCP için cut-off değeri 10 U / ml alındığında 137 hastanın testi pozitif saptanmış(%21.7). Anti MCV ve anti-CCP ölçümlerinin tanısal değerleri ROC analizi ile karşılaştırılmış ve benzer bulunmuştur. Anti-MCV için 20.0 U / ml, 19 U / ml ve 81.5 U / ml olmak üzere 3 farklı cut-off değeri kullanılmış. Cutoff değeri 19.0 U / ml alındığında heriki testin duyarlılığı aynı saptanırken anti-MCV'nin özgüllüğü düşük saptanmış. Karşıt olarak cut-off değeri 81.5 U / ml alındığında özgüllük olarak benzer değerler elde edilirken, duyarlılık ise anti-CCP2'e göre daha düşük olduğu saptanmış. Anti-MCV için cut-off değeri 20, anti-CCP için cut-off 10 alındığında RA için her iki testin duyarlılığı %63.5 (50.4-78.3) saptanmış. Anti-MCV'nin özgüllüğü(91.5), anti-CCP'den (98.7) daha düşük saptanmıştır.

J.Ursum ve arkadaşları 162 erken artritli hastada(123'ü RA, 39 tanımlanamamış artrit) hastalık aktivitesi ile anti-MCV arasındaki bağlantıyı araştırmışlar. Anti-MCV için cutoff değeri 20 U / ml kullanılmış ve özgüllük %92.3 duyarlılık %59.3 olarak bulmuşlardır. Anti-MCV pozitif

erken artrit hastasında negatif olanlara göre daha yüksek eritrosit sedimentasyon hızı ve CRP düzeyine sahip olduklarını saptamışlardır(3.4).

RA'te otoantikörlerin patojenik özellikleri hala tartışılmaktadır. Sitrülin peptidleri ve diğer antijenler RA'in erken tanısında ve prognoz tayininde kullanılabilir. Bunlar içerisinde özellikle siklik sitrülin peptidleri ELISA yöntemiyle kolayca tayin edilebilmesi nedeniyle ön planda yer alır. Spesifikliğı, eroziv formu önceden saptayabilme özelliğı ve çok erken dönemde RA tanısına imkan vermesi nedeniyle siklik sitrülin peptidlerinin gelecekte RA için başlıca serolojik test olma potansiyeli yüksektir.

### **1.7 ROMATOİD ARTRİT VE MCP-1**

**KEMOKİNLER:** Kemokinler farklı hücre tiplerini aktive eden ve selektif olarak onlarla ilişki içerisinde olan bir polipeptid ailesidir. İnflamasyon, infeksiyon, doku hasarı, allerji, kardiyovasküler hastalıklar, ayrıca tümör patofizyolojisinde rol alırlar. Bu ana kadar bilgilerimiz dahilinde kemokin ailesine ait 30 adet kemokin ve 15 adet kemokin reseptörü tanımlanmıştır. Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1),  $\beta$  kemokinler içerisinde yer alır.  $\beta$  kemokinler de kendi içinde 5 MCP ve eotaksin içeren MCP-eotaksin ailesi ve diğer  $\beta$  kemokinler olmak üzere 2 alt gruba ayrılır.  $\beta$  kemokinler ise genellikle nötrofillere karşı etki göstermezken, monosit, eozinofil, bazofil ve lenfositlere değişik derecelerde etki ederler (94).

MCP-1	Monosit, Memory-T lenfosit, bazofil, NK hücresi, Hematopietik progenitörler, dendritik hücre (?)	Kemotaksis, adezyon, Süperoksit salınımı histamin salınımı, lökotrien sentezi, araşidonik asit aktivasyonu
MCP2	Monosit, Memory-T lenfosit, eozinofil, bazofil, NK hücresi	Kemotaksis, Histamin salınımı
MCP-3	Monosit, Memory-T lenfosit, eozinofil, bazofil, NK hücresi, dendritik hücre	Kemotaksis, Araşidonik asit aktivasyonu, Histamin salınımı
MCP-4	Monosit, T-lenfosit, eozinofil	Kemotaksis

*Tablo-3 Monosit Kemoatraktan Proteinler*

Monosit Kemoatraktan Protein-1, RA için potansiyel bir hedeftir (95). MCP-1 düzeyi RA hastalara ait periferik kanda, sinovyal sıvıda ve sinovyal dokuda yükselir ve T lenfositlerinin ve özellikle monosit / makrofajların migrasyonu için ana mediatör olur. Bu hücrelerin doğrudan sinovitin başlayıp sürmesine ve sonuçta RA hastasında izlenen eklem destrüksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir(96). Monosit Kemoatraktan Protein-1, monoklonal antikorlarının yönetiminde hastalıktan önce bir MRL/lpr fare modelinde, artrit gelişimini önlediği gösterilmiştir(97). MCP-1 lökosit migrasyonunda anahtar rol oynar ve kronik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel hedeftir (95). Jasper ve arkadaşları RA hastalarının tedavisinde human anti-CCL2 / MCP-1 monoklonal antikorun ( ABN912) etkilerini değerlendirmek için randomize placebo kontrollü çalışma

yapmışlardır(21). Hasta grubuna, kademeli olarak artırmak üzere 15 günde bir anti-CCL2 / MCP-1 monoklonal antikor(ABN912) verilmiştir. ABN912 verilen hasta grubunda beklenmedik şekilde doz artışı ile birlikte ABN912-Total CCL2 / MCP-1 kompleksinin ikiye katlandığı görülmüştür. Sonuç olarak, ABN912 plasebo ile kıyaslandığında yararlı bir etki görülmemiş ve hastaların periferik kan ve sinovyal dokularında önemli bir değişiklik saptamamışlardır(98).

MCP-1'in tanısal amaçlı kullanımı incelendiği Rantapaa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, romatoid artrit hastalarının hastalığın başlangıcından yıllar önce verdikleri kan örneklerinde MCP-1 dahil olmak üzere inflamasyon araçları incelenmiştir(5). Çalışmada RA'lı olgular hastalık başlangıcından yaklaşık 3 yıl önce sezilen kan bağışçılarında tanımlanmıştır. Daha önce toplanmış örneklerdeki MCP-1 düzeylerinin anti-CCP ve Ig-M-RF pozitif hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olarak bulunmuştur. Dolayısıyla RA gelişiminde lökosit migrasyonu açısından kemotaktik aktivitelerin upregülasyonu erken bir süreç olarak gözükmektedir.

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### **Hasta alımı ve Grupların Oluşturulması:**

Çalışma grupları Romatoid artritli hastalar ile benzer yaş ve cinsiyet grubundaki Ankilozan spondilitli hastalar ve sağlıklı gönüllü kontroller olmak üzere üç gruptan oluştu.

- 1. Grup:** Bu grup Celal Bayar Üniversitesi Romatoloji polikliniğine başvuran 25-60 yaş arası, ARA kriterlerine göre daha önceden ya da yeni tanı almış 35 RA hastası alındı. 35 hastanın 25'i kadın 10'u erkek hastadan oluşuyordu. Bu grupta klinik belirteç olarak, hastalar sabah tutukluğu süresi 1 saatten kısa ve uzun olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı.
- 2. Grup:** Bu grup Celal Bayar Üniversitesi Romatoloji polikliniğine başvuran 25-60 yaş arası, daha önceden yada yeni tanı almış 25 Ankilozan spondilit hastası alındı. 25 hastanın, 18'i kadın 7'si erkek hastadan oluşuyordu.
- 3. Grup:** 25-60 yaş arası toplam 20 sağlıklı gönüllüler alındı. Gönüllüleri 15 kadın ve 5 erkek oluşturuyordu.

#### **Dışlanma kriterleri:**

- Ek bir bağ daku hastalığı olanlar,
- Kalp yetmezliği ve / veya koroner arter hastalığı olanlar ,
- Karaciğer ve böbrek yetmezliği olanlar,
- Aktif enfeksiyonu olanlar,
- Malinite öyküsü olanlar olarak belirlendi.

Çalışmaya alınan hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden 8-12 saat açlık sonrası venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde ESH, Hemogram, RF ve CRP tetkikleri yapıldı. Anti-CCP, anti-MCV ve MCP-1



testlerini çalışmak için vakumlu tüplere de kan alındı. Onbeş dakika içinde 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilen serum örnekleri porsiyonlanarak toplu çalışma gününe kadar -80 C'de kapaklı ependorf tüplerle saklandı.

Çalışmaya alınan olgularda ESH ölçümü, Westergreen yöntemi kullanılarak Eriline AR Barcelona / Spain cihazı ile yapıldı. C-Reaktif Protein ve RF ise turbidimetrik yöntemle Beckman Coulter(USA) firmasının UniCel Dx C800 cihazı kullanılarak çalışıldı. Romatoid Faktör, Rheumatoid Factor Reagent kitiyle, CRP ise C-Reactive Protein Reagent kitiyle çalışıldı. Eritrosit sedimentasyon hızının referans aralığı 0-30 mm / saat, CRP'nin referans aralığı 0-0.5 mg / L, RF'nin referans aralığı 0-20 IU / mL alındı.

Çalışmaya alınan olgularda serum anti-CCP düzeyleri ELİSA metoduyla İmmunoscan RA. Eurodiagnostica. AB. Malmö/ İsveç kitiyle çalışılmıştı. Referans değeri 0-25 U/ml olarak alındı.

Çalışmaya alınan olgularda serum Anti MCV (Autoantibodies Against Mutated Citrullinated Vimentin) düzeyleri ELİSA metodu (ORGANTEC Diagnostica GmbH 55129 Mainz- Germany) ile çalışıldı. 20 U / ml altı negatif olarak değerlendirilmektedir. Kitin en düşük ölçüm sınırı 1 U / ml'dir.

Çalışmaya alınan olgularda serum MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) düzeyleri R&D Systems Human CCL2/MCP-1 ELİSA metodu (R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN 55413 USA) ile çalışılmıştı. Kitin en düşük ölçüm değeri 5.0 pg/ml dir.

**İstatiksel Analizler:** Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi kullanıldı. Normal dağılımın incelenmesi için Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanıldı. Niceliksel

verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Tek yönlü (One way) Anova testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunnet C testi kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında korelasyon analizi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

Duyarlılık ve Özgüllük hesabı için Anti-CCP değeri kesme değeri 25; Anti-MCV kesme değeri 20 olarak alındı. Anti-CCP için 25 üstü pozitif; Anti-MCV için 20 üstü pozitif olarak tanımlandı. Tanı grubu, romatoid artrit olanlar ve olmayanlar (“as ve kontrol”) şeklinde iki grup olarak tanımlandı.

#### IV. BULGULAR

Bu çalışma yaşları 25 ile 59 arasında değişmekte 80 olgu üzerinde uygulandı. Olguların ortalama yaşı  $43,4 \pm 9,06$  idi. Olguların 58'i kadın, 22'si erkekti.

ROMATOİD ARTRİT tanısı olan 35 kişi "Grup 1";

ANKİLOZAN SPONDİLİT tanısı olan 25 kişi "Grup 2";

KONTROL grubu olan 20 kişi "Grup 3" olarak adlandırıldı.

**Tablo 4 Demografik özelliklerin gruplara göre dağılımı**

	R.A (n=35)		A.S (n=25)		Kontrol (n=20)		p
	Ort	SD	Ort	SD	Ort	SD	
Yaş	43,7	9,1	42,5	8,9	43,9	8,5	0,528
Cinsiyet (K/E)	25/10		18/7		15/5		0,958

Gruplar; yaş ve cinsiyet açısından benzerdi. ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 5 sabah tutukluğu ve hastalık süresi bulguları**

	N	Ort	Ss	Min	Max
Sabah tutukluğu(saat)	35	1,1	0,6	0,4	2,5
Hastalık süresi(yıl)	35	4,1	2,7	1	12

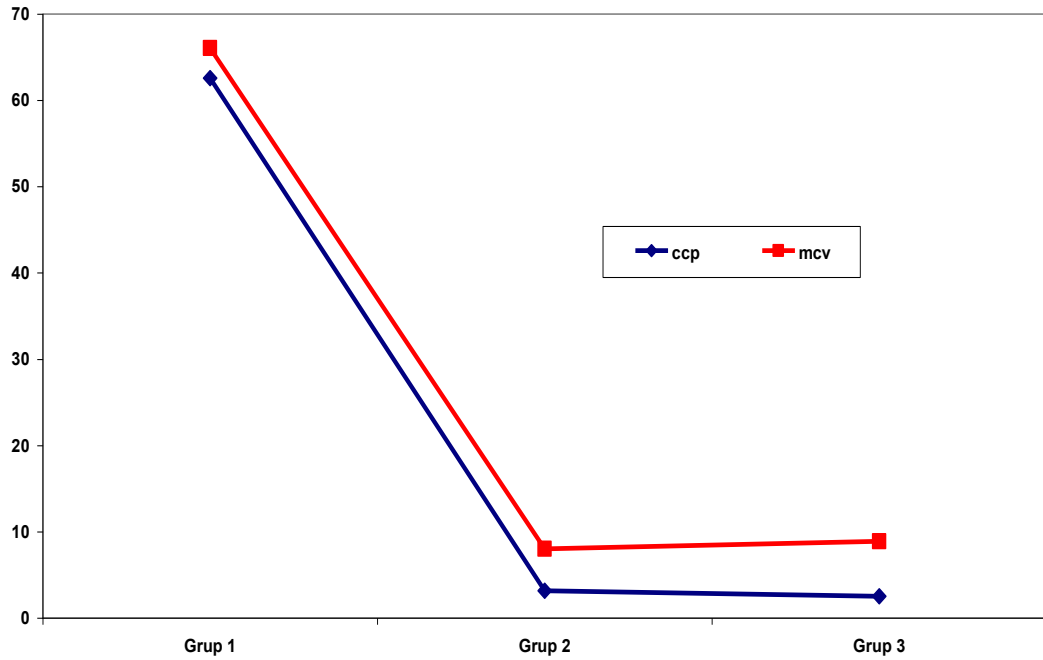
RA grubunda ölçülen sabah tutukluğu ortalama süresi 1,1 saat; standart sapması 0,6 saat; minimum 0,4saat; maksimum 2,5saat olarak bulundu. Hastalık süresi ortalaması 4,1 yıl; standart sapması 2,7yıl; minimum 1yıl ; maksimum 12 yıl olarak bulundu.

**Tablo 6 Anti-CCP, MCP-1 ve Anti-MCV bulgularının gruplara göre dağılımı**

	R.A (n=35)		A.S (n=25)		Kontrol (n=20)		P
	Ort	SD	Ort	SD	Ort	SD	
Anti-CCP(u/ml)	62,6	93,5	3,2	1,2	2,5	1,2	<b>0,000**</b>
MCP-1(pg/ml)	382,7	208,7	284,5	105,0	328,8	104,8	0,125
Anti-MCV(u/ml)	66,1	175,9	8,0	2,1	8,9	3,4	<b>0,010**</b>

**\*\*p<0,01**

Romatoid artrit grubunda Anti-CCP ve Anti-MCV değeri ortalaması Ankilozan spondilit ve sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. (p<0,01).



**Şekil 4 Anti-CCP ve Anti-MCV değerlerinin gruplara göre dağılımı**

**Tablo 7 RF, CRP, ESH, Hb, Plt ve lökosit bulgularının gruplara göre dağılımı**

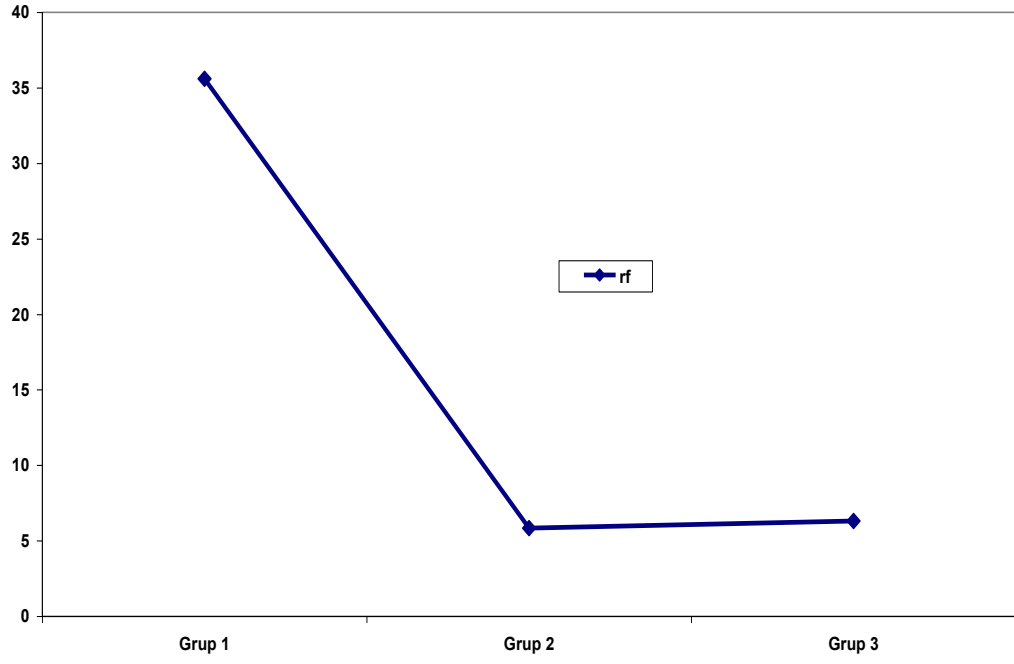
	Grup 1 (n=35)		Grup 2 (n=25)		Grup 3 (n=20)		P
	Ort	SD	Ort	SD	Ort	SD	
RF(iu/ml)	35,6	70,7	5,8	4,5	6,3	4,7	<b>0,000**</b>
CRP(mg/L)	1,9	3,1	0,9	0,7	0,6	0,5	<b>0,015*</b>
ESH(mm/h)	28,1	16,2	27,9	16,2	17,1	10,5	<b>0,022*</b>
Hb(g/dl)	13,3	1,7	12,8	1,4	12,8	1,8	0,399
Plt(/uL)	278114	70060	288720	84191	275150	77257	0,811
Lokosit(/uL)	8694	3045	7632	1789	10265	10928	0,332

\*p<0,05 \*\*p<0,01

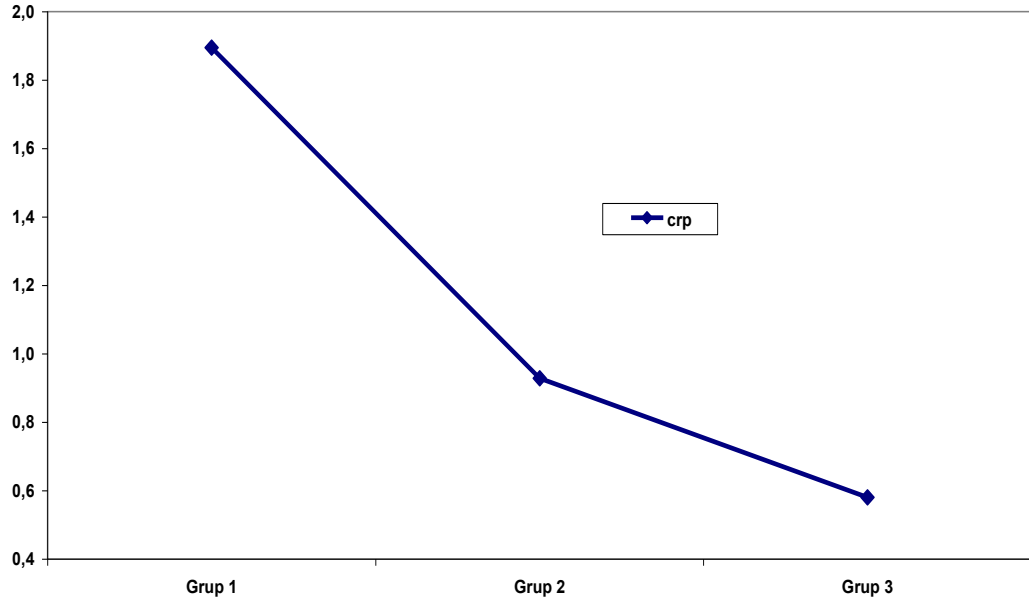
Romatoid artrit grubunun RF değeri ortalaması Ankilozan spondilit ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. (p<0,01).

Romatoid Artrit grubunun CRP değeri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. (p<0,05).

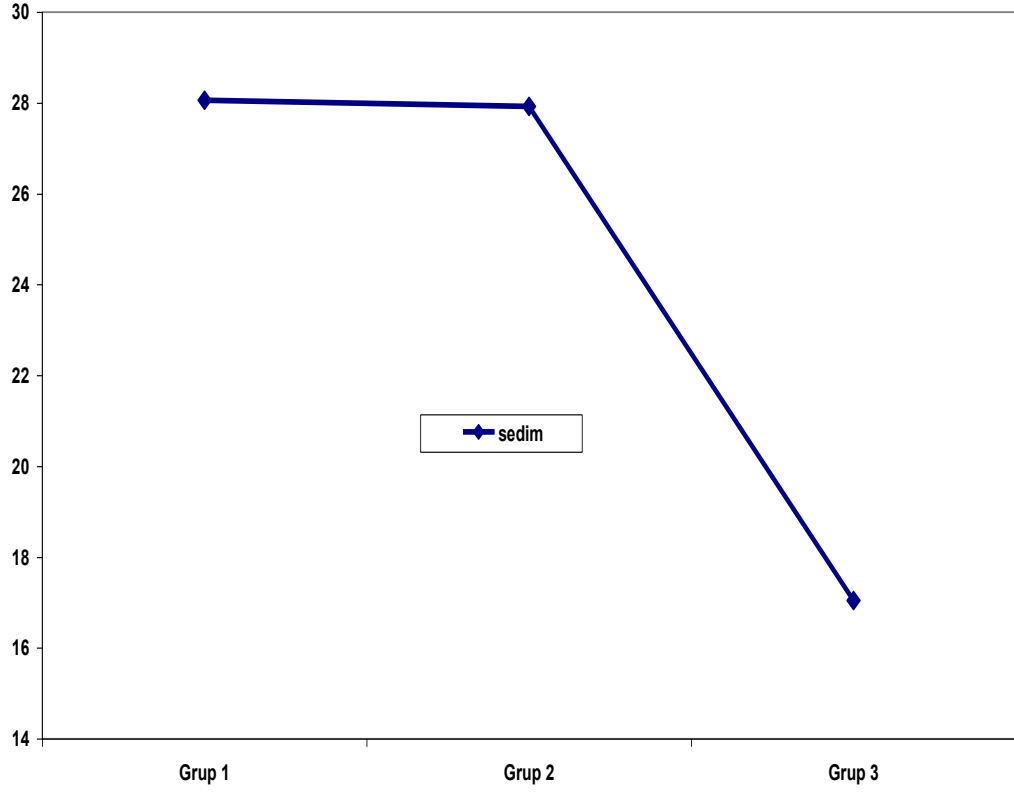
Romatoid Artrit grubunun sedimantasyon hızı değeri ortalaması Ankilozan spondilit ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. (p<0,05).



**Şekil 5 RF değerlerinin gruplara göre dağılımı**



**Şekil 6 CRP değerlerinin gruplara göre dağılımı**



**Şekil 7 ESH değerlerinin gruplara göre dağılımı**

**Tablo 8 Anti-CCP, MCP-1 ve Anti-MCV ile değişkenlerin ilişkilerine ilişkin bulgular**

		Anti-CCP		MCP-1		Anti-MCV	
		r	p	r	p	r	P
Grup1(RA)	Sabah tutukluğu	0,84	<b>0,000**</b>	-0,08	0,653	0,04	0,816
	Hastalık süresi	0,71	<b>0,000**</b>	0,14	0,416	-0,09	0,608
	RF	0,53	<b>0,000**</b>	0,23	0,044	0,23	<b>0,037*</b>
	CRP	0,37	<b>0,001**</b>	-0,06	0,627	0,09	0,418
	ESH	0,33	<b>0,003**</b>	0,00	0,984	0,15	0,186
	Hb	-0,10	0,368	0,13	0,248	-0,18	0,115
	Plt	0,02	0,840	0,04	0,742	-0,02	0,891
	Lökosit	0,01	0,951	0,04	0,713	-0,03	0,786
Grup2(AS)	RF	0,04	0,859	0,31	0,128	0,02	0,924
	CRP	0,36	0,078	0,02	0,930	-0,49	<b>0,014*</b>
	ESH	0,22	0,295	-0,03	0,894	0,01	0,960
	Hb	-0,13	0,541	0,21	0,324	-0,08	0,704
	Plt	0,25	0,232	0,18	0,391	-0,06	0,759
	Lökosit	0,12	0,566	0,00	0,997	-0,41	0,042
Grup3(sağlıklı)	RF	0,38	0,095	0,30	0,198	-0,05	0,833
	CRP	-0,04	0,871	0,01	0,959	0,39	0,093
	ESH	-0,09	0,706	-0,01	0,957	0,05	0,844
	Hb	-0,08	0,744	-0,05	0,845	-0,01	0,965
	Plt	-0,33	0,158	-0,06	0,796	-0,11	0,638
	Lökosit	-0,20	0,391	-0,10	0,689	0,14	0,543

\*p<0,05 \*\*p<0,01

Romatoid Artrit grubunda sabah tutukluğu ile Anti-CCP arasında %84 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. (<0,01).

Romatoid Artrit grubunda hastalık süresi ile Anti-CCP arasında %71 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. (<0,01).

Romatoid Artrit grubunda RF ile Anti-CCP arasında %53 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. (<0,01).

Romatoid Artrit grubunda CRP ile Anti-CCP arasında %37 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. (<0,01).

Romatoid Artrit grubunda ESH ile Anti-CCP arasında %33 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. (<0,01).



Romatoid Artrit grubunda RF ile Anti-MCV arasında %23 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $<0,05$ ).

Ankilozan Spondilit Grubunda CRP ile Anti-MCV arasında %49 düzeyinde negatif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $<0,05$ ).

**Tablo 9 Ölçümlerin cinsiyete göre dağılımı**

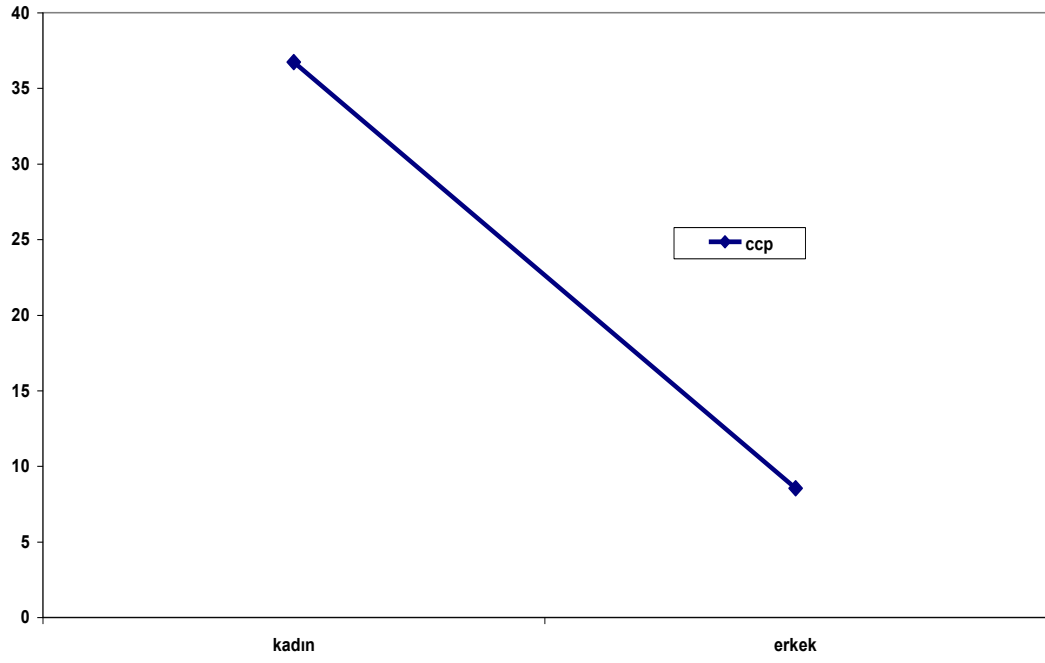
	Cinsiyet	N	Ort	Ss	p
Sabah tutukluğu(saat)	kadın	25	1,2	0,6	0,131
	erkek	10	0,9	0,6	
Hastalık süresi(yıl)	kadın	25	4,4	2,5	0,067
	erkek	10	3,2	3,2	
Anti-CCP(u/ml)	erkek	22	8,5	20,9	<b>0,022*</b>
	kadın	58	337,7	174,6	
MCP-1(pg/ml)	erkek	22	340,7	130,6	0,714
	kadın	58	39,0	136,4	
Anti-MCV(u/ml)	erkek	22	19,4	49,0	0,204
	kadın	58	16,5	29,4	
RF(IU/ml)	erkek	22	25,4	81,0	0,721
	kadın	58	1,4	2,5	
CRP(mg/l)	erkek	22	0,9	0,8	0,665
	kadın	58	27,6	14,5	
ESH(mm/h)	erkek	22	19,1	16,7	<b>0,007**</b>
	kadın	58	12,4	1,3	
Hb(g/dl)	erkek	22	14,7	1,1	<b>0,000**</b>
	kadın	58	288897	76168	
Plt(/uL)	erkek	22	259045	71701	0,156
	kadın	58	8795	6716	
Lökosit(/uL)	erkek	22	8650	2820	0,454

\* $p<0,05$  \*\* $p<0,01$

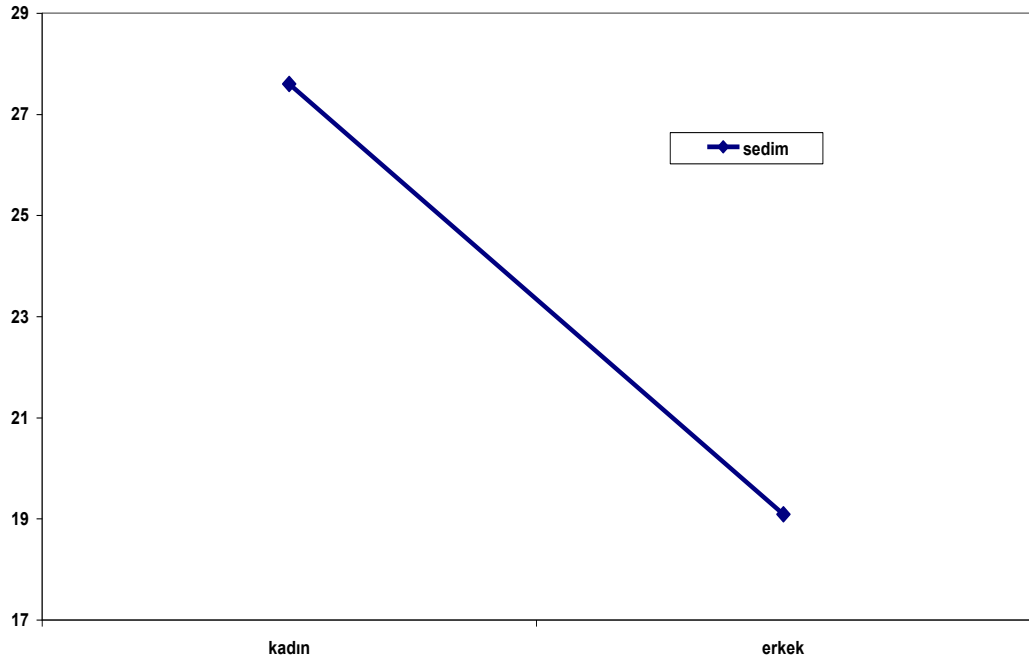
Kadınların Anti-CCP değeri ortalaması, anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,05$ ).

Kadınların ESH değeri ortalaması, anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,01$ ).

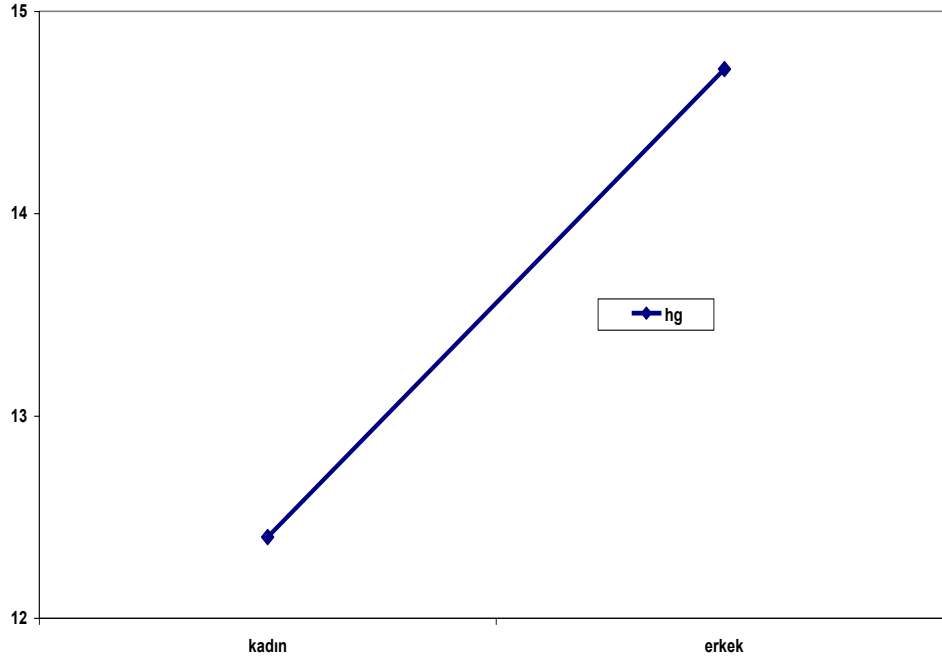
Erkeklerin Hb değeri ortalaması, anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,01$ ).



Şekil 8 Anti-CCP değerlerinin cinsiyete göre dağılımı



Şekil 9 ESH değerlerinin cinsiyete göre dağılımı



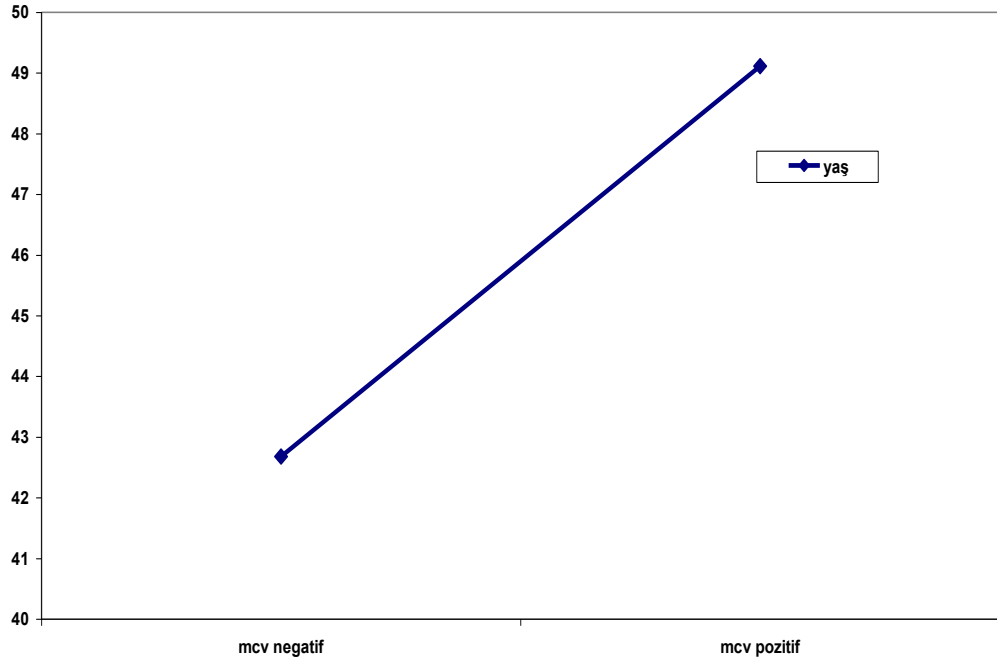
Şekil 10 Hb değerlerinin cinsiyete göre dağılımı

**Tablo 10 Ölçümlerin yaş ile karşılaştırılması**

	Yaş		p
	Ort	Ss	
Anti-CCP negatif	43,1	9,2	0,517
Anti-CCP pozitif	44,5	8,9	
Anti-MCV negatif	42,7	9,1	<b>0,041*</b>
Anti-MCV pozitif	49,1	7,0	

\*p<0,05

Tüm tanılarda Anti-MCV pozitif olanların yaşları anlamlı olarak yüksek bulundu.



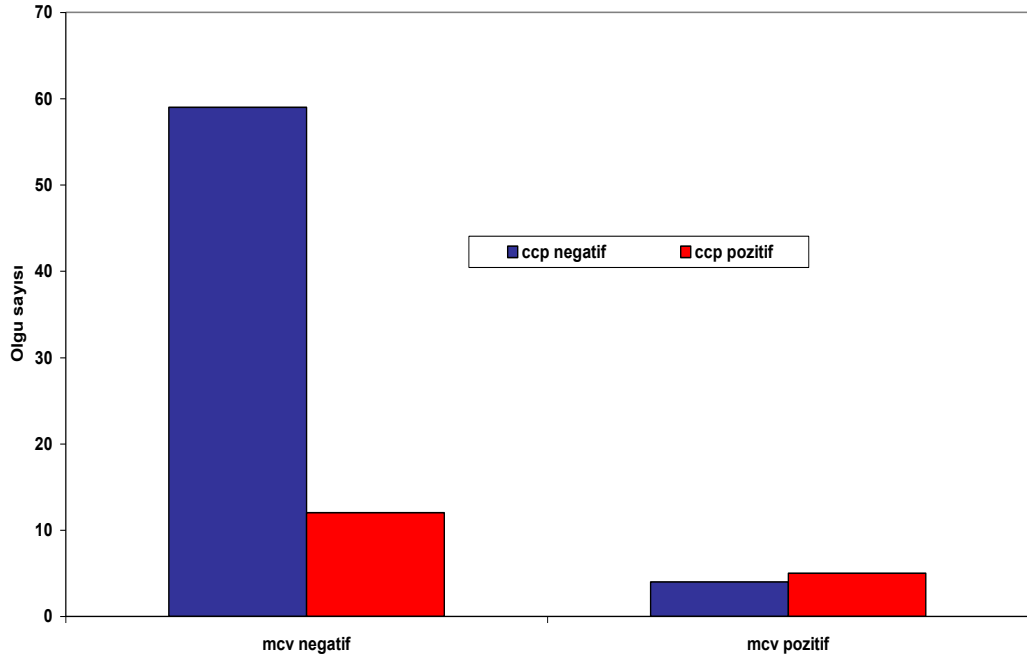
Şekil 11 Anti-MCV pozitif ve negatif hastaların yaş dağılımı

Tablo 11 Anti-CCP ile Anti-MCV ölçümlerinin karşılaştırılması

Anti-CCP	Anti-MCV		Toplam	p
	Anti-MCV negatif	Anti-MCV pozitif		
Anti-CCP negatif	59	4	63	
Anti-CCP pozitif	12	5	17	<b>0,018*</b>
<b>Toplam</b>	<b>71</b>	<b>9</b>	<b>80</b>	

\*p<0,05

Tüm tanılarda Anti-CCP negatif olan olgularda, Anti-MCV'de anlamlı olarak negatif bulundu.



**Şekil 12 Anti-CCP ile Anti-MCV ölçümlerinin karşılaştırılması**

**Tablo 12 Anti-CCP için duyarlılık ve özgüllük**

	Tanı		Toplam
	RA	AS ve kontrol	
Anti-CCP pozitif	17	0	17
Anti-CCP negatif	18	45	63
<b>Toplam</b>	<b>35</b>	<b>45</b>	<b>80</b>

Duyarlılık=17/35=%48,5

Özgüllük = 45/45=%100

**Tablo 13 Anti-MCV için duyarlılık ve özgüllük**

	Tanı		Toplam
	RA	AS ve kontrol	
Anti-MCV pozitif	9	0	9
Anti-MCV negatif	26	45	71
<b>Toplam</b>	<b>35</b>	<b>45</b>	<b>80</b>

$$\text{Duyarlılık} = 9/35 = \%25,7$$

$$\text{Özgüllük} = 45/45 = \%100$$

**Tablo 14 Anti-CCP ve RF için duyarlılık ve özgüllük**

	RF		Toplam
	RF pozitif	RF negatif	
Anti-CCP pozitif	11	6	17
Anti-CCP negatif	0	63	17
<b>Toplam</b>	<b>11</b>	<b>69</b>	<b>80</b>

$$\text{Duyarlılık} = 11/11 = \%100$$

$$\text{Özgüllük} = 63/69 = \%91,3$$

**Tablo 15 Anti-MCV ve RF için duyarlılık ve özgüllük**

	RF		Toplam
	RF pozitif	RF negatif	
Anti-MCV pozitif	4	5	9
Anti-MCV negatif	7	64	71
<b>Toplam</b>	<b>11</b>	<b>69</b>	<b>80</b>

$$\text{Duyarlılık} = 4/11 = \%36,4$$

$$\text{Özgüllük} = 64/69 = \%92,7$$

**Tablo 16 Anti-CCP ve Anti-MCV için duyarlılık ve özgüllük**

	MCV		Toplam
	MCV pozitif	MCV negatif	
Anti-CCP pozitif	5	12	17
Anti-CCP negatif	4	59	63
Toplam	9	71	80

$$\text{Duyarlılık} = 5/9 = \%55,5$$

$$\text{Özgüllük} = 59/71 = \%83$$

## V. TARTIŞMA

Romatoid artrit morbiditesi ve oluşturmuş olduğu kalıcı hasar nedeniyle kişinin yaşam kalitesini bozmakta, gerek iş gücü kaybı gerek artan tedavi maliyeti nedeniyle ekonomik zararlara yol açmaktadır. Kronik otoimmün, sistemik bir hastalık olan RA toplumda yaklaşık %1'e yakın oranda görülmesi nedeniyle en sık görülen otoimmün hastalıklardandır. Hastalık heterojen bir seyir gösterip bazı hastalarda daha kötü prognozlu ve destüktif bir tutulumla seyretmektedir. Bu durumda hastalığın hem erken tanısı hem de tedavisi önem kazanmaktadır. Hastalığın erken döneminde, RA tanısı koymak ise oldukça zordur. Doğru tanıya ulaşmada geç kalınmasının nedenleri; az sayıda eklem tutulumu, asimetrik tutulum, intermittan artralji yakınmaları, sadece konstitüsyonel yakınmaların bulunması ve RF negatifliği gibi RA için tipik olmayan bulgularla başlayabilmesi olarak sıralanabilir. Romatoid artrit tanısını kolaylaştırmak ve bir standarda bağlamak amacıyla 1987 yılında Amerikan Romatizma Derneği (ARA) tarafından belirlenmiş klasifikasyon kriterleri günümüzde sık olarak kullanılmaktadır. Ancak hastalığın erken tanısı ve prognoz açısından önemli serolojik testlere ihtiyaç vardır. Son zamanlarda Siklik peptid içeren sitrulin antikoları (anti-cyclic citrullinated peptide) RA tanısı için yeni ve RF'den çok daha spesifik bir parametre olarak bildirilmektedir. CCP'ye karşı oluşan antikolar, RA için %97 oranında spesifiktir. Hastaların %79'unda hastalığın erken aşamasında tespit edilebilir. Bu antikolar sitrulin içeren sentetik peptidlerin geliştirilmesi sayesinde ELİSA yöntemiyle kolayca tespit edilebilmektedir(3). Anti-MCV de vimentine karşı gelişmiş bir otoantikordur. Anti-MCV düzeyinin Romatoid artrit tanısında ve prognozu belirlemede RF ile kombine edilmesi veya RF ve Anti-CCP'nin tek başına kullanımına göre bir hayli faydalı bulunmuştur(4). Monosit kemoatraktan protein-1(MCP-1), ise endotel hücreleri fibroblastlar, monositler, T hücreleri ve pek çok hücre tarafından salınan ve inflamatuvar yanıtı düzenleyen bir kemokindir. ELİSA yöntemi ile



saptanabilen bu kemokin, RA hastalarında hastalık semptomları belirgin hale gelmeden önce kanda yüksek düzeyde saptanabilmektedir (5).

Biz bu çalışmamızda, Romatoid artrit hastaları ile Ankilozan spondilit hastaları ve sağlıklı gönüllülerde Anti-CCP, Anti-MCV ve MCP-1 düzeylerini inceleyerek bu testler ile RA arasındaki ilişkiyi saptamayı, bu sonuçların ışığında RA'nın erken tanı ve tedavisini amaçladık.

Çalışmaya ARA kriterlerini karşılayan 35 RA hastası ile 25 AS ve 20 sağlıklı kontrol grubu alındı. 35 RA hastasının 25'i kadın 10'u erkekti. Kadın / erkek oranı 2.5 idi ve bu literatürdeki 3 / 1 – 4 / 1 oranları ile uyumluydu.

Çalışmamızda klinik belirteç olarak kullanmış olduğumuz sabah tutukluğu RA tanı ve remisyon kriterleri arasında yer alan bir tanımlama olmakla birlikte, mümkün olduğunca objektif hale getirilebilmek için, maksimal iyilik haline kadar geçen süre olarak tanımlanmıştır (99). 1987 yılından beri ACR tarafından RA tanısında kullanılan yedi kriterden birisi olarak kabul edilen sabah tutukluğu hastanın ifadesine göre belirlenmektedir. Sabah tutukluğu ile hastalık şiddeti arasında, diğer klinik ve laboratuvar bulgular arasındaki gibi pozitif korelasyon olduğunu bildiren çalışmalar vardır (100,101). Buna karşılık bu ilişkinin olmadığını ya da zayıf olduğunu bildiren araştırmalar da mevcuttur (102,103). "Sabah tutukluğu" kavramı hastaya iyi açıklansa dahi, sonuçta hasta tarafından belirlenip ifade edilen bir değerlendirmedir. Bu nedenle hekimi yanlış yönlendirebilme olasılığı olabilen bir değerlendirme yöntemi olarak düşünülebilir. Yukarıdaki çalışmaların birbirinden farklı görünen sonuçları da belki kısmen böyle açıklanabilir.

Bizim çalışmamızda ise sabah tutukluğu süresi ortalama 1,1 saat; standart sapması 0,6 saat; minimum 0,4 saat; maksimum 2,5 saat olarak bulundu. Romatoid artritli hasta grubunda sabah tutukluğu ile Anti-CCP arasında %84 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu (<0,01).

Eritrosit sedimentasyon hızı ve CRP değerleri pek çok çalışmada RA'da hastalık aktivitesini doğru olarak yansıtan iki laboratuvar ölçüm

yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmaların hepsinde bu iki değerin, özellikle de CRP'nin hastalık aktivitesini çok doğru bir biçimde yansıttığı bildirilmiştir (66). Çalışmamızda RA hasta grubunun CRP değeri ortalaması kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ). Romatoid artritli hasta grubunda sedim değeri ortalaması ankilozan spondilit ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ).

Mallya ve arkadaşları 1982 yılında klasik ve kesin RA'lı 99 hastada ESH ve serum CRP değerleri ile RA'nın subjektif, yarı objektif ve objektif kriterleri arasındaki ilişkiyi incelemişler ve objektif kriterler ile hem ESH hem de CRP değerleri arasında güçlü korelasyon olduğunu, sabah tutukluğunu da kapsayan subjektif ve yarı objektif kriterler ile ise CRP'nin ESH'ye oranla daha güçlü ilişki gösterdiğini bildirmişlerdir (65).

Pawlick ve arkadaşları N-asetiltransferaz 2 polimorfizminin hastalık şiddetindeki rolünü sorguladıkları çalışmalarında, hastalık aktivitesi ile sabah tutukluğunun pozitif yönde korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (100). Aynı şekilde Sarzi-Puttini ve arkadaşları da, yeni başlangıçlı RA'da subjektif kabul ettikleri ağrı ile hastalığın fiziksel yetersizlik, sabah tutukluğunu da kapsayan klinik özellikleri ve radyolojik değerlendirilmesi ile korelasyonunu araştırdıkları çalışmalarında, sabah tutukluğunun hastalığın şiddetini gösteren diğer parametreler ve bu arada ağrı ile de güçlü bir korelasyonunun olduğunu göstermişlerdir (101).

Wolfe ve Pincus, RA'lı hastaların takip ve değerlendirmesinde kolay uygulanabilir bir takip formu geliştirebilmek amacıyla dizayn ettikleri çalışmalarında, sabah tutukluğunun hastalık şiddetini göstermek açısından ESH ve CRP ölçümlerinin de yer aldığı diğer parametrelere oranla zayıf bir korelasyona sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir (102).

Romatoid artrit erken tanısına yönelik serolojik testlerle ilgili literatürde pek çok çalışma yapılmış olup çalışmalar sitriline karşı gelişmiş otoantikolar üzerinde yoğunlaşmıştır.

Son zamanlarda vimentinin sitrullenmiş formu olarak tanımlanan, aslen plasental doku kalıntısı olan Anti-Sa; filaggrin / siklik sitrulin peptid (CCP) otoantijen ailesinin içerisinde yer almaktadır. Hueber ve ark. yaptığı çalışmada, RA'da anti-Sa antikorlarının sensitivite ve spesifitesini belirlemek hedeflenmiştir. Altmışyedi RA hastası, 180 diğer romatizmal hastalık tanıları olan hastalar ve 30 sağlıklı kontrolün serumlarında anti-Sa antikor, RF ve anti- RA33 düzeyleri çalışılmıştır. Altmışyedi RA hastasının 31'inde erken RA tanısı vardır, hastalık süreleri 3 aydan kısadır. RA hastalarının 21'inde (%31), 180 kontrol hastasının sadece 4'ünde anti-Sa pozitif bulunmuş; anti- Sa antikorumun RA için spesifitesi yaklaşık %98 olarak hesaplanmıştır. Anti-Sa pozitifliği, ne RF ile, ne de anti-RA33 ile ilişkili bulunmamıştır. Anti-RA33 antikoru, 21 RA'li serumda pozitif bulunmuştur ki, bunlardan sadece 8'i aynı zamanda anti-Sa içermektedir. Böylece, 34 RA serumu (%51) her iki otoantikordan birini içermektedir ve daha da önemlisi, bu serumların 18'inde RF negatiftir. Üstelik, erken RA'li 31 hastanın 12'sinde (%40) anti-Sa ve /veya anti-RA33 pozitif çıkmıştır. Bu çalışmada her ne kadar örnek sayısı az olsa da, anti-Sa antikorumun RA için yüksek spesifite gösteren umut verici bir serolojik test olduğu düşünülmüştür (103).

Başka bir çalışmada anti-Sa antikor sensitivite ve spesifitesi değişik hasta gruplarında test edilmiştir. 489 hasta serumu çalışmaya alınmıştır. Bu serumlardan 154'ü RA'lı hastalara aittir. Kontrol grubu olarak ise RA dışı inflamatuvar eklem hastalığı olan hastalardan alınan 335 serum kullanılmıştır. Bütün örneklerde anti-Sa antikor, RF, anti-keratin antikor (AKA), antiperinükleer antikor (APF) ve anti-RA33 antikorlarına bakılmıştır. Anti-Sa, tüm RA'li serumların %39.8'inde, uzun süreli RA grubunun %46.7'sinde ve yeni başlangıçlı RA grubunun %23.5'inde saptanmıştır ( $p < 0.01$ ). Uzun süreli hastalığı olan grup için, destrüktif hastalığı olanlarda anti-Sa pozitif çıkma oranı daha yüksekken (%66.6), destrüktif olmayan grupta daha düşüktür (%22.2). Romatoid Artritin diğer serolojik testleriyle karşılaştırıldığında, anti-Sa'nın sensitif olduğu (%68.4) ve ayrıca

hepsinden daha yüksek spesifite (%79), pozitif prediktif değer (%75) ve negatif prediktif değerlere (%71) sahip olduğu gözlenmiştir ve hastalarda geç dönemde ciddi radyolojik hasar oluşturup, oluşturmayacağını ayırt edebileceği belirtilmiştir. Sonuç olarak, anti-Sa IgG'nin ciddi radyolojik hasarlı RA hastaları için sensitif bir serolojik test olduğu belirtilmiştir (104).

Değişik romatizmal hastalık tanısı olan 482 hastanın serumlarının incelendiği çalışma sonucunda anti-Sa antikorlarının spesifitesi %98.9, pozitif prediktif değeri %96.7, negatif prediktif değeri %69.8 bulunmuştur. Sa antijeni önceden RA tanısı almış olan tüm hastaların serumlarında saptanmıştır. Sonuçta, anti-Sa RA için yüksek spesifite gösteren yeni bir serolojik markerdir. RF'ten bağımsız olarak bulunabilir, dolayısıyla tanı için ek bir fayda sağlayabilir (105).

Prospektif bir çalışmada RF, anti-siklik sitriline peptid antikorları (anti CCP) ve anti-RA33 antikorları incelenmiştir. Erken inflamatuvar eklem hastalığı olan (3 aydan kısa) 200 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastalardan 102'sinde RA, kalanlarda diğer inflamatuvar eklem hastalıkları gelişmiştir. RF değerinin 50 U/ml ve üzerinde olduğu durumlarda, anti- CCP ve anti-RA33 antikorlarının ek bir tanısasal katkısı olmadığı saptanmıştır. RF değeri 50 ve yüksek olanlarda RF ve anti-CCP benzer bir sensitivite ve RA için yüksek bir spesifite göstermiştir. Anti-RA33 daha az spesifiktir ve RF ve anti- CCP ile korele değildir. RA'li hastaların %72'si bu üç otoantikordan en az birisini göstermiştir; bu oran RA olmayanlarda %15 dir. RF'ün 50 ve üzerinde olması ve anti-CCP pozitifliği, eroziv hastalığın belirteciyken, anti-RA33 hafif hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Erken inflamatuvar eklem hastalığında, kötü prognozlu RA hastalarının belirlenmesinde basamaklı antikor tayininin hassas ve efektif bir yöntem olduğu ileri sürülmüştür. Bunun için RF ile başlamak, RF 50'nin altında olanlarda anti-CCP antikoru, ve en sonunda da anti-RA33 antikorlarına bakmak önerilmiştir (106).

Bizim alışmamızda RF 35 RA hastasının 11'inde pozitif saptanmış, ankilozan spondilit ve sağlıklı kontrol grubunda ise RF pozitif hasta

saptanmamıştır. RF için duyarlılık %31, özgüllük ise %100 olarak hesaplanmıştır. Romatoid artrit dışında pekçok otoimmün hastalıklarda ve ve normal populasyonda da belli oranlarda saptanabilen RF için özgüllüğün yüksek çıkmasının nedeni çalışmamızda hasta sayısının azlığı olabilir. Anti-CCP ise 35 RA hastasının 17'sinde pozitif saptanmış, ankilozan spondilit ve sağlıklı kontrollerde pozitif saptanmamıştır. Duyarlılık %48 , özgüllük %100 saptanmıştır. Anti-CCP, RF ile birlikte değerlendirildiğinde ise duyarlılık %100 , özgüllük % 91 saptanmıştır. Özgüllüğün düşmesi RA hastalarımızda seropozitif olan hastaların daha az olmasından kaynaklanabilir.

Cordonnier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada erken RA'nın serolojik profilini belirlemek ve AKA, APF, anti-RA33 antikor ve antinükleer antikorun (ANA) tanıda ek faydaları olup olmadığını saptamak amaçlanmıştır. Romatoid Artrit tanısı düşündüren 69 erken poliartritli hasta çalışmaya alınmış, değişik aralıklarla 24 ay sonra RF dahil tüm otoantikor düzeylerine bakılmıştır. 24 aylık takipten sonra, hastalar RA (n=49), sınıflandırılmayan poliartrit (n=15) ve diğer romatolojik hastalıklar olarak sınıflandırılmıştır. Erken RA'li hastalarda bakılan testlerin sensitivitesi RF için % 40.8, AKA için %36.7, APF için %28.6 ve anti-RA33 için %28.6 bulunmuştur. RF negatif RA hastalarında %51.7 oranında AKA, APF, anti-RA33 ve / veya ANA pozitif saptanmıştır. AKA, APF ve anti-RA33 pozitifliği tüm takip boyunca devam ederken; tedavi alan erken dönem RA hastalarının %58'inde zamanla RF negatifleşmiştir. İstatistiksel analizlerde erken RA için sadece RF ve AKA'nın (veya APF) bağımsız ve istatistiksel olarak anlamlı parametreler olduğu sonucuna varılmıştır. RF ve AKA (veya APF) düzeylerinin şüpheli erken RA olgularının tanısında bir arada kullanılması önerilmiştir (107).

Erken artritli olan hastalardan toplanan 47 serum anti-RA33 açısından incelenmiş; takip eden 8- 14 ay içinde hastalara kesin tanı konmuştur. Buna ek olarak, 4 aydan uzun süredir sınıflanamayan artritli

olan ve anti-RA33 pozitif olan 7 hasta 2 yıl kadar takip edilmiştir. Başlangıçta 47 hastanın 4'ünde anti-RA33 pozitifdir, zamanla 14 hasta RA tanısı almıştır; bu 4 hastada tanı alan gruptadır. RA tanısı almayan hastaların hiçbirinde anti-RA33 pozitif değildir. Başlangıçta anti-RA33 pozitif olan 7 hastanın takiplerinde, bunların tümünün 3 yıl içinde RA tanısı aldığı gözlenmiştir. Sonuçta, anti-RA33 erken RA'yi diğer artritlerden ayırt etmede faydalıdır. Bu antikorun ayırt etme özelliğinin RF' ten daha iyi, ve onu tamamlayıcı olduğu düşünülmüştür (108).

2004 yılında yapılan bir çalışmada RF, Anti-CCP ve paylaşılmış epitopun RA için tanısallığı incelenmiş, ayrıca bunların radyolojik ilerleme ve eklem dışı tutulum ile birlikteliği araştırılmıştır. Sonuçta anti-sitrüline antikorların sensitivitesi RF'ye göre yüksek bulunmuştur. Otoantikor pozitifliği ve paylaşılmış epitop pozitifliği kötü radyolojik prognozu göstermiştir. Eklem dışı tutulum RF pozitifliği ile birliktelik gösterirken, anti-CCP antikor ile birliktelik saptanmamıştır (109).

Sibilia ve arkadaşlarının bugüne kadar çalışılan antikorlardan sadece anti-Sa antikorlarının gerçek tanısal ve prognostik değeri olduğunu belirtmekte ve diğerleri ile daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildirmektedirler (110).

Van Boekel ve arkadaşlarının sitriline antijenlere karşı oluşan antikorların, RA için en fazla tanısal ve prognostik değeri olduğunu belirtmişlerdir (111).

2006 yılında yapılmış bir çalışmada, anti mannoz-bağlayıcı lectin (anti-MBL) otoantikorlarının varlığı 107 RA hastası ve 121 kontrol serumunda incelenmiş, RA hastalarında bu antikorun sensitivite oranı %60.75, spesifite oranı % 98.35 bulunmuştur. Anti-MBL otoantikorlarının RA'te tanısal değeri olabileceği, ancak ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (112).

Günümüzde, kalpastatine karşı oluşmuş otoantikorlar (ACAST) RA'lı hastaların serumlarında tespit edilmeye başlanmıştır. ACAST'ın prevalansını ve klinik anlamını tespit etmek amacıyla yapılan çalışmaya

RA'lı hastalar, sağlıklı kontroller ve RA dışı romatizmal hastalığı olan hastalar alınmıştır. RA için sensitivitesi % 19.5 bulunan ACAST, aynı zamanda lupus ve sjögren hastalarında da pozitif bulunmuştur. ACAST klinik, biyokimyasal veya radyolojik bulgularla ilişkili bulunmamıştır. Sonuçta, ACAST sınırlı miktarda bağ dokusu hastalığında tespit edilmiştir; lupus veya primer sjögren sendromu ile ilişkili diğer otoantikörlerin negatif olduğu durumlarda ancak RA için spesifik olabileceği belirtilmiştir. Erken RA'te, özellikle de seronegatif formlarında, mevcut olması nedeniyle, ACAST'ın yeni başlangıçlı RA hastalarını, diğer RA dışı romatizmal hastalıklardan ayırt etmede kullanılabileceği belirtilmiştir (113).

Mezenşimal hücreler ve makrofajlar içinde bulunan bir ara filaman olan vimentin, sinovyum ve fibroblast benzeri sinovyositlerde de bulunabilir. İnvivo olarak sitrülünemez, fakat makrofajların apoptozisi sonucu meydana gelebilir. Anti-CMV antikörler, RA hastalarında apoptotik materyalin yetersiz temizlenmesi sonucu ortaya çıkabilir.

Christian Dejaco ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada RA tanısı için yeni geliştirilmiş bir ELİSA yöntemi ile genetik olarak modifiye edilmiş sitrülünmüş vimentin düzeyi ile ELİSA ile bakılan Anti-CCP düzeylerini karşılaştırmış. Çalışmaya 631 hasta serumu alınıp, tüm serumlarda Anti-CCP ve Anti-MCV çalışılmış. Anti-MCV için cut-off değeri 20 U / ml alındığında 170 hastanın değeri pozitif saptanmış (%26.9), Anti-CCP için cut-off değeri 10 U / ml alındığında 137 hastanın testi pozitif saptanmış (%21.7). Anti-MCV için 20.0 U / ml, 19 U / ml ve 81.5 U / ml olmak üzere 3 farklı cut-off değeri kullanılmış. Cut-off değeri 19.0 U / ml alındığında her iki testin duyarlılığı aynı saptanırken Anti-MCV'nin özgüllüğü düşük saptanmış. Karşıt olarak cut-off değeri 81.5 U / ml alındığında özgüllük olarak benzer değerler elde edilirken, duyarlılık ise Anti-CCP'e göre daha düşük olduğu saptanmış. Anti-MCV için cut-off değeri 20, anti-CCP için cutoff 10 alındığında RA için her iki testin duyarlılığı %63.5 bulunmuştur. Anti-MCV'nin özgüllüğü(91.5), anti-CCP'den (98.7) daha düşük saptanmıştır (114).

J.Ursum ve arkadaşları 162 erken artritli hastada (123'ü RA, 39 tanımlanamamış artrit) hastalık aktivitesi ile anti-MCV arasındaki bağlantıyı araştırmışlar. Anti-MCV için cut-off değeri 20 U / ml kullanılmış ve özgüllük %92.3 duyarlılık %59.3 olarak bulmuşlardır. Anti-MCV pozitif erken artrit hastasında negatif olanlara göre daha yüksek eritrosit sedimentasyon hızı ve CRP düzeyine sahip olduklarını saptamışlardır (4).

Bizim çalışmamızda, 35 RA hastasının 9'unda Anti-MCV pozitif saptandı. Duyarlılık % 25 Özgüllük %100 saptandı. RF ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %36, özgüllük %92 saptandı. Anti-CCP ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %55, özgüllük %83 saptandı.

Bir kemokin olan MCP-1, RA için potansiyel bir hedefdir (95). MCP-1 düzeyi RA hastalarında periferik kanda, sinovyal sıvıda ve sinovyal dokuda yükselir ve T lenfositlerinin ve özellikle monosit / makrofajların migrasyonu için ana mediatör olur. Bu hücrelerin doğrudan sinovitin başlangıcı ve devamına sonuçta RA hastasında eklem destriksiyonuna neden olduğu düşünüldü (96). MCP-1 lökosit migrasyonunda anahtar rol oynar ve kronik inflamuar hastalıkların tedavisinde potansiyel hedefdir (95).

MCP-1'in tanısal amaçlı kullanımının incelendiği Rantapaa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, RA hastalarının hastalığın başlangıcından yıllar önce verdikleri kan örneklerinde MCP-1 dahil olmak üzere inflamasyon araçları incelenmiş. Çalışmada RA'lı olgular hastalık başlangıcından yaklaşık 3 yıl önce seçilen kan bağışçılarında tanımlanmış. Daha önce toplanmış örneklerdeki MCP-1 düzeylerinin Anti-CCP ve IgM-RF pozitif hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olarak bulunmuştur. Dolayısıyla RA gelişiminde lökosit migrasyonu açısından kemotaktik aktivitelerin upregülasyonu erken bir süreç olarak gözükmektedir.

Yapılan çalışmalar sitrülün antijenlerinin RA'nın tanısında, prognozunda ve tedavinin düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğunu ileri sürmektedir. Sitrülün peptidleri ve diğer antijenler RA'nın erken tanısında



ve prognozunun tayininde marker olarak kullanılabilir. Bunlar içerisinde özellikle siklik sitrülin peptidleri, ELISA yöntemiyle kolayca tayin edilebilmesi nedeniyle ön planda yer alır. Spesifikliği, eroziv formu önceden saptayabilme özelliği ve çok erken dönemde RA tanısına imkan vermesi nedeniyle siklik sitrülin peptidlerinin gelecekte RA için başlıca serolojik test olma potansiyeli yüksektir.

Otoantikolar çeşitli otoimmun romatizmal hastalıklarda tanı koydurucu olduğu kantlanmış araçlardır. Bununla birlikte, RA için spesifikliği yüksek bir otoantikor henüz tanımlanmamıştır. Otoimmunit  ve otoantikolar RA gelişiminde önemli olayları yansıtılmaktadır; ancak patogenezi tam olarak anlayabilmek için ve tanısals olarak bu serolojik testlerden faydalanabilmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kadın ve erkeklerden oluşan toplam 35 RA'lı, 25 AS'li hasta ve 20 sağlıklı gönüllüde Anti-CCP, Anti-MCV ve MCP-1 düzeylerini karşılaştırdık. Ayrıca tüm olgularda hemogram, ESH, RF ve CRP bakıldı. Romatoid artrit için hastalık süreleri ve sabah tutukluğu süreleri kayıt altına alındı. Çalışmada varılan sonuçlar şunlardır:

1. Anti-CCP, romatoid artrit hastalarında yüksek oranda saptanmasına rağmen ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllülerde saptanmadı. Anti-CCP'nin romatoid artrit için sensitivitesini %48 spesifitesini %100 olarak saptadık.

2. Anti-MCV'yi ise Anti-CCP'ye göre romatoid artrit hastalarında daha az sıklıkla pozitif saptadık. Anti-MCV 35 romatoid artritli hastanın 9'unda pozitif iken ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllülerde Anti-MCV pozitifliği saptamadık. Anti-MCV'nin romatoid artrit için sensitivitesini %25 spesifitesini %100 olarak saptadık.

3. MCP-1 düzeyi ortalaması romatoid artrit grubunda 382 pg/mL (SD:208,7), ankilozan spondilit grubunda 284,5 pg/mL (SD: 105.0), sağlıklı gönüllülerde 328,8 pg/mL (SD:104,8) olarak saptadık. Gruplar arasında MCP-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık. (p:0.125)

4. Romatoid Faktör 35 RA hastasının 11'inde pozitif saptanırken, ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllülerde pozitif saptanmadı. RF'nin romatoid artrit için sensitivitesi %31 spesifitesini %100 saptadık.

5. Son zamanlarda romatoid artrit tanısında RF'den daha yüksek spesifitesine sahip olmasından dolayı pekçok yazar tarafından ACR'nin 8. kriteri olarak önerilen Anti-CCP'nin RF negatif olan hastalarımızda da önemli oranda pozitif saptanabildiği görüldü. Anti-CCP'nin RF ile birlikte bakıldığında ikisinin de tek başlarına sahip olduklarından daha fazla tanısal potansiyeli olduğunu saptadık.

6. Anti-CCP kadar tanısal değeri olduğu pek çok çalışmada belirtilen Anti-MCV'nin tek başına duyarlılığı % 25, özgüllüğü %100 iken ; RF ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %36, özgüllük %92, Anti-CCP ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %55, özgüllük %83 olduğu saptandı.

7.Çalışmamızda romatoid artritli hasta grubunun CRP değeri ortalaması kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,05$ ). Romatoid artritli hasta grubunda ESH değeri ortalaması ankilozan spondilit ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. ( $p<0,05$ ).

8.Çalışmamızda romatoid artritli hastalar ile ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllüler arasında hemoglobin, trombosit ve lokosit düzeyi ortalamaları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. ( $p:0,399, 0,811, 0,332$ )

9.Romatoid artrit ACR tanı kriterleri arasında olan sabah tutukluğu süreleri ortalama 1,1 saat (SD:0.6) minimum 0,4 saat maximum 2.5 saat olarak saptandı.

10.Romatoid artrit grubunda sabah tutukluğu ile Anti-CCP arasında %84 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $p<0,01$ ). Romatoid artrit grubunda hastalık süresi ile Anti-CCP arasında da %71 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $p<0,01$ ).

11.Romatoid Artrit grubunda Anti-CCP ile RF arasında %53 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $<0,01$ ). Anti-MCV ile RF arasında %23 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $<0,05$ ). Anti-CCP ile CRP arasında %37 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $<0,01$ ). Anti-CCP ile sedimantasyon arasında %33 düzeyinde pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. ( $<0,01$ ).

12. Anti-CCP ve Anti-MCV ile RF arasındaki pozitif ilişki Romatoid artrit etyopatogenezinde otoantikörlerin önemli bir yeri olduğunu desteklemekte ve bir otoantikör sentezleyen bir hastanın başka bir otoantikör sentezleme potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir.

13. Anti-CCP'nin hastalık aktiviteleri ile pozitif yönde anlamlı ilişkilerin olması bu otoantikörleri geliştiren hastalarda romatoid artrit

daha Őiddetli seyredebileceđi ve eroziv eklem hastalıđı geliŐececđini dűŐündürür. Sonuç olarak bu hastalarda temel tedaviye erken baŐlaması önem kazanmaktadır.

## VII. ÖZET

Romatoid artrit hastalarında Anti-CCP, Anti-MCV ve MCP-1 düzeylerinin ankilozan spondilit ve normal populasyonla karşılaştırmak amacıyla 35 romatoid artrit, 25 ankilozan spondilit ve 20 sağlıklı gönüllü çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan gruplar yaş ve cinsiyet açısından benzerdi. ( $p>0,05$ ).

Üç grupta da Anti-CCP, Anti-MCV ve MCP düzeyleri çalışıldı. Romatoid artritli hastalarda sabah tutukluğu ve hastalık süreleri not edildi. Grupların kan örneklerinde hemogram, ESH, RF ve CRP tetkikleri çalışıldı.

Anti-CCP, romatoid artrit hastalarında yüksek oranda saptanmasına rağmen ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllülerde pozitif titrede Anti-CCP saptanmadı. Romatoid artrit için Anti-CCP'nin sensitivitesi %48, spesifitesi %100 olarak hesaplandı. Anti-MCV'yi ise Anti-CCP'ye göre romatoid artrit hastalarında daha az sıklıkla pozitif saptarken ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllülerde Anti-MCV pozitifliği saptamadı. Romatoid artrit için Anti-MCV'nin sensitivitesi %25, spesifitesi %100 olarak hesaplandı.

MCP-1 düzeyi ortalaması RA grubunda 382 pg/mL(SD:208,7) , ankilozan spondilit grubunda 284,5 pg/mL (SD: 105.0), sağlıklı gönüllülerde 328,8 pg/mL(SD:104,8) olarak hesaplandı. Gruplar arasında MCP-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık ( $p:0.125$ ).

Romatoid Faktörden daha yüksek spesifiteye sahip olmasından dolayı pekçok yazar tarafından ACR'nin 8. kriteri olarak önerilen Anti-CCP'nin RF negatif olan hastalarımızda da önemli oranda pozitif saptanabildiği görüldü. Anti-CCP'nin RF ile birlikte bakıldığında ikisinde tek başlarına sahip olduklarından daha fazla tanısal potansiyeli olduğunu saptadık. Anti-CCP kadar tanısal değeri olduğu pek çok çalışmada belirtilen Anti-MCV'nin tek başına duyarlılığı % 25, özgüllüğü %100 iken ;

RF ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %36, özgüllük %92, Anti-CCP ile birlikte kullanıldığında duyarlılık %55, özgüllük %83 olduğu saptandı.

Romatoid artrit ACR tanı kriterleri arasında yer alan sabah tutukluğu süreleri ortalama 1,1 saat (SD:0.6) minimum 0,4 saat maximum 2.5 saat olarak saptandı. Romatoid artrit grubunda Anti-CCP ile sabah tutukluğu, hastalık süreleri, CRP ve ESH değerleri arasında pozitif yönlü anlamlı ilişkiler bulundu.

Anti-CCP ve Anti-MCV ile RF arasındaki pozitif ilişki Romatoid artrit etyopatogenezinde otoantikörlerin önemli bir yeri olduğunu desteklemekte ve bir otoantikör sentezlemiş olan bir hastanın başka bir otoantikör sentezleme potansiyeline de sahip olduğunu düşündürmektedir.

Anti-CCP'nin hastalık aktiviteleri ile pozitif yönde anlamlı ilişkilerin olması bu otoantikörleri geliştiren hastalarda romatoid artrit daha şiddetli seyredebileceği ve eroziv eklem hastalığı gelişeceğini düşündürür. Sonuç olarak bu hastalarda temel tedaviye erken başlaması önem kazanmaktadır.

Bu çalışmamızda; Anti-CCP ve Anti-MCV için duyarlılığın literatüre göre daha düşük saptarken özgüllüğü literatüre benzer olarak yüksek saptadık. MCP-1 düzeylerinde ise romatoid artrit ile ankilozan spondilit ve sağlıklı gönüllüler arasında anlamlı bir fark saptamadık. Bu nedenle bu testlerin tanı ve izlemde kullanımı ile ilgili daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

## VIII. SUMMARY

35 rheumatoid arthritis, 25 ankylosan spondylitis and 20 healthy volunteers were included in the study to compare Anti-CCP, Anti-MCV and MCP-1 levels with ankylosan spondylitis and with normal population. The groups that were included in the study were similar in terms of age and sex. ( $p > 0,05$ )

The Anti-CCP, Anti-MCV and MCP levels were studied in all the three groups. The durations of morning stiffness and illness of patients with rheumatoid arthritis were recorded. ESH, RF and CRP analyses were examined in the blood samples of the groups.

Although it was determined in a high percentage in Anti-CCP rheumatoid arthritis patients, Anti-CCP in positive titre was not determined in Ankylosan spondylitis and in healthy volunteers. The sensitivity of Anti-CCP for rheumatoid arthritis was calculated to be %48 and the specificity was %100. While determining Anti-MCV less often positive comparing with the Anti-CCP in rheumatoid arthritis patients, Anti-MCV positiveness was not determined in ankylosan spondylitis and in healthy volunteers. The sensitivity of Anti-MCV for rheumatoid arthritis was calculated to be %25, and the specificity was %100.

MCP-1 level was determined to be 382 pg/ml (SD:208,7) in rheumatoid arthritis group, 284,5 pg/mL (SD:105.0) in ankylosan spondylitis group and 328,8 pg/mL (SD:104,8) in healthy volunteers. Among the groups no statistically meaningful difference was determined. ( $p: 0.125$ )

It was detected that Anti-CCP which is held as the 8. criterium of ACR by a lot of writers because it has a higher specificity than RF, can be determined significantly positive in patients with RF negative. We determined that Anti-CCP and RF, together, have a higher diagnostic potential than that they have individually. Having %25 sensitivity and %100 specificity on it's own, Anti-CCP, which has been stated, in a lot of study, to have as much diagnostic value as Anti-CCP, was determined to

have %36 sensitivity and %92 specificity when used with RF, %55 sensitivity and %83 specificity when used with Anti-CCP.

Morning stiffness duration which is one of the diagnostic criteria of rheumatoid arthritis was determined to be , on average 1,1 hour (SD:0.6), minimally 0,4 hour and maximumly 2,5 hours. In the rheumatoid arthritis group; positive, meaningful relations were determined between morning stiffness and Anti-CCP, durations of illness, CRP and sedimentation values.

The positive relation between Anti-CCP , Anti-MCV and RF supports the fact that autoantibodies take a significant place in the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis and makes us think that a patient who synthesizes an autoantibody is capable of synthesizing another autoantibody.

The fact that there exist positive meaningful relations between ACP and illness activities makes us think that rheumatoid arthritis may progress more severely and in the patients who develop these autoantibodies and that they may develop erosive joint disease. Consequently, it becomes important that basic treatment should betimes be applied to these patients.

In this study, we determining sensitivity of Anti-CCP and Anti-MCV less according to the literature, we determined the specificity high , similarly to the literature. As for MCP- 1 levels, we did not determine any meaningful difference between the patient with rheumatoid arthritis or ankylosan spondylitis and the healthy volunteers. Therefore, it is needed that studies on bigger scales should be realised regarding the utilisation of these tests in diagnosis and monitoring.



## VIII. KAYNAKLAR

1-Schellekens GA, de Jong BA, Van den Hoogen FH, van de Putte LB, van verooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. J. Clin Invest 1998;101:273-281.

2-Nakamura R.M. Progress in the Use of Biochemical and Markers for Evaluation of Rheumatoid Arthritis. J. Clin Lab. Anal. 2002;14:305-313

3- Van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venroo WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. Arthritis Res. 2002;4:87-93

4-Keskin, Goksal; Inal, Ali; Keskin, Dilek; Pekel, Aysel; Baysal, Ozan; Dizer, Ufuk; Sengul, Ali. Diagnostic Utility of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide and Anti-Modified Citrullinated Vimentin Antibodies in Rheumatoid Arthritis. Protein and Peptide Letters, Volume 15, Number 3, March 2008, pp. 314-317

5- Rantapaa-Dahlqvist S, Boman K, Tarkowski A, Hallmans G. Up regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in anti-citrulline antibody and immunoglobulin M rheumatoid factor positive subjects precedes onset of inflammatory response and development of overt rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2007 Jan;66(1):121-3

6-Çalgüneri M. Romatoid Artrit. İn: Yasavul Ü Editör. Hacettepe İç Hastalıkları Kitabı Ankara: Prestij Basımevi; 2003. p.1477-1495

7-Lipsky PE. Rheumatoid Arthritis. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. New York: McGraw-Hill; 2005. p. 1968-1977

8-Hellmann DB, Stone JH. Rheumatoid Arthritis. In: Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA editors. Current Medical Diagnosis & Treatment. New York: McGraw-Hill; 2005. p.801-807

9-Storey GO, Comer M, Scott DL. Chronic arthritis before 1876: early British cases suggesting rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1994;53:557-560

10-Rolleston H, Bart C. Rheumatoid Arthritis; Its Causation and Treatment. Can Med Assoc J.1925;15(9): 889–896

11-Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis Rheum 1988;31:315-324

12-Heath CW Jr, Fortin PR. Epidemiologic studies of rheumatoid arthritis: future directions. J Rheumatol Suppl 1992;32:74-76

13-Guillemain F, Briancon S, Klein JM, Sauleau E, Paurel J. Low incidence of rheumatoid arthritis in France. Scand J Rheumatol 1994;23:264-8

14-Wordsworth P Kevin P: Rheumatoid Arthritis - etiology In: Klippel J, Dieppe P: Rheumatology, Mosby, St Louis, 1994; 3: 8. 1-8

15-Symmons DP, Barrett EM, Bankhead CR, Scott DG, Silman AJ. The incidence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: results from the Norfolk Arthritis Register. Br J Rheumatol 1994;33:735-9

16-Gabriel SE, Crowson CS, O'Fallon WM. Mortality in rheumatoid arthritis: have we made an impact in 4 decates? J Rheumatol 1999;26:2529-33

17-Firestein G.S. (çeviren) Seçkin B. Başaran P. Romatoid artrit etyoloji ve patogenezi. Kelley Romatoloji. Arasıl T (çeviri editörü) . Ankara, Güneş kitabevi, 2006; 65:996-1042

18-Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, Holligan S, Carthy D, Farhan A, et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis:results from a nationwide study. Br J Rheumatol 1993;32:903-7

19-Nepom GT, Byers P, Seyfried C, Healey LA, Wilske KR, Stage D,et al. HLA genes associated with rheumatoid arthritis. Identification of susceptibility alleles using specific oligonucleotide probes. Arthritis Rheum 1989;32:15-21

20-Liepsky P.E.(çeviren) Sayarlıoğlu M. Romatoid artrit, Fauci A.S. Harrison Romatoloji. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul , 2007; 5:85-104

21- Jasper J. Danielle M. Randomized Controlled Trial With an Anti-CCL2 (Anti-Monocyte Chemotactic Protein 1) Monoclonal Antibody in Patients With Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 2006;54:2387-2392

22-Ergin S. Romatoid Artrit ve Sjögren Sendromu. Beyazova M, Gökçe-Kutsal Y (eds). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Cilt 2. Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2000; 1549-1576.

23-Gültekin D. Romatoid artritli hastalarda ACCP düzeyleri(tez). İstanbul, Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2005:3-32

24-Öncel S, Peker Ö, Göğüş F. Romatoid Artritte Etiyopatogenez, Klinik ve Laboratuar Bulgular. Göksoy T (ed). Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi Yüce reklam/yayım/dağıtım a.ş. İstanbul, 2002;422-431,436-449.

25-Balandraud N, Roudier J, Roudier C. Epstein- Barr virus and rheumatoid arthritis. Autoimmun Rev.2004 Jul;3(5):362-367

26-Shmerling RH. Origin and utility of measurement of rheumatoid factors. In Rose B, Schur PH, editors. UpToDate. Waltham(MA): UpToDate.2006

27-Reichlin M. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies. In: Rose B, Schur PH, editors. UpToDate. Waltham(MA): UpToDate.2006

28-Matthews N, Emery P, Pilling D, Aakbar A, Salmon M: Subpopulations of primed T helper cells in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1993; 36: 603.

29-Wollheim FA, Eberhardt KB, Johnosn U, Saxne T: HLA DRB1\* typing and cartilage oligomeric matrix protein (COMP) as predictors of joint destruction in recent onset rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol 1997; 36: 847-849.

30-Meyer O, Combe B, Elias A, Benali K, Clot J, Sany J, Eliaou JF: Autoantibodies predicting the outcome of rheumatoid arthiritis: evaluation

in two subsets of patients according to severity of radiographic damage.  
Ann Rheum Dis 1997;56:682-5

31-Reveille JD, Alarcon GS, Fowler SE, Pillemer SR, Neuner R, Clegg DO et al: HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis. The MIRA Trial Group. Minocycline in Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum. 1996; 39:1802-7

32-Combe B, Eliaou JF, Daures JP, Meyer O, Clot J, Sany J: Prognostic factors in rheumatoid arthritis. Comparative study of two subsets of patients according to severity of articular damage. Br J Rheumatol 1995; 34: 529-34.

33- Sack U, Kinner R, Marx T, Hept P, Bender S, Emmrich F. Interleukin-6 in synovial fluid is closely associated with chronic synovitis in rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 1993;13:45-51.

34- John D Issacs, Larry W Moreland (eds). Romatoid artrit 1.Baskı, ANDDanışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Ltd.Şti. İstanbul, 2003.

35-Fuchs HA, Sergent JS. Rheumatoid arthritis : the clinical picture. In: Koopman WJ, editor. Arthritis and allied conditions. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997.

36-Komusi T, Munro T, Harth M. Radiologic review: the rheumatoid cervical spine. Semin Arthritis Rheum 1985; 14: 187-195

37-Duncan AG, Hasting DE. Clinical features of early progressive and late disease in Rheumatology edited by Klippel JH, Dieppe PA, Mosby-Wolfepp:5.3.1.14,1998.

38. Ertenli İ (ed). Prospect Tıp Dergisi. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. 2003;5:3.
- 39-Staikova ND, Kuzmanova SI, Solakov PT. Serologic markers of early rheumatoid arthritis. Folia Med (Plovdiv). 2003; 45(3): 35-42.
- 40-Steiner G, Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. Arthritis Res. 2002; 4 Suppl 2: S1-5.
- 41- Vossenaar ER., van Venroij WJ. Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. Clinical and APP. Immunology Reviews 4 (2004): 239-262
42. Chen PP. Fong S. Carson DA. Rheumatoid factor. Rheum Dis Clin N Am 1987;13:545-568.
43. Barland P, Lipstein E. Selection and use of laboratory tests in the rheumatic diseases. Am J Med 1996;24(3):525-538.
44. Aho K. Palusuo T. Kurki P. Marker antibodies of rheumatoid arthritis: diagnostic and pathogenetic implications. Semin Arthritis Rheum 1994;23:379-387.
45. Haris ED Jr. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Kelly W. Haris ED Jr. Ruddy SI, Sledge CBeditors. Textbook of rheumatology, Vol. 1,4th ed.Philadelphia: W.B. Saunders; 1993,Chap.51, p 833-868.
46. Weyand Cm, Goronzy JJ. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. Med Clin N Am 1997;81:29-55.

47. Smolen LS: Autoantibodies in rheumatoid arthritis. In manual of Biological Markers of Disease. Edited by van Venrooij WJ & Maini RN. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1996: section C1.1,1-18.
48. Dorner RW. Alexander RL Jr. Moore Rheumatoid factors. Clin Chem Acta 1987;167:1-21.
49. Valdimarsson H, Jonsson T. Predictive value of rheumatoid factor isotypes for radiological progrein patients with rheumatoid arthritis (letter;comment). Scand J rheumatol 1996;25(3):189-190.
50. Houssien DA, Jonsson T, Davies E, Scott DL. Rheumatoid factor isotypes, disease activity and the outcome of rheumatoid arthritis.Scand J Rheumatol 1998;27:46-53.
51. Jonsson T. Steinsson K, Jonsson H, Geirsson A.Thorsteinsson J. Valdimarsson H. Combined elevation of IgM and IgA rheumatoid factor has high diagnostic specificity for rheumatoid arthritis. Scand J Immunol 1996;43:739.
52. Jonsson T. Steinsson K, Jonsson H, Geirsson AJ, Thorsteinsson J, Valdimarsson H. Combined elevation of IgM and IgA rheumatoid factor has high diagnostic specificity for rheumatoid arthritis. Rheum Int 1998;18 (3):119-122.
53. Thompson PW. Carr A. What about IgA rheumatoid factor in rheumatoid arthritis? Ann Rheum Dis 1998;57:63-64.
54. Jonsson T. Thorsteinsson H, Arinbjarnarson S, Thorsteinsson J, Valdimarsson H. Clinical implications of IgA rheumatoid factor subclasses. Ann Rheum Dis 1995;54:578-581.

55. Carson DA. Rheumatoid factor. In: Kelly W, Harris ED Jr, Ruddy SI, Sledge CB. Editors. Textbook of rheumatology. Vol. 1.4 th ed. Philadelphia: W.B. Saunders: 1993,Chap.&,p 155-163.

56. Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey KJ, Cooper M. Cryoglobulinemia; a clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. Am J Med 1966;40:837-856.

57. Scott DE, Bacon TA, Allen C, Elson CJ, Wallington T. IgG rheumatoid factor, complement and immune complexes in rheumatoid synovitis. And vasculitis: comparative and serial studies during cytotoxic therapy. Clin Exp Immunol 1981;43:54-63.

58. Kroot EJA, de Jong BAW, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FHJ, van't Hof M, van de Putte LBA, van Rijswijk MH, van Venrooij WJ, van Riel PLCM. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2000;43:1831-1835.

59- Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, Simon M, Senu T, Mason-Bessiere C, Jolivet-Reynaud C, Jolivet M, Serre G. The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated anti-flaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. J Immunol 1999;162:585-594.

60-Cordonnier C, Meyer O, Palazzo E, De Bandt M, Elias A, Nicaise P, Haim T, Kahn M.F, and Chatellier G. Diagnostic Value Of Anti-Ra33 Antibody, Antikeratin Antibody, Antiperinuclear Factor And Antinuclear



Antibody In Early Rheumatoid Arthritis: Comparison With Rheumatoid Factor. *J. Rheumatology* 1996;35:620-624

61-Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JMW. How to diagnose rheumatoid arthritis early; a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:357-65.

62-Pinals RS, Masi AT, Larsen RA. Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1981; 21: 1308-15.

63. Hazes JM, Hayton R, Burt J, Silman AJ. Consistency of morning stiffness: an analysis of diary data. *J Rheumatol* 1994; 33: 562-5

64. Fuchs AH, Sargent JS. Rheumatoid Arthritis: The Clinical Picture In: Koopman WJ (Ed). *Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology*. Baltimore: Williams&Wilkins, 1997: 1041-70.

65. Mallya RK, De Beer FC, Berry H, Hamilton ED, et al. Correlation of clinical parameters of disease activity in rheumatoid arthritis with serum concentration of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. *J Rheumatol* 1982; 9: 224-8.

66. Otterness IG. The value of C-reactive protein measurement in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1994; 24: 91-104.

8. Blackburn WD. Validity of acute phase proteinase markers of disease activity. *J Rheumatol Suppl* 1994; 42: 9-13

67 Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 2003;25:1106-18.

68. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLADRB1 0401 MHC class II molecule. *J Immunol* 2003;171:538-41.
69. Hammer J, Gallazi F, Bono E, et al. Peptide binding specificity of HLADR4 molecules: correlation with rheumatoid arthritis association. *J Exp Med* 1995;181:1847-55.
70. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, et al. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2000;2:236-43.
71. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Girbal-Neuhauser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, Serre G. The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antFLAGGRIN autoantibodies are deiminated forms of the  $\alpha$  and  $\beta$ -chains of fibrin. *J Immunol* 2001;166:4177-4184.
72. Menard HA, Lapointe E, Rochdi MD, Zhou ZJ. Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system. *Arthritis Res* 2000;2:429-32.
73. Baeten D, Peene I, Union A, et al. Specific presence of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium relevance to antFLAGGRIN autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2001;44:2255-62.
74. Vossenaar ER, Nijenhuis S, Helsen MM, et al. Citrullination of synovial proteins in murine models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:2489-500.

75. Hill JA, Wehrli B, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Citrullinated fibrinogen induces arthritis in HLA-DRB1\*0401 transgenic mice. *Arthritis rheum* 2003;48 Suppl:S348.
76. Suzuki A, Yamada R, Chang X, et al. Functional haplotypes of PAD14, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003;34:395-402.
77. Nienhuis RLF, Mandena EA. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964;23:302–305.
78. Hoet, RM.; Van Venrooij, WJ. The antiperinuclear factor and antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. In *Rheumatoid Arthritis* Edited by Smolen J, Kalden J & Maini RN Berlin: Springer Verlag; 1992.pp. 299–318.
79. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ and Hamblin TJ, Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *BMJ* 2(1979),pp. 97-99.
80. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Mason BC, Girbal E, Durieux JJ et al., The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995;95:2672-2679.
81. Hoet RM and van Venrooij WJ, The antiperinuclear factor (APF) and antikeratin antibodies (AKA) in rheumatoid arthritis. In: Smolen J, Kalden JR and Maini RN, Editors, *Rheumatoid arthritis*, Springer-Verlag, Berlin ,1992,pp. 299-318.

82. Gan SQ, McBride OW, Idler WW, Nedialka M, Steinert PM. Organization, structure, and polymorphisms of the human profilaggrin gene. *Biochemistry* 1990;29:9423-9440.
83. Pearton DJ, Dale BA and Presland RB, Functional analysis of the profilaggrin N terminal peptide: identification of domains that regulate nuclear and cytoplasmic distribution. *J Invest Dermatol* 2002;119:661-669.
84. Resing KA, Al-Alawi N, Blomquist C, Fleckman P and Dale BA, Independent regulation of two cytoplasmic processing stages of the intermediate filament associated protein filaggrin and role of Ca(2+) in the second stage. *J Biol Chem* 1993;268:25139-25145.
85. Mack JW, Steven AC and Steinert PM, The mechanism of interaction of filaggrin with intermediate filaments. The ionic zipper hypothesis. *J Mol Biol* 1993;232:50-66
86. Manabe M, Sanchez M, Sun TT and Dale BA, Interaction of filaggrin with keratin filaments during advanced stages of normal human epidermal differentiation and in ichthyosis vulgaris. *Differentiation* 1991;48:43-50.
87. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, Ruiters DJ and van Venrooij WJ, Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991;50:611-618
88. Simon M, Vincent C, Haftek M, Girbal E, Sebbag M, Gomes-Daudrix et al., The rheumatoid arthritis-associated autoantibodies to filaggrin label the fibrous matrix of the cornified cells but not the profilaggrin-containing

keratohyalin granules in human epidermis. Clin Exp Immunol 1995;100:90-98

89. Hoet RM, Voorsmit RA and Venrooij, The perinuclear factor, a rheumatoid arthritis-specific autoantigen, is not present in keratohyalin granules of cultured buccal mucosa cells. Clin Exp Immunol 1991;84:59-65

90. Yamamoto-Ishida A, Hashimoto Y, Manabe M, O'Guin WM, Dale BA and Lizuka H, Distinctive expression of filaggrin and trichohyalin during various pathways of apithelial differentiation. Br J Dermatol 1997;137:9-16

91. Tarcsa E, N.Marekov LN, Mei G, Melino G, Lee SC and Steinert PM, Protein unfolding by peptidylarginine deiminase. Substrate specificity and structural relationships of the natural substrates trichohyalin and filaggrin. J Biol Chem 271(1996),pp.30709-30716

92. Masson-Bessière C, Sebbag M, Durieux JJ, Norgueira L, Vincent C, Girbal-Neuhauser E, Durroux R, Cantagrel A, Serre G. In the rheumatoid pannus, anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. Clin Exp Immunol 2000;119:544 552

93. Reparón-Schuijt CC, van Esch WJE, van Kooten C, Schellekens GA, de Jong BAW, van Venrooij WJ, Breedveld FC, Verweij CL. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2001;44:41–47

94. Çıtak F, Çıtak E, Karadeniz C, Chemokines and Diseases T Klin J Med Sci 2002, 22:210-216

95. Koch AE. Chemokines and their receptors in rheumatoid arthritis: future targets? *Arthritis Rheum* 2005;52:710–21
96. Haringman JJ, Oostendorp RL, Tak PP. Targeting cellular adhesion molecules, chemokines and chemokine receptors in rheumatoid arthritis. *Expert Opin Emerg Drugs* 2005;10:299–310
97. Gong JH, Ratkay LG, Waterfield JD, Clark-Lewis I. An antagonist of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) inhibits arthritis in the MRL-lpr mouse model. *J Exp Med* 1997;186:131–7
98. Haringman JJ, Kraan MC, Smeets TJ, Zwinderman KH, Tak PP. Chemokine blockade and chronic inflammatory disease: proof of concept in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:715–21
99. Hazes JMW, Hayton R, Silman AJ. A reevaluation of symptom of morning stiffness. *J Rheumatol* 1993; 20: 1138-42
- .
100. Pawlik A, Ostanek L, Brzosko I, Brzosko M, et al. The influence of N-methyltransferase 2 polymorphism on rheumatoid arthritis activity. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 1:99-102
- .
101. Sarzi-Puttini P, Fiorini T, Panni B, Turial M, et al. Correlation of the score for subjective pain with physical disability, clinical and radiographic scores in recent onset rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Dis* 2002; 1: 18-21
- .
102. Terslev L, Torp-Pedersen S, Savnik A, Von der Recke P, et al. Doppler ultrasound and magnetic resonance imaging of synovial inflammation of the hand in rheumatoid arthritis; a comparative study. *Arthritis Rheum* 2003; 9: 2434-41

103. Hueber W, Hassfeld W, Smolen JS, Steiner G. Sensitivity and specificity of anti-Sa autoantibodies for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*.1999; 38(2): 155-9.
104. Hayem G, Chazerain P, Combe B, Elias A, Haim T, Nicaise P, et al. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1999; 26(1): 7-13
105. Després N, Boire G, Lopez-Longo FJ, Ménard HA. The Sa system: a novel antigen- antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1994; 21(6): 1027-33
106. Nell VP, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Heinzl H, Uffmann M, et al. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64(12): 1731-6
107. Cordonnier C, Meyer O, Palazzo E, de Bandt M, Elias A, Nicaise P, et al. Diagnostic value of anti-RA33 antibody, antikeratin antibody, antiperinuclear factor and antinuclear antibody in early rheumatoid arthritis: comparison with rheumatoid factor. *Br J Rheumatol*. 1996; 35(7): 620-4
- .
108. Hassfeld W, Steiner G, Graninger W, Witzmann G, Schweitzer H, Smolen JS. Autoantibody to the nuclear antigen RA33: a marker for early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1993 ; 32(3): 199-203
109. De Rycke L, Peene I, Hoffman IE, Kruithof E, Union A, Meheus L, et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate,

and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis.* 2004 ; 63(12): 1587-93

110. Sibia J. Autoantibodies, diagnostic and prognostic markers of rheumatoid polyarthritis. *Presse Med.* 2000 21; 29(31): 1723-30.

111. Van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res.* 2002; 4(2): 87-93

112. Gupta B, Raghav SK, Agrawal C, Chaturvedi VP, Das RH, Das HR. Anti-MBL autoantibodies in patients with rheumatoid arthritis: prevalence and clinical significance. *J Autoimmun.* 2006; 27(2): 125-33

113. Vittecoq O, Salle V, Jouen-Beades F, Krzanowska K, Ménard JF, Gayet A, et al. Autoantibodies to the 27 C-terminal amino acids of calpastatin are detected in a restricted set of connective tissue diseases and may be useful for diagnosis of rheumatoid arthritis in community cases of very early arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2001; 40(10): 26-34

114. Christian D, Werner K. Diagnostic value of antibodies against a modified citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis *Arthritis Research & Therapy* 2006, 8:R119doi:10.1186/ar2008