



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**NAİF VE AKTİF (ALEVLİ) DÖNEMDEKİ ROMATOİD ARTRİT
HASTALARINDA OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

Sezen YILMAZ SARIALTIN

**FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Tülay ÇOBAN**

**ANKARA
2019**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**NAİF VE AKTİF (ALEVLİ) DÖNEMDEKİ ROMATOİD ARTRİT
HASTALARINDA OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

Sezen YILMAZ SARIALTIN

**FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Tülay ÇOBAN**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
17L0237005 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2019**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Naif ve Aktif (Alevli) Dönemdeki Romatoid Artrit Hastalarında Oksidatif Stres ve İnflamasyon Parametrelerinin İncelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sezen YILMAZ SARIALTIN

Tarih: 2019

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Sezen YILMAZ SARIALTIN tarafından hazırlanan “Naif ve Aktif (Alevli) Dönemdeki Romatoid Artrit Hastalarında Oksidatif Stres ve İnflamasyon Parametrelerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13.06.2019

Prof.Dr. Nurşen BAŞARAN

Hacettepe Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Tülay ÇOBAN

Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Belma KOÇER-GÜMÜŞEL

Lokman Hekim Üniversitesi

Doç. Dr. İlker ATEŞ

Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ

Ankara Üniversitesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	x
Simgeler ve Kısaltmalar	xii
Şekiller	xv
Çizelgeler	xxi
1.GİRİŞ	1
1.1. Romatoid Artrit	1
1.1.1. Tanım	1
1.1.2. Tarihçe	2
1.1.3. Epidemiyoloji	3
1.1.4. Etiyoloji	4
1.1.4.1. Genetik Faktörler	5
1.1.4.1.1. Epigenetik Faktörler	8
1.1.4.2. Cinsiyet	9
1.1.4.3. Çevresel Faktörler	10
1.1.4.3.1. Sigara	11
1.1.4.3.2. Endüstriyel Tozlar	11
1.1.4.3.3. Beslenme	12
1.1.4.3.4. Enfeksiyon Etkenleri ve Bağırsak Mikrobiyotası	12
1.1.4.3.5. Periodontitis	14
1.1.4.4. İmmünolojik Faktörler	14
1.1.4.4.1. Sitokinler	16
1.1.4.4.1.1. IL'ler	23
1.1.4.4.1.1.1. IL-1	23
1.1.4.4.1.1.1.1. IL-1 β	24
1.1.4.4.1.1.1.2. IL-18	25
1.1.4.4.2. İnflamazomlar	26
1.1.4.4.2.1. NLRP3 İnflamazomu	29

1.1.5. Hastalık Tanı Bulguları	32
1.1.5.1. Klinik Bulgular	33
1.1.5.1.1. Eklem Bulguları	33
1.1.5.1.2. Eklem Dışı Bulgular	35
1.1.5.2. Laboratuvar Bulguları	37
1.1.5.3. Radyolojik Bulgular	40
1.1.6. Tedavi	40
1.1.6.1. Farmakoterapi	42
1.1.6.1.1. NSAİİ'ler	45
1.1.6.1.2. Kortikosteroidler	45
1.1.6.1.3. DMARD'lar	46
1.1.6.1.3.1. Sentetik DMARD'lar	48
1.1.6.1.3.1.1. Metotreksat	48
1.1.6.1.3.1.2 Sulfasalazin	49
1.1.6.1.3.1.3. Leflunomid	50
1.1.6.1.3.1.4. Hidroksiklorokin	50
1.1.6.1.3.1.5. Altın Bileşikleri	50
1.1.6.1.3.2. Biyolojik DMARD'lar	51
1.1.6.1.3.2.1. TNF- α İnhibitörleri	51
1.1.6.1.3.2.2. IL-1 Reseptör Antagonistleri	52
1.1.6.1.3.2.3. IL-6 Reseptör Antagonistleri	52
1.1.6.1.3.2.4. T-hücresini Hedef Alanlar	52
1.1.6.1.3.2.5. B-hücresini Hedef Alanlar	53
1.1.6.1.3.2.6. Diğer İmmünmodülatör ve Sitotoksik Ajanlar	53
1.1.7. Mortalite	53
1.2. Konu ile İlgili Çalışmalar	54
1.2.1. Deney Hayvanı Çalışmaları	54
1.2.2. İnsan Çalışmaları	55
2.GEREÇ VE YÖNTEM	60
2.1. Gereç	60
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	60
2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	61

2.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	62
2.1.3.1. Western Blot Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler	62
2.1.3.2. İmmünohistokimya Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler	63
2.1.3.3. Enzime Bağlı İmmünozorban Analiz (ELISA) Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler	63
2.1.3.3.1. NLRP3 Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler	63
2.1.3.3.2. IL-1 β Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler	65
2.1.3.3.3. IL-18 Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler	66
2.1.3.3.4. ROT Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler	67
2.2. Yöntem	68
2.2.1. Çalışma Grubu	68
2.2.1.1. Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri	69
2.2.1.2. Araştırmaya Dahil Olmama Kriterleri	70
2.2.2. Biyolojik Numunelerin Toplanması	70
2.2.3. Biyolojik Numunelerin Hazırlanması	70
2.2.3.1. Biyolojik Numunelerden Plazma İzolasyonu	71
2.2.3.2. Biyolojik Numunelerden Periferik Mononükleer Hücrelerin İzolasyonu	71
2.2.3.3. Periferik Mononükleer Hücrelerden Protein İzolasyonu ve Miktar Tayini	73
2.2.4. Western Blot Yöntemi	74
2.2.5. İmmünohistokimya Yöntemi	79
2.2.6. ELISA Yöntemi	83
2.2.6.1. Plazma NLRP3 Tayini	84
2.2.6.2. Plazma IL-1 β Tayini	85
2.2.6.3. Plazma IL-18 Tayini	87
2.2.6.4. Plazma ROT Tayini	88
2.2.7. İstatistiksel Analiz	90
3. BULGULAR	92
3.1. Çalışma Grubunun Özellikleri	92
3.2. Protein Ekspresyon Yöntemleri Sonuçları	101
3.2.1. Protein Miktar Tayini	101
3.2.2. Western Blot Yöntemi Sonuçları	102

3.2.2.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	108
3.2.2.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	109
3.2.2.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	110
3.2.2.4. Laboratuvar Bulguları ile NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	111
3.2.3. İmmünotokimya Yöntemi Sonuçları	112
3.2.3.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	119
3.2.3.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	120
3.2.3.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi	122
3.2.3.4. Laboratuvar Bulguları ile NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	123
3.3. Plazma NLRP3 Düzeyleri	125
3.3.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma NLRP3 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	127
3.3.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma NLRP3 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	129
3.3.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma NLRP3 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	131
3.3.4. Plazma NLRP3 Düzeylerinin Regresyon Analizleri	132
3.3.5. Plazma NLRP3 Düzeylerinin ROC Analizi	133
3.3.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma NLRP3 Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	134
3.4. Plazma IL-1 β Düzeyleri	135
3.4.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-1 β Düzeylerinin Değerlendirilmesi	137

3.4.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-1 β Düzeylerinin Değerlendirilmesi	139
3.4.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-1 β Düzeylerinin Değerlendirilmesi	140
3.4.4. Plazma IL-1 β Düzeylerinin Regresyon Analizleri	141
3.4.5. Plazma IL-1 β Düzeylerinin ROC Analizi	142
3.4.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma IL-1 β Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	143
3.5. Plazma IL-18 Düzeyleri	145
3.5.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	147
3.5.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	149
3.5.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	150
3.5.4. Plazma IL-18 Düzeylerinin Regresyon Analizleri	152
3.5.5. Plazma IL-18 Düzeylerinin ROC Analizi	152
3.5.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma IL-18 Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	153
3.6. Plazma ROT Düzeyleri	155
3.6.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma ROT Düzeylerinin Değerlendirilmesi	157
3.6.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma ROT Düzeylerinin Değerlendirilmesi	159
3.6.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma ROT Düzeylerinin Değerlendirilmesi	160
3.6.4. Plazma ROT Düzeylerinin Regresyon Analizleri	162
3.6.5. Plazma ROT Düzeylerinin ROC Analizi	162
3.6.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma ROT Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	163
3.7. Protein Ekspresyonları ve Plazma Protein Düzeylerinin Korelasyon Analizleri	164
4. TARTIŞMA	167

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	181
ÖZET	184
SUMMARY	185
KAYNAKLAR	186
EKLER	212
Ek.1. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu	212
ÖZGEÇMİŞ	214



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında romatoid artrit hastalığında NLRP3 inflamazom yolağı bileşenlerinin rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Tez çalışmam esnasında her türlü yardım ve desteğini aldığım çok değerli danışmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. Tülay ÇOBAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini her zaman hissettiğim Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım için bana laboratuvarını açan; bilgilerini ve tecrübelerini aktarmaktan hiç çekinmeyen Kırıkkale Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e, çalışma ekibine ve Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Kliniği Eğitim ve İdari Sorumlusu Sayın Hocam Prof. Dr. Gülçin ŞİMŞEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Bana karşı bilgisini ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışmalarım sırasında hep yardımcı olan, örnek aldığım Sayın Hocam Doç. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çocukluk arkadaşım, yol arkadaşım, çok kıymetli dostum Dr. Ecz. Aylin BALCI'ya ve Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'ndaki arkadaşlarıma ve hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Sevinçlerimi, üzüntülerimi, hayatımı paylaştığım, her zaman yanımda olan çok değerli dostlarım Dr. Ecz. Başak Özlem Perk'e, Dr. Ecz. Derya ÇİÇEK POLAT'a, Uzm. Ecz. Melek KARACAOĞLU'na ve Uzm. Ecz. Nejla YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Bana doğru, dürüst, çalışkan ve iyi insan olmayı öğreten; her zaman destek olan; sahip olduğum her şeyi borçlu olduğum, evladı olmaktan gurur duyduğum Canım Annem, Canım Babam, Birtanecik Kardeşim ve tüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak; her zaman yanımda olan Sevgili Eşim Uzm. Dr. Fırathan SARIALTIN'a ve varlığıyla bana güç veren, hayatımın anlamı Canım Kızım Melisa Dora SARIALTIN'a teşekkürlerimi sunarım.



SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
μ l	Mikrolitre
ml	Mililitre
ng	Nanogram
pg	Pikogram
°C	Santigrat derece
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACPA	Anti-Sitrüline (Sitrülenmiş) Peptid Antikor
ACR	Amerikan Romatoloji Koleji (American College of Rheumatology)
ALT	Alanin Aminotransferaz
ANA	Anti-Nükleer Antikor
ARA	Amerika Romatizma Derneği (American Rheumatism Association)
ASC	Apoptozla İlişkili Speck-benzeri Protein (Apoptosis-associated Speck-like protein Containing a CARD)
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BSA	Bovin Serum Albümin
BT	Bis-Tris Protein
BUN	Kan Üre Azotu (Blood Urea Nitrogen)
CD	Yüzey Farklılaşma Antijeni (Cluster of Differentiation)
CRP	C-Reaktif Protein
CSF	Koloni Stimüle Edici Faktör (Colony-Stimulating Factor)
CTLA4	Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Antijen-4 (The Cytotoxic T-Lymphocyte-associated Antigen 4)
DAB	Diamino Benzidin
DAMP	Hasar-ilişkili Moleküler Kalıp (Damage-associated Molecular Pattern)
DMARD	Hastalık Modifiye Edici Anti-Romatizmal İlaçlar (Disease Modifying Antirheumatic Drug)

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
EAKA	Eğri Altında Kalan Alan
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ELISA	Enzime Bağlı İmmünosorban Yöntem (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)
EMA	Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency)
ESR	Eritrosit Sedimentasyon Hızı (Erythrocyte Sedimentation Rate)
EULAR	Avrupa Romatizma ile Savaş Birliği (European League Against Rheumatism)
GA	Güven Aralığı
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HCl	Hidrojen Klorür
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)
HLA	İnsan Lökosit Antijeni (Human Leukocyte Antigen)
HRP	Horseradish Peroksidaz
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
ILAR	Uluslararası Romatizma ile Savaş Birliği (International League Against Rheumatism)
IPAF	Proteaz Aktive Edici Faktör (Ice Protease Activating Factor)
İp	İntraperitoneal
K	Potasyum
kDa	Kilodalton
L	Litre
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
LDS	Lityum Dodesil Sulfat
LSD	En Küçük Anlamlı Farklar (Least Significant Differences)
MES	Morfolineetan Sulfonik Asit
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleks
NaCl	Sodyum Klorür
n	Sayı (number)
NLRP3	Nod-benzeri Reseptör Proteini-3 (Nod-like Receptor Protein-3)

NOD	Nükleotid Bağlama Oligomerizasyon Alanı (Nucleotide-binding Oligomerization Domain)
NSAİİ	Non-Steroida Anti-inflamatuvar İlaçlar
PAD	Peptidil Arjinin Deaminaz
PAMP	Patojenle İlişkili Moleküler Kalıp (Pathogen-associated Molecular Patterns)
PBS	Fosfat Tampon Tuzu (Phosphate Tampon Saline)
PTPN22	Protein Tirozin Fosfataz Non Reseptör 22
PVDF	Poliviniliden Diflorür
RF	Romatoid Faktör
ROC	Alıcı İşletim Karakteristiği (Receiver Operating Characteristic)
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SEM	Ortalamanın Standart Hatası (Standard Error of Mean)
SS	Standart Sapma
STAT4	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü-4 (Signal Transducer and Activator of Transcription)
TBS	Tris Tampon Tuzu (Tris Tampon Saline)
TGF	Değiştirici büyüme faktörü (Transforming Growth Factor)
Th	Yardımcı T Hücreleri (T helper cells)
TLR	Toll Benzeri Reseptör (Toll Like Receptor)
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ULN	Normalin Üst Sınırı (Upper Limit of Normal)

ŞEKİLLER

Şekil 1. 1. Sağlıklı ve romatoid artritli sinoviyal eklem	1
Şekil 1. 2. Romatoid artrit oluşumu ve hastalığı etkileyen risk faktörleri	5
Şekil 1. 3. Sitokin reseptör ailesi	18
Şekil 1. 4. NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu	30
Şekil 1. 5. Romatoid artrit hastalığına bağlı olarak görülen eklem deformasyonları	34
Şekil 1. 6. Romatoid artrit hastalığında en çok görülen eklem tutulumları	34
Şekil 1. 7. Klinik tanıdan önce RF/ACPA pozitiflik süresi ile romatoid artrit hasta sayısı ilişkisi	39
Şekil 1. 8. Romatoid artrit hastalığında eklemlerin röntgen ve manyetik rezonans görüntüleri	40
Şekil 1. 9. Romatoid artrit hastalığında erken ve geç tedavinin fiziksel fonksiyon üzerine etkisi	41
Şekil 1. 10. Romatoid artrit hastalığında erken tedavinin hastalığın ilerlemesi üzerine etkisi	42
Şekil 1. 11. 1940’lardan günümüze romatoid artrit hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlar	43
Şekil 1. 12. Romatoid artrit hastalığının tedavisinde kullanılan bazı ilaçların etki mekanizması	49
Şekil 2. 1. Fikol üzerinde PBS ile seyreltilmiş kan numunesinin görüntüsü	72
Şekil 2. 2. Santrifüjden sonra kan numunesinin görüntüsü (Periferik mononükleer hücreler bulutsu tabaka içinde yer almaktadır.)	72

Şekil 2. 3. İnkübasyona bırakılan örnek çözeltilerin görüntüsü	74
Şekil 2. 4. SeeBlue plus2 pre-stained standart	75
Şekil 2. 5. SeeBlue plus2 pre-stained standart ve numunelerin uygulandığı dikey jel sistemi	75
Şekil 2. 6. SeeBlue plus2 pre-stained standart ve numunelerin uygulandığı dikey jel sistemi ve güç kaynağı bağlantısı	76
Şekil 2. 7. İbлот® transfer sisteminin açık görüntüsü – 1	77
Şekil 2. 8. İbлот® transfer sisteminin açık görüntüsü - 2	77
Şekil 2. 9. İbлот® transfer sisteminin kapalı görüntüsü	78
Şekil 2. 10. Transfer tamamlandıktan sonra PVDF membran görüntüsü	78
Şekil 2. 11. İmmunositokimya yönetmi için hazırlanmış poly-L-lysine kaplı lamalar ve sitosantrifüj aparatları	80
Şekil 2. 12. Lamlara uyguladığımız sitosantrifüj işlemi	80
Şekil 2. 13. Bloklama çözeltisi uygulanan preparatlar	81
Şekil 2. 14. Primer antikor ile inkübasyona bırakılan preparatlar	82
Şekil 2. 15. Alkol ve ksilol uygulanan preparatlar.	83
Şekil 3. 1. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımları	93
Şekil 3. 2. Kontrol ve hasta gruplarının yaşa karşı cinsiyet dağılımları	94
Şekil 3. 3 Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım durumları	95
Şekil 3. 4. Kontrol ve hasta gruplarının ilaç kullanım durumları	96
Şekil 3. 5. Kontrol ve hasta gruplarının romatoid artrit harici diğer hastalık durumları	97

Şekil 3. 6. Standart protein eğrisi	101
Şekil 3. 7. Kontrol ve hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	102
Şekil 3. 8. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	103
Şekil 3. 9. Remisyon dönemindeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyonları	104
Şekil 3. 10. Aktif dönemdeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyonları	104
Şekil 3. 11. Yeni tanı grubundaki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyonları	104
Şekil 3. 12. Kontrol grubundaki bireylere ait NLRP3 protein ekspresyonları	105
Şekil 3. 13. Remisyon dönemindeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri	106
Şekil 3. 14. Aktif dönemdeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri	106
Şekil 3. 15. Yeni tanı grubundaki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri	107
Şekil 3. 16. Kontrol grubundaki bireylere ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri	107
Şekil 3. 17. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	108
Şekil 3. 18. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	109
Şekil 3. 19. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	110
Şekil 3. 20. Kontrol ve hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	112

Şekil 3. 21. Hasta grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünohistokimyasal pozitif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofafi (X40)	113
Şekil 3. 22. Hasta grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünohistokimyasal pozitif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofafi (X100)	114
Şekil 3. 23. Hasta grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünohistokimyasal negatif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofafi (A. X40 ve B. X100)	115
Şekil 3. 24. Kontrol grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünohistokimyasal negatif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofafi (A. X40 ve B. X100)	116
Şekil 3. 25. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	118
Şekil 3. 26. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	120
Şekil 3. 27. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	121
Şekil 3. 28. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	123
Şekil 3. 29. Kontrol ve hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri	125
Şekil 3. 30. Kontrol ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri	127
Şekil 3. 31. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma NLRP3 düzeyleri	128
Şekil 3. 32. Plazma NLRP3 düzeyleri ile yaş dağılımı korelasyon grafiği	129
Şekil 3. 33. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma NLRP3 düzeyleri	130

Şekil 3. 34. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma NLRP3 düzeyleri	132
Şekil 3. 35. Plazma NLRP3 ROC eğrisi	133
Şekil 3. 36. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri	135
Şekil 3. 37. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri	137
Şekil 3. 38. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma IL-1 β düzeyleri	138
Şekil 3. 39. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-1 β düzeyleri	139
Şekil 3. 40. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-1 β düzeyleri	141
Şekil 3. 41. Plazma IL-1 β ROC eğrisi	142
Şekil 3. 42. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri	145
Şekil 3. 43. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri	147
Şekil 3. 44. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma IL-18 düzeyleri	148
Şekil 3. 45. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-18 düzeyleri	150
Şekil 3. 46. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-18 düzeyleri	151
Şekil 3. 47. Plazma IL-18 ROC eğrisi	153
Şekil 3. 48. Kontrol ve hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri	155

Şekil 3. 49. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri 157

Şekil 3. 50. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma ROT düzeyleri 158

Şekil 3. 51. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma ROT düzeyleri 160

Şekil 3. 52. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma ROT düzeyleri 161

Şekil 3. 53. Plazma ROT ROC eğrisi 163



ÇİZELGELER

Çizelge 1. 1. Romatoid artrit hastalığında etkili gen bölgeleri ve muhtemel mekanizmalar	6
Çizelge 1. 2. Yapılarına göre sitokinler ve görevleri	16
Çizelge 1. 3. Sitokinlerin oluşturdukları immün yanıtı göre sınıflandırılması	18
Çizelge 1. 4. Yapılarına göre sitokin reseptörleri ve örnekleri	19
Çizelge 1. 5. Romatoid artrit hastalığında görev alan mediyatörler ve fonksiyonları	20
Çizelge 1. 6. 2010 ACR/EULAR romatoid artrit kriterleri	32
Çizelge 1. 7. Romatoid artrit hastalığına bağlı olarak gelişen eklem dışı tutulumlar	35
Çizelge 1. 8. Romatoid artrit hastalığında rol oynayan muhtemel mediyatörler ve bu mediyatörlerin inhibisyonunu sağlayan ilaç etken maddeleri	44
Çizelge 1. 9. DMARD'ların sınıflandırılması	47
Çizelge 1. 10. Metotreksat ve diğer DMARD'ların etkinlik oranlarını ve etki başlama süreleri	47
Çizelge 1. 11. Metotreksatın etki mekanizması	48
Çizelge 3. 1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş dağılımları (n=sayı)	92
Çizelge 3. 2. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet dağılımları	93
Çizelge 3. 3. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım durumları	95
Çizelge 3. 4. Kontrol ve hasta gruplarının ilaç kullanım durumları	96
Çizelge 3. 5. Kontrol ve hasta gruplarının romatoid artrit harici diğer hastalık durumları	97

Çizelge 3. 6. Hasta gruplarının romatoid artrit tanı bulguları	98
Çizelge 3. 7. Hasta grubunun diğer laboratuvar bulguları	100
Çizelge 3. 8. Laboratuvar bulguları ile NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri arasındaki korelasyon analizleri sonuçları	111
Çizelge 3. 9. Kontrol ve hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	112
Çizelge 3. 10. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	118
Çizelge 3. 11. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	119
Çizelge 3. 12. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	121
Çizelge 3. 13. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri	122
Çizelge 3. 14. Laboratuvar bulguları ile immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları	124
Çizelge 3. 15. Kontrol ve hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri	125
Çizelge 3. 16. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri	126
Çizelge 3. 17. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma NLRP3 düzeyleri	128
Çizelge 3. 18. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma NLRP3 düzeyleri	130
Çizelge 3. 19. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma NLRP3 düzeyleri	131

Çizelge 3. 20. Plazma NLRP3 düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları	133
Çizelge 3. 21. Laboratuvar bulguları ile plazma NLRP3 düzeyleri ile korelasyon analizleri sonuçları	134
Çizelge 3. 22. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri	135
Çizelge 3. 23. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri	136
Çizelge 3. 24. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma IL-1 β düzeyleri	138
Çizelge 3. 25. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-1 β düzeyleri	139
Çizelge 3. 26. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-1 β düzeyleri	140
Çizelge 3. 27. Plazma IL-1 β düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları	142
Çizelge 3. 28. Laboratuvar bulguları ile plazma IL-1 β düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları	144
Çizelge 3. 29. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri	145
Çizelge 3. 30. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri	146
Çizelge 3. 31. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma IL-18 düzeyleri	148
Çizelge 3. 32. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-18 düzeyleri	149
Çizelge 3. 33. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-18 düzeyleri	151

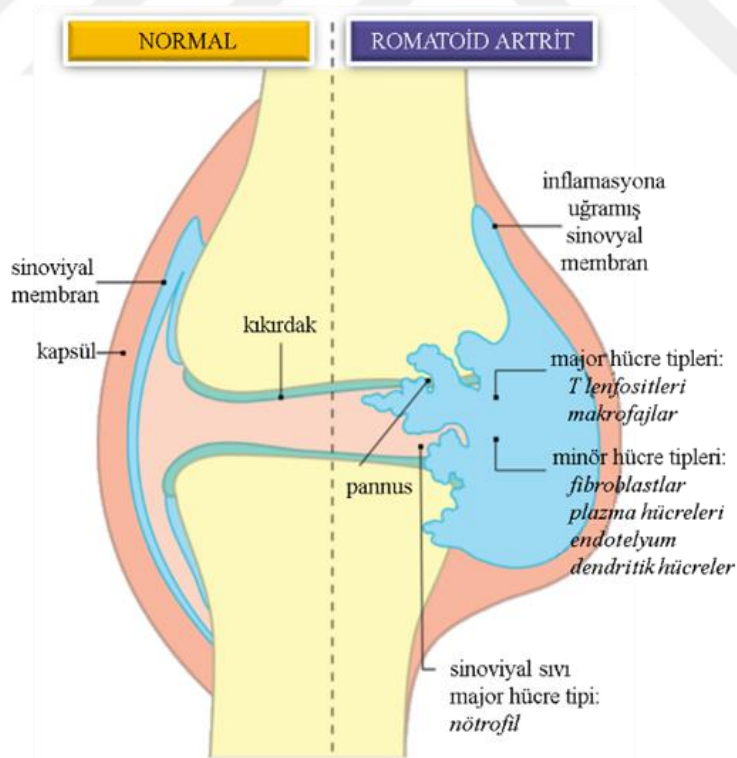
Çizelge 3. 34. Plazma IL-18 düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları	152
Çizelge 3. 35. Laboratuvar bulguları ile plazma IL-18 düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları	154
Çizelge 3. 36. Kontrol ve hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri	155
Çizelge 3. 37. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri	156
Çizelge 3. 38. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma ROT düzeyleri	158
Çizelge 3. 39. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma ROT düzeyleri	159
Çizelge 3. 40. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma ROT düzeyleri	161
Çizelge 3. 41. Plazma ROT düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları	162
Çizelge 3. 42. Laboratuvar bulguları ile plazma ROT düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları	164
Çizelge 3. 43. Western blot yöntemi ile elde edilen NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin diğer bulgularla korelasyon analizleri sonuçları	165
Çizelge 3. 44. İmmünohistokimya yöntemi ile elde edilen NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin diğer bulgularla korelasyon analizleri sonuçları	166
Çizelge 3. 45. Plazma NLRP3 düzeylerinin diğer bulgularla korelasyon analizleri sonuçları	166

1.GİRİŞ

1.1. Romatoid Artrit

1.1.1. Tanım

Romatoid artrit başlıca sinoviyal eklemler olmak üzere çeşitli eklemlerde ağrı, şişkinlik ve geri dönüşümü olmayan hasarlarla karakterize kronik inflamasyona neden olan sistemik otoimmün bir hastalıktır. Romatoid artrit en belirgin özellikleri; sinoviyal inflamasyon nedeniyle oluşan kıkırdak hasarı, kemik erozyonu ve eklem bütünlüğü deformasyonlarıdır (Şekil 1.1) (Emery, 2015).



Şekil 1. 1. Sağlıklı ve romatoid artritli sinoviyal eklem

Tüm dünyada en sık görülen otoimmün hastalık olan romatoid artrit prevalansı yaklaşık % 0.4–1.3’tür (Sacks ve ark., 2010; Silman ve Hochberg, 2001). Genetik ve çevresel faktörlerin hastalığın oluşum ve gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmekle birlikte, etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Aynı zamanda multisistemik bir hastalık olan romatoid artrit; eklemlerin yanı sıra kardiyak, pulmoner, dermal, oküler ve hematolojik tutulumlara neden olarak farklı doku ve organlarda etki göstermektedir (Emery, 2015; Gibofsky, 2012; Moelants ve ark., 2013; Spierings ve van Eden, 2017; Taylor, 2000).

1.1.2. Tarihçe

Romatoid artrit ilk kez 1800’lü yıllarda Fransız doktor Augustin Jacob Landré-Beauvais tarafından yeni bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Landré-Beauvais; şiddetli eklem ağrısı yakınmaları olan, o dönemde bilinen diğer hastalıklarla açıklanamayan patolojiyle seyreden bir grup hastayı tedavi etmiştir (Landré-Beauvais, 2001).

19. yüzyılın ortalarında İngiliz doktor Alfred Garrod ilk kez romatoid artriti guttan ayırmış ve “romatizmal gut” olarak tanımlamıştır. Ancak romatoid artrit ve osteoartriti birbirinden ayıramamış, ikisini tek bir hastalık olarak sınıflandırmıştır. Alfred Garrod'un oğlu Archibald Garrod 1890 yılında romatoid artrit ile ilgili ilk kapsamlı kitabı yazmıştır. Bu kitapta Landré-Beauvais tarafından keşfedilen, sonrasında babası Alfred Garrod tarafından romatizmal gut olarak adlandırılan hastalık için ilk kez “romatoid artrit” terimi kullanılmıştır. 1907 yılında ise ilk kez romatoid artrit ve osteoartrit ayrımı yapılmıştır (Garrod, 1890; Storey, 2001). Romatoid artrit terimi; 1922 yılında İngiliz Sağlık Bakanlığı, 1941 yılında Amerikan Romatizma Derneği (ARA), 1957 yılında ise Uluslararası Romatizma ile Savaş Birliği (ILAR) tarafından kabul edilmiştir (Symmons, 2005).

1.1.3. Epidemiyoloji

Tüm dünyada en sık görülen otoimmün hastalık olan romatoid artrit prevalansı yaklaşık % 0.4–1.3'tür (Sacks ve ark., 2010; Silman ve Hochberg, 2001). T.C. Sağlık Bakanlığı'nın 2011 Sağlık İstatistikleri Yıllığı'na göre 15 yaş ve üzeri hastalık/sağlık sorunu yaşadıklarını belirten bireylerin en çok yakındığı hastalıklar sıralamasında romatoid artrit % 10.9 ile 3. sırada yer almaktadır (kadın: % 14.7, erkek: % 6.9). 2013 Sağlık İstatistikleri Yıllığı'na göre aynı değerlendirme sonuçları incelendiğinde romatoid artrit % 9.1 ile yine 3. sırada olduğu görülmektedir (kadın: % 12.7, erkek: % 5.3). Romatoid artrit görülme sıklığı kentsel alanda yaşayan bireylerde % 7.5 iken (kadın: % 10.7, erkek: % 4.3), kırsal alanda yaşayan bireylerde bu oran % 12.5'e yükselmektedir (kadın: % 16.9, erkek: % 7.7) (T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı, 2013). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nin 2014 yılında yayınladığı rapora göre hekim tarafından teşhis edilen ilk beş hastalık/sağlık sorunlarının dağılımı sıralamasında romatoid artrit; 1. hipertansiyon ve 2. bel bölgesi-kas iskelet sistemi problemlerinden sonra 3. sırada gelmektedir (yaş≥15). Rapora göre popülasyonun % 7.9'unu etkileyen hastalık; kadınlarda % 11.4 oranında görülürken, erkeklerde bu oran % 4.2'ye düşmektedir (TÜİK, 2014).

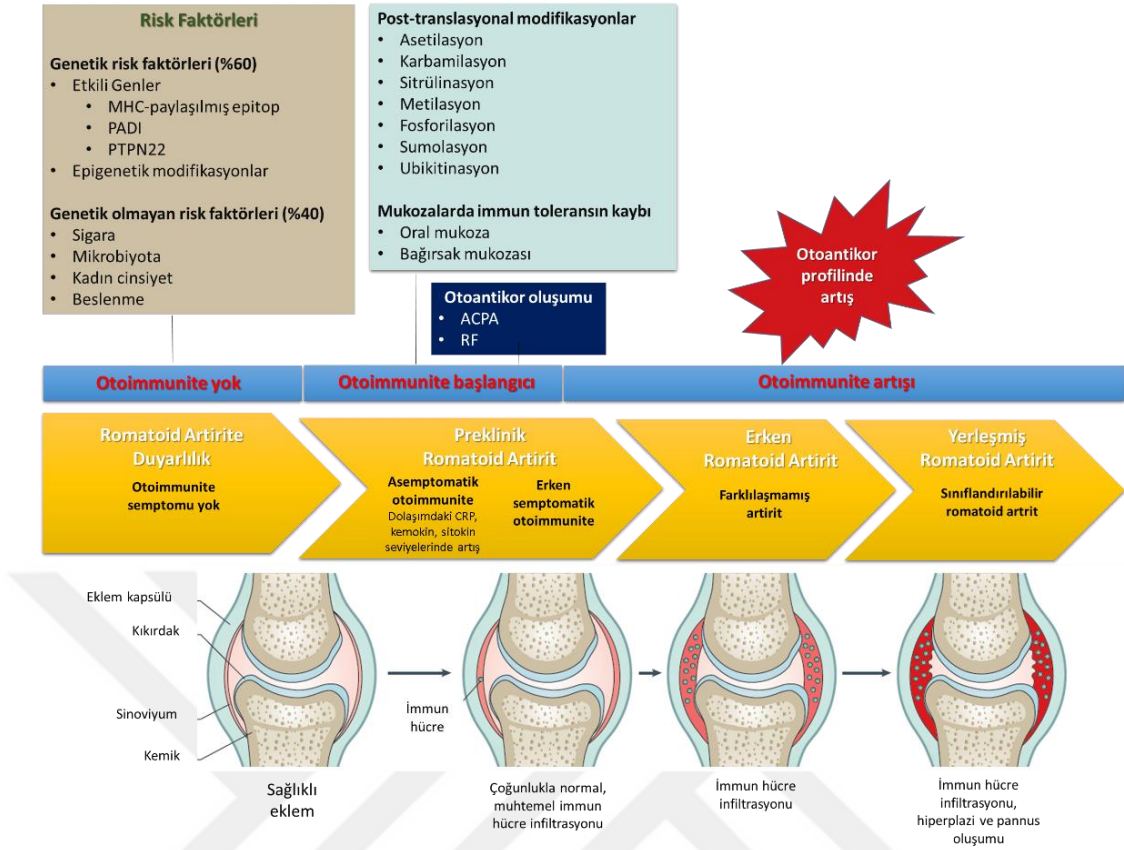
Ulusal Artrit Verileri Çalışma Grubu'nun 2008 yılında yayınladığı rapora göre ise Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde doktorlar tarafından yaklaşık 46.4 milyon kişiye (% 21) artrit teşhisi konmuştur. 2030 yılında bu sayının 67 milyona ulaşması beklenmektedir. Aynı rapora göre romatoid artrit hastalarının sayısı ise yaklaşık 1.3 milyondur (Helmick ve ark., 2008). ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri'nin 2013 yılında yayınladığı raporda ABD'de artrit ve romatizmal hastalıklara yakalanan yaklaşık 52.5 milyon yetişkin (% 23) bulunduğu ifade edilmiştir.

Küresel Sağlık Epidemiyoloji Referans Grubu, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün ayırdığı bölgelerde romatoid artrit prevalansını değerlendirmiştir. Bu meta-analize göre düşük ve orta gelirli ülkelerin yer aldığı bölgelerde hastalık

prevalansı Güneydoğu Asyalılar için %0.40, Doğu Akdenizliler için %0.37, Avrupalılar için %0.62, Amerikalılar için %1.25, Batı Pasifik Bölgeliler için %0.42 bulunmuştur (DSÖ, 2013; Rudan ve ark., 2015). DSÖ'nün 2016 yılında yayınladığı bir başka rapora göre, gelişmiş ülkelerde 10 yıldır romatoid artrit olan hastaların yarısından fazlasının tam zamanlı bir işte çalışamayacak hale geleceği bildirilmiştir (DSÖ, 2018).

1.1.4. Etiyoloji

Romatoid artrit oluşum ve gelişim mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Ancak genetik ve çevresel faktörlerin dahil olduğu birçok etkenin, anormal otoimmün cevabı tetiklemesi ile hastalığın ortaya çıktığı ve ilerlediği düşünülmektedir. Genetik ve çevresel faktörlerin yanı sıra cinsiyet, immünolojik bozukluklar, travmalar, enfeksiyöz etkenler, hormonal değişiklikler, beslenme, stres gibi faktörlerin hastalığın etiyolojisinde rol oynayabileceği bildirilmektedir. Hastalığa yakalanma riskinin % 60'ını genetik faktörlerin, % 40'ını ise diğer faktörlerin oluşturduğu düşünülmektedir (Şekil 1.2) (Hensvold ve ark., 2015; Silman ve Pearson, 2002; Smolen ve ark., 2016; Smolen ve ark., 2018).



Şekil 1. 2. Romatoid artrit oluşumu ve hastalığı etkileyen risk faktörleri

1.1.4.1. Genetik Faktörler

Romatoid artrit oluşum ve gelişiminde genetik faktörlerin etkili olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Monozigot ikizlerde romatoid artrit konkordansının %12-15 olduğu ve bu oranın dizigotlara kıyasla 4 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Silman ve ark., 1993). Seropozitif romatoid artrit hastalarının yaklaşık %40-50, seronegatif romatoid artrit hastalarının ise yaklaşık %20-30'unda ailesel hastalık riskinin arttığı ifade edilmiştir (Frisell ve ark., 2016). Hastalığın patogenezinde etkili olduğu düşünülen birçok gen bölgesi bulunmakta ve muhtemel mekanizmaların aydınlatılabilmesi amacıyla çeşitli çalışmalar yürütülmektedir (Çizelge 1.1) (Deane ve ark., 2017).

Çizelge 1. 1. Romatoid artrit hastalığında etkili gen bölgeleri ve muhtemel mekanizmalar

Genetik Bölge	Muhtemel mekanizma
HLA proteinlerinin kodladığı MHC bölgeleri (ortak epitop)	Sitrüline antijenlerin sunumu İnflamasyonun artmasına yol açan hücre içi etkiler
PTPN22	Hücrel hiperreaktivite PTPN22 ve PAD etkileşimlerinin bozulması ve hipersitrülinasyon
IL-6 reseptörü	İnflamasyon artışına bağlı anormal IL-6 metabolizması
TNF reseptör ilişkili faktör-1	İnflamasyon artışı
STAT4	İnflamasyon artışı
PAD tip 4	İnflamasyon artışı
Fc gama reseptör	Antijen sunumunda artış
CD40, CC kemokin ligand 21, CC kemokin reseptör 6	İnflamasyon ve hücre aktivasyonunda artış
DNA metilasyon değişiklikleri	Metilasyon değişiklikleri, farklılaşmış protein transkripsiyonundan kaynaklanan inflamasyon artışı

Romatoid artrit riskini arttıran ve azaltan çok sayıda spesifik gen lokusu tanımlanmıştır. Ancak bu lokusların hastalık ile ilişkisi incelendiğinde çoğunun olasılık oranının (odds ratio) 2'den düşük olduğu görülmüştür (Frisell ve ark., 2016; Stahl ve ark., 2010).

Romatoid artrit riskini arttıran en önemli genetik faktör majör histokompatibilite kompleksidir (MHC). Kromozom 6'da yer alan ve immünoregülatör fonksiyonları olan yaklaşık 200 gen içeren MHC; sınıf I, sınıf II ve sınıf III olmak üzere 3 bölgeden oluşmaktadır. İnsan Lökosit Antijen-A (HLA-A), HLA-B ve HLA-C sınıf I'de; HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOAB, HLA-DP, HLA-DR ve HLA-DQ sınıf II'de konumlanmaktadır. Sınıf III ise sınıf I ve II arasında yer almaktadır. Sınıf II MHC lokusunun romatoid artrit genetik riskinin yaklaşık

%40'ını oluşturduğu bildirilmektedir (Milner ve Campbell, 2001). Romatoid artritte oldukça önemli bir risk faktörü olan HLA gen ailesi immün sistemin kendi proteinlerini; virüsler, bakteriler gibi yabancı etkenler tarafından üretilen proteinlerden ayırmasına yardımcı olur ve HLA kompleksi olarak bilinen bir grup proteinin üretilmesini sağlar (Newton ve ark., 2004). Romatoid artrit ile HLA-DRB1 geni arasında bir ilişki olduğu bulunmuş ve bu hipotez “ortak epitop” olarak tanımlanmıştır (Gregersen ve ark., 1987). Ortak epitop hipotezine göre romatoid artrit ile DRB1 zincirinin üçüncü hiper değişken bölgesindeki 70-74 kalıntılarını içeren (⁷⁰QRRAA⁷⁴, ⁷⁰RRRAA⁷⁴, ⁷⁰QKRAA⁷⁴) aminoasit dizilimini kodlayan HLA-DRB1 alleli arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Yalnız QKRAA içeren HLA zinciri taşıyan bireylerde romatoid artrit gelişme olasılığının 4-6 kat arttığı ifade edilmiştir. Romatoid faktör (RF)-seropozitif romatoid artrit rölatif riskinin; ortak epitop geni taşıyan, hiç sigara içmemiş kişilerde 2.8 (% 95 Güven Aralığı (GA): 1.6-4.8); ortak epitop geni taşımayan sigara içicilerde 2.4 (% 95 GA: 1.3-4.6); ortak epitop geni taşıyan, sigara içicilerde ise 7.5 (% 95 GA: 4.2-13.1) olduğu ifade edilmiştir. Çift ortak epitop geni taşıyan sigara içicilerde ise RF-seropozitif romatoid artrit rölatif riskinin 15.7 (GA: 7.2-34.2) olduğu bildirilmiştir (Padyukov ve ark., 2004). Sigara içen ve HL-DR çift ortak epitop geni taşıyan bireylerde romatoid artrit gelişme riskinin sigara içmeyen ve ortak epitop taşımayanlara oranla 21 kat arttığı ifade edilmiştir (Klareskog ve ark., 2006). Romatoid artrit riski açısından ortak epitop alelleri S1, S2, S3P, S3D ve X olarak 5 gruba ayrılmıştır. S2 ve S3P yüksek risk, diğerleri ise düşük risk grupları olarak sınıflandırılmıştır (Barnetche ve ark., 2008; Lundström ve ark., 2009).

MHC sınıf II HLA-DR4 aleli olan bireylerde romatoid artrit gelişimi odds oranının 5:1 olduğu bildirilmiştir. DRB1*0401, *0404, *0405, *0408, *09, *0101, *0102, *1001, *1302, *1402 allellerinin romatoid artrit riskini arttırdığı ifade edilmiştir. Farklı etnik gruplarda romatoid artrit ilişkili predominant allellerin farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Beyaz ırkta DRB1*0401 ve *0404, Japonlarda ve Korelilerde *0405, Afrikan-Amerikalılarda *1101 ve *1302 allellerinin hastalık riskini arttırdığı ifade edilmiştir (Hughes ve ark., 2008; Kim ve ark., 1997; Mewar ve ark., 2008; Milicic ve ark., 2002). Bazı allellerin varlığının ise romatoid artrite karşı

koruyucu rol oynadığı belirtilmiştir. İranlılar ve Asyalılarda DRB1*03, Slovakyalılar ve Finlandiyalılarda *07 ve *13, Türklerde *13, Meksikan-Amerikalılarda *08, Afrikan-Amerikalılarda *11'in bu alleller arasında yer aldığı ifade edilmiştir (del Rincon ve Escalante, 1999; Hughes ve ark., 2008; Jun ve ark., 2007; Kinikli ve ark., 2003; Laivoranta-Nyman ve ark., 2004; Sandoughi ve ark., 2011; Stark ve ark., 2009; Uçar ve ark., 2012). Ayrıca HLA-DRB1*1301 allelinin Anti-Sitrüline (Sitrülenmiş) Peptid Antikor (ACPA) pozitif romatoid artritte koruyucu olduğu bildirilmiştir (van der Woude ve ark., 2010).

B ve T hücrelerin immün aktivasyon eşliğinde azalmaya neden olan Protein Tirozin Fosfataz Non Reseptör 22 (PTPN22) genindeki polimorfizm romatoid artrit ile ilişkilendirilen diğer önemli genetik faktördür. Otoimmünitede önemli rol oynayan peptidil arjinin deaminaz (PAD) enziminin PTPN22 etkileşimleri nedeniyle bu polimorfizmin hipersitrülinasyona neden olabileceği ifade edilmiştir (Chang ve ark., 2015; Rieck ve ark., 2007; Valesini ve ark., 2015). PAD enzimleri ile ilişkili genlerin yanı sıra sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen (CTLA4), interleokin (IL), nükleer faktör kappa B (NF-κB), sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-4 (STAT4) gibi inflamatuvar yollarda rol alan genlerin de romatoid artrit oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (Daha ve ark., 2009; Kishimoto ve Tanaka 2015; Plenge ve ark., 2005; Reyes-Castillo ve ark., 2018).

1.1.4.1.1. Epigenetik Faktörler

Genetik faktörlerin yanı sıra epigenetik değişikliklerin de romatoid artrit gelişimi ve hastalık aktivitesinde etkili olduğu ifade edilmiştir (Bottini ve Firestein, 2013). DNA metilasyonu ve histon asetilasyonunun romatoid artrit gelişiminde etkisi olduğu bildirilmiştir. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında romatoid artrit hastalarının MHC bölgelerinde farklı metilasyon modelleri gösteren kümeler tanımlandığı, DNA metilasyonunun genetik risk üzerine etki eden bir faktör olduğu ifade edilmiştir (Liu ve ark., 2013). Romatoid artrit hastalarının eklemlerindeki fibroblast benzeri sinoviyositlerin genomlarının çeşitli bölgelerindeki metilasyon değişikliklerinin gen

ekspresyon düzeylerini etkilediği belirtilmiştir. Bu değişikliklerin hastalık aktivitesini artmasına neden olduğu ve daha aktif-agresif romatoid artrit oluşumu ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar ise bu değişikliklerin hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıktığı ve başlangıç dönemlerine etki etmediğini ifade etmiştir (Maeshima ve ark., 2016; Whitaker ve ark., 2013). Romatoid artriti farklı düzeylerde olan monozigot ikizler incelendiğinde EXOSC1'deki (RNA degradasyonunu kodlayan protein) DNA metilasyonunun hastalıktan eklenen ve etkilenmeyen ikiz eşlerinde farklılık gösterdiği ifade edilmiştir (Gomez-Cabrero ve ark., 2016). Ayrıca DNA metilasyonunun, çevresel faktörlerin hücrel aktivite düzeylerinde oluşturduğu değişikliklerin indüklenmesine yol açtığı bildirilmiştir. Sigara içen ACPA-pozitif romatoid artrit hastalardan HLA-DRB1 risk aleli taşıyanların metilasyon düzeylerinin, risk aleli taşımayanlardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Sigara içmeyen grupta ise metilasyon farklılığı gözlenmediği ifade edilmiştir (Meng ve ark., 2017) .

1.1.4.2. Cinsiyet

Otoimmün hastalıklar kadınlarda erkeklere oranla daha sık gözlenmektedir (Pennell ve ark., 2012). Genetik ve çevresel faktörlerin yanı sıra hormonal farklılıkların da otoimmün süreçleri etkileyerek immün sistemde fonksiyon bozukluklarına yol açtığı düşünülmektedir. Romatoid artrit 50 yaşın altındaki kadınlarda erkeklerden 4-5 kat daha fazla görülürken, bu oran 60-70 yaş aralığında 2 kata düşmektedir (Kvien ve ark., 2006). Kadınlarda puberte, gebelik, emzirme, menopoz gibi dönemler; hormon replasman tedavisi ve oral kontraseptif kullanımı gibi etmenler hormon seviyelerini değiştirmektedir. Bu değişiklikler romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların oluşumu ve gelişimine etki etmektedir.

Farklı ırklar üzerinde yapılan birçok çalışma doğum sonrası ilk bir kaç yılda romatoid artritin ilk tanı sıklığının arttığını göstermektedir. Anne ile fetüs arasındaki geçiş, östrojen ve prolaktin gibi hormonların seviyesindeki değişiklikler romatoid artrit riskini etkilemektedir. Gebelik, emzirme, hormon yerine koyma tedavisi ve oral

kontraseptif kullanımının romatoid artrit için korucuyu faktörler arasında olduğu ifade edilmiştir (Ackerman ve ark., 2016; Lopez ve ark., 2009). Azalmış endojen östrojen üretimi ile karakterize Turner's sendromu olan hastalarda romatoid artrit riskinin arttığı bildirilmiştir (Jørgensen ve ark., 2010). Hormon yerine koyma tedavisinin, endojen hormon düzeylerini etkileyerek romatoid artrit riskinin azalmasına neden olabileceği ifade edilmiştir. Oral kontraseptif kullanımının RF pozitiflik oranını azalttığı bildirilmiştir (Alpizar-Rodriguez ve ark., 2017). Otoantikorların glikolizasyonu, T ve B hücre fonksiyonlarındaki değişiklikler gibi immünolojik süreçler romatoid artrit erken dönemlerinde ve hastalık aktivitesinin değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Ancak bu değişikliklerin gebelik, genitoüriner yapı, hormon düzeyleri gibi kadına özgü diğer faktörler üzerine etkileri kesin olarak bilinmemektedir. Erken menopoz, polikistik over sendromu, pre-eklampsi gibi etkenlerin ise romatoid artrit riskini arttıran faktörler arasında yer aldığı ifade edilmiştir (Alpizar-Rodríguez ve ark., 2017; Mollard ve ark., 2018).

1.1.4.3. Çevresel Faktörler

Diyet, ilaç kullanımı, yaşam tarzı gibi çevresel faktörler romatoid artrit oluşum ve gelişim riskini etkilemektedir. Sigara dumanı ve mesleki toz maruziyeti, hava kirliliği, düşük D vitamini düzeyi, kırmızı et tüketiminin artması ve obezitenin romatoid artrit riskini arttıran faktörlerden olduğu düşünülmektedir. Statin ve oral kontraseptif kullanımı, hormon yerine koyma tedavisi, balık ve omega 3 yağ asidi tüketimi ve sağlıklı diyetin ise romatoid artrit riskini azaltabileceği bildirilmektedir. Ancak bu risk faktörlerinin romatoid artrit ile ilişkisi kesinleşmediğinden konu ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (He ve ark., 2016; Stamp ve ark., 2005).

1.1.4.3.1. Sigara

Romatoid artrit oluşumu için en güçlü çevresel faktör sigara dumanı maruziyetidir. Lokal ve sistemik olarak immün yolakları etkilediği düşünülen sigara dumanının en önemli sistemik etkilerinden biri eklemlerde hasara yol açarak romatoid artrit riskinin artmasına neden olmaktadır. Romatoid artrit ile sigara içimi ilişkisinin incelendiği birçok çalışmada tahmini odds oranının 2'den fazla olduğu görülmüştür. Sigara içimi ve pulmoner makrofajlardaki sitriline proteinlerin yüksek düzeyde olmasının bronko-alveolar lavaj sıvısında sitriline protein miktarının artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Makrygiannakis ve ark., 2008). Sigaranın, QKRAA içeren HLA zinciri taşıyan bireylerde romatoid artrit riskini 20-40 katına kadar arttırdığı belirtilmiştir (Lundström ve ark., 2009). Sigara içen bireylerde romatoid artrit yokluğunda dahi RF düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir (Klareskog ve ark., 2010). Sigara içiminin sitrulinasyonu artırarak sitriline protein oluşumuna neden olduğu ve ACPA üretimini indüklediği ifade edilmiştir (Arnson ve ark., 2010; Hensvold ve ark., 2015; McInnes ve Schett, 2007).

1.1.4.3.2. Endüstriyel Tozlar

Silika, asbest, kömür tozu gibi tozlara maruziyetin romatoid artrit riskini arttığı bildirilmiştir. Silika maruziyetinin 18-70 yaş aralığındaki erkeklerde romatoid artrit riskini 2.2 (%95 GA: 1.2-3.9), 50-70 yaş aralığında ise 2.7 (%95 GA: 1.2-5.8) kat arttırdığı ifade edilmiştir. Değerlendirmeler sigara, yaş, yaşam alanı gibi karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edilerek yapılmıştır. Maruziyetin daha yüksek olduğu düşünülen kaya delme ve taş kırma işlerinde çalışan erkek işçilerde ise hastalık riskinin silika maruziyetinden daha fazla olduğu bildirilmiştir (Odds oranı: 3.0, %95 GA: 1.2-7.6) (Stolt ve ark., 2005). Kadınlarda tekstil tozlarına mesleki maruziyet sonucunda romatoid artrit riskinin arttığı bildirilmiştir (Odds oranı: 2.8, %95 GA: 1.6-5.2). Mesleki toz maruziyetinin ACPA-pozitif romatoid artrit riskini 2.5 (%95 GA: 1.3-4.8), ACPA-negatif romatoid artritte ise 3.5 (%95 GA: 1.7-7.0) kat arttırdığı ifade edilmiştir (Too ve ark., 2016). Asbeste maruz kalan erkeklerde odds oranı 1.61 (%95

GA: 1.32–1.97) iken; karıştırıcı faktörler silika maruziyeti, alkol ve sigara kullanımının etkisi elimine edildiğinde oran 1.35 (%95 GA: 1.08-1.70)’e; kadınlarda ise 1.34 (%95 GA: 0.93–1.93)’ten 1.07 (%95 GA: 0.73–1.57)’ye düştüğü bildirilmiştir (İlar ve ark., 2017).

1.1.4.3.3. Beslenme

Vücutta D vitamini seviyelerinin azalması romatoid artrit riskini arttırmaktadır. Endojen antioksidanların azalmasına bağlı olarak serbest radikal düzeylerinin artması oksidatif strese neden olmaktadır. Artmış oksidatif stres düzeyleri romatoid artrit riskinin de artmasına yol açmaktadır. Kırmızı et başta olmak üzere protein ağırlıklı beslenme ve yüksek miktarda şeker tüketiminin romatoid artrit riskini arttırdığı ifade edilmiştir. Yüksek miktarda balık ve omega-3 yağ asidi tüketiminin ise romatoid artrit riskini azaltan faktörlerden olduğu bildirilmiştir. Omega-3 yağ asidi takviyesi alan ve dolayısıyla kan yağ asidi seviyeleri yüksek kişilerde ACPA(+)’lik ve RF düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir. Hayvansal yağ ve şeker açısından fakir; meyve, sebze ve tahıl açısından zengin diyetin romatoid artrit riskini azalttığı bildirilmiştir (Berube ve ark., 2017; Pattison ve ark., 2004; Simopoulos, 2002; Tedeschi ve ark., 2018).

1.1.4.3.4. Enfeksiyon Etkenleri ve Bağırsak Mikrobiyotası

Mikroorganizmaların hem mukozal yüzeylerde, hem de sistemik olarak immüniteyi etkilediği düşünülmekte, bu etkinin oluşum mekanizmasının açıklanabilmesi için birçok çalışma yürütülmektedir. Mukozal yüzeylerin romatoid artrit aracılı otoimmünite oluşumu ve inflamasyon için kaynak olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmalarda akciğer, bağırsak, gastrointestinal ve oral mukozal yüzeylerdeki mikroorganizmaların genetik, cinsiyet, diyet ve çevresel faktörler ile etkileşiminin mukozal inflamasyona neden olabileceği bildirilmiştir. Etki mekanizması kesin olarak açıklanamamakla birlikte, lokal doku stresinin peptidlerin post-translasyonel modifikasyonuna yol açtığı ve antikör oluşumunu indüklediği ifade

edilmiştir. Ayrıca patojen kaynaklı peptidlerin, B ve T hücrelerin aktivasyonuna neden olarak hastalığı indükleyebileceği bildirilmiştir. Mukozal yüzeylerdeki mikroorganizma yoğunluğu, çeşitliliği ve mukozal inflamasyonun romatoid artrit neden olabilecek immünolojik süreci etkileyebileceği belirtilmiştir. İnflamasyondaki artışın romatoid artrit bağlı immün toleransta ilk kırılmalara yol açarak önce lokal, sonrasında sistemik otoimmünite duyarlılığını artmasına neden olabileceği ifade edilmiştir (Demoruelle ve ark., 2014; Koziel ve ark., 2014).

Deney hayvanı ve insan çalışmaları *Porphyromonas gingivalis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Epstein–Barr virüs*, *sitomegalovirüs* ve mikoplazma gibi etkenlerin romatoid artrit etiopatogenezinde rol aldığını göstermiştir (da Rocha Sobrinho ve ark., 2011; Ebringer ve Rashid, 2006; Mikuls ve ark., 2012; Puntis ve ark., 2013; Takeda ve ark., 2000). Bakteri ve virüslerin neden olduğu enfeksiyonların RF oluşumunun indüklenmesine yol açtığı bildirilmiştir. Akut poliartraljiye neden olan *Chikungunya* virüsünün bazı hastalarda romatoid artrit benzer profil ortaya çıkarttığı bildirilmiştir (Smolen ve ark., 2018).

Bağırsak mikrobiyotasının romatoid artrit gelişiminde oldukça önemli bir rolü olduğu ifade edilmiştir. Romatoid artrit hastalarında genel popülasyona kıyasla bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinin azaldığı, ancak mikroorganizma miktarının arttığı bildirilmiştir. *Actinobacteria* gibi diğer bireylerde az bulunan taksonların, romatoid artrit hastaarında arttığı; diğerlerinde bol bulunan taksonların çeşitliliğinin ise azaldığı ifade edilmiştir. Erken dönem romatoid artrit hastaları kontrolle kıyaslandığında gruplar arasında mikrobiyom farklılıkları gözlemlendiği belirtilmiştir. Henüz tedavi edilmemiş erken evredeki romatoid artrit hastalarında *Prevotella copri* düzeylerinin yüksek olduğu, hastalığın ilerleyen dönemlerinde ise seviyelerin azaldığı ifade edilmiştir (Deane ve ark., 2017; Scher ve ark., 2016; Smolen ve ark., 2018). Ayrıca bazı mikroorgnizmaların septik artrit neden olduğu ifade edilmiştir. *Staphylococcus aureus*'un septik artrit en sık neden olan mikroorganizma olduğu, sonrasında *Streptococcus* türlerinin (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*) geldiği bildirilmiştir (Chong, 2018; Corrado ve ark., 2016). Gastrointestinal mikroorganizmaların da artrit ve otoimmünite gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu mukozalardaki *Escherichia*

coli, çeşitli *Proteus* (Örn: *Proteus mirabilis*) ve *Klebsiella* türlerinin varlığı (Örn: *Klebsiella pneumonia*) otoantikor pozitif romatoid artrit ile ilişkilendirilmiştir (Deane ve ark., 2017; Hensvold ve ark., 2015).

1.1.4.3.5. Periodontitis

Periodontal hastalıklar, kronik inflamasyon ve inflamatuvar kemik erozyonuna neden olmaları açısından romatoid artrit ile benzerlik göstermektedir. Periodontitis gibi oral mukozadaki inflamasyonların neden olduğu hastalıklar preklinik romatoid artrit başta olmak üzere çeşitli inflamatuvar artrit tipleri ile ilişkilendirilmektedir. Periodontal inflamasyonun temel sebebi olduğu düşünülen *Porphyromonas gingivalis*'in otoantikor düzeylerinde yol açtığı değişimin, romatoid artrite bağlı otoantikorlardaki değişimlerle ilişkili olduğu bulunmuştur (Mikuls ve ark., 2012). Periodontal hastalığı olan bireylerin periodontal sıvılarında ACPA bulunduğu gösterilmiştir (Harvey ve ark., 2013). *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'ın erken evre romatoid artrit tetiklediği ifade edilmiştir. Bu bakterilerin insan dokusunu sitriline edebilen, enolaz gibi bakteriyel ürünler üretebilen PAD oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Sitrülinasyon sonucu PAD tip 4 gen ekspresyonunun arttığı, hastalık toleransının azaldığı ve hastanın romatoid artrit gelişimi için duyarlı hale geldiği ifade edilmiştir (Laugisch ve ark., 2016; Smolen ve ark., 2018).

1.1.4.4. İmmünolojik Faktörler

Romatoid artrit gelişiminin temel olarak üç fazda gerçekleştiği düşünülmektedir. Bunlar pre-artrit faz, geçiş fazı ve klinik faz olarak sınıflandırılabilir. Pre-artrit fazda genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Bu faktörlerin etkileşmesiyle immün toleransın azaldığı ve hastalığın oluşmaya başladığı dönem geçiş fazı olarak adlandırılmaktadır. Adaptif ve doğal immün sistemin aşırı aktivasyonu üçüncü dönemin başlamasına neden

olmaktadır. Hastalığın kesin olarak ortaya çıktığı ve genellikle tanının konduğu bu dönem ise klinik faz olarak adlandırılmaktadır (Alam ve ark., 2017; Delves ve ark., 2017).

Romatoid artrit erken döneminde eklemlerin sinoviyal yüzeyinde bulunan fibroblast benzeri sinoviyosit düzeyi artmaktadır. Sinoviyositlerin sayısal artışının devam etmesi, bu yapıların eklem yüzeyine yapışmasına neden olmaktadır. Sonrasında mononükleer hücreler eklem içine sızmakta ve yüksek miktarda proinflamatuvar sitokin salgılanması indüklenmektedir. Sinoviyosit proliferasyonu ve aktivasyonunun indüklenmesi pannus oluşumuna yol açmaktadır. Pannus oluşumuna neden olan fibroblast benzeri sinoviyositler ve kıkırdaktaki kondrositler; matriks metalloproteinazları ve artiküler matrikste hasara neden olan diğer proteolitik enzimlerin salımını aktive etmektedir. Bu hücrelerin etkileşimi proinflamatuvar sitokin üretimini indükleyen bir diğer etkidir. Sonuçta eklemlerde ödem gelişmekte ve ilerleyici eklem hasarı oluşmaktadır. Bu inflamatuvar sürecin indüklenmesi hastalığın ilerlemesine ve eklemlerde şişlik, ağrı, erozyon, sabah tutukluğu ile birlikte sistemik etkilerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Kay ve Calabrese, 2004; Hunter ve ark., 2012).

Romatoid artrit oluşum ve gelişiminde genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin görev aldığı bilinmektedir. Ancak tüm bunlara rağmen hastalığın patogenezi henüz tam olarak açıklanamamıştır. T lenfositleri, makrofajlar gibi immün hücrelerin etkileşimleri sonucu eklemlerde inflamasyonun artması ile hastalığın ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu hücreler; anti-inflamatuvar, pro-inflamatuvar veya immünregülatör özellik gösteren “sitokin” adı verilen proteinler aracılığıyla etkileşmektedir. Sağlıklı bireylerde farklı etki gösteren sitokinler denge halindeyken, romatoid artrit hastalarında bu dengenin çoğunlukla pro-inflamatuvar sitokinler lehine kaydığı görülmektedir. Hastalık sırasında immün yanıt oluşmasında sitokinlerin yanı sıra inflamazom adı verilen multi-protein komplekslerinin de rol oynadığı düşünülmekte, son zamanlarda bu konu ile ilgili yeni çalışmalar yürütülmektedir (Brennan ve McInnes, 2008; Mao ve ark., 2017).

1.1.4.4.1. Sitokinler

Sitokinler; immün sistemin patojenlere ve diğer antijenlere karşı oluşturduğu immün yanıtın düzenlenmesinde görev alan immünomodülatör özellikli, düşük molekül ağırlıklı, polipeptid yapıda moleküllerdir. İnflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde görev alan T ve B lenfositleri, makrofajlar, mast hücreleri gibi hücreler başta olmak üzere birçok immün ve non-immün hücreden salınmaktadırlar. Vücutta belirli bir düzeyde denge halinde bulunan sitokinlerin düzeylerindeki artış ve azalışlar immün sisteme bağlı hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokin düzeylerindeki artış romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların indüklenmesine yol açmaktadır (Chaplin, 2010; Dinarello, 2007; Vilcek, 2003).

Bu yapılar ilk keşfedildiklerinde sadece lenfositlerden salındığı düşünüldüğünden lenfokin olarak isimlendirilmiştir. Ancak sonrasında diğer immün ve non-immün hücrelerden de salınabildiği bulunmuş ve sitokin olarak adlandırılmıştır. Sitokinler; yapıları, oluşturdukları etkiler, salındıkları hücreler gibi farklı özellikleri temel alınarak sınıflandırılabilir. Yapılarına göre sitokinler; IL'ler, kemokinler, monokinler, interferonlar (IFN), TNF'ler, koloni stimüle edici faktörler (CSF'ler), büyüme faktörleri olmak üzere gruplandırılabilirler (Çizelge 1.2) (Dinarello 2007; Janeway ve ark., 2001; Metcalf, 2013).

Çizelge 1. 2. Yapılarına göre sitokinler ve görevleri

Sitokinler	Özellikleri
IL'ler	Lökositler arasında mediyatör olarak görev alan sitokinlerdir. İmmün hücrelerin büyümesi, farklılaşması ve aktivasyonunda rol oynarlar. Hücre yüzeylerindeki yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak hücre ve dokularda birçok reaksiyonun gerçekleşmesine aracılık ederler.
Kemokinler	İnflamasyon sırasında immün hücrelerin kemotaksisini sağlayan sitokinlerdir. Yapılarında sistein grubu içerirler. C-C grubu temelde mononükleer hücrelere, C-X-C grubu (yapısında 1 aminosit taşır) ise nötrofillere kemotaktik etki gösterir.

Çizelge 1.2. Devam

Monokinler	Monosit ve makrofajlardan salınan sitokinlerdir.
IFN'ler	Hücrelerde viral proliferasyonu inhibe etme özelliği gösteren sitokinlerdir. Bakteriyal ve parazitik enfeksiyonlarda da görev alır. İmmunregülatör özeliği vardır.
TNF'ler	Tümör hücrelerinin nekroza uğraması sırasında görev aldıkları için bu ismi almışlardır. Başlıca makrofajlardan salgılanırlar.
CSF'ler	Kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden kan hücresi oluşumunu stimüle eden ve aktivasyon sağlayan düzenleyici faktörlerdir. Hücre içi sinyal yollarını aktive ederler.
Büyüme faktörleri	Hücre büyümesi, çoğalması ve farklılaşmasında görev alan sitokinlerdir. Beyaz kan hücrelerinden salgılanırlar.

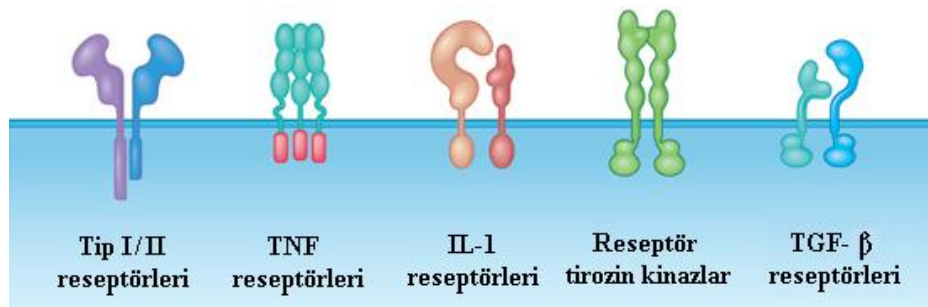
Sitokinler, diğer sitokinlerin etkilerini azaltıp arttırabilmektedir. Otokrin, parakrin ve endokrin olmak üzere üç farklı şekilde etki göstermektedirler. Otokrin etki, sitokinin salgılandığı hücre veya dokuda etki göstermesidir. Parakrin etki, sentezlenen sitokinin hücreler arasında salınarak komşu hücrede etki göstermesidir. Endokrin etki ise sentezlenen sitokinin etkisini kan yoluyla uzaktaki hedef hücre veya dokuda göstermesidir.

Oluşturdukları immün cevaba göre sitokinler; adaptif bağışıklık, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sinyal oluşturanlar olarak sınıflandırılabilir (Çizelge 1.3) (Abbas ve ark., 2017; Delves ve ark., 2017; Turner ve ark., 2014).

Çizelge 1. 3. Sitokinlerin oluşturdıkları immün yanıtı göre sınıflandırılması

İmmün cevap	Aile	Üyeler
Adaptif bağışıklık		IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21
Anti-inflamatuvar sinyal	IL-12	IL-12, IL-23, IL-27, IL-35
	IL-10	IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, IL-29
Pro-inflamatuvar sinyal	IL-1	IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36
	IL-6	IL-6, IL-11, IL-31
	TNF	TNF α , TNF β ,
	IL-17	IL-17, IL-25
	IFN	IFN α , IFN β , IFN γ , IFN ω , IFN κ

Sitokin reseptörleri, ekstraselüler ve sitoplazmik bölge olmak üzere iki temel kısımdan oluşmaktadır. Sitokin reseptörleri yapılarına göre sınıflandırılabilir (Çizelge 1.4) (Şekil 1.3) (Akdis ve ark., 2011; Dinarello, 2007; Miyajima ve ark., 1992).



Şekil 1. 3. Sitokin reseptör ailesi

Çizelge 1. 4. Yapılarına göre sitokin reseptörleri ve örnekleri

Reseptör Tipi	Örnek
Tip I (hematopoietin ailesi) reseptörleri	Eritropoietin, trombopoietin, prolaktin, büyüme hormonu ve leptin gibi hormonları CSF'ler IL'ler (IL-2, IL-7, IL-9, IL-11, IL-13, IL-15, IL-21, IL-23, IL-27, IL-31, IL-35)
Tip II (IFN ailesi) reseptörleri	IFN- α , IFN- β , IFN- γ IL'ler (IL-10, IL-19, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, IL-29, IL-30)
TNF reseptörleri	TNF- α , TNF- β
IL-1 reseptörleri ve toll benzeri reseptörler (TLR'ler)	IL-1 α , IL- β , IL-18, IL-33, IL-36, IL-37, IL-38
IL-17 reseptörleri	IL-17
Reseptör tirozin kinazlar	Kök hücre faktör-1, IL-16, IL-3, IL-32
TGF- β reseptörleri	TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3

Farklı sinyaller üreten immünoregülatör sitokinlerin arasındaki dengenin pro-inflamatuvar özellik gösterenlerin lehine bozulması romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Brennan ve Mcinnes, 2008; Turner ve ark., 2014).

Romatoid artritin patogenezinde ilk aşama immüdisregülasyondur. İnflamatuvar mediyatörlerin salınması ile eklem sinoviyumlarındaki hücrelerin etkileşmesi sonucu doku tahribatı ortaya çıkmaktadır. Antijen sunan hücreler ve yüzey farklılaşma antijeni (CD)+4 T hücreleri arasındaki etkileşim bu olayların başlamasına veya başlamış olayların tetiklenmesine neden olmaktadır. TNF- α , IL-1 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salınması makrofaj aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu sitokinler eklem kıkırdığındaki sinoviyal fibroblastlar ve kondrositleri stimüle ederek proteoglikan ve kollajen parçalayıcı enzimlerin salgılanmasına yol açmaktadır.

Sonuçta doku tahribatı ortaya çıkmaktadır. Romatoid artritte önemli görevi olan sinoviyal fibroblastların, T hücreleri ve diğer inflamatuvar hücrelerin yokluğunda dahi, bu hücrelerden bağımsız farklı yollar aracılığıyla ilerleyici eklem hasarına katkı sağladığı bildirilmiştir. İnflamasyona uğramış sinoviyal dokular incelendiğinde, makrofajlar ve sinoviyal fibroblastlardan sitokin ve büyüme faktörleri salgılandığı görülmüştür (Lubberts ve van den Berg, 2013; McInnes ve Schett, 2007; Turner ve ark., 2014).

Romatoid artrit oluşum ve gelişiminde birçok mediyatör sitokin görev aldığı ifade edilmiştir. Bu sitokinler incelendiğinde; benzer fonksiyonları olan sitokinlerin var olduğu ifade edilmekle birlikte, birbirinden bağımsız yollarda görev alan ve hastalık oluşumuna katkı sağlayan sitokinlerin de bulunduğu bildirilmiştir (Çizelge 1.5) (Hou ve ark., 2014; McInnes ve Schett, 2007; Moelants ve ark., 2013; Turner ve ark., 2014).

Çizelge 1. 5. Romatoid artrit hastalığında görev alan mediyatörler ve fonksiyonları

Mediyatör Sitokin	Fonksiyon
TNF-α	Lökositler, endotelial hücreler ve sinoviyal fibroblastları aktive eder. Sitokinler, kemokinler, adhezyon molekülleri ve matriks enzimlerinin üretimini indükler (Moelants ve ark., 2013) Regülatör T hücre fonksiyonunu suprese eder (Croft, 2009). Kıkırdak ve kemik resorpsiyonu ve osteoklast aktivasyonu sağlar (Redlich ve ark., 2002). Metabolik ve bilişsel fonksiyon bozukluğuna aracılık eder (Clark ve ark., 2010).
IL-1α, IL-1β	Lökositler, endotelial hücreler ve sinoviyal fibroblastları aktive eder (Kim ve Luster, 2015). Kondrositlerden matriks enzim üretimini indükler (Moelants ve ark., 2013). Ateş oluşumu (Dinarello, 2013), glukoz metabolizmasında düzensizlik (Holmes, 2017) ve bilişsel fonksiyon bozukluğuna aracılık eder (Liu ve Quan, 2018).
IL-6	Akut faz cevabının oluşmasına etki eder (Bode ve ark., 2012). B-lenfosit farklılaşmasında görev alır (Diehl ve ark., 2012). Depresyonla ilişkilendirilen, hipotalamusa bağlı bozuklukların oluşmasında rol oynar (Girotti ve ark., 2013). İnflamasyon aracılı kanser, obezite, diyabet gibi metabolizma hastalıklarının oluşumuna etki eder (Mauer ve ark., 2015). Lökosit ve osteoklastları aktive eder (Ortiz ve ark., 2015).

Çizelge 1.5. Devam

IL-7, IL-15	T hücre ve doğal öldürücü hücre aktivasyonuna katkı sağlar (Onishi ve Gaffen, 2010). T hücreler ile makrofajların bilişsel etkileşimlerini korur (Jabri ve Abadie, 2015). Apoptozisi bloke eder (Hou ve ark., 2014).
IL-17A, IL-17F	Sinoviyal fibroblastlar, kondrositler ve osteoklastların aktivasyonunu arttırmak için sinerjistik davranış gösterir (Lubberts ve ark., 2005).
IL-18	Th1, nötrofil ve doğal öldürücü hücrelerin aktivasyonunu artırır (Gracie ve ark., 2003).
IL-21	B hücrelerini aktive eder (Rahe ve Murtaugh, 2017).
IL-23	Th17'yi artırır (Gaffen ve ark., 2014).
IL-32	Çeşitli lökositlerin sitokin üretimini aktive eder. Osteoklast farklılaşmasını artırır (Joosten ve ark., 2006).
IL-33	Mast hücreleri ve nötrofillerin aktivasyonunda görev alır (Hueber ve ark., 2011).
Büyüme ve Farklılaşma Faktörleri	
B-lenfosit stimülatörü (BLyS)	B hücrelerini aktive eder.
Proliferasyon indükleyici ligand (APRIL)	B hücrelerinin olgunlaşmasında ve otoantikor üretiminin geliştirilmesinde görev alır (Seyler ve ark., 2005).
GM-CSF ve M-CSF	Sinoviyum ve kemik iliğinde miyeloid kökenli hücreler ve granülositlerin farklılaşmasını artırır (Darrieutort-Laffite ve ark., 2014).
NF-κB ligandının reseptör aktivatörü (RANKL)	Osteoklast aktivasyonu ve maturasyonu artırır (Xu ve ark., 2012)
Intraselüler Sinyal Molekülleri ve Transkripsiyon Faktörleri	
Januz Kinaz (JAK)	Sitokin aracılı lökosit maturasyonu ve aktivasyonu, sitokin üretimi ve immünoglobulin üretimini düzenler (Fleischmann ve ark., 2015).

Çizelge 1.5. Devam

Dalak tirozin kinaz	B ve T hücrelerinin ve diğer Fc reseptör taşıyan lökositlerin immün kompleks ve antijen aracılı aktivasyonunu düzenler (Iwata ve ark., 2015).
Fosfatidilinositol 3-kinaz	Hücre sağkalımı ve proliferasyonunu düzenleyen sinyallere aracılık eder (Stark ve ark., 2015).
Bruton tirozin kinaz (BTK)	B hücre reseptörü ve Fc reseptörü sinyalinin regülasyonu aracılığıyla B hücreler, makrofajlar, mast hücreleri ve nötrofillerin aktivasyonunda rol oynar (Lou ve ark., 2015).
NF-κB	Hücre sağkalımı ve inflamatuvar sinyalizasyona aracılık eder (Simmonds ve Foxwell, 2008).

TNF- α , romatoid artritte inflamasyona neden olan önemli sitokinlerden biridir. Başlıca monositler, makrofajlar, fibroblastlar, B ve T hücrelerinden salgılanmaktadır. IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF gibi birçok inflamatuvar sitokin salgılanmasını indükleyici özellik gösterdiği ifade edilmiştir. TNF- α 'nın romatoid artrit hastalarının serum ve sinoviyumlarında temel sitokin olduğu bildirilmiştir (Akdis ve ark., 2016; Moelants ve ark., 2013). Romatoid artrit hastalarının sinoviyal hücrelerinde TNF- α blokajının IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF üretimini azalttığı bildirilmiştir (Vasanthi ve ark., 2007). TNF- α 'nın pro-inflamatuvar sitokin düzeyinin artmasını indükleyerek anti-inflamatuvar ve pro-inflamatuvar mediyatörlerin arasındaki dengenin bozulmasına yol açtığı ifade edilmiştir (Brennan ve McInnes, 2008). Sitokin düzeylerindeki artışın endotelial hücrelerden adezyon moleküllerinin salınımına ve düzenleyici T hücrelerinin suprese olmasına neden olduğu, anjiyogenezi stimüle ettiği ve ağrı oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (Hess ve ark., 2011). TNF- α ve IL-1'in kırık ve kemikte görülen erozif değişikliklerde ve kronik eklem inflamasyonda önemli rol oynadığı ifade edilmiştir. TNF- α 'nın tek başına eklemlerde hasara neden olduğu, bu etkiye IL-1 aktivasyonu eklendiğinde sinerjistik etki ortaya çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca romatoid artrit hastaları için oldukça önemli sitokinler olan IL-1 α , IL-1 β , IL-18 ve IL-33'ün; lökositler, endotelial hücreler, kondrositler ve osteoklastların aktivasyonuna neden olduğu ifade edilmiştir (Lubberts ve van den Berg, 2013; Zhang ve Zheng, 2016). Bunlara ilave olarak; romatoid artrit hastalarının sinoviyumlarında BlyS, APRIL, RANKL gibi büyüme ve farklılaşma faktörleri ile

JAK, dalak tirozin kinaz, fosfatidilinositol 3-kinaz, BTK, NF-κB gibi intraselüler sinyal yollarının aktive olduğu bildirilmiştir (Fleischmann ve ark., 2015; Iwata ve ark., 2015; Lou ve ark. 2015; Simmonds ve Foxwell, 2008; Stark ve ark., 2015).

1.1.4.4.1.1. IL'ler

IL'ler, immün sinyalizasyonda önemli rol oynayan yaklaşık 40 civarı üyesi olan bir sitokin grubudur. IL-1, IL-2, IL-3 vb şekilde keşfedilme sıralarına göre isimlendirilmektedir. Çoğunlukla immün hücreler arasındaki bağlantının sağlanmasında rol almakla birlikte; kılcal kan damarlarındaki endotelial hücreler, hepatositler, epitelyal hücreler, kemik iliği kök hücreleri, fibroblastlar ve hatta merkezi sinir sistemindeki nöronlar üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Hücre tipi ve diğer sitokin sinyallerine bağlı olarak aynı IL, farklı fonksiyonları etkileyebilmektedir (Akdis ve ark., 2016; Akdis ve ark., 2011). Romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda IL'lerin önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Romatoid artritin temel özelliği olan kronik eklem inflamasyonunun artması sonucu eklem ve kıkırdak hasarının oluşmasında en temel IL'nin IL-1 olduğu ifade edilmiştir (Cantarini ve ark., 2015; Cavalli ve Dinarello, 2015; Kay ve Calabrese, 2004).

1.1.4.4.1.1.1. IL-1

IL-1; makrofajlar, büyük granüler lenfositler, B hücreleri, fibroblastlar, astrositler ve endoteliumdan salgılanan bir sitokindir. IL-1 ve ilgili proteinlerin salımı inflamasyonun indüklenmesine neden olmaktadır. IL-1'in; lenfosit aktivasyonu, makrofaj stimülasyonu, lökosit/endotelial adezyonda artma, hipotalamus stimülasyonuna bağlı olarak ateş ve karaciğerden akut faz proteinlerinin salınımına neden olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca birçok hücre tipinde apoptozis ve kaşeksinin indüklenmesine yol açtığı bildirilmiştir. Klasik sinyal peptidinin eksikliği ve salgılayıcı yolağa girmemesi nedeniyle hücrelerden IL-1 ve türevlerinin salım mekanizması henüz kesin olarak bilinmemektedir. Birçok hücrel etken IL-1 ve

ilişkili proteinlerin salımına ve inflamasyonun tetiklenmesine neden olduğu ifade edilmiştir. Alarminler olarak adlandırılan bu yapıların hücresel hasarın habercileri olarak görev yaptığı belirtilmiştir (Bianchi, 2007; Cantarini ve ark., 2015; Cavalli ve Dinarello, 2015; Kay ve Calabrese, 2004).

Romatoid artritte görülen kıkırdak ve kemik hasarının oluşumunda ve ilerlemesinde IL-1'in önemli rol oynadığı bildirilmiştir. IL-1'in proteoglikan kaybının indüklenmesi ve kondrositlerdeki nötral proteinazların yapımının stimülasyonu aracılığıyla kıkırdak dokusunun parçalanmasına neden olduğu ifade edilmiştir. Romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvıları değerlendirildiğinde kemiklerinde erozyon olan hastalardaki IL-1 düzeylerinin, erozyon olmayanlardan daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Firestein ve ark., 2012; Firestein ve ark., 1994).

IL-1 ailesinin agonist IL-1 α , IL-1 β ve antagonist IL-1Ra olmak üzere 3 üyesi bulunmaktadır. Yapı ve etki olarak benzerlikler gösteren IL-1 α ve IL-1 β , prekürsör proteinler olarak sentezlenmektedir. IL-1 α ; hematopoiezis, immün yanıt, ateş ve sepsis oluşumu gibi inflamatuvar süreçlerde görev alan pleiotropik bir sitokindir. Temel olarak makrofajlar, epitelyal ve endotelyal hücrelerden salgılanmaktadır. Pro-inflamatuvar özellikli bir sitokin olup biyolojik olarak aktif bir yapıya sahiptir. Yapının bölünmesi biyolojik aktivitesinin artmasına neden olmaktadır. IL-1 β ise biyolojik olarak aktif değildir. Prekürsör protein pro-IL-1 β yapısının bir uyarıcı aracılığıyla aktive edilmesi sonucu yarılmaya ile inflamatuvar süreçte görev alan aktif IL-1 β oluşmaktadır. IL-1 β 'nin romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda önemli olduğu düşünülmektedir (Akdis ve ark., 2011; Dinarello, 2018; Zhu ve ark., 2017).

1.1.4.4.1.1.1. IL-1 β

IL-1 β enfeksiyon ve yaralanmalar başta olmak üzere birçok inflamatuvar süreçte rol alan önemli bir pro-inflamatuvar sitokindir. Makrofajlar ve monositler gibi immün sistem hücreleri başta olmak üzere çok çeşitli immün ve non-immün hücrelerden salgılanmaktadır. IL-1 β ; lenfosit proliferasyonunun indüklenmesi, adezyon

moleküllerinin ekspresyonunun düzenlenmesi, lökositlerden; kemotaktik faktörler, prostaglandinler, proteazlar ve prokoagülanlar gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımı gibi inflamatuvar süreçlerde görev almaktadır. Başlangıçta inaktif halde bulunan 31 kDa'lık prekürsör pro-IL-1 β molekülünün aktive olmasıyla 17 kDa'lık olgun IL-1 β yapısı oluşmaktadır. Kaspaz-1, kaspaz-8 gibi proteazlarla bölünene kadar stoplazmada inaktif olarak bulunan pro-IL-1 β ; bölünmeden sonra aktifleşerek hücre dışına taşınmaktadır. IL-1 β bölünmesinin inflamazom adı verilen bir multiprotein kompleksinin aktivasyonu sırasında gelişebildiği bildirilmiştir (Lopez-Castejon ve Brough, 2011; Mendiola ve Cardona, 2018).

Birçok araştırmada çeşitli otoimmün veya enfeksiyöz hastalıklarda IL-1 β seviyelerinin arttığı belirtilmiştir (Eklund ve ark., 2007; Joosten ve ark., 2010). Romatoid artrit hastalarında plazma IL-1 β düzeylerindeki artışın, hastalardaki ağrı skrou ve sabah tutukluğunun süresi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (Eastgate ve ark., 1988). Romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvılarındaki IL-1 β konsantrasyonlarının osteoartrit, non-inflamatuvar eklem hastalığı veya travma nedeniyle eklem hasarı oluşan hastalardan daha fazla olduğu ifade edilmiştir (Kahle ve ark., 1992). Obez romatoid artrit hastaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum IL-1 β düzeylerinin vücut kitle indeksi ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Shoda ve ark., 2017).

1.1.4.4.1.1.2. IL-18

18 kDa ağırlığında bir glikoprotein olan IL-18, 23 kDa'lık prekürsörü pro-IL-18'in kaspaz 1 aracılığıyla enzimatik yıkımı sonucunda oluşur. Th1 cevap gelişiminde önemli görevi olan bir pro-inflamatuvar sitokindir. Naif T lenfositleri, doğal öldürücü hücreler, makrofajlar, nötrofiller ve kondrositler üzerinde yaygın olarak eksprese edilen α ve β zincirlerinden oluşan heterodimerik reseptör aracılığıyla biyoaktiviteye aracılık eder. Doğal öldürücü hücreler, makrofajlar ve nötrofiller tarafından sitokin üretimini indüklenmesi ve aktivasyonunda görev alır. Çoğu hücre tipi tarafından eksprese edilen IL-18'in temel görevi doğal öldürücü hücre aktivasyonu ve IFN- γ

indüksiyonudur. Anjiyogenez ve tümör progresyonunun artmasına, IL-4 ve IL-13 üretiminin indüklenmesine aracılık etmektedir (Gracie ve ark., 2003; McInnes ve ark., 2000).

Romatoid artrit hastalarının hem sinoviyumlarında, hem de eklem kondrositleri ve osteoblastlarında IL-18'e rastlanmıştır. IL-18 knockout (-/-) farelerde kollajenin indüklediği artrit şiddetinin ve insidansının azaldığı bildirilmiştir (Wei ve ark., 2001). Romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvı ve dokularındaki IL-18'in, osteoartrit ve diğer artropatileri olan hastalara göre artış gösterdiği ifade edilmiştir (Bresnihan ve ark., 2002; Gracie ve ark., 1999). Romatoid artrit hastalarının hastalık aktivitesi ile IL-18 düzeyleri arasında korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (Petrovic-Rackov ve Pejnovic 2006; Shao ve ark., 2009). IL-18'in eklem inflamasyonu, kıkırdak hasarı ve anjiyogenezde görev aldığı; TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde artışa neden olduğu ifade edilmiştir (Volin ve Koch, 2011).

1.1.4.4.2. İnflamazomlar

İnflamazomlar, immün hücrelerin sitozolünde yer alan büyük multimoleküler protein kompleksleridir. İnflamazom kompleksi temel olarak; bir reseptör protein, bir adaptör protein ve bir efektör proteinden oluşmaktadır. Reseptör protein; genellikle nükleotid bağlama oligomerizasyon alanı (NOD)-benzeri reseptör (NLR) olup, yapının aktive olmasına neden olan birçok etken için sensör görevi yapmaktadır. Efektör protein kaspaz-1'dir. Adaptör protein, apoptozla ilişkili speck-benzeri protein (ASC) olup, iki temel alandan oluşmaktadır. Bunlardan biri; N-terminal pyrin alanı (PYD), diğeri C-terminal kaspaz aktivasyonu ve alım (rekrutman) alanı (CARD)'dır. Adaptör proteinin görevi, sensör yani reseptör protein ile efektör protein pro-kaspaz-1 arasında bağlantı kurmaktır (Abderrazak ve ark., 2015; Kolly ve ark., 2009; Shaw ve ark., 2011).

İnflamazomlar yapısal olarak iki gruba ayrılabilir. Bu yapılar içerdikleri NLR veya AIM2 proteinlerine göre sınıflandırılmaktadır. NLR inflamazomları NLRP1, NLRP3 veya NLRC4 gibi proteinleri içerirken; AIM2 inflamazomu AIM2 proteini içermektedir. İnflamazomlar, çeşitli fizyolojik ve patojenik stimülasyonlara yanıt olarak sitozolde oluşmaktadır (Jiang ve ark., 2018; Shen ve ark., 2018). Patojenle ilişkili moleküler kalıplar (PAMP) veya tehlike ilişkili moleküler kalıpların (DAMP) tanımlanması bu stimülasyonlara öncülük etmektedir (Young-Su, 2018).

İnflamazomlar direk veya indirek olarak indüklenebilmektedir. Birçok molekülün aynı NLR sensörünü nasıl aktive ettiğine dair mekanizma henüz açıklanamamıştır. Bu sensörleri aktive eden etkenlerin NLR proteinlerine doğrudan bağlanmadıkları, ancak NLR'leri aktive eden endojen sitoplazmik değişimleri indükleyerek etki edebilecekleri bildirilmektedir. Sitozoldeki sensör proteinlerin PAMP'ları tanıması direk indüksiyona yol açmaktadır. Enfeksiyon ve hücre hasarı gibi fizyolojik olaylar endojen molekül miktarını değiştirmektedir. Sensörlerin sitozoldeki bu değişimleri algılaması indirek indüksiyona neden olmaktadır. Sitoplazmadaki potasyum (K⁺) iyon konsantrasyonlarındaki azalmanın bu mekanizmalardan biri olabileceği düşünülmektedir. Bakteriyel gözenek oluşturan bazı toksinlerin indüklediği hücrel K⁺ düzeylerindeki azalmanın inflamazom aktivasyonuna yol açabileceği ifade edilmektedir. Ekstraselüler ATP gibi inflamazom aktivatörlerinin çoğunun hücrelerden K⁺ akışının artmasına neden olarak, indirek K⁺ düzeyinin azalmasına yol açtığı bildirilmektedir. İnflamazom aktivasyonunda rol oynayan bir etken ise hücre hasarı sırasında sıklıkla üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROT) düzeyinin artmasıdır. İnflamazom-aktive edici kristaller, sitozol içine ROT salımı ile lizozomal membranlara zarar verilmesi aracılığıyla görev almaktadırlar. Bunların dışında mikrobiyal ürünler, çevresel veya endojen kaynaklı kristaller, lizozomal çatlaklar gibi hücrel stres ve enfeksiyonlarla ilişkili çeşitli sitoplazmik uyarılar aracılığıyla inflamazom aktivasyonunun gerçekleşebileceği düşünülmektedir (Mateen ve ark., 2016; Rich ve ark., 2018). İnflamazom aktivasyonu makrofajların ve dendritik hücrelerin piroptozuna neden olmaktadır. Piroptoz; hücrelerin şişmesi, plazma membran bütünlüğünün kaybı ve TNF, IL-1 β , IL-18, IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar mediatörlerin salınması ile karakterize programlanmış hücre ölümüdür. Piroptozun

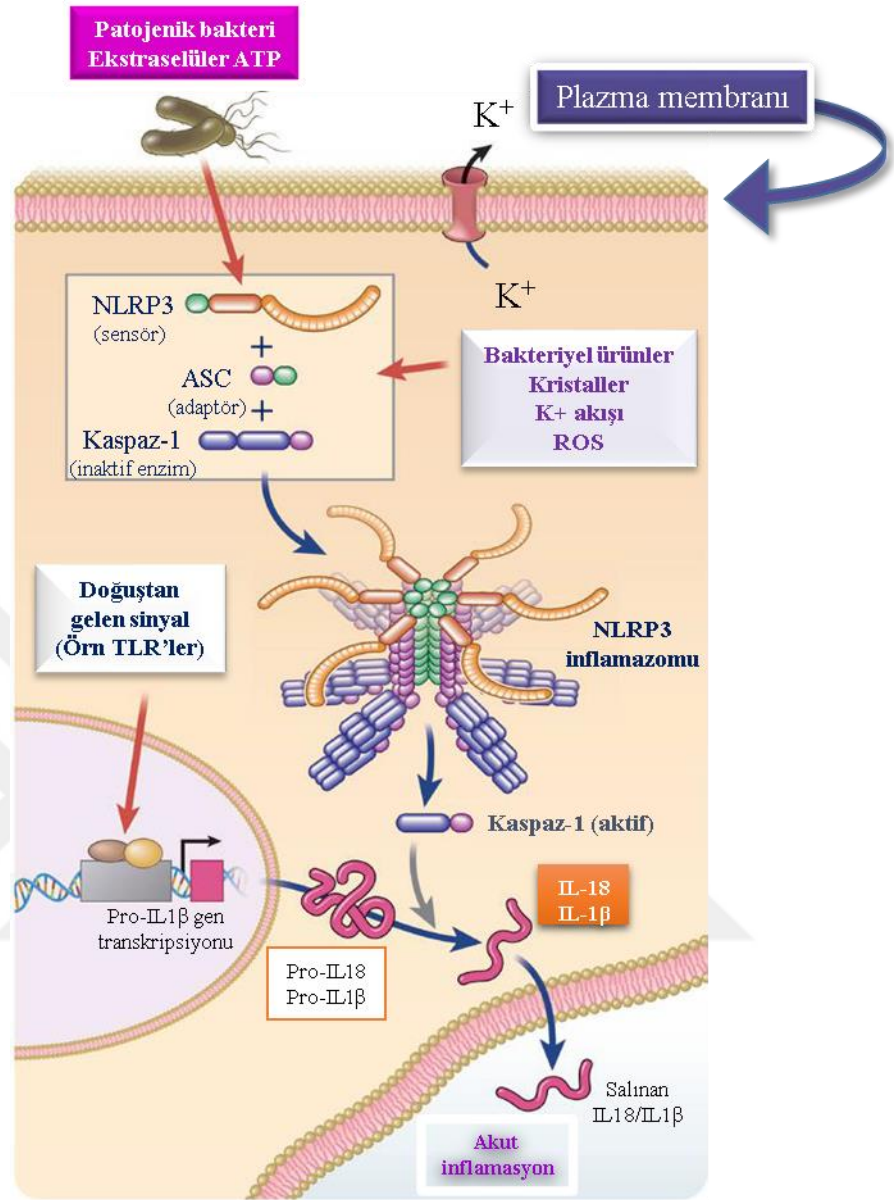
temel özelliklerinden biri membran gözeneklerinin oluşumuna yol açan gasdermin D adı verilen bir proteinin kaspaz aracılı yarılmasını sağlamaktır. Piroptoz, kaspaz-1 aracılı inflamazom aktivasyonu ile indüklenebilmektedir. İnflamazom aktivasyonu ayrıca IL-1 β , IL-18, IL-17 ve IFN- γ düzeylerini etkilemektedir (Rich ve ark., 2018; Wang ve ark., 2014; Yang ve ark., 2016; Young-Su, 2018).

Sensörlerin inflamazom aktivasyonuna yol açacak etkenleri algılamasından sonra, ortak yapısal domainler arasındaki homotipik etkileşimler aracılığıyla proteinler birbirine bağlanabilmekte, böylece inflamazom kompleksi oluşmaktadır. Bir ligandın bağlanmasından sonra birçok NLR proteini, oligomer oluşturmak üzere etkileşmektedir. Oligomerdeki her bir NLR proteini, ASC adaptör proteini bağlamaktadır. ASC'nin NLR proteinleri gibi sensör moleküllere bağlanması, yapının konformasyona uğramasına neden olmaktadır. Sitozoldeki diğer ASC moleküllerinin yapı değişimleri indüklenmektedir. Bu etkileşimler ile inaktif prekürsör kaspaz-1 (pro-kaspaz-1) kümelenmekte ve aktivasyon sonucu aktif kaspaz-1 oluşmaktadır. Kaspaz-1'in temel görevi IL-1 β ve IL-18'in inaktif sitoplazmik prekürsörleri pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in yarılmasını sağlamaktır. Kaspaz-1'in etkisi ile bu sitokinler olgun IL-1 β ve IL-18 haline dönüşmektedir. Sonrasında sitoplazmadan ayrılan IL-1 β ve IL-18 hücre membranına geçmekte, ayrıca çeşitli proinflamatuvar yolların indüklenmesine neden olmaktadır (Abderrazak ve ark., 2015; Jo ve ark., 2016).

İnflamazom aktivasyonu ile başlayan, IL-1 β ve IL-18 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin ve ROT'ların düzeylerinde artışla devam eden sürecin çeşitli inflamatuvar hastalıklarda rolü olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda romatoid artrit başta olmak üzere, otoimmün hastalıkların oluşum ve gelişiminde inflamazomların etkili olabileceği bildirilmektedir. Özellikle NLRP3 inflamazomu bu hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Henüz patogenezi aydınlatılamamış, kesin ve etkin tedavisi bulunamamış kompleks bir hastalık olan romatoid artrit mekanizmasının aydınlatılabilmesi için bir çok araştırma yürütülmektedir. Bu amaçla romatoid artrit hastalarından alınan kan ve sinoviyal sıvı örnekleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Choulaki ve ark., 2015; Guo ve ark., 2018; Lamkanfi ve Dixit, 2012; Wang ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2016).

1.1.4.4.2.1. NLRP3 İnflamazomu

NLRP3 inflamazomu, birçok inflamatuvar cevabın aktivasyonunda görev alan bir multi-protein kompleksidir. NLRP3 inflamazomu; sensör protein (NLRP3), adaptör protein (ASC) ve efektör protein (kaspaz-1) olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Sensör protein NLRP3'ün aktivatör etkeni algılaması yapının dimerizasyonuna neden olmaktadır. NLRP3 ve ASC'nin pyrin alanlarının etkileşimi ile yapıya ASC alınmaktadır. Sonrasında ASC ve kaspaz-1'de bulunan CARD alanlarının etkileşimi aracılığıyla yapıya kaspaz-1'i katılmaktadır. Pro-kaspaz 1'in oligomerizasyonu aktif kaspaz-1'e dönüşümü indüklemektedir. Kaspaz-1'in inflamazom yapısı üzerine dimerizasyonu, aktif enzim üretmek için yapının bölünmesi aracılığıyla otoaktivasyona olanak sağlamaktadır. Aktive kaspaz 1, prekürsör proteinler pro-IL-1 β ve pro-IL-18'in proteolitik olarak ayrılarak aktif formları IL-1 β ve IL-18'e dönüşmesine yol açmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokinler IL-1 β ve IL-18 düzeyinin artması ROT düzeyinin ve oksidatif stresin artmasına yol açmaktadır (Şekil 1.4) (Latz ve ark., 2013; Man ve Kanneganti, 2015).



Şekil 1. 4. NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu

NLRP3 inflamazomu çeşitli endojen ve ekzojen kaynaklar aracılığıyla aktive olabilmektedir. Dokularda aşırı miktarda endojen madde birikiminin NLRP3 inflamazomunu aktive edebileceği düşünülmektedir. Aterosklerozda makrofajlar içindeki kolesterol kristalleri; obezite ile ilişkili metabolik sendrom ve tip 2 diyabette adipoz dokudaki serbest yağ asitleri ve lipidler; Alzheimer hastalığında β -amiloidler ve çeşitli fizyolojik durumlarda ATP bu maddelerdendir. NLRP3 inflamazomunun

aktivasyonu bu hastalıkların patojenezine katkıda bulunabilecek ROT'ların ve IL'lerin düzeyinin artmasına ve hastalıkların daha aktif bir profilde ilerlemesine yol açmaktadır (Dixit, 2013; Liu ve Chan, 2014; Rheinheimer ve ark., 2017). NLRP3 inflamazomu endojen maddelerin yanı sıra ultraviyole ışınlar, silika, asbest gibi endüstriyel tozlar, çeşitli bakteriler, virüsler gibi PAMP'ları tanıyarak da aktive olabilmektedir. Bu aktivasyon sonucu ROT düzeyleri artmakta ve ekzojen maddelerin oluşturduğu hasar indüklenmektedir. Aktivasyonun artması ise oksidatif stres ve inflamasyonun artmasına yol açmaktadır (Jiang ve ark., 2018; Jo ve ark., 2012; Rheinheimer ve ark., 2017).

Inflamazom ilişkili genlerdeki mutasyonların neden olduğu NLRP3 inflamazomunun disregülasyonu; ailesel kriyopirine bağlı periyodik sendromlar, ailevi akdeniz ateşi, piyogenik artritis, piyoderma gangrenozum ve akne sendromu gibi hastalıkların patojenezine katkı sağlamaktadır. NLRP3 inflamazomundaki mutasyonların neden olduğu otoinflamatuvar hastalıklar ailesel kriyopirine bağlı periyodik sendromlar olarak adlandırılmaktadır. Bunlara ek olarak NLRP3 genindeki mutasyonların; Muckle Wells sendromu, ailevi soğuk otoinflamatuvar sendrom, neonatal başlangıçlı multisistem inflamatuvar hastalık gibi birçok otozomal dominant kalıtsal otoinflamatuvar hastalıkla ilişkili olabileceği ifade edilmektedir (Abderrazak ve ark., 2015; Rich ve ark., 2018).

Tüm yönleriyle değerlendirildiğinde NLRP3 inflamazomunun romatoid artritis başta olmak üzere; sistemik lupus eritematöz, sistemik sklerozis, skleroderma, inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi otoimmün hastalıklarda rolü olduğu bildirilmektedir. NLRP3 inflamazom yolağının özellikle romatoid artritte oldukça önemli bir yolak olduğu düşünülmekle birlikte, günümüze kadar yürütülen araştırmalarda kesin bir sonuca varılamamıştır. Farklı araştırmacılar birbirini desteklemeyen sonuçlar yayınladığından konunun aydınlatılabilmesi için yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Shen ve ark., 2018; Young-Su, 2018).

1.1.5. Hastalık Tanı Bulguları

Romatoid artrit tanısında kullanılabilecek bulgular; klinik bulgular, laboratuvar bulguları ve radyolojik bulgular olacak şekilde sınıflandırılabilir. Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) ve Avrupa Romatizma Birliği (EULAR)'ne göre bir hastaya romatoid artrit tanısı konulabilmesi için bazı kriterler bulunmaktadır. Çizelge 1.6'da yer alan kriterler göz önüne alınarak 6 veya daha fazla puan alan birey romatoid artrit hastası olarak değerlendirilmektedir (ACR/EULAR, 2010).

Çizelge 1. 6. 2010 ACR/EULAR romatoid artrit kriterleri

Eklem hasarı (0–5 puan)	Puan
Eklemlerde şişkinlik veya hassasiyet	
✓ 1 büyük eklem (omuz, dirsek, kalça, diz, ayak bilekleri)	0
✓ 2-10 büyük eklem	1
✓ 1-3 küçük eklem (Büyük eklemler dahil edilmez.)	2
✓ 4-10 küçük eklem (Büyük eklem tutulumları dahil edilmez.)	3
✓ >10 eklem (en az biri küçük eklem)	5
Seroloji (0-3 puan)	
Negatif: $\leq$ normalin üst sınırı (ULN)	
Düşük pozitif (+) : $>ULN - \leq 3 \times ULN$	
Yüksek pozitif (++) : $>3 \times ULN$	
✓ Negatif RF ve negatif ACPA	0
✓ Düşük-pozitif RF veya düşük-pozitif ACPA	2
✓ Yüksek-pozitif RF veya yüksek-pozitif ACPA	3
Akut faz parametreleri (0-1 puan)	
✓ Normal C-reaktif protein (CRP) ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESR)	0
✓ Anormal CRP veya anormal ESR	1
Semptomatik süre (0-1 puan)	
Hastanın herhangi bir ekleminde tesbit ettiği semptomların maksimum süresini ifade eder.	
✓ <6 hafta	0
✓ ≥ 6 hafta	1

1.1.5.1. Klinik Bulgular

Kronik, poliartiküler bir hastalık olan romatoid artrit öncelikle el, el bilekleri ve ayaklarda, sonrasında sinoviyal eklemlerde tutulumu neden olmaktadır. Hastaların önemli bir kısmında eklem tutulumundan önce yorgunluk, halsizlik, hafif ateş, kilo kaybı gibi bulgular görülmektedir. Kişiden kişiye değişen bir klinik tablo ile karakterize hastalığın ilk yıllarında eklemlerde ağrı, şişlik, ısı artışı görülürken ilerleyen yıllarda eklemlerde işlev kaybı ortaya çıkmaktadır. Hastaların önemli bir kısmında eklem tutulumlarının yanı sıra diğer organ ve sistemleri etkileyen sistemik tutulumlar da görülmektedir (Angelotti ve ark., 2017).

1.1.5.1.1. Eklem Bulguları

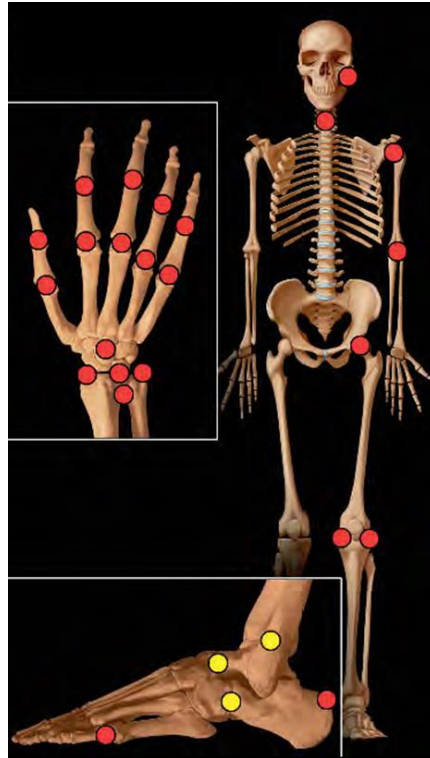
Artiküler ve periartiküler kemik yıkımının yanı sıra kıkırdığın inflamatuvar degradasyonuna yol açan romatoid artrit, bu özellikleri ile diğer artrit türlerinden ayrılmaktadır. Sabahları eklemlerde oluşan inflamasyona bağlı olarak gelişen ve bir saatten uzun süren sabah tutukluğu romatoid artrit inflamatuvar olmayan eklem hastalıklarından ayrılmasını sağlamaktadır (Sierakowski ve Cutolo, 2011). Hastalığın fiziksel muayene bulguları eklemlerde şişlik, ısı artışı ve hassasiyet olup; erken dönemde öncelikle küçük eklemler etkilenmektedir. Eklem bulguları başlangıçta el bilekleri, metakarpofalangeal ve proksimal interfalangeal eklemlerde ortaya çıkmaktadır (Şekil 1.5) (Manaster, 2016).



- (A) Eklem normal; korteks, kıkırdak, kemik yoğunluğu ve kapsül düzgün.
 (B) Sinovit ve efüzyon ile karakterize erken dönem eklemi.
 (C) Korteksin belirsiz hale geldiği nokta-çizgi paterniyle karakterize jukstaartiküler osteopeni
 (D) Kemikte marjinal erozyonlar ve kıkırdakta incelme
 (E) Kıkırdak bozuklukları boyunca uzanan subkondral erozyonlar ve ilerlemiş osteopeni
 (F) Hastalığın son evresinde görülen hokka kalem-içi deformite ile karakterize mutilan artrit

Şekil 1. 5. Romatoid artrit hastalığına bağlı olarak görülen eklem deformasyonları

Sonrasında ayak bileği, dirsek, omuz, diz ve kalça eklemleri etkilenmektedir. Temporomandibuler, sternoklavikuler, krikoaritenoid eklem tutulumu nadir olarak görülmektedir. Genellikle servikal 1-2 eklemi dışında omurgada ve distal interfalangeal eklemlerde tutulum görülmemektedir. Kronik romatoid artritte bazı hastaların el ve ayaklarında kalıcı deformiteler geliştiği bildirilmektedir (Şekil 1.6) (Manaster, 2016; Smolen ve ark., 2018).



Kırmızı noktalar en sık, sarı noktalar daha nadir görülen tutulumları şematize etmektedir.

Şekil 1. 6. Romatoid artrit hastalığında en çok görülen eklem tutulumları

1.1.5.1.2. Eklem Dışı Bulgular

Sistemik otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit sadece eklemlerde değil; göz, akciğer, kalp gibi birçok organ ve dokuda tutulumu neden olmaktadır. Bu tutulumlar bazen ölüme kadar giden önemli sonuçlara yol açmaktadır (Çizelge 1.7).

Çizelge 1. 7. Romatoid artrit hastalığına bağlı olarak gelişen eklem dışı tutulumlar

Organ / Sistem	Komplikasyon
Boşaltım Sistemi	Glomerulonefrit (Cojocar ve ark., 2010)
Cilt	Romatoid nodüller, vaskülit, dermatit (Ruben ve Connolly, 2014; Tilstra ve Lienesch, 2015)
Ekzokrin Bezleri	İkincil Sjögren sendromu (He ve ark., 2013)
Göz	Keratokonjonktivit, keratit, kornea ülseri, koroidit, sikka sendromu, sklerit, episklerit, episkleral nodüller (Artifoni ve ark., 2014; Zlatanović ve ark., 2010)
Kardiyovasküler Sistem	Kalp yetmezliği, miyokard infarktüsü, miyokardit, endokardit, perikardit, valvüler fibroz (Voskuyl, 2006; Zegkos ve ark., 2016) Anemi, Felty sendromu, vaskülit (Cojocar ve ark., 2010; Makol ve ark., 2015)
Gastrointestinal Sistem	Akut faz cevabında artış, anemi (He ve ark., 2013)
Kas-İskelet Sistemi	Osteoporoz (Choi ve ark., 2018), sarkopeni (Ngeuleu ve ark., 2017)
Sinir Sistemi	Anksiyete, depresyon, stres, yorgunluk ve bilişsel bozulma (DeQuattro ve Imboden, 2017; Wartolowska ve ark., 2012)
Solunum Sistemi	Fibrozis, plöretik ve pulmoner nodüller (Koduri ve ark., 2010; Marigliano ve ark., 2013; Zulma ve ark., 2015)

Romatooid Nodüller: Romatooid nodüller romatooid artrit en sık görülen eklem dışı tutulumlarından biridir. Seropozitif hastalarda daha sık ortaya çıkan subkutan nodüller hastalığın en karakteristik lezyonudur. Daha çok dirsek, kol, diz, ayak gibi basınç uygulanan bölgelerde görülmekle birlikte akciğer, kalp ve göz gibi organlarda da ortaya çıkabilmektedir. Genellikle birkaç mm ile birkaç cm arasında değişen boyutlarda, ağrısız, sert yapılar olan nodüller hastalık aktivitesinin azalmasına bağlı olarak kaybolabilmektedir. Ancak metotreksat tedavisinin hastalık aktivitesinin azaldığı durumlarda dahi, nodül boyutlarında büyümeye neden olabileceği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Tilstra ve Lienesch, 2015).

Pulmoner Tutulum: Romatooid artrit hastalarında pulmoner tutulum oldukça önemlidir. Vakaların yaklaşık %10-20'sinde solunumsal semptomlar artiküler semptomların başlangıcından önce ortaya çıkmaktadır. Solunuma bağlı bulguların çoğu hastalığın ilk 5 yılında görülmektedir. Plöritis, difüze intersitisyel fibrozis, intrapulmoner nodüller romatooid artritte sıklıkla görülen solunum sorunları arasında yer almaktadır. Bu sorunlar; parankim, plevra, solunum yolu veya damar sistemini etkileyen çeşitli koşullara bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. İntersitisyel fibrozis; seropozitif olup, sigara içen romatooid artrit hastalarında daha sık ortaya çıkmaktadır. Romatooid artrite bağlı olarak plevral sıvıda glukoz seviyesi çok düşüktür. Bu hastaların akciğer hacmi ve karbonmonoksit difüzyon kapasitesinde azalma görülmektedir (Koduri ve ark., 2010; Zulma ve ark., 2015).

Kardiyak Tutulum: Romatooid artrit hastalarında en sık görülen kardiyak tutulum asemptomatik perikardittir. Perikardit daha çok nodüler romatooid artriti olan erkek hastalarda görülmektedir. Romatooid artrite bağlı kardiyomiyopati, koroner vaskülit, aritmi gibi kardiyak problemler ortaya çıkmaktadır. Romatooid artrit ayrıca ateroskleroz ve kalp krizine yatkınlığı arttırdığı düşünülmektedir (Voskuyl, 2006).

Göz Tutulumu: Romatooid artritte göz tutulumuna bağlı olarak keratokonjunktivitis sikka, episklerit, sklerit, korneal değişiklikler ve retinal vaskülit görülebilmektedir. Kuru göz ile belirti veren keratokonjunktivitis sikka romatooid artrit

hastaları arasında en sık görülen göz tutulumu olup, hastaların yaklaşık %10'unda ortaya çıkmaktadır (Zlatanović ve ark., 2010).

Sjögren Sendromu: Sjögren sendromu ağız ve gözde kurulukla karakterize, salgı yapan gözyaşı ve tükürük bezlerinde tutulumu neden olan, genellikle 45-55 yaş grubundaki kadınlarda daha fazla görülen kronik otoimmün bir hastalıktır. Romatoid artrit hastalarının yaklaşık %4-30'unda ikincil otoimmün hastalık olarak gelişmektedir (He ve ark., 2013).

Hematolojik Tutulum: Anemi romatoid artrit hastalarında en sık saptanan hematolojik tutulum biçimi olmakla birlikte bu hastalarda nötropeni, trombositopeni, eozinofili de görülebilmektedir. Romatoid artrit hastalarında anemi oluşum nedenleri arasında hastalık aktivitesi, gastrointestinal kanamalar, kemik iliği depresyonu ve kullanılan ilaçların neden olduğu yan etkiler sayılabilmektedir. Hastalık aktivitesi arttıkça aneminin şiddeti artmaktadır (Cojocar ve ark., 2010).

Nörolojik Tutulum: Nörolojik komplikasyonların çoğu, santral veya periferik sinir sistemlerinin etkileşimine neden olan eklem inflamasyonu ve hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Periferik nöropati, servikal miyelopati ve vaskülit romatoid artritlilerde görülen nörolojik tutulumlardır (DeQuattro ve Imboden, 2017).

Renal Tutulum: Romatoid artrit hastalarında renal tutulum nadir olarak görülmektedir. Glomerulonefrit bu hastalarda en sık rastlanan böbrek hasarıdır. Kullanılan ilaçlar veya amiloidoza bağlı olarak proteinüri gelişebilmektedir (Cojocar ve ark., 2010).

1.1.5.2. Laboratuvar Bulguları

Günümüzde hastalara romatoid artrit tanısının konulabilmesi amacıyla çeşitli laboratuvar analizleri yapılmakta, inflamasyon biyogöstergeleri ve çeşitli otoantikor

düzeyleri ölçülmektedir. Ancak direk tanı amaçlı kullanılabilecek hastalığa özgün tek bir laboratuvar bulgusu bulunmamaktadır. Ayrıca bu otoantikorların düzeylerinin farklı otoimmün hastalıklarda da değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle hastalığa özgün biyogösterge bulabilmek amacıyla çalışmalar devam etmektedir (Song ve Kang, 2010).

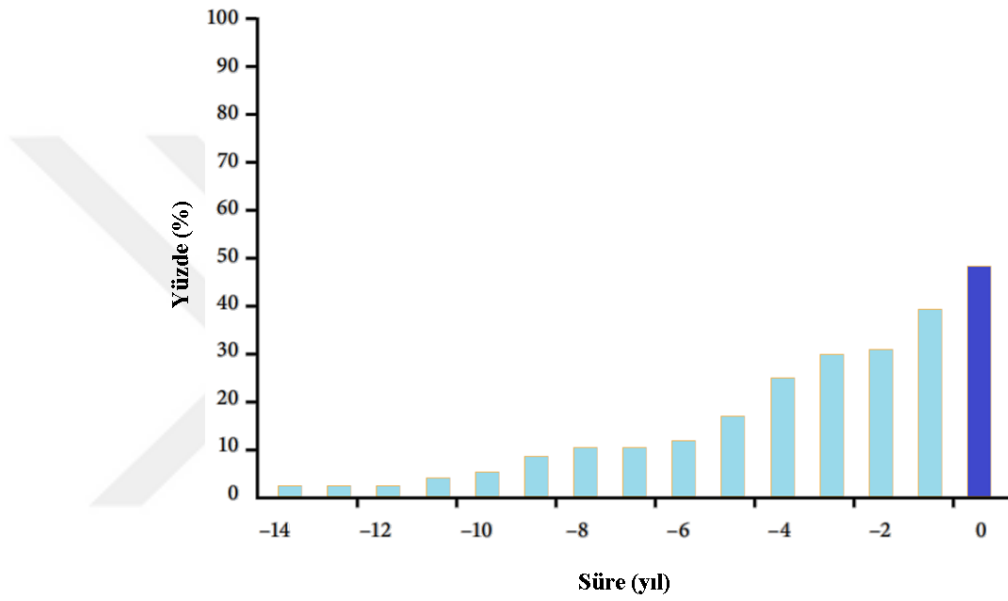
ACPA: Romatoid artrit tanısına katkı sağlayan bir testtir. Bu hastalık için RF'den daha özgün bir biyogöstergedir. ACR'ye göre ACPA-pozitif bireylerin yaklaşık %95'inde romatoid artrit görüldüğü, erken dönem romatoid artrit hastalarının ise yaklaşık yarısının ACPA-pozitif olduğu bildirilmiştir. Ancak ACPA-negatif hastalarda da romatoid artrit gelişebildiğinden, bu hastalığın tanısında tek başına kullanılamamaktadır.

CRP: Vücuttaki inflamasyon hakkında bilgi veren bir testtir. Yüksek CRP düzeyi vücutta akut enfeksiyon veya inflamasyon varlığını göstermektedir. Romatoid artrit için özgün bir biyogösterge olmayıp, düzeyi farklı inflamatuvar hastalıklarda ve inflamasyona bağlı koşullarda artabildiğinden hastalığın tanısında tek başına kullanılamamaktadır.

ESR: 1 saatte kırmızı kan hücrelerinin ne kadarının bir araya gelerek dibe çöktüğünü (sedimente olduğunu) ölçerek vücuttaki inflamasyon hakkında bilgi veren bir testtir. Yüksek ESR düzeyi, vücutta inflamasyonun fazla olduğuna işaret etmektedir. Ancak inflamasyonun bulunduğu bölge veya oluşum nedeni hakkında bilgi vermediği için romatoid artrit tanısında tek başına kullanılamamaktadır.

RF: İmmünglobulin G'nin Fc kısmına karşı oluşmuş makroglobulin tipinde antikorlardır. Aktif romatoid artrit hastalarının yaklaşık %80'inin RF pozitif olduğu bildirilmiştir. Genellikle ileri yaşlarda olmak üzere romatoid artrit olmamasına rağmen RF pozitif olan bireyler de bulunmaktadır. Ayrıca RF-negatif hastalarda da romatoid artrit gelişebildiğinden, bu hastalığın tanısında tek başına kullanılamamaktadır. Hastalığın başlangıcında veya remisyon dönemlerinde RF düzeyi azalabilmektedir

(Nielen ve ark., 2006). Bazı hastaların romatoid artrit tanısı almadan önce RF veya ACPA pozitif oldukları bildirilmiştir. Klinik tanı konulmadan önce RF veya ACPA pozitifliğinin süresi ile romatoid artrite yakalanan hastaların yüzde olarak ifadesi Şekil 1.7’te gösterilmiştir. Hastaların yaklaşık %10’unun klinik olarak romatoid artrit teşhisi almadan 6 sene önce RF veya ACPA pozitif olduğu bildirilmektedir. Teşhisten önceki 1-2 seneye bakıldığında ise bu oranın %25’e yükseldiği görülmektedir (Emery, 2015).



Şekil 1. 7. Klinik tanıdan önce RF/ACPA pozitiflik süresi ile romatoid artrit hasta sayısı ilişkisi

Antinükleer Antikor (ANA): Otoimmün hastalıkları taramada kullanılan bir biyogöstergedir. Sistemik lupus eritematozus hastalarının yaklaşık %95’i ANA pozitifken, romatoid artrit hastalarında bu oranın %25-30’lara düştüğü bildirilmiştir. ANA pozitiflik genellikle otoimmün bir hastalığa işaret etmekle birlikte, pozitif bireylerin %10’unda bilinen otoimmün bir hastalık bulunamadığı ifade edilmiştir (Birtane ve ark., 2017).

1.1.5.3. Radyolojik Bulgular

Eklemleri değerlendirmek amacıyla röntgen veya manyetik rezonans görüntüleme yöntemleri kullanılabilir. Tutulan eklem çevresinde simetrik yumuşak doku şişlikleri, juksta-artiküler osteoporoz ve erozyonlar radyolojik görüntüleme yöntemleriyle tesbit edilebilen erken dönem değişiklikleridir. Geç dönemde yumuşak doku şişliği azalmakta, eklem aralığı daralmakta ve klinik tablo osteoporoza benzerlik göstermektedir. Ellerde düğme iliği deformiteleri, ayaklarda metatars erozyonlar görülmektedir. Diz grafilerinde kıkırdak kaybı, kalça ve omuz grafilerinde erozyonlar, eklem aralığında daralma ve sinoviyal kistler görülebilmektedir (Şekil 1.8) (Narváez ve ark., 2010).

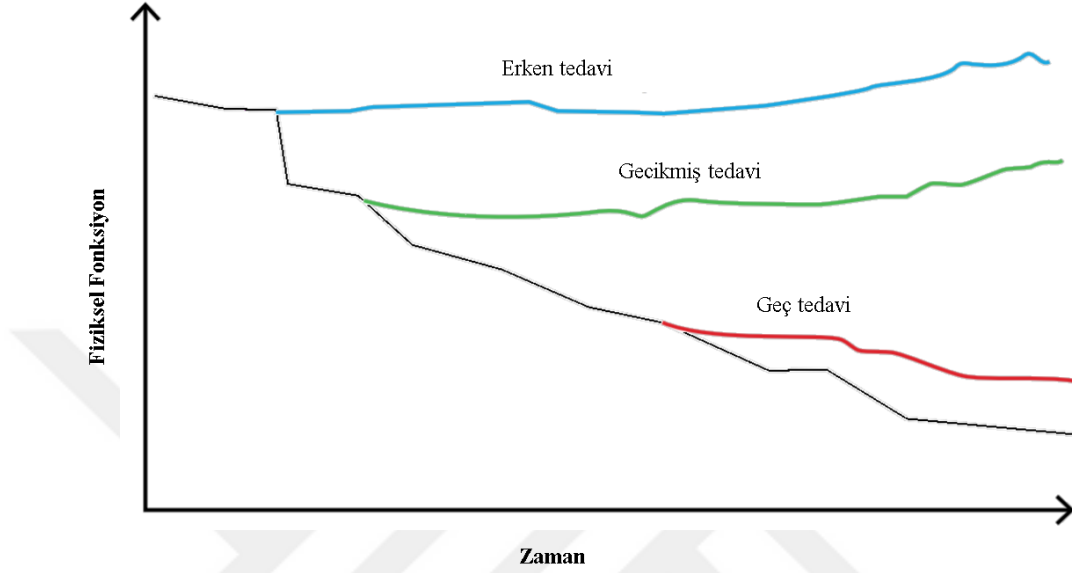


Şekil 1. 8. Romatoid artrit hastalığında eklemlerin röntgen ve manyetik rezonans görüntüleri

1.1.6. Tedavi

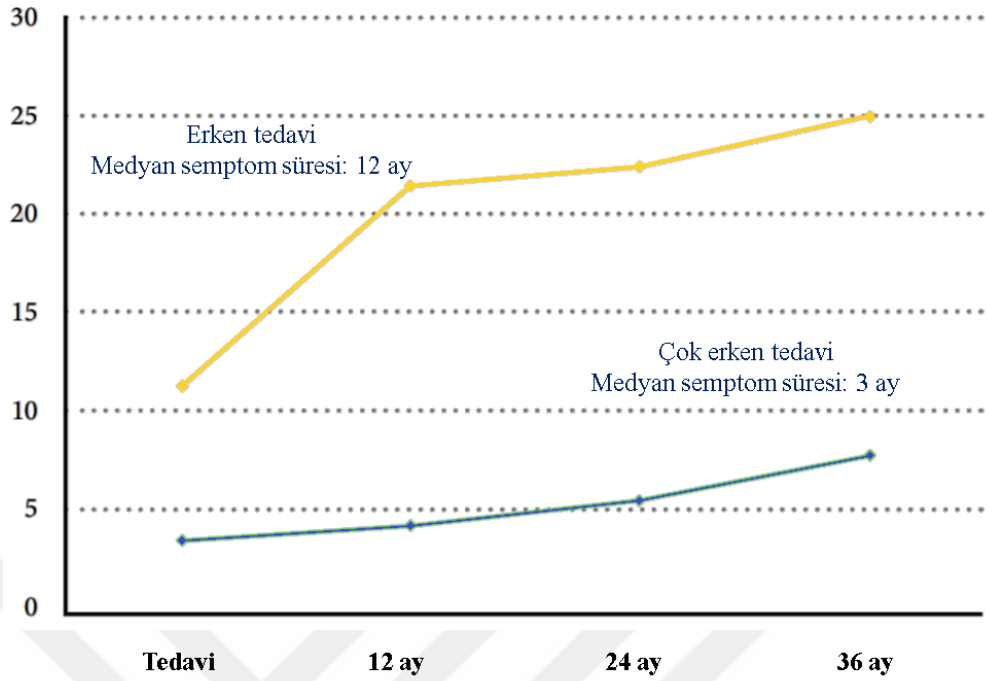
Romatoid artrit tedavisi farmakolojik ve farmakolojik olmayan olarak ikiye ayrılabilir. Farmakolojik tedavi farmakoterapi olarak da adlandırılmakta ve ilaç tedavisini temel almaktadır. Non-farmakolojik tedavi genellikle cerrahi müdahaleleri içermektedir. Hastalığın teşhisinin erken evrede yapılması dolayısıyla tedaviye erken başlanması hastalığın klinik seyri için oldukça önemlidir. Hastalık erken dönemde etkin bir şekilde tedavi edilmediğinde fiziksel fonksiyon kaybı artmaktadır. Geç

dönemde fonksiyon kaybı kronikleşmekte ve sakatlıklar kalıcı hale gelmektedir (Şekil 1.9) (Emery, 2015; McInne ve Schett, 2017).



Şekil 1. 9. Romatoid artrit hastalığında erken ve geç tedavinin fiziksel fonksiyon üzerine etkisi

Romatoid artrit tedavisinin başlangıcında yaşanan kısa süreli gecikmeler dahi ilerleyen dönemlerde hastalığın seyrini önemli düzeyde etkilemektedir. Bu nedenle hastalığın tanı ve tedavisinin erken dönemde yapılması oldukça önemlidir. Çok erken dönemde romatoid artrit tedavisine başlayan hastalar, tedaviye erken dönemde başlayan hastalarla kıyaslanmış; hastalığın düzeyi eklemlerin Larson radiyografik skoruna göre belirlenmiştir. Tedavide 9 aylık gecikmenin önemli düzeyde hasara neden olduğu, hastalarda eklem hasarı skorunun artmasına yol açtığı ifade edilmiştir. Tedaviden sonraki 3 yıl kıyaslandığında erken dönemde (medyan semptom süresi 12 ay) tedaviye başlayan hastalardaki eklem skoru, çok erken dönemde tedaviye (medyan semptom süresi 3 ay) başlayan hastalardan yaklaşık 5 kat fazla bulunmuştur. Ayrıca çok erken dönemde tedaviye başlayan hastalarda romatoid artrit ilerleme eğim grafiğinin düzleştiği görülmüştür (Şekil 1.10) (Emery, 2015).



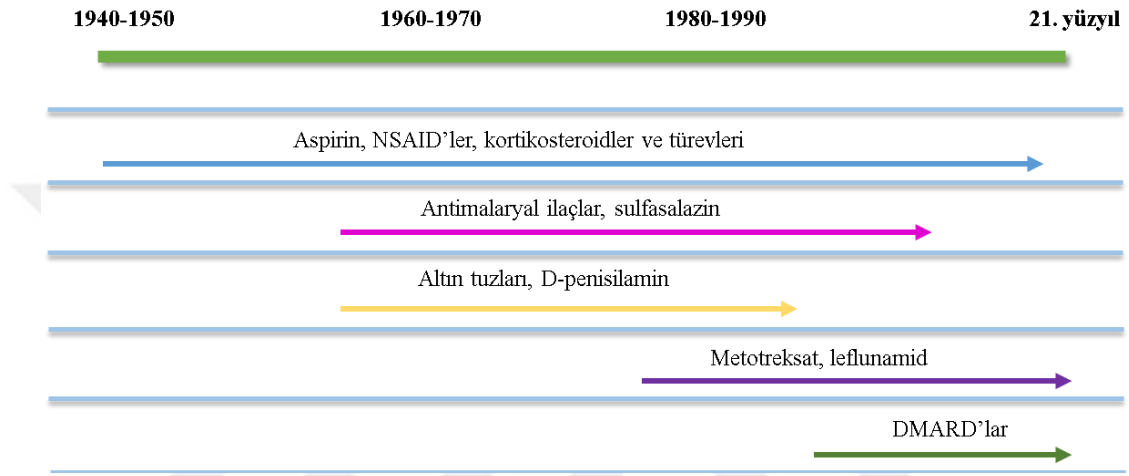
Şekil 1. 10. Romatoid artrit hastalığında erken tedavinin hastalığın ilerlemesi üzerine etkisi

1.1.6.1. Farmakoterapi

Romatoid artrit tedavisinde temel olarak üç ilaç grubu kullanılmaktadır. Bunlar non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler), kostikosteroidler ve hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaçlardır (DMARD'lar). NSAİİ'ler ve kortikosteroidler etkilerini kısa sürede gösterirken, DMARD'ların etki göstermesi için genellikle birkaç haftadan birkaç aya kadar zaman geçmesi gerekmektedir. Metotreksat, sulfasalazin, leflunomid, etanersept, infliksimab, adalimumab, sertolizumab pegol, golimumab, abatasept, rituksimab, tosilizumab, anakinra ve antimalaryal ilaçlar DMARD'lar arasında yer almaktadır. Azatiyopürin ve siklosporin diğer immünomodulatorlerdendir (Kahlenber ve Fox, 2011; Simon, 2000).

Yıllar içinde romatoid artrit tedavisinde kullanılan ilaçlar değişiklikler göstermiştir. Ortaya çıkan ağır yan etkiler bazı ilaçların tedavi protokolünden çıkmasına neden olmuştur. Aspirin, NSAİİ'ler, kortizon ve türevleri 1940'lı yıllardan

beri kullanılmaktadır. Altın tuzları ve D-penisilamin kullanımı 1950'li yıllarda başlamış ancak yan etkilerinin fazlalığı nedeniyle 1990'lı yıllarda azalmıştır. 1980'li yıllarda tedaviye DMARD'lardan metotreksat ve leflunamid girmiştir. 1990'lı yıllardan sonra ise tedavi büyük yönde değişmiş ve biyolojik DMARD'lar kullanılmaya başlanmıştır (Şekil 1.11) (Entezami ve ark., 2011; Mottram, 2003).



Şekil 1. 11. 1940'lardan günümüze romatoid artrit hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlar

Günümüzde romatoid artrit tedavisi ACR tedavi şeması temel alınarak belirli ilkelere göre uygulanmaktadır. Klinisyen hastaya romatoid artrit tanısını koyduktan sonra uygun ilaç grubu seçilerek tedaviye başlanmakta, tedaviye uygun yanıt alınmadığında yeni ilaç kombinasyonları denenmektedir. Ancak uygulanan tedaviler hastaların tamamında etkin bir iyileşme sağlayamadığından hastalıkta etkili olabilecek yeni yolaklar araştırılmakta ve bu yolakların inhibe olmasını sağlayacak yeni ilaç etken maddeleri geliştirmek amacıyla çalışmalar devam etmektedir (Çizelge 1.8) (Alam ve ark., 2017; Singh ve ark., 2016).

Çizelge 1. 8. Romatoid artrit hastalığında rol oynayan muhtemel mediyatörler ve bu mediyatörlerin inhibisyonunu sağlayan ilaç etken maddeleri

Mediyatör Sitokin	İlaç
TNF-α	Adalimumab, Certolizumab pegol, Etanercept, Golimumab Infliksimab
IL- 1α ve IL-1β	Anakinra
IL-6	Tosilizumab ve Siltuksimab Klazakizumab, olokizumab, sarilumab ve sirukumab etken maddelerinin faz çalışmaları devam ediyor.
IL-7, IL-15	Faz çalışmaları devam ediyor.
IL-17A, IL-17F	Faz çalışmaları devam ediyor.
IL-18	Faz çalışmaları devam ediyor.
IL-21	Faz çalışmaları devam ediyor.
IL-23	Faz çalışmaları devam ediyor.
IL-32	Çalışma planlamaları devam ediyor.
IL-33	Faz çalışmaları devam ediyor.
Büyüme ve Farklılaşma Faktörleri	
BLyS, APRIL	Faz çalışmaları devam ediyor.
GM-CSF ve M-CSF	Faz çalışmaları devam ediyor.
RANKL	Faz çalışmaları devam ediyor.
Intraselüler Sinyal Molekülleri ve Transkripsiyon Faktörleri	
JAK	Tofasinitib
BTk	Ibrutinib
Dalak tirozin kinaz	Faz çalışmaları devam ediyor.
Fosfatidlinositol 3-kinaz	Faz çalışmaları devam ediyor.
NF-κB	Çalışma planlamaları devam ediyor.

1.1.6.1.1. NSAİİ'ler

Genellikle organik asit yapısında olan; anti-inflamatuvar, analjezik ve anti-piretik etki gösteren bir ilaç grubudur. Asetilsalisilik asit bu grup ilaçların prototipidir. Yarı ömürlerine göre kısa ve uzun etkili olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadırlar. Akut inflamasyonu ve analjeziyi azaltmak amacıyla kısa etkili olanlar, romatoid artrit gibi kronik iltihabi durumlarda uzun etkili olanlar kullanılmaktadır. Siklooksijenaz 1 ve 2 enzimlerini inhibe ederek inflamasyona aracılık eden siklooksijenaz ürünlerinin sentezini azaltıp, prostaglandin üretiminin inhibisyonuna yol açarak etki göstermektedirler. Araşidonik asitten türetilen prostoglandinler, inflamatuvar yanıt gibi patojenik mekanizmalara aracılık ederek vücudun homeostatik fonksiyonlarını sürdürmesine katkı sağlamaktadır. Prostoglandinler böbreklerde kan akışının düzenlenmesinde rol oynadıklarından, bu grup ilaçlar genellikle tuz retansiyonu, ödem ve artmış kan basıncına yol açarak böbrek fonksiyonlarının bozulmasına, kanama süresinde uzamaya, kardiyovasküler hastalık risklerinin artmasına neden olmaktadır. Anti-inflamatuvar etkilerinden bağımsız olarak hafiften orta şiddete kadar analjezik etki göstermektedir. Bazı romatoid artrit hastalarında düşük dozda NSAİİ'ler etkili olurken, bazılarında inflamasyonu azaltmak için daha yüksek dozlar gerekmektedir (Varga ve ark., 2017; Wongrakpanich ve ark., 2018).

1.1.6.1.2. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler anti-inflamatuvar ve immünregulator etkili ilaçlardır. Oral, intravenöz, intramüsküler olarak veya direk eklem içine enjeksiyon yoluyla uygulanmaktadır. Hastalığın erken evresinde, DMARD'ların anti-inflamatuvar etki oluşturmamasını bekleme sürecinde geçici olarak yardımcı tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca NSAİİ'ler ve DMARD'lar ile kontrol altına alınamayan şiddetli romatoid artrit hastalarında yardımcı tedavi olarak kullanılabilir. Kortikosteroid kullanımı sonucunda kilo artışı ve yüz çevresinde artan yağ birikimi, yanakların kızarması ile karakterize “aydede yüz”e benzer cushingoid görünüm ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca ilaç kullanımına bağlı olarak kan basıncı ve kan şekerinde

yükselme, kemiklerde avasküler nekroz ve osteoporoz riskinde artış görülebilmektedir (Bijlsma ve ark., 2015; Hellgren ve ark., 2010).

1.1.6.1.3. DMARD'lar

Romatoid artritte akut faz reaktanlarının artması, inflamasyonun artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle hastalığın tedavisinde inflamasyonda görev alan sitokinler ve reseptörlerini hedefleyen biyolojik tedavi ajanları üretilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır. İmmun sistem üzerine oldukça etkili ilaçlar olan DMARD'ların potansiyel yan etkileri kullanımlarını kısıtlamaktadır. İlacın kullanımı neticesinde ciltte döküntüler, mide bulantısı, kusma, stomatit gibi hafif yan etkilerin yanı sıra yaşamı tehdit eden önemli yan etkiler de ortaya çıkabilmektedir. Geleneksel DMARD'lar; gastrointestinal bozukluklar, hepatotoksisite, kemik iliği supresyonu, nötropeni, intersitisyel akciğer hastalığı gibi solunum sistemi hastalıklarına yol açabilmektedir. Biyolojik ajanlar ise ölümcül viral, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Benjamin ve Lappin, 2019).

DMARD'lar sentetik ve biyolojik DMARD'lar olarak iki temel gruba ayrılmaktadır. Sentetik DMARD'lar geleneksel ve hedefli sentetikler; biyolojik DMARD'lar TNF- α inhibitörleri, IL-1 ve IL-6 reseptör antagonistleri, T ve B hücrelerini hedef alanlar olarak gruplandırılmaktadır (Çizelge 1.9) (Smolen ve ark., 2018) .

Çizelge 1. 9. DMARD’ların sınıflandırılması

Sentetik DMARD’lar	
Geleneksel Sentetik DMARD’lar	Metotreksat, sulfasalazin, leflunomid, klorokin, hidroksiklorokin, altın tuzları, azatiyopürin, siklosporin A
Hedefli Sentetik DMARD’lar	<i>JAK1 ve JAK2 İnhibitörleri:</i> Barisitinib <i>JAK1, JAK2 ve JAK3 İnhibitörleri:</i> Tofasitinib
Biyolojik DMARD’lar	
TNF- α İnhibitörleri	Adalimumab, sertolizumab, etanersept, golimumab, infliksimab
IL-1 Reseptör Antagonistleri	Anakinra
IL-6 Reseptör Antagonistleri	Tosilizumab, sarilumab
T-hücresini Hedef Alanlar	Abatasept (CTLA-4 füzyon proteini)
B-hücresini Hedef Alanlar	Rituksimab (anti-CD20)
Biyobenzer DMARD’lar	

DMARD’ların etkilerinin başlama süresi ve etkinlik oranı değişiklik göstermektedir. Tedaviye karar verirken hastalığın ve ilaçların bu özellikleri göz önüne alınmaktadır (Çizelge 1.10) (Emery, 2015; Simon, 2000).

Çizelge 1. 10. Metotreksat ve diğer DMARD’ların etkinlik oranları ve etki başlama süreleri

İlaç	Etkinin Başlama Süresi	Etkinlik Oranı (%)
Metotreksat	6-8 hafta	70
Leflunomid	2-3 ay	50
Hidroksiklorokin	2-6 ay	30-50
Sulfasalazin	2-3 ay	30

1.1.6.1.3.1. Sentetik DMARD'lar

1.1.6.1.3.1.1. Metotreksat

Birçok romatoid artrit hastası için tercih edilen ilk DMARD metotreksattır. Romatoid artrit semptomlarının azaltılmasını sağlayan metotreksatın etki oluşturma süresi nispeten kısadır. Folik asit metabolizmasında rol oynayan, folik asitin tetrahidrofolik asite indirgenmesinden sorumlu enzim dihidrofolat redüktazı inhibe ederek etki göstermektedir. T ve B-lenfositlerinin replikasyonu ve fonksiyonlarının inhibisyonu aracılığıyla anti-inflamatuvar ve immünsupresif aktivite oluşumuna katkı sağlamaktadır. Sinoviyal doku üzerine etki etmek; kan ve dokularda IL-1, IL-6, IL-8 gibi çeşitli sitokin düzeylerinin değişmesine yol açmaktadır (Çizelge 1.11) (Emery, 2015). Karaciğer enzimlerinde artış, ülseratif stomatit, siroz, interstisyel pnömoni, alopesi ve şiddetli miyelosupresyon en sık görülen yan etkileridir (Brown ve ark., 2016; Friedman ve Cronstein, 2019).

Çizelge 1. 11. Metotreksatın etki mekanizması

Etki	Etki Mekanizması
Enzimler	Dihidrofolat redüktaz enziminin inhibisyonu
	5-amino-1-β-D-ribofuranozil-imidazol-4-karboksamid inhibisyonu
	Adenozin salımında artma
	Siklooksijenaz-2 sentezinin indirek inhibisyonu
Sitokinler	IL-8 inhibisyonu
	IL-6 düzeylerinde azalma
	IL-1 aktivitesinde azalma
	Lökotrien B4 üretiminde azalma
	IL-4 ve IL-10 gen ekspresyonlarında artma
	Th1 gen ekspresyonunda artma
Sinoviyal doku	Monositik hücre büyümesinde azalma
	Sinoviyal matriks metalloproteinazlar üzerine indirek inhibitör etki

1.1.6.1.3.1.3. Leflunomid

Leflunomid bir izoksazol immünmodülatördür. Aktif metaboliti A771726, *de novo* pirimidin biyosentezinde görevli dihidroorotat dehidrogenaz enzimini inhibe ederek etki göstermektedir (Şekil 1.12) (Emery, 2015). Ayrıca sitokin ve tirozin kinaz inhibisyonuna neden olmaktadır. Genellikle metotreksat intoleransı olan veya metotreksatla tedavi edilemeyen hastalarda tercih edilmektedir. Lökopeni, diyare, bulantı, kusma en yaygın görülen yan etkileridir (Emery, 2015; Kahlenberg ve Fox, 2011).

1.1.6.1.3.1.4. Hidroksiklorokin

Antimalaryal bir ilaç olan hidroksiklorokin romatoid artrit tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Anti-inflamatuvar ve immünosupresif etki göstermektedir. Etki mekanizması kesin olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte klorokine benzer etki oluşturduğu, antijen sunumu üzerine etki gösterdiği düşünülmektedir. Anti-inflamatuvar etkisini; nötrofil ve eozinofillerin migrasyonu, histamin ve serotoninin etkisinin antagonize edilmesi ve prostaglandin sentezinin inhibisyonu aracılığıyla göstermektedir. Anoreksi, baş ağrısı, karın ağrısı, bulantı, kusma, deri döküntüleri en yaygın görülen yan etkileridir (Kahlenberg ve Fox, 2011).

1.1.6.1.3.1.5. Altın Bileşikleri

Altın bileşiklerinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, makrofaj üretimi ve peptid antijenler başta olmak üzere antijen oluşum süreçlerini etkilediği düşünülmektedir. 1990'lı yıllara kadar romatoid artrit tedavisinde kullanılan altın bileşikleri; kan tablosu, böbrekler ve cilt başta olmak üzere çeşitli doku ve organlarda oluşturdukları yan etkilerin fazlalığı, etkinliklerinin azlığı nedeniyle günümüzde tercih edilmemektedir (Burmester, 2001).

1.1.6.1.3.2. Biyolojik DMARD'lar

Romatoid artrit tedavisinde kullanılan NSAİİ'ler ve diğer immünomodülatör ilaçların yeterli olmaması sebebiyle yeni etken maddelerin sentezlenmesi ve yeni tedavi protokollerinin hazırlanması ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle inflamasyonda görev alan sitokinleri, sitokin reseptörlerini, antijen sunumunda rol oynayan kostimülatör molekülleri hedef alan yeni biyolojik tedavi ajanları üretilmesi amacıyla çeşitli çalışmalar yürütülmektedir. Biyolojik ajanlar veya biyolojik DMARD'lar olarak adlandırılan bu ilaçlar aktif-agresif seyreden romatoid artrit başta olmak üzere çeşitli artrit türlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Simon, 2000; Smolen ve ark., 2018).

1.1.6.1.3.2.1. TNF- α İnhibitörleri

TNF- α makrofaj ve lenfositler tarafından üretilen bir pro-inflamatuvar sitokindir. Romatoid artrit hastalarının eklemlerinde yoğun miktarda bulunan TNF- α , eklemlerde sinoviyal makrofajlar ve eklem sinoviyasına infiltre olan lenfositler tarafından lokal olarak üretilmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanan TNF- α inhibitörleri romatoid artrit tedavisi için kabul edilme sırasıyla etanersept, infliksimab, adalimumab, sertolizumab pegol ve golimumabdır (Listing ve ark., 2015; Moelants ve ark., 2013).

Tüm TNF- α inhibitörleri orta veya şiddetli düzeylerde enfeksiyon riskini arttırmaktadır. Üst solunum yolu enfeksiyonları, pnömoni, üriner sistem hastalıkları, cilt enfeksiyonları bu ilaçların en yaygın görülen yan etkileridir. Ayrıca kontrolle karşılaştırıldığında TNF- α inhibitörü kullanan hastalarda lenfoma görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir. Romatoid artrit, Non-Hodgkin lenfoma için tek başına bir risk faktörüdür. Bunun dışındaki malinitelerde TNF- α inhibitörü kullanımına bağlı artış görülmektedir (Ma ve Xu, 2013).

1.1.6.1.3.2.2. IL-1 Reseptör Antagonistleri

Günümüzde IL-1 antagonisti olarak etki gösteren ve piyasada bulunan tek preparat anakinradır. Anakinra; rekombinant, glikozillenmiş bir insan IL-1 antagonistidir. Amino terminalinde taşıdığı metiyonin ile doğal insan IL'den ayrılmaktadır. Etkisini; IL-1 α ve IL-1 β 'nın IL-1 reseptörüne bağlanmasını kompetitif olarak bloke ederek göstermektedir. Konjestif kalp yetmezliği ve nörotoksositeye neden olabilmektedir. Nötropeni, baş ağrısı, bulantı, diyare en yaygın görülen yan etkileridir (Bresnihan ve ark., 1998; Cohen ve ark., 2002; Smolen ve ark., 2018).

1.1.6.1.3.2.3. IL-6 Reseptör Antagonistleri

Tosilizumab; onaylanan ilk IL-6 inhibitörüdür. Spesifik olarak hem çözünmüş, hem membrana bağlı IL-6 reseptörlerine bağlanarak IL-6 aracılı sinyallemeyle inhibe ederek etki gösterir. İmmünglobulin G1 rekombinant hümanize anti-insan IL-6 reseptör monoklonal antikordur. IL-6 T hücre aktivasyonu, hepatik akut faz proteinleri ve immünglobulin salgılanmasının indüksiyonuna neden olmaktadır. Üst solunum yolu enfeksiyonları, lökopeni, baş ağrısı, baş dönmesi, hiperkolesterolemi, hipertansiyon en yaygın görülen yan etkileridir (Yoshida ve Tanaka, 2014).

1.1.6.1.3.2.4. T-hücresini Hedef Alanlar

Abatasept, T hücresi aktivasyonunda kostimülatör veya ikinci-sinyal blokörü olarak sınıflandırılan bir insan rekombinant füzyon proteinidir. Bir T hücresinin aktive olabilmesi ve immün yanıt oluşturabilmesi için antijen sunumunda görevli hücrelerin T hücresine iki sinyal göndermesi gerekmektedir. Bu sinyallerden biri antijenle birleşmiş MHC, diğeri ise CD80 veya CD86'dır. Abatasept CD80 ve CD86 molekülüne bağlanarak ikinci sinyalin oluşmasını önlemektedir. T hücreleri üzerinde

CD28 ile olan ko-stimülatör etkileşimi bloke etmektedir. İkinci sinyal olmadan T hücresi aktive olamadığından, T hücresinin aktivasyon yolağını bozarak etki göstermektedir. Üst solunum yolu enfeksiyonları, lökopeni, hipertansiyon, baş ağrısı, sersemlik, karın ağrısı, döküntü en yaygın görülen yan etkileridir (Smolen ve ark., 2018).

1.1.6.1.3.2.5. B-hücresini Hedef Alanlar

Rituksimab, B hücrelerinin yüzeyindeki CD20 molekülüne bağlanarak B hücrelerinin sirkülasyondan uzaklaşmasına neden olan bir monoklonal antikordur. B hücrelerini azaltan bir ajan olan rituksimab başlangıçta Non-Hodgkin lenfoma tedavisi için geliştirilmiştir. Günümüzde ise romatoid artrit tedavisinde kullanılabilmektedir. Enfeksiyonlar, konjestif kalp yetmezliği ve nörotoksisiteye neden olabilmektedir (Smolen ve ark., 2018).

1.1.6.1.3.2.6. Diğer İmmünmodülatör ve Sitotoksik Ajanlar

Romatoid artrit tedavisinde pürin analogu azatiyopurin, siklosporin A immünomodülatör olarak kullanılmaktadır. Sıklığı daha az olmakla birlikte siklofosfamid ve d-Penisilamin de kullanılabilmektedir. Yüksek toksisite potansiyeli nedeniyle bu ilaçlar yaşamı tehdit eden sistemik vaskülit gibi ekstra-artiküler bulguları olan ve diğer ilaçlarla tedavi edilemeyen inatçı romatoid artrit hastalarında tercih edilmektedir (Smolen ve ark., 2018).

1.1.7. Mortalite

Son 50 yılda romatoid artrit hastalarında mortalite riskinin genel popülasyondan yaklaşık 1.5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Hoek van den ve ark, 2017; Sokka ve ark., 2008). Çalışmaların çoğunda romatoid artritlilerin mortalite

oranlarının genele kıyasla daha fazla olduğu gösterilmekle birlikte (Gabriel, 2008; Listing ve ark., 2015; Symmons ve ark., 1998), birkaç çalışmada anlamlı bir farklılık olmadığı ifade edilmiştir (Kroot ve ark., 2000; Puolakka ve ark., 2010). Bu farklılıkların hastaların izlenme süreleri, kullanılan ilaçlar ve kohort yöntemleri arasındaki değişiklikler gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Romatoid artrit bağı ölüm nedenlerinden en önemlisi hastalığın neden olduğu kardiyovasküler sorunlardır (Choy ve ark., 2014; Gabriel, 2008). Sistemik inflamasyon, solunum hastalıkları ve enfeksiyonlar ölüm riskini arttıran diğer faktörlerdir (Hoek van den ve ark., 2017; Simard ve ark., 2016; Zamora-Legoff ve ark., 2017).

1.2. Konu ile İlgili Çalışmalar

1.2.1. Deney Hayvanı Çalışmaları

Ippagunta ve arkadaşları (2010) NLRP3^{-/-}, ASC^{-/-} ve kaspaz-1^{-/-} farelerde kollajen indüklemesiyle artrit modeli oluşturmuştur. Kollajenin indüklediği artrit oluşumu ile ASC arasında bir ilişki olduğu, ASC^{-/-} farelerin artritten korunduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada NLRP3^{-/-} ve kaspaz-1^{-/-} farelerde ise hastalık progresyonunun normal devam ettiği ifade edilmiştir.

Van de Walle ve arkadaşları (2014) A²⁰myel-KO farelerde oluşturulan artrit modelinden elde edilen kemik iliği kaynaklı makrofajlarda protein ve gen ekspresyon düzeylerini inceleyerek NLRP3 inflamazom aktivitesinin arttığını ifade etmişlerdir. NLRP3 ve kaspaz-1 silinmesinin ise romatoid artrit ile ilişkili inflamasyon ve eklem yıkımına karşı koruyucu olduğunu bildirmişlerdir.

Kollajenin indüklediği romatoid artrit modeli oluşturulan farelere tedavi amacıyla, 4 hafta boyunca, günde 2 kez 100 mg/kg intraperitoneal (ip) kaspaz-1

inhibitörü VX765 uygulanmıştır. Tedavi sonunda eklemlerde hastalık skorunun azaldığı, sinovit ve kemik iliği ödeminin baskılandığı bildirilmiştir. Ayrıca serumda IL-1 β , IL-18 ve IL-33 düzeylerini azaldığı ifade edilmiştir (Zhang ve Zheng, 2016).

4 haftalık erkek DBA/1 farelerde kollajen indüklemesiyle romatoid artrit modeli oluşturulmuştur. Eklem dokuları immünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde, kontrol grubunda NLRP3 ekspresyonu görülmezken, romatoid artrit grubunda ekspresyonun arttığı bildirilmiştir. Sinoviyal NLRP3 ekspresyon düzeyleri ile artrit klinik ve radyografik bulguları arasında korelasyon olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca serum NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve IL-33 düzeylerinin artritli farelerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2016).

8 haftalık erkek DBA/1J farelerde kollajen indüklemesiyle romatoid artrit modeli oluşturulmuştur. Oluşan artrit modelini tedavi etmek amacıyla 6. günden itibaren, 2 hafta boyunca, 2 günde 1 kez olmak üzere 10 mg/kg (ip) selektif NLRP3 inhibitörü MCC950 bileşiği uygulanmıştır. MCC950 tedavisinin farelerin diz eklemlerindeki sinoviyal dokularda NLRP3 ve aktif kaspaz-1 protein ekspresyonunu inhibe ettiği, IL-1 β üretimini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca dokular histolojik olarak değerlendirildiğinde, tedavi uygulanan farelerde sinoviyal inflamasyon ve kırıkta erozyonunun azaldığı bildirilmiştir (Guo ve ark., 2018). IL antagonistleri romatoid artrit tedavisi amacıyla klinikte kullanılmaya başlanmıştır. Ancak oluşturdukları yan etkiler bu ilaçların kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle proinflamatuvar sinyal yollarının aktive olmasının engelleyici etki gösterebilecek yeni aday ilaç moleküllerinin sentezlenmesi hedeflenmektedir (Zhang ve ark., 2016).

1.2.2. İnsan Çalışmaları

Bir grup araştırmacı romatoid artrit ve osteoartrit hastalarının sinoviyal dokuları, fibroblast benzeri sinoviyositleri ve makrofajlarında NLRP3 ile ilişkili kriopyrin, pyrin ve ASC mRNA ekspresyon profilini incelemiştir. Romatoid artrit

grubunun sinoviyumlarında kriopyrin ve pyrin mRNA ekspresyonunun daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Fibroblast benzeri sinoviyositler ve makrofajlarda hem başlangıçta, hem TNF- α uygulamasından sonra kriopyrin ekspresyonu görülmüş olup, makrofajlarda ekspresyonun daha fazla olduğu bildirilmiştir. Sinoviyum, fibroblast benzeri sinoviyositler ve makrofajların ASC ekspresyonlarının ise her iki grupta benzer olduğunu ifade edilmiştir (Rosengren ve ark., 2005).

Kolly ve arkadaşları (2010) osteoartrit ve romatoid artrit hastalarının sinoviyumlarından ve eklem dokularından alınan fibroblastlarda NLRP3 ekspresyonlarını incelemiştir. Romatoid artrit hastalarının sinoviyal dokularında NLRP3 inflamazom komponentlerinin protein ve gen ekspresyonlarının arttığı bildirilmiştir. Bu ekspresyon en çok miyeloid ve endotelyal hücreler ile B hücrelerinde görülmüştür. Ancak sinoviyal fibroblastlarda NLRP3 mRNA ekspresyonu görülürken, protein ekspresyonu görülmediği bildirilmiştir. NLRP3'ün hem romatoid artrit hem de osteoartrit hastalarında eksprese olduğu, ancak bu iki hastalığı birbirinden ayırmak amacıyla kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır.

Mathews ve arkadaşları (2014) infliksimab tedavisi alan romatoid artrit hastalarının periferik mononükleer hücrelerinde tedaviden önce ve tedaviden 14 hafta sonra NLRP3 inflamazom bileşenlerinin gen ekspresyon düzeylerini araştırmıştır. Romatoid artrit hastalarında ASC, MEFV, NLRP3-FL, NLRP3-SL ve CASP1 gen ekspresyonlarının kontrolden yüksek, CARD8'in ise kontrolden düşük olduğu bildirilmiştir. Ekspresyon düzeyleri tedaviden sonra incelendiğinde ise hem ilaca cevap veren, hem vermeyen grupta istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmediği ifade edilmiştir. Ayrıca hasta grupta kaspaz-1 ve IL-18 düzeylerinin arttığı bulunmuştur. Aynı çalışma grubu anti-TNF- α tedavisi alan Kafkas kökenli İngiliz romatoid artrit hastalarında genotipleme çalışması yapmış; NLRP3 ve CARD8 lokuslarındaki tek nükleotid polimorfizmlerinin romatoid artrit duyarlılığı ve anti-TNF- α cevabı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Sode ve arkadaşları (2014) anti-TNF- α tedavisi alan Danimarkalı naif romatoid artrit hastalarında NLRP3 ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerini araştırmışlardır. NLRP3(rs4612666) tek nükleotid polizmorfizminin, iyi/orta düzeyde anti-TNF- α tedavi cevabı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Aktif sigara içicisi olanlar başta olmak üzere, NLRP3 varyant (T) alleli taşıyan romatoid artrit hastalarında anti-TNF- α tedavi yanıtının düşük olduğu ifade edilmiştir.

Choulaki ve arkadaşları (2015) aktif romatoid artrit hastalarından alınan tam kan hücrelerinde NLRP3 inflamazomu bileşenleri ve protein ekspresyon düzeylerini incelemişlerdir. Hasta grubunun intraselüler NLRP3, ASC, aktif kaspaz-1, pro-IL-1 β düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu bildirilmiştir. NLRP3 aktivasyonundan sonra, hasta grubunun protein ekspresyon düzeylerinin de yükseldiği bildirilmiştir.

Ruscitti ve arkadaşları (2015) romatoid artrit hastalarının monositlerinde NLRP3 mRNA ve protein ekspresyonlarını kontrol grubu ile karşılaştırarak değerlendirmiş, NLRP3 inflamazom aktivasyonu aracılığı ile IL-1 β üretiminin arttığını bildirmiştir.

Guo ve arkadaşları (2018) romatoid artrit ve osteoartrit hastalarının sinoviyal dokularında NLRP3 iflamazom yolağı bileşenlerinin ekspresyon düzeylerini karşılaştırmıştır. Aktif kaspaz-1 ve NLRP3 protein ekspresyonlarının romatoid artrit hastalarında daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Öte yandan bu görüşlerin aksine başka bir grup araştırmacı; Fransız ve Tunus popülasyonunda NLRP3 ve CARD8 genlerindeki tek nükleotid polizmorfizmlerinin romatoid artrit duyarlılığına bir etkisi olmadığı; kontrol ve hasta gruplarının allel ve genotip sıklıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı sonucuna varmışlardır (Ben ve ark., 2012).

Romatoid artrit hastalarının periferik mononükleer hücreleri ve granülositlerinde NLRP1 ve NLRP3 inflamazom bileşenlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Hasta grubundan izole edilen periferik mononükleer hücrelerin kaspaz-1 ve NLRP1 ekspresyon düzeyleri kontrol grubundan düşük bulunurken; NLRP3, ASC ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Romatoid artritli hastaların granülositlerinde ise NLRP3, kaspaz-1 ve ASC mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre düşük olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar NLRP1 ve NLRP3'ün romatoid artrit için koruyucu faktörler olduğu sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir (Wang ve ark., 2014).

Yang ve arkadaşları (2016) romatoid artrit hastalarının periferik mononükleer hücreleri ve nötrofillerinde NLRP3 mRNA ve protein ekspresyon düzeylerini incelemişlerdir. Nötrofil sayısı ile hastalık aktivitesi arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir. Kaspaz-1'in hasta grubunda kontrole göre daha fazla aktive olduğu; ancak, NLRP3 ekspresyonunun hasta grubunda anlamlı derecede azaldığı ve hastalık şiddeti ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Hastalık şiddetinin artmasına neden olan kaspaz-1 aracılı IL-18 aktivasyonunun ise NLRP3 yolağından bağımsız farklı bir yolak aracılığıyla ortaya çıktığı ifade edilmiştir.

Ülkemizde ve dünyada en sık görülen sistemik otoimmün hastalık olan romatoid artrit tanısına olanak sağlayan özgün bir biyogösterge bulunmamakla birlikte hastalığın kesin ve etkin tedavisi de henüz bulunamamıştır. Ayrıca uzun yıllardır bilinmesine rağmen etiyopatogenezinin de belirsizliğini koruması, bu patolojide yeni biyogöstergelere gereksinim olduğu gerçeğini ortaya çıkartmaktadır. Son yıllarda yayınlanan çeşitli araştırmalarda otoimmün hastalıklarda NLRP3 inflamazom yolağının oldukça önemli olduğu ifade edilmektedir. Romatoid artrit hastalığında bu inflamazom yolağının etkisinin değerlendirildiği az sayıda çalışma bulunmakla birlikte farklı araştırmacıların birbirini desteklemeyen sonuçlar bildirdiği görülmektedir. NLRP3 inflamazomunun romatoid artrit tanısı için yeni ve umut vaadedeci bir biyogösterge olabileceği, bu yolağın inhibisyonunun hastalığın tedavisine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda bu amaçla farklı hastalık aktivitesi gösteren romatoid artrit hastalarında NLRP3 protein

ekspresyonlarının ve NLRP3 inflamazom yolağı bileşenlerinin (NLRP3, IL-1 β ve IL-18) düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak farklı yöntemler aracılığı ile değerlendirilmiştir. Hasta grubumuz ilaç kullanan aktif veya remisyon dönemindeki romatoid artrit hastaları ve ilaç kullanmayan yeni tanı almış romatoid artrit hastalarından oluşmuştur. Elde edilen veriler farklı hastalık aktivitesi gösteren, ilaç kullanan ve henüz tedavisi başlamamış hasta grupları içinde değerlendirilerek bu faktörlerin NLRP3 inflamazom yolağına etkisi incelenmiştir. NLRP3 inflamazom yolağının hastalık üzerinde oluşturduğu etkinin olası mekanizmalarından biri olarak ROT düzeyleri incelenmiştir.

Konu ile ilgili yayınlanan çalışmalar incelendiğinde, ilaç kullanan aktif ve remisyon dönemindeki romatoid artrit hastaları ve ilaç tedavisi henüz başlamamış yeni tanı almış romatoid artrit hastaların karşılaştırılarak değerlendirildiği yayınlanmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca ülkemizde NLRP3 inflamazom yolağının romatoid artrit hastalığı üzerine etkisinin incelendiği yayınlanmış herhangi bir yayın veya tez bulunmamaktadır. Tezimiz bu yönleriyle özgün bir çalışmadır. Elde edilen verilerin romatoid artrit patogenezinin aydınlatılabilmesine ve hastalıkta etkin yeni biyogöstergelerin bulunabilmesine katkı sağlayabileceği, yolağın inhibisyonunun hastalığın tedavisine yeni bir bakış açısı getirebileceği düşünülmektedir.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Avidin-biotin horseradish peroksidaz kompleks	Santa Cruz
β -aktin (#4967)	Cell Signaling
Diamino benzidin (DAB)	Santa Cruz
DAB Substrat Kit	GBI Labs
Entellan	Merck
Etanol	Merck
Fosfat tampon tuzu (PBS)	Sigma
Hematoksilen	Shandon
Histopaque 1077 (Lenfosit ayırma çözeltisi)	Sigma
Horseradish Peroksidaz (HRP)-konjuge sekonder antikor	Cell Signaling
IL-1 β tayin kiti	Elabscience
IL-18 tayin kiti	Elabscience
Ksilol	Merck
Lityum Dodesil Sulfat (LDS) örnek tamponu	Invitrogen
Metanol	Merck
NLRP3 tayin kiti	Elabscience
Primer antikor (NLRP3#13158)	Cell Signaling
Protein analiz kiti (Bradford)	Biorad
Protein blokajı	Santa Cruz
Proteaz inhibitör kokteyli	Boster-BosterBio
Poliviniliden diflorür (PVDF) membran	Invitrogen
Radyoimmünopresipitasyon assay tamponu (RIPA)	Boster-BosterBio
ROT tayin kiti	Elabscience
Sitrik asit	Sigma

Sekonder antikor	Santa Cruz
Sodyum sitrat	Sigma
SPlink HRP Broad DAB Bulk. Kit.	GBI Labs
Tris tampon tuzu (TBS)	Sigma
Tris/Glisin/SDS tamponu	İnvitrogen
%30' luk H ₂ O ₂ solüsyonu	Sigma

2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Buz makinası	Hoshizaki
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik
Çeşitli cam ve plastik malzemeler	İnterlab, Orlab, Sigma
Çok kanallı mikropipet (µl)	Eppendorf
Deiyonize su, distile su ve ultrafiltre saf su cihazı	Heal Force
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik
Derin dondurucu (-80°C)	ScanCool
Dijital kamera (C-7070)	Olympus Corporation
Etüv	Binder, Memmert
Güç kaynağı	Mini S
Hassas terazi	Sartorius
Hemositometre	Neubauer
iBlot® blotlama sistemi	Thermo Fisher Scientific
Lam (Poly-L-lysin kaplı)	Thermo Fisher Scientific
Lamel	Isolab
Mikrosantrifüj	Bioridge
Mikrosantrifüj tüpü (Kapaklı, 1 ml, 1.5 ml, 2 ml)	Isolab
Mikroskop (BX51TF)	Olympus Corporation
Mikropipet (10–100 µl, 100–1000 µl ve 1–5 ml)	Eppendorf
Minifüj	Biosan
Mini inkübatör	Grant Boekel
Mini jel tankı	İnvitrogen

Otomatik otoklav	Sanyo
Parafilm	Sigma
Pipet ucu (0.5-10 µl, 10-200 µl ve 100-1000 µl)	Isolab
pH metre	Mettler Toledo
Rotator	Labinco
Santrifüj	Sigma
Sayım lamı (Neubauer improved)	Marienfeld
Sitosantrifüj	Thermo Fisher Scientific
Spektrofotometre	Molecular Devices
Su banyosu	Huber
Tank (Blotlama)	Invitrogen
Ultrasonik banyo	Wisd Laboratory Inst.
Vorteks	Labinco
Yatay çalkalayıcı	Bellco
96 kuyucuklu plak	Isolab

2.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.1.3.1. Western Blot Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler

Yürütme Tamponu: 50 mM 4-morfolineetan sulfonik asit (MES), 50 mM Tris Base, 0.1% sodyum dodesil sülfat (SDS), 1 mM etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (pH 7.3) içeren çözelti kullanılmıştır.

LDS Örnek Tamponu: %40 gliserol, %4 LDS, 0.8 M trietanolamin-Cl pH 7.6, %4 Fikol, %0.025 fenol kırmızısı, %0.025 komazi G250, 2 mM EDTA disodyum içeren çözelti kullanılmıştır.

RIPA Tamponu: %1 NP-40, %0.5 sodyum deoksikolat, 0.1% SDS içeren çözelti kullanılmıştır.

Bloklama Tamponu: % 0.05 Tween-20 içeren PBS çözeltisi, %1'lik kazein çözeltisi ile uygun miktarda birleştirilerek kullanılmıştır.

Antikor Yıkama Çözeltisi: % 0.05 Tween-20 içeren PBS tampon kullanılmıştır.

2.1.3.2. İmmünohistokimya Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler

H₂O₂ Blokajı Solüsyonu: 30 ml %30' luk H₂O₂ üzerine 470 ml metanol ilave edilerek kullanılmıştır.

Antijen Retrieval Solüsyonu (0.01 M, pH: 6.0): 2.101 gr sitrik asit 100 ml distile suda çözölmüştür. 0.1 M 14.7 gr sodyum sitrat (B) 500 ml distile suda çözölmüştür. A solüsyonundan 27 ml, B solüsyonundan 123 ml alınmış ve 1500 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

0.005 M Tris Tamponu: 60.55 gr tris base ve 85.20 gr sodyum klorür (NaCl) 500 ml distile suda çözölmüştür. Bu karışımaya uygun hacimde 1 M HCl eklenmiş, pH: 7.6'ya getirilip 1 litreye tamamlanmıştır.

2.1.3.3. Enzime Bağlı İmmünozorban Analiz (ELISA) Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler

2.1.3.3.1. NLRP3 Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

Standart veya Numune Seyreltici Çözelti: Standart ve numune çözeltilerini hazırlamak için kit içinde hazır halde bulunan çözeltiler kullanılmıştır.

Yıkama Çözeltisi: Kit içinde konsantre olarak bulunan yıkama çözeltisi distile su ile uygun hacme dilüe edilmiş ve sonrasında 750 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti 40°C'ye gelene kadar ısıtılmış ve içindeki kristaller çözünene kadar hafifçe çalkalanmıştır. Oda sıcaklığına getirildikten sonra kullanılmıştır.

Standart Çalışma Çözeltisi: Kit içinde bulunan stok çözelti 10000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üzerine 1 ml standart veya numune seyreltici çözelti eklenmiştir. 10 dakika beklenmiş ve birkaç kez yavaşça ters düz edilerek çözeltinin homojen olması sağlanmıştır. Hazırlanan 10 ng/ml'lik stok çözeltiden hesaplanan miktarlarda alınmış ve standart/numune seyreltici çözelti ile 1ml'ye tamamlanmıştır. 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.8, 0.4 ng/ml konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerin her kullanımında taze olmasına dikkat edilmiştir.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Çalışma Çözeltisi: Biyotinlenmiş deteksiyon antikor seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde konsantre halde bulunan çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

HRP Konjugat Çalışma Çözeltisi: HRP konjugat seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde yer alan konsantre çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Substrat Çözeltisi: Kit içinde bulunan çözelti ışıktan korunarak kullanılmıştır.

Durdurma Çözeltisi: Kit içinde bulunan hazır durdurma çözeltisi kullanılmıştır.

2.1.3.3.2. IL-1 β Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

Standart veya Numune Seyreltici Çözelti: Standart ve numune çözeltilerini hazırlamak için kit içinde hazır halde bulunan çözeltiler kullanılmıştır.

Yıkama Çözeltisi: Kit içinde konsantre olarak bulunan yıkama çözeltisi distile su ile uygun hacme dilüe edilmiş ve sonrasında 750 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti 40°C'ye gelene kadar ısıtılmış ve içindeki kristaller çözünene kadar hafifçe çalkalanmıştır. Oda sıcaklığına getirildikten sonra kullanılmıştır.

Standart Çalışma Çözeltisi: Kit içinde bulunan stok çözelti 10000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üzerine 1 ml standart/numune seyreltici çözelti eklenmiştir. 10 dakika beklenmiş ve birkaç kez yavaşça ters düz edilmiştir. Çözeltinin homojen olması sağlanmıştır. Hazırlanan 500 pg/ml'lik stok çözeltden hesaplanan miktarlarda alınmış ve standart/numune seyreltici çözelti ile 1ml'ye tamamlanmıştır. 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.90, 1.95, 0 pg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerin her kullanımında taze olmasına dikkat edilmiştir.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Çalışma Çözeltisi: Biyotinlenmiş deteksiyon antikor seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde konsantre halde bulunan çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

HRP Konjugat Çalışma Çözeltisi: HRP konjugat seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde yer alan konsantr çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Substrat Çözeltisi: Kit içinde bulunan çözelti ışıktan korunarak kullanılmıştır.

Durdurma Çözeltisi: Kit içinde bulunan hazır durdurma çözeltisi kullanılmıştır.

2.1.3.3.3. IL-18 Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

Standart veya Numune Seyreltici Çözelti: Standart ve numune çözeltilerini hazırlamak için kit içinde hazır halde bulunan çözeltiler kullanılmıştır.

Yıkama Çözeltisi: Kit içinde konsantr olarak bulunan yıkama çözeltisi distile su ile uygun hacme dilüe edilmiş ve sonrasında 750 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti 40°C'ye gelene kadar ısıtılmış ve içindeki kristaller çözünene kadar hafifçe çalkalanmıştır. Oda sıcaklığına getirildikten sonra kullanılmıştır.

Standart Çalışma Çözeltisi: Kit içinde bulunan stok çözelti 10000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üzerine 1 ml standart/numune seyreltici çözelti eklenmiştir. 10 dakika beklenmiş ve birkaç kez yavaşça ters düz edilmiştir. Çözeltinin homojen olması sağlanmıştır. Hazırlanan 500 pg/ml'lik stok çözeltiden hesaplanan miktarlarda alınmış ve standart/numune seyreltici çözelti ile 1ml'ye tamamlanmıştır. 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.90, 1.95, 0 pg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerin her kullanımda taze olmasına dikkat edilmiştir.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Çalışma Çözeltisi: Biyotinlenmiş deteksiyon antikor seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde konsantre halde bulunan çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

HRP Konjugat Çalışma Çözeltisi: HRP konjugat seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde yer alan konsantre çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Substrat Çözeltisi: Kit içinde bulunan çözelti ışıktan korunarak kullanılmıştır.

Durdurma Çözeltisi: Kit içinde bulunan hazır durdurma çözeltisi kullanılmıştır.

2.1.3.3.4. ROT Tayini İçin Kullanılan Çözeltiler

Standart veya Numune Seyreltici Çözelti: Standart ve numune çözeltilerini hazırlamak için kit içinde hazır halde bulunan çözeltiler kullanılmıştır.

Yıkama Çözeltisi: Kit içinde konsantre olarak bulunan yıkama çözeltisi distile su ile uygun hacme dilüe edilmiş ve sonrasında 750 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti 40°C'ye gelene kadar ısıtılmış ve içindeki kristaller çözünene kadar hafifçe çalkalanmıştır. Oda sıcaklığına getirildikten sonra kullanılmıştır.

Standart Çalışma Çözeltisi: Kit içinde bulunan stok çözelti 10000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üzerine 1 ml standart/numune seyreltici çözelti eklenmiştir. 10 dakika beklenmiş ve birkaç kez yavaşça ters düz edilmiştir. Çözeltinin homojen olması sağlanmıştır. Hazırlanan 10 ng/ml'lik stok çözeltiden hesaplanan miktarlarda alınmış

ve standart/numune seyreltici çözelti ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0 ng/ml konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerin her kullanımda taze olmasına dikkat edilmiştir.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

Biyotinlenmiş Deteksiyon Antikor Çalışma Çözeltisi: Biyotinlenmiş deteksiyon antikor seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde konsantre halde bulunan çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi: Kit içinde bulunan seyreltme çözeltisi kullanılmıştır.

HRP Konjugat Çalışma Çözeltisi: HRP konjugat seyreltme çözeltisi kullanılarak kit içinde yer alan konsantre çözelti 1/100 oranında seyreltilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Substrat Çözeltisi: Kit içinde bulunan çözelti ışıktan korunarak kullanılmıştır.

Durdurma Çözeltisi: Kit içinde bulunan hazır durdurma çözeltisi kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Çalışma Grubu

Tez çalışması, Ankara Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'nın 25.07.2016 tarih ve 13-605-16 karar sayısı ile alınan etik

kurul onayı (Ek 1) doğrultusunda Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütülmüştür. Çalışma grubu T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Kliniği ile işbirliği yapılarak oluşturulmuştur. Araştırmaya dahil olma ve olmama kriterleri belirlenmiştir. Romatoloji hekiminin onay verdiği, 18-65 yaş aralığında, kadın ve erkek gönüllüler araştırmaya dahil edilmiştir. Katılımcılar araştırma konusunda bilgilendirilmişlerdir. Çalışmada hasta ve kontrol grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuş, hasta grubu hastalığın dönemine göre kendi içinde üç alt sınıfa ayrılmıştır.

2.2.1.1. Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri

Hasta Grubu

- Grup 1: 18-65 yaş aralığında aktif dönem hastalarından oluşmaktadır (n=11).
- Grup 2: 18-65 yaş aralığında remisyon dönemi hastalarından oluşmaktadır (n=16).
- Grup 3: 18-65 yaş aralığında yeni tanı konmuş, hastalıkla ilgili ilaç tedavisi henüz başlamamış hastalardan oluşmaktadır (n= 29).

Kontrol Grubu

- Grup 1: Kendisinde veya 1. derece yakınlarında otoimmün hastalık öyküsü bulunmayan sağlıklı bireylerden oluşmaktadır (n=30).

2.2.1.2. Araştırmaya Dahil Olmama Kriterleri

Hasta Grubu

- 18 yaşından küçük ve 65 yaşından büyük,
- Romatoid artrit harici bir otoimmün hastalık öyküsü olan,
- Gebeler ve psikiyatrik hastalığı olan bireyler araştırmaya dahil edilmemiştir.

Kontrol Grubu

- 18 yaşından küçük ve 65 yaşından büyük,
- Otoimmün hastalık öyküsü olan,
- 1. derece yakınlarında otoimmün hastalık öyküsü olan,
- Gebeler ve psikiyatrik hastalığı olan bireyler araştırmaya dahil edilmemiştir.

2.2.2. Biyolojik Numunelerin Toplanması

T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Kliniği'nde çalışma için uygun kriterleri taşıyan gönüller belirlenmiştir. Gönüllülerden temin edilen kan numuneleri EDTA'lı laboratuvar tüplerine alınmıştır. Toplanan numuneler, uygun saklama ve nakil koşulları gözetilerek analizlerin yapılacağı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarı'na soğuk zincir ile nakledilmiştir.

2.2.3. Biyolojik Numunelerin Hazırlanması

T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Kliniği'nden alınan ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na getirilen EDTA'lı tüplerdeki

tam kan numunelerinden plazma ve periferel mononükleer hücre elde etmek amacıyla gerekli hazırlıklar yapılmıştır.

2.2.3.1. Biyolojik Numunelerden Plazma İzolasyonu

EDTA'lı tüplerdeki tam kan numuneleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen plazma numuneleri küçük tüplere bölünerek analiz gününe kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır. Analiz günü oda sıcaklığına getirilen örneklerde ölçümler gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.2. Biyolojik Numunelerden Periferel Mononükleer Hücrelerin İzolasyonu

Kan numunelerinden periferel mononükleer hücre izolasyonu için aşağıdaki prosedür uygulanmıştır.

1. Kan numuneleri 50 ml'lik steril falkon tüplere aktararak eşit hacimde PBS ile dilue edilmiştir.
2. Steril falkon tüplere elde edilen kan numunesine göre uygun miktarda fikol ilave edilmiştir.
3. Dilüe edilen numuneler steril pipet yardımı ile içinde fikol olan 50 ml'lik steril falkon tüplere aktarılmıştır (Şekil 2.1)



Şekil 2. 1. Fikol üzerinde PBS ile seyreltilmiş kan numunesinin görüntüsü

4. Falkon tüpler 20 dakika boyunca 2300 rpm’de santrifüj edilmiştir.
5. İçinde fikol bulunan tüpün ara yüzeyi (periferik mononükleer hücreleri içeren kısım), steril pastör pipet yardımıyla, içinde PBS bulunan 50 ml’lik falkon tüpe alınmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2. Santrifüjden sonra kan numunesinin görüntüsü (Periferik mononükleer hücreler bulutsu tabaka içinde yer almaktadır.)

6. Periferal mononükleer hücreleri içeren 50 ml'lik falkon tüp PBS ile 50 ml'ye tamamlanmıştır.
7. Falkon tüpler 10 dakika boyunca 1600 rpm'de santrifüj edilmiştir.
8. Santrifüjden sonra supernatant ortamdan uzaklaştırılmıştır.
10. Steril bir pipet yardımıyla dipteki hücreler yeniden suspanse edilmiştir.
11. Falkon tüpler PBS ile tekrar 50 ml'ye tamamlanmıştır.
12. Falkon tüpler 10 dakika boyunca 1600 rpm'de santrifüj edilmiştir.
13. Santrifüjden sonra supernatant ortamdan uzaklaştırılmıştır.
14. Steril bir pipet yardımıyla dipteki hücreler yeniden suspanse edilmiştir.
15. Sayım lamına konulan hücrelerin üzerine tripan mavisi eklenmiş ve hücre sayımı yapılmıştır.
16. Hemen kullanılmayacak hücreler analiz gününe kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır. Hemen çalışılacak hücreler için uygun prosedür takip edilmiştir.

2.2.3.3. Periferal Mononükleer Hücrelerden Protein İzolasyonu ve Miktar Tayini

Periferal mononükleer hücrelerin üzerindeki sıvı uzaklaştırıldıktan sonra; 1:100 oranında hazırlanmış RIPA tamponu ve protein inhibitör kokteyli karışımı eklenmiş ve vortekslenmiştir. Karışım +4°C'de 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Sonrasında örnekler 14000g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmı alınarak küçük tüplere bölünmüş ve hemen kullanılmayacak numuneler -20°C'de saklanmıştır.

Numunelerin protein miktarları Bradford yöntemi ile tayin edilmiştir. Protein konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemle ölçülmüş ve her bir örnek için hesaplama yapılmıştır.

2.2.4. Western Blot Yöntemi

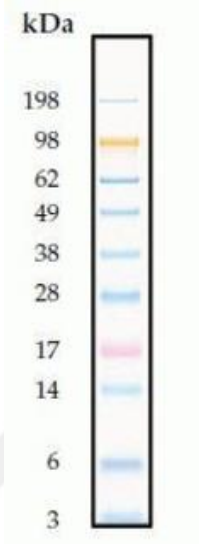
1. Protein miktarına bağlı olarak uygun miktarda deiyonize su, örnek redüklemeye maddesi ve LDS örnek tamponu eklenen numuneler 70°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir (Şekil 2.3). Sonrasında tüplerin oda sıcaklığına ulaşması beklenmiş ve jele yüklemeye hazır hale getirilmiştir.



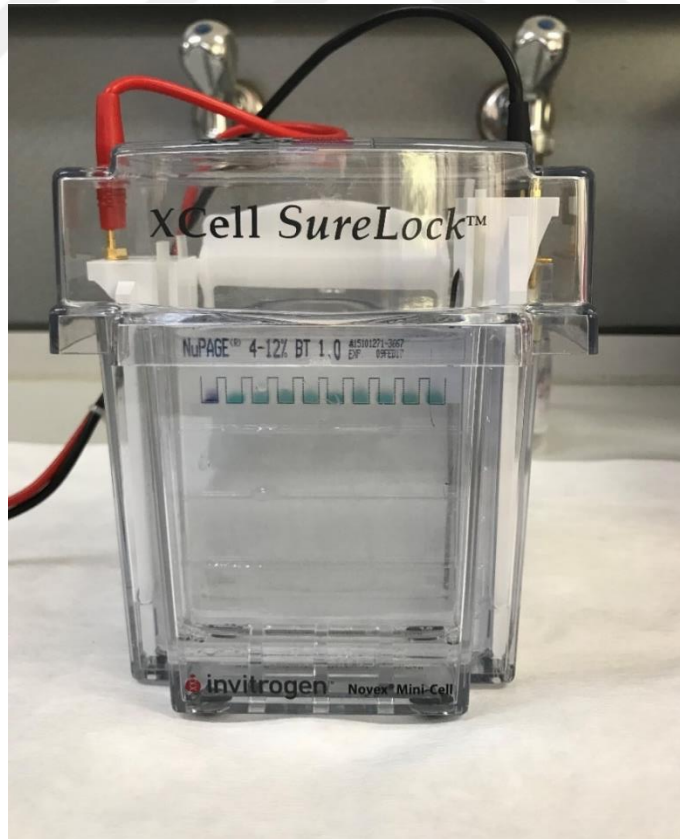
Şekil 2. 3. İnkübasyona bırakılan örnek çözeltilerin görüntüsü

2. Dikey elektroforez jel sistemi tankına jeller yerleştirilmiştir. Tankın jeller arasında kalan iç havuzu önce olmak üzere, iç ve dış havuza sızma olmayacak şekilde yürütme çözeltisi doldurulmuştur. Örnek yükleme işlemine başlamadan önce kuyucuklara yürütme tamponu eklenmiş ve kuyucuklar yıkanmıştır.

3. İlk kuyucuğa SeeBlue plus2 pre-stained standart, diğer kuyucuklara örnek uygulanmıştır (Şekil 2.4, 2.5).

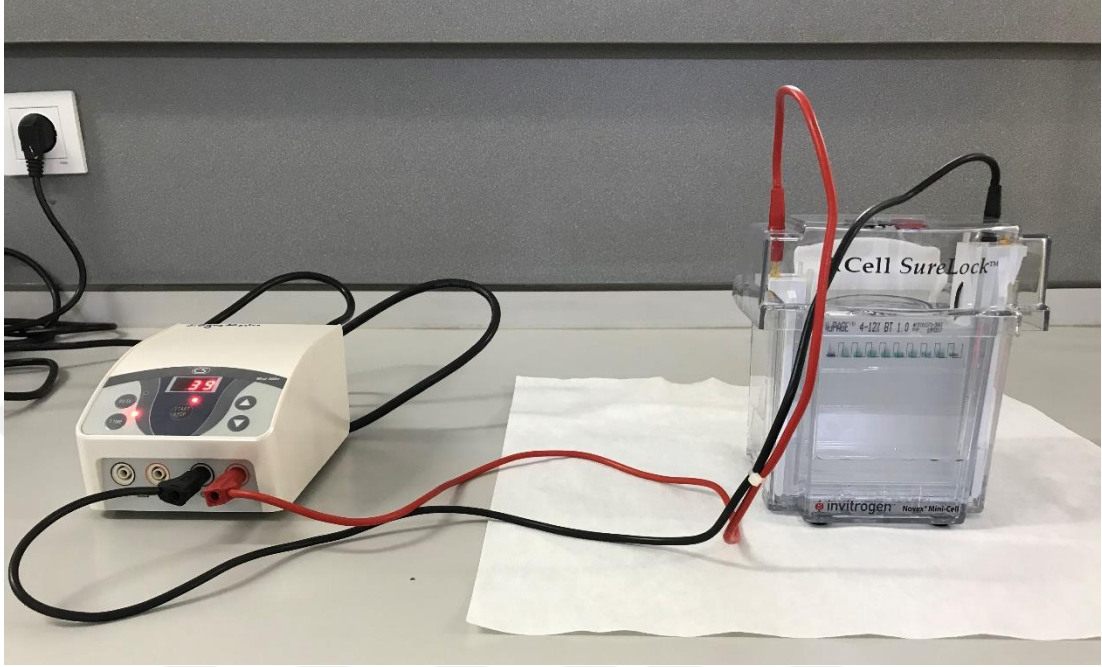


Şekil 2. 4. SeeBlue plus2 pre-stained standart



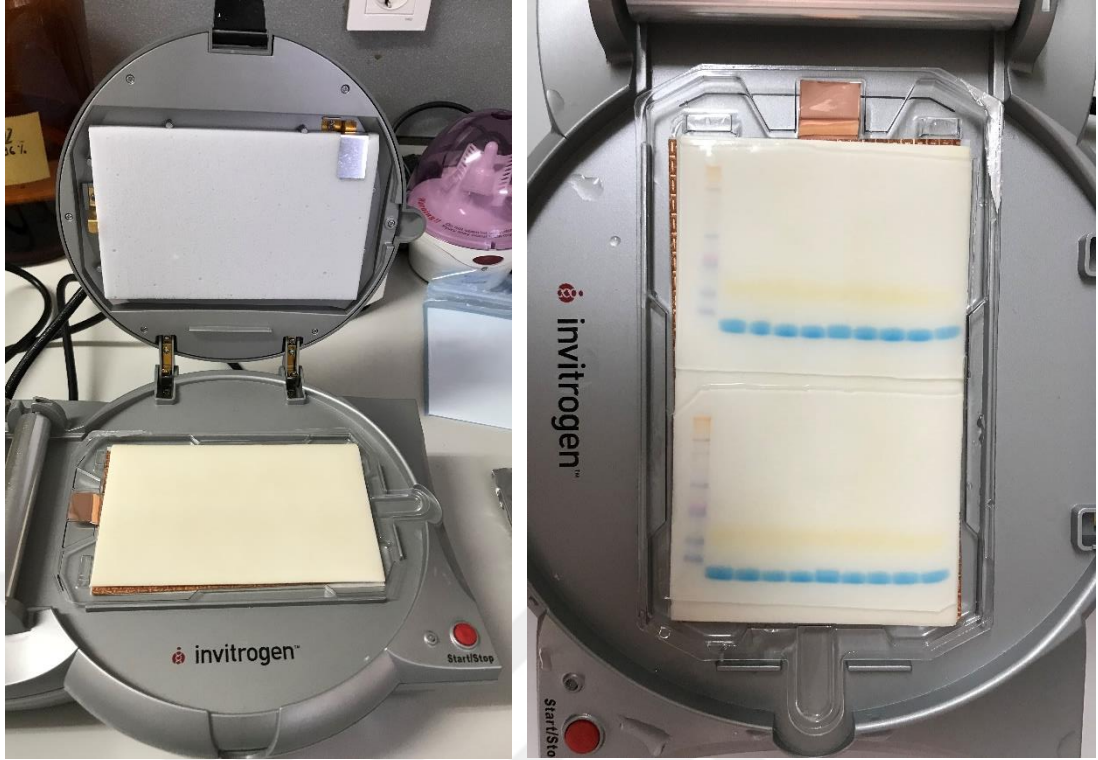
Şekil 2. 5. SeeBlue plus2 pre-stained standart ve numunelerin uygulandığı dikey jel sistemi

4. Dikey jel sistemi güç kaynağına bağlanmış, uygun volt ve süre ayarlanarak numunelerin yürümesi sağlanmıştır (Şekil 2.6).

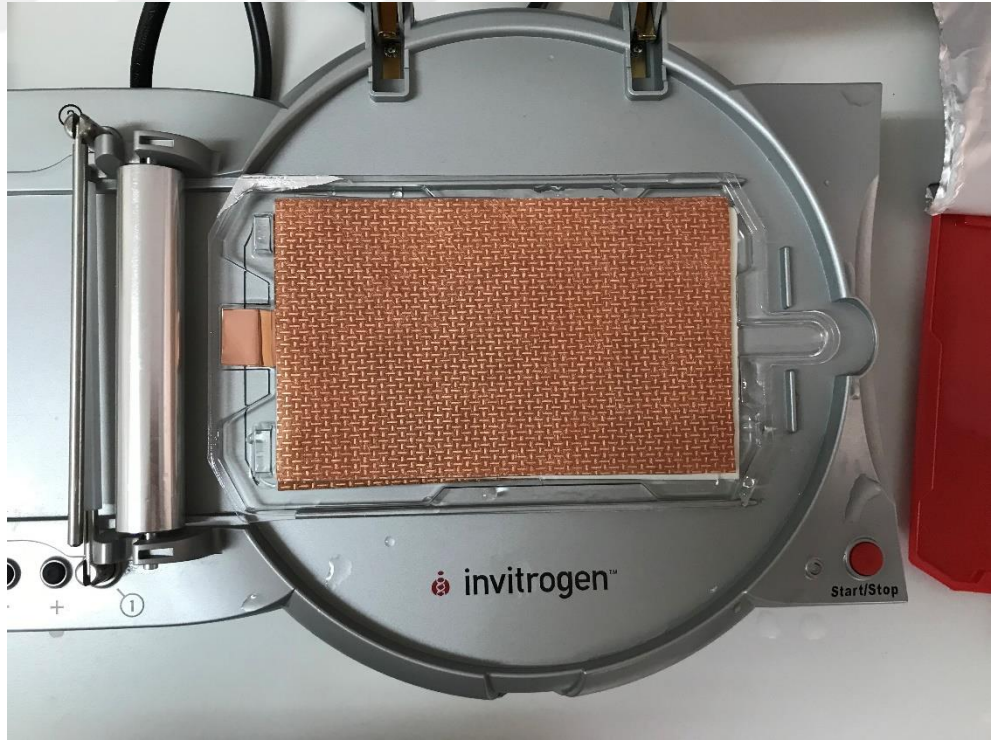


Şekil 2. 6. SeeBlue plus2 pre-stained standart ve numunelerin uygulandığı dikey jel sistemi ve güç kaynağı bağlantısı

5. Yürütme işlemi bittikten sonra jel sıkıştırma aparatı açılarak jel kaseti yerinden çıkartılmıştır. Jel kuyucuk çıkıntıları uzaklaştırılmış ve jelin asıl kısmı tampon içine alınmıştır.
6. Transfer işlemi için kullanılacak filtre kağıtları ve süngerler transfer tamponunda ıslatılmıştır.
7. Sandviç oluşturacak şekilde uygun sıra gözetilerek; jel, PVDF membran, filtre kağıdı ve sünger en altta anot, en üstte katod stack olacak şekilde İblot® sistemine yerleştirilmiştir. Her aşamada hava kabarcığının kalmadığı kontrol edilmiştir. Uygun program seçilerek transfer gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.7, 2.8, 2.9).



Şekil 2. 7. İblot® transfer sisteminin açık görüntüsü – 1



Şekil 2. 8. İblot® transfer sisteminin açık görüntüsü - 2



Şekil 2. 9. İblot® transfer sisteminin kapalı görüntüsü

8. Proteinlerin transferi tamamlandıktan sonra PVDF membran alınmış ve 1 saat boyunca bloklama tamponu içinde çalkalanmıştır (Şekil 2.10).



Şekil 2. 10. Transfer tamamlandıktan sonra PVDF membran görüntüsü

9. PVDF membran 3 kere 5'er dakika distile su ile yıkanmıştır.

10. PVDF membran, bloklama tamponu içinde uygun oranda seyreltilerek hazırlanmış birincil antikor ile çalkalayıcıda +4°C’de, 12-16 saat muamele edilmiştir.
11. PVDF membran 3 kere 10’ar dakika antikor yıkama çözeltisi ile yıkanmıştır.
12. PVDF membran, bloklama tamponu içinde uygun oranda seyreltilerek hazırlanmış ikincil antikor ile oda sıcaklığında çalkalayıcıda 1 saat muamele edilmiştir.
13. PVDF membran 3 kere 10’ar dakika antikor yıkama çözeltisi ile yıkanmıştır.
14. PVDF membran 3 kere 5’er dakika distile su ile yıkanmıştır.
15. Membran, bantlar oluşana kadar (1 – 60 dakika) kromojenik boya içeren substrat çözeltisi ile muamele edilmiştir.
16. PVDF membran 3 kere 5’er dakika distile su ile yıkanmıştır.
17. Membran filtre kağıdı üzerinde alınmış ve açık havada kuruması beklenmiştir.
18. Elde edilen görüntülerde proteinlere ait bantların yoğunluğu, Image J Software programı aracılığıyla değerlendirilmiş ve β -aktin ile normalize edilmiştir.

2.2.5. İmmünositokimya Yöntemi

Hasta ve kontrol grubundan alınan tam kan numunelerinden elde edilen periferik mononükleer hücreler immünositokimya yöntemi için hazırlanmıştır. Bu amaçla aşağıdaki basamaklar izlenmiştir (Oğuztüzün ve ark., 2012; Şimşek ve ark., 2012).

1. İnceleme yapılacak numuneler poly-L-lysine ile kaplanmış lamlara alınmıştır (Şekil 2.11).



Şekil 2. 11. İmmunositokimya yönetmi için hazırlanmış poly-L-lysine kaplı lamlar ve sitosantrifüj aparatları

2. Hazırlanan lamlar 1000 rpm’de 5 dakika sitosantrifüj işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 2.12).



Şekil 2. 12. Lamlara uyguladığımız sitosantrifüj işlemi

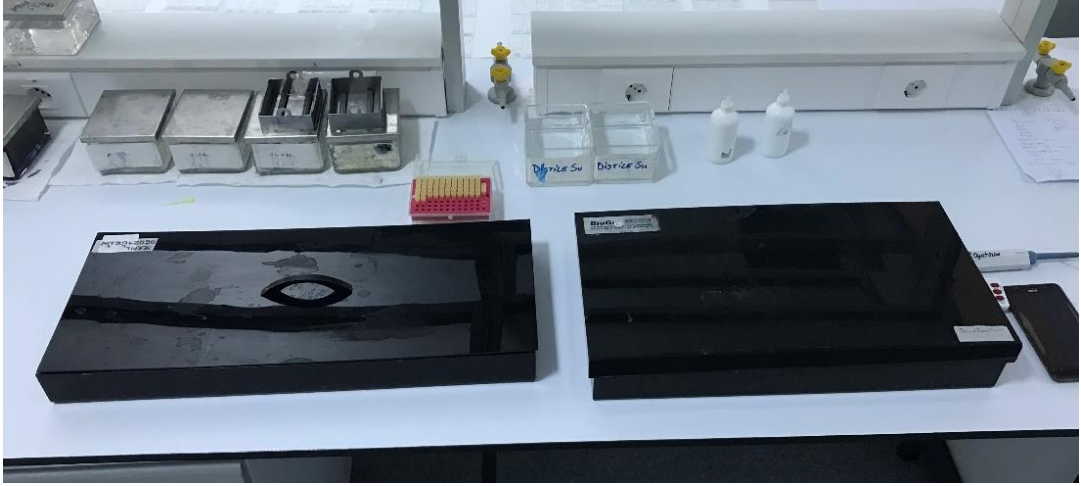
3. Santrifüjden çıkarılan preparatlar alkolde tesbit edilmiştir.

4. Sonrasında lamalar 1-2 dakika distile su ile yıkanmıştır.
5. Lamlar 10 dakika H_2O_2 blokajına maruz bırakılmıştır.
6. Sonrasında lamalar yine distile su ile 2-3 dakika yıkanmıştır.
7. Lamlar 5'er dakika süre ile 3 kez PBS tamponu ile yıkanmıştır.
8. Lamlara 10 dakika süre ile protein bloklama çözeltisi uygulanmıştır (Şekil 2.13).



Şekil 2. 13. Bloklama çözeltisi uygulanan preparatlar

9. Sonrasında lamalar ön çalışmalarla uygun dilüsyon oranı belirlenmiş primer antikor çözeltisi ile 1 saat boyunca inkübe edilmiştir (1/200) (Şekil 2.14).



Şekil 2. 14. Primer antikor ile inkübasyona bırakılan preparatlar

10. Lamlar 5'er dakika süre ile 3 kez PBS tamponu ile yıkanmıştır.
11. 10 dakika süre ile sekonder antikor uygulaması yapılmıştır.
12. Lamlar 5'er dakika süre ile 3 kez PBS tamponu ile yıkanmıştır.
13. Lamlara 10 dakika streptavidin-HRP kompleksi uygulanmıştır.
14. Lamlar 5'er dakika süre ile 3 kez PBS tamponu ile yıkanmıştır.
15. Lamlar 10 dakika DAB çözeltisine maruz bırakılmıştır.
16. Sonrasında lamlar 2-3 dakika distile su ile yıkanmıştır.
17. Lamlar kısa süre hematoksilende bekletilmiştir.
18. %45-%50-%60-%70-%80-%90-%96 ve mutlak alkol serilerinden geçirilen preparatlar bu işlemin ardından ksilolde bekletilmiştir (Şekil 2. 15).



Şekil 2. 15. Alkol ve ksilol uygulanan preparatlar.

19. Son olarak Entellan ® ile kapatılmış ve kurumaya bırakılmıştır.
20. Preparatlar kurutulduktan sonra incelenmeye hazır hale getirilmiştir.
21. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler ışık mikroskopunda (Olympus Corporation U-DO3), hücrelerin boyanma derecelerine göre; (0): negatif boyanma (protein ifadesi yok), (+1): pozitif boyanma (protein ifadesi var) şeklinde yapılmış ve ardından Olympus Corporation Dijital kamera (C-7070) ile fotoğrafları çekilmiştir.

2.2.6. ELISA Yöntemi

ELISA; özgül antijen-antikor ilişkisini, antikora bir enzim bağlanması ve bu bağlanmış enzimin substratla oluşturduğu renkli ürünlerin tayin edilmesi esasına dayanan bir ölçüm yöntemidir. Hasta ve kontrol grubundan elde edilen plazmalarda bu yöntem kullanılarak plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeyleri ölçülmüştür.

2.2.6.1. Plazma NLRP3 Tayini

Kullanılan yöntem sandviç-ELISA prensibine göre çalışmaktadır. Bu amaçla insan NLRP3'e özgün antikorla kaplanmış plaklar kullanılmıştır.

Deney prosedüründe kullanılan tüm çözeltiler öncelikle oda sıcaklığına getirilmiştir. Çözeltiler hazırlanırken köpürme olmamasına dikkat edilmiştir. Örnekler kullanımdan önce vortekslenmiştir.

1. Kit içerisinde bulunan kaplanmış plakların her kuyucuğuna 100 µl standart, kör veya örnek çözelti eklenmiştir. Kör çözelti olarak standart veya örnek seyreltme çözeltisi kullanılmıştır. Kuyucuklara örnek, standart veya kör çözelti ilave edilmiş, sonrasında plaklar yavaşça çalkalanmıştır. Plakların üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında plaklar 37°C'ye ayarlanmış etüvde 90 dakika inkübe edilmiştir.
2. Kuyucuklara hızlıca 100 µl biyotinlenmiş deteksiyon antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
3. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 3'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.
4. Her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
5. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözelti

çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 5'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.

6. Her kuyucuğa 90 µl substrat eklenmiştir. Plakların üstü kapatılmış ve ışık almamasına dikkat edilerek 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir.
7. Her kuyucuğa hızlıca 50 µl durdurma çözeltisi eklenmiştir.
8. Çözeltilerin absorbansı spektrofotometrede 450 nm'de ölçülmüştür.

NLRP3 Düzeylerinin Hesaplanması: Kuyucuklarda yer alan çözeltilerin absorbansları Molecular Devices Spectramax 190 mikropłaka okuyucu spektrofotometre ile ölçülmüştür. NLRP3 düzeylerini hesaplamak için Softmax® Pro 7.0.3 programı kullanılmıştır. Programda standart ve örnek grupları tanımlanmış olup, semi-log algoritması kullanılmıştır. Konsantrasyona karşı ortalama standart absorbansları ile standart eğri elde edilmiştir. Örneklerin NLRP3 düzeyleri bu eğriye göre saptanmış olup, sonuçlar ng/ml cinsinden verilmiştir.

2.2.6.2. Plazma IL-1β Tayini

Kullanılan yöntem sandviç-ELISA prensibine göre çalışmaktadır. Bu amaçla insan IL-1β'ya özgün antikorla kaplanmış plaklar kullanılmıştır.

Deney prosedüründe kullanılan tüm çözeltiler öncelikle oda sıcaklığına getirilmiştir. Çözeltiler hazırlanırken köpürme olmamasına dikkat edilmiştir. Örnekler kullanımdan önce vortekslenmiştir.

1. Kit içerisinde bulunan kaplanmış plakların her kuyucuğuna 100 µl standart, kör veya örnek çözelti eklenmiştir. Kör çözelti olarak standart veya örnek seyreltme çözeltisi kullanılmıştır. Kuyucuklara örnek, standart veya kör çözelti

ilave edilmiş, sonrasında plaklar yavaşça çalkalanmıştır. Plakların üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında plaklar 37°C'ye ayarlanmış etüvde 90 dakika inkübe edilmiştir.

2. Kuyucuklara hızlıca 100 µl biyotinlenmiş deteksiyon antikör çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
3. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 3'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.
4. Her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
5. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözelti çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 5'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.
6. Her kuyucuğa 90 µl substrat eklenmiştir. Plakların üstü kapatılmış ve ışık almamasına dikkat edilerek 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir.
7. Her kuyucuğa hızlıca 50 µl durdurma çözeltisi eklenmiştir.
8. Çözeltilerin absorbansı spektrofotometrede 450 nm'de ölçülmüştür.

IL-1β Düzeylerinin Hesaplanması: Kuyucuklarda yer alan çözeltilerin absorbensları Molecular Devices Spectramax 190 mikropłaka okuyucu spektrofotometre ile ölçülmüştür. IL-1β düzeylerini hesaplamak için Softmax® Pro 7.0.3 programı

kullanılmıştır. Programda standart ve örnek grupları tanımlanmış olup, semi-log algoritması kullanılmıştır. Konsantrasyona karşı ortalama standart absorbanları ile standart eğri elde edilmiştir. Örneklerin IL-1 β düzeyleri bu eğriye göre saptanmış olup, sonuçlar pg/ml cinsinden verilmiştir.

2.2.6.3. Plazma IL-18 Tayini

Kullanılan yöntem sandviç-ELISA prensibine göre çalışmaktadır. Bu amaçla insan IL-18'e özgün antikorla kaplanmış plaklar kullanılmıştır.

Deney prosedüründe kullanılan tüm çözeltiler öncelikle oda sıcaklığına getirilmiştir. Çözeltiler hazırlanırken köpürme olmamasına dikkat edilmiştir. Örnekler kullanımdan önce vortekslenmiştir.

1. Kit içerisinde bulunan kaplanmış plakların her kuyucuğuna 100 μ l standart, kör veya örnek çözelti eklenmiştir. Kör çözelti olarak standart veya örnek seyreltme çözeltisi kullanılmıştır. Kuyucuklara örnek, standart veya kör çözelti ilave edilmiş, sonrasında plaklar yavaşça çalkalanmıştır. Plakların üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında plaklar 37°C'ye ayarlanmış etüvde 90 dakika inkübe edilmiştir.
2. Kuyucuklara hızlıca 100 μ l biyotinlenmiş deteksiyon antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
3. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 μ l yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 3'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.

4. Her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir.
5. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözelti çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 5’er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.
6. Her kuyucuğa 90 µl substrat eklenmiştir. Plakların üstü kapatılmış ve ışık almamasına dikkat edilerek 37°C’de 15 dakika inkübe edilmiştir.
7. Her kuyucuğa hızlıca 50 µl durdurma çözeltisi eklenmiştir.
8. Çözeltilerin absorbansı spektrofotometrede 450 nm’de ölçülmüştür.

IL-18 Düzeylerinin Hesaplanması: Kuyucuklarda yer alan çözeltilerin absorbansları Molecular Devices Spectramax 190 mikroparka okuyucu spektrofotometre ile ölçülmüştür. IL-18 düzeylerini hesaplamak için Softmax® Pro 7.0.3 programı kullanılmıştır. Programda standart ve örnek grupları tanımlanmış olup, semi-log algoritması kullanılmıştır. Konsantrasyona karşı ortalama standart absorbansları ile standart eğri elde edilmiştir. Örneklerin IL-18 düzeyleri bu eğriye göre saptanmıştır. Sonuçlar pg/ml cinsinden verilmiştir.

2.2.6.4. Plazma ROT Tayini

Kullanılan yöntem sandviç-ELISA prensibine göre çalışmaktadır. Bu amaçla insan ROT’a özgün antikora kaplanmış plaklar kullanılmıştır.

Deney prosedüründe kullanılan tüm çözeltiler öncelikle oda sıcaklığına getirilmiştir. Çözeltiler hazırlanırken köpürme olmamasına dikkat edilmiştir. Örnekler kullanımdan önce vortekslenmiştir.

1. Kit içerisinde bulunan kaplanmış plakların her kuyucuğuna 100 µl standart, kör veya örnek çözelti eklenmiştir. Kör çözelti olarak standart veya örnek seyreltme çözeltisi kullanılmıştır. Kuyucuklara örnek, standart veya kör çözelti ilave edilmiş, sonrasında plaklar yavaşça çalkalanmıştır. Plakların üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında plaklar 37°C'ye ayarlanmış etüvde 90 dakika inkübe edilmiştir.
2. Kuyucuklara hızlıca 100 µl biyotinlenmiş deteksiyon antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
3. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 3'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.
4. Her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaklar yavaşça çalkalandıktan sonra üzeri dikkatlice kapatılmış, sonrasında 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
5. Öncelikle kuyucuklardaki çözeltiler çekilmiştir. Sonrasında 400 µl yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. 2-3 dakika bekletilmiş ve kuyucuklardaki çözelti çekilmiştir. Bu yıkama işlemi 5'er kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra kuyucuklar dikkatlice kurutulmuştur.
6. Her kuyucuğa 90 µl substrat eklenmiştir. Plakların üstü kapatılmış ve ışık almamasına dikkat edilerek 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir.

7. Her kuyucuğa hızlıca 50 µl durdurma çözeltisi eklenmiştir.
8. Çözeltilerin absorbansı spektrofotometrede 450 nm’de ölçülmüştür.

ROT Düzeylerinin Hesaplanması: Kuyucuklarda yer alan çözeltilerin absorbansları Molecular Devices Spectramax 190 mikropłaka okuyucu spektrofotometre ile ölçülmüştür. ROT düzeylerini hesaplamak için Softmax® Pro 7.0.3 programı kullanılmıştır. Programda standart ve örnek grupları tanımlanmış olup, semi-log algoritması kullanılmıştır. Konsantrasyona karşı ortalama standart absorbansları ile standart eğri elde edilmiştir. Örneklerin ROT düzeyleri bu eğriye göre saptanmış olup, sonuçlar ng/ml cinsinden verilmiştir.

2.2.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin analiz edilebilmesi, istatistiksel değerlendirmelerin yapılabilmesi amacıyla, IBM SPSS Statistics V.25.0 (IBM Corp., Rel. 2017, Armonk, NY) kullanılmıştır.

Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma (SS) veya ortalamanın standart hatası (SEM), kategorik değişkenler ise olgu sayısı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılım profillerinin değerlendirilebilmesi amacıyla incelenen grubun özelliklerine göre Shapiro-Wilk veya Kolmogorov Smirnov testi uygulanmış, varyansların homojenliği için Levene testi kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren, parametrik test istatistiği varsayımlarının sağlandığı değişkenler açısından gruplar arası farklılığın önemi, incelenen grupların özelliğine göre, student t veya one-way ANOVA, post hoc Fisher’ın en küçük anlamlı farklılık (LSD) testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen, parametrik test istatistiği varsayımlarının sağlanmadığı gruplardan elde edilen veri farklılıkları ise Man-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar Ki-kare testi ile incelenmiştir.

Spearman'ın sıra korelasyon analizi uygulanarak verilere ait tanımlayıcı istatistikler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çoklu değişkenli lojistik regresyon analizleri ile yaş, cinsiyet, sigara öyküsü gibi karıştırıcı faktörlere göre düzeltme yapılmış ve incelenen parametrelerin hastalık üzerine etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Ayrıca kovaryans analizi yapılarak sonuçlar teyid edilmiştir.

Bir hastalığın tesbit edilebilmesi için yapılan tanı testinin sonuçlarının anlamlı ve güvenilir olduğunun belirlenmesi ve gerçek etkinlik düzeyinin denetlenmesi gerekmektedir. Bu değerlendirmenin yapılabilmesi için Alıcı İşletim Karakteristiği (ROC) analizi oldukça önemlidir. Duyarlılık ve özgüllük limitlerinin kıyaslanması ile testlerin ayırt etme gücü ve etkinliklerinin belirlenebilmesi sağlanmaktadır (Hajian-Tilaki, 2013). Değişkenin hasta ve kontrol grubunu ayırt edebilme gücü yani tanı değerinin değerlendirilebilmesi için ROC eğrisinin altında kalan alan (EAKA) kullanılmaktadır. Bu alanın değeri 1'e yaklaştıkça incelenenen değişkenin tanı değeri yükselmektedir. Bu amaçla değerlendirdiğimiz parametreler için ROC eğrisi çizilmiş, EAKA hesaplanarak bu parametrelerin hasta ve kontrol grubunu ayırt edebilme güçleri yorumlanmıştır. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık $p<0.05$, $p<0.01$ ve $p<0.001$ düzeylerinde değerlendirilmiştir.

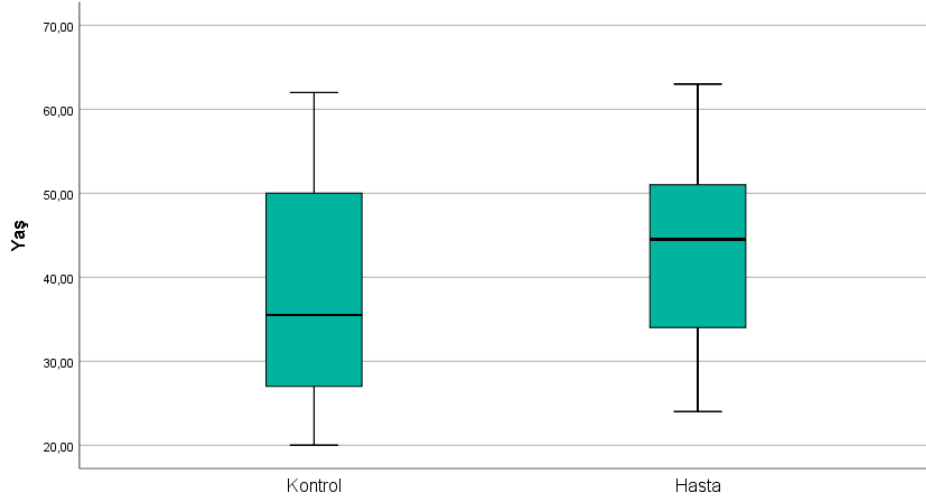
3. BULGULAR

3.1. Çalışma Grubunun Özellikleri

T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Kliniği'ne başvuran gönüllülerden araştırmamız için uygun kriterleri taşıyanlar belirlenmiş ve tez çalışmamıza dahil edilmiştir. Toplam 86 gönüllünün yer aldığı çalışma grubumuzun 56 (%65.11)'sı hasta grubu, 30 (%34.88)'u ise kontrol grubundan oluşmaktadır. Hasta grubunun yaş ortalaması 43.71, kontrol grubunun yaş ortalaması ise 38.17'dir. Kontrol ve hasta gruplarında yer alan gönüllülerin seçimi sırasında gruplar arasında yaş açısından anlamlı bir farklılık olmamasına dikkat edilmiştir ($p>0.05$). Kontrol ve hasta gruplarının yaş özellikleri Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş dağılımları (n=sayı)

Çalışma Grupları	Yaş	P
Kontrol Grubu (n=30)	38.17±13.40 (20-62)	>0.05
Hasta Grubu (n=56)	43.71±10.22 (24-63)	
Toplam	41.78±11.68 (20-63)	

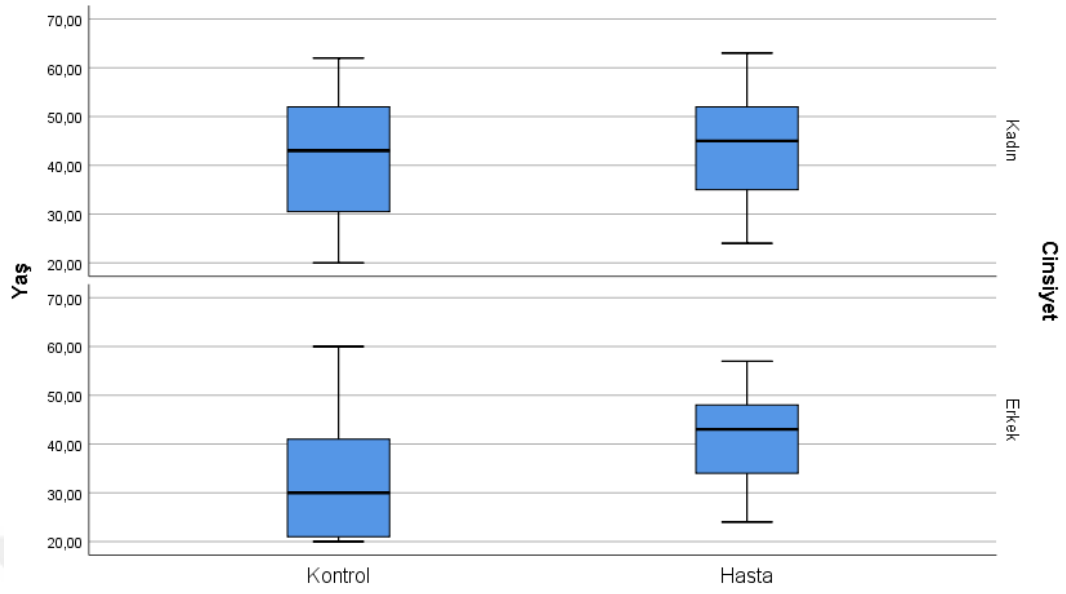


Şekil 3. 1. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımları

Toplam 86 gönüllünün yer aldığı çalışma grubumuzun 62'si (%72.09) kadınlardan, 24'ü (%27.90) erkeklerden oluşmuştur. 62 kadının 43'ü (%50.00) hasta, 19'u (%22.09) kontrol grubunda yer almıştır. 24 erkeğin 13'ü hasta (%15.11), 11'i (%12.79) ise kontrol grubunda yer almıştır. Kontrol ve hasta gruplarında yer alan gönüllülerin seçimi sırasında gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık olmamasına dikkat edilmiştir ($p>0.05$). Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet dağılımları Çizelge 3.2 ve Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 2. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet dağılımları

Cinsiyet	Çalışma Grupları (n)			P
	Kontrol Grubu	Hasta Grubu	Toplam	
Kadın	19 (%22.09)	43 (%50.00)	62 (%72.09)	>0.05
Erkek	11 (%12.79)	13 (%15.11)	24 (%27.90)	
Toplam	30 (%34.88)	56 (%65.11)	86 (%100)	

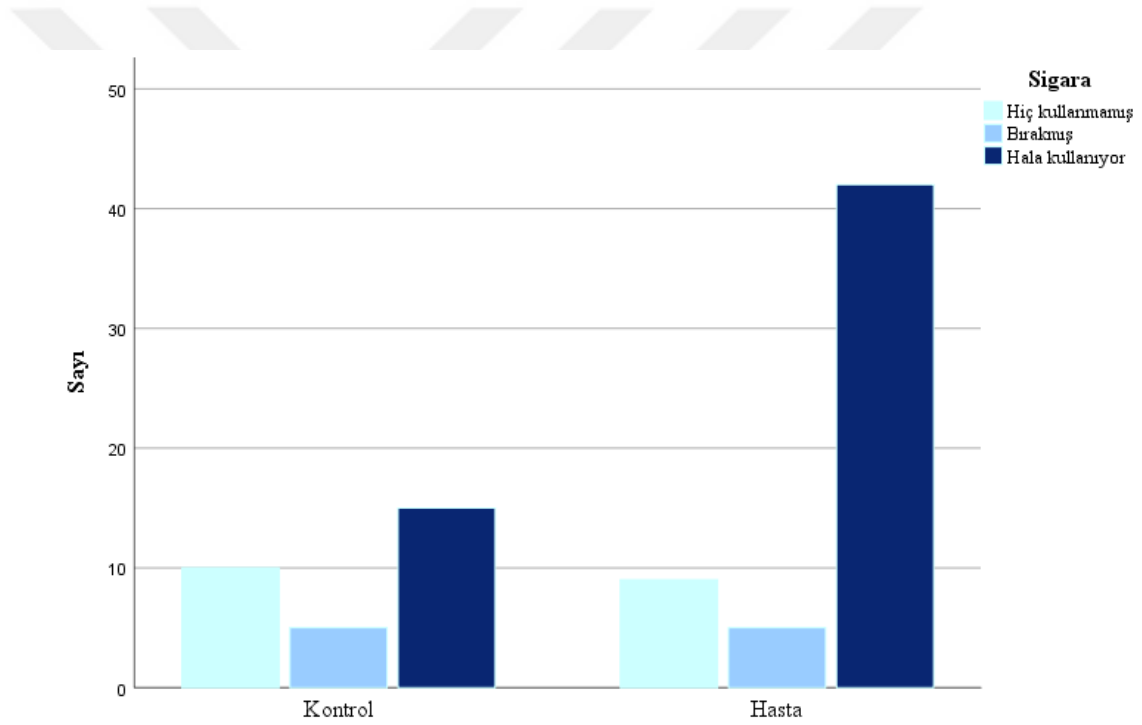


Şekil 3. 2. Kontrol ve hasta gruplarının yaşa karşı cinsiyet dağılımları

Çalışma grubunda yer alan bireylerin sigara kullanım alışkanlıkları anketlerle kayıt altına alınmıştır. Buna göre kontrol ve hasta grupları; hiç sigara kullanmamış olanlar, sigara kullanımını bırakmış olanlar ve aktif sigara kullanıcıları olmak üzere üç grupta sınıflandırılmıştır (Çizelge 3.3, Şekil 3.3). Hasta grubunda 9 kişi (%10.47), kontrol grubunda ise 10 kişi (%11.63) hiç sigara kullanmadığını belirtirmiştir. Sigara kullanımını bırakmış kişi sayısı her iki grupta da 5 (%5.81)'tir. Hasta grubunda 42 kişi (%48.83), kontrol grubunda ise 15 kişi (%17.44) hala sigara kullanımına devam ettiğini, aktif sigara kullanıcısı olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 3. 3. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım durumları

Sigara Kullanım Durumları	Kontrol Grubu (n=30)	Hasta Grubu (n=56)	Toplam (n=86)
Hiç kullanmamış	10 (%11.63)	9 (%10.47)	19 (%22.09)
Bırakmış	5 (%5.81)	5 (%5.81)	10 (%11.63)
Hala kullanıyor	15 (%17.44)	42 (%48.83)	57 (%66.28)
Toplam	30 (%34.88)	56 (%65.12)	86 (%100)

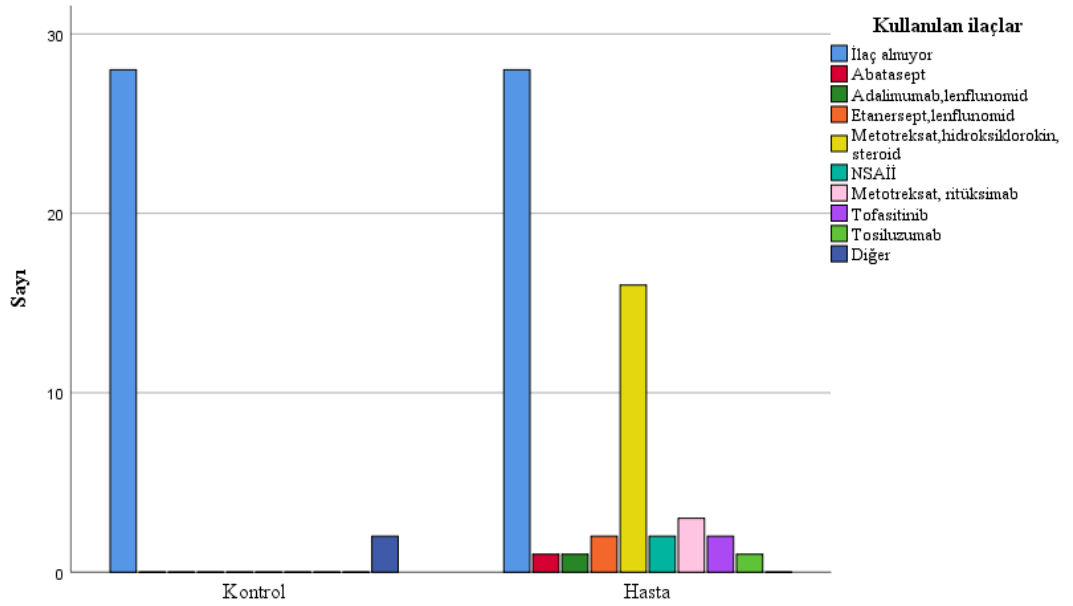


Şekil 3. 3 Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım durumları

Kontrol ve hasta gruplarında yer alan gönüllülerin kullandığı ilaçlar anketlerle kayıt altına alınmış olup, Çizelge 3.4 ve Şekil 3.4’te gösterilmiştir. Kontrol grubunda yer alan 30 kişiden 28’i ilaç kullanmazken, hasta grubunun yarısının ilaç kullandığı görülmüştür. Hasta grubunda en çok kullanılan ilaç kombinasyonu 16 hasta ile metotreksat, hidroksiklorokin, steroiddir.

Çizelge 3. 4. Kontrol ve hasta gruplarının ilaç kullanım durumları

İlaç Kullanım Durumu	Çalışma Grupları (n)	
	Kontrol Grubu	Hasta Grubu
İlaç kullanmıyor	28 (%32.56)	28 (%32.56)
İlaç kullanıyor	2 (%2.33)	28 (%32.56)
Abatasept	0 (%0)	1 (%1.16)
Adalimumab ve lenflunomid	0 (%0)	1 (%1.16)
Etanersept ve leflunomid	0 (%0)	2 (%2.33)
Metotreksat, hidroksiklorokin ve steroid	0 (%0)	16 (%18.60)
Metotreksat ve ritüksimab	0 (%0)	3 (%3.49)
NSAİİ	0 (%0)	2 (%2.33)
Tofasitinib	0 (%0)	2 (%2.33)
Tosiluzumab	0 (%0)	1 (%1.16)
Vitamin	2 (%2.33)	0 (%0)
Toplam	30 (%34.88)	56 (%65.11)

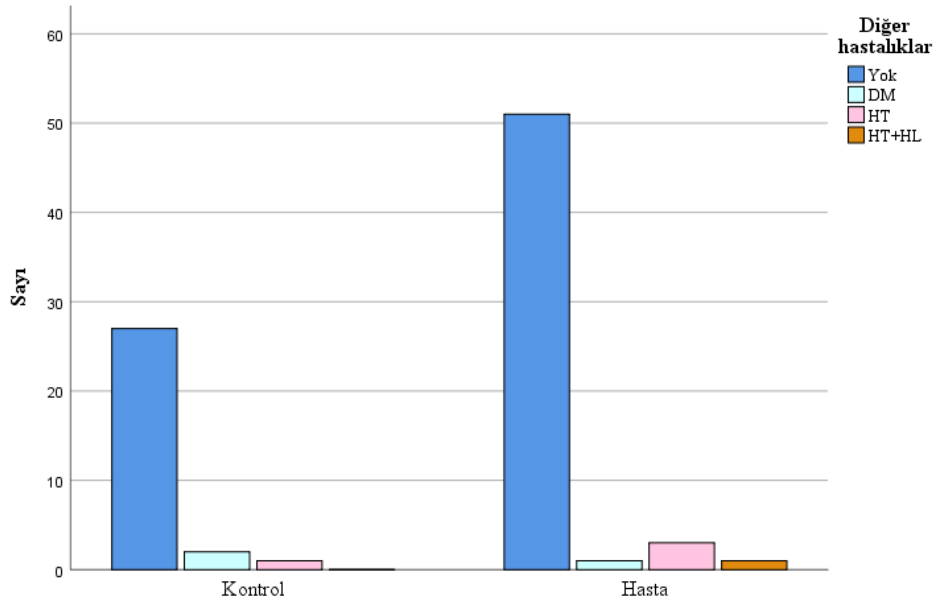


Şekil 3. 4. Kontrol ve hasta gruplarının ilaç kullanım durumları

Kontrol ve hasta gruplarının romatoid artrit harici diğer hastalıkları anketlerle kayıt altına alınmıştır. Kontrol grubunda yer alan 30 kişiden 27'sinde herhangi bir hastalık olmadığı görülmüştür. Hasta grupta yer alan 56 kişiden 51'i ise sadece romatoid artrit hastası olup, bu bireylerde romatoid artiritten başka herhangi bir hastalık görülmediği ifade edilmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3. 5. Kontrol ve hasta gruplarının romatoid artrit harici diğer hastalık durumları

Diğer Hastalık Durumları	Çalışma Grupları (n)	
	Kontrol Grubu	Hasta Grubu
Yok	27 (%31.40)	51 (%59.30)
Hipertansiyon	1 (%1.16)	3 (%3.49)
Hipertansiyon ve hiperlipidemi	0 (%0.00)	1 (%1.16)
Tip II diabetes mellitus	2 (%2.32)	1 (%1.16)
Toplam	30 (%34.88)	56 (%65.11)



Şekil 3. 5. Kontrol ve hasta gruplarının romatoid artrit harici diğer hastalık durumları

Hasta grubu öncelikle, henüz ilaç tedavisi başlamamış yeni tanı almış hastalar ve ilaç tedavisi uygulanan kronik hastalar olarak ikiye ayrılmıştır. Sonrasında ilaç tedavisi uygulanan hastalar; hastalık aktivitesi ve dönemine göre sınıflandırılmıştır. Buna göre hasta grubu; romatoid artrit remisyon (naif) döneminde olan hastalar (remisyon grubu), romatoid artrit aktif (alevli) dönemde olan hastalar (aktif grup) ve romatoid artrit tanısını yeni almış, bu hastalıkla ilgili ilaç tedavisi henüz başlamamış hastalar (yeni tanı grubu) olmak üzere üç alt sınıfa ayrılmıştır.

Kendi içinde üç alt sınıfa ayrılan hasta grubunun; romatoid artrit tanısında kullanılan ACPA, CRP, ESR, RF ve DAS28 değerleri kayıt altına alınmıştır. Her grup için ortalama değerler hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.6’da özetlenmiştir.

Çizelge 3. 6. Hasta gruplarının romatoid artrit tanı bulguları

Bulgular	Hasta Grupları (n=56)			p
	Remisyon Grubu (n=11)	Aktif Grup (n=16)	Yeni Tanı Grubu (n=29)	
DAS28 skoru	3.02±0.09 ^{AY}	5.49 ±0.29 ^R	5.73±0.43 ^R	<0.05*
ACPA	% 72 pozitif	% 94 pozitif	% 92 pozitif	>0.05
RF	% 72 pozitif	% 94 pozitif	% 92 pozitif	>0.05
ESR (mm/sa)	22.64±13.17 ^{AY}	56.50±15.35 ^R	54.10±7.91 ^R	<0.05*
CRP (mg/dl)	5.46±2.98 ^{AY}	21.88±9.78 ^R	18.14±5.22 ^R	<0.05*

(*) Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(A) Aktif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(R) Remisyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(Y) Yeni tanı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

Aktif ve yeni tanı gruplarındaki hastaların DAS28, ESR ve CRP düzeyleri remisyon dönemindeki hastalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunurken ($p<0.05$); ACPA ve RF değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Aktif ve yeni tanı grupları arasında ise tüm bu parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışmamıza katılan hastaların DAS28 ile CRP ve ESR değerleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı korelasyon bulunurken ($r_{CRP}=0.344$ ve $r_{ESR}=0.485$; $p<0.05$), DAS28 ile ACPA ve RF değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmamıştır ($r=0.066$, $p>0.05$). Hastaların CRP ile DAS28, ACPA, ESR, RF değerleri arasında pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuş olup, korelasyon katsayılarının sırasıyla $r_{DAS28}=0.344$, $r_{ACPA}=0.295$, $r_{ESR}=0.506$, $r_{RF}=0.295$ olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Çalışmamıza katılan hastaların glukoz ve lipid profilleri değerlendirilmiş, hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri yapılmıştır. Lipid profillerinin değerlendirilebilmesi amacıyla kanda düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), total kolesterol, trigliserit düzeyleri ölçülmüştür. Karaciğer enzim aktivitelerini belirlemek amacıyla alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri ölçülmüştür. Kan üre azotu (BUN) ve kreatinin düzeyleri ölçülerek böbrek fonksiyonları değerlendirilmiştir. Tam kan sayımı (hemogram testi) yapılarak hemoglobin, lökosit, platelet gibi kan parametrelerinin düzeyleri ölçülmüştür. Tüm veriler için ortalama değerler hesaplanmış ve Çizelge 3.7’de gösterilmiştir. Hasta grupları arasında parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilmiştir. Gruplar arasında lökosit, ALT ve BUN değerleri açısından anlamlı farklılık bulunurken ($p<0.05$); diğer parametreler açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Yeni tanı grubundaki hastaların lökosit düzeylerinin aktif ve remisyon dönemindeki hastalardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Aktif dönemdeki hastaların ALT düzeylerinin yeni tanı grubundaki hastalardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). En yüksek BUN düzeylerinin remisyon dönemindeki hastalara ait olduğu bulunmuştur. Remisyon grubunun BUN

düzeylerinin aktif ve yeni tanı gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Çizelge 3. 7. Hasta grubunun diğer laboratuvar bulguları

Laboratuvar Bulguları	Hasta Grupları (n=56)			p
	Remisyon Grubu (n=11)	Aktif Grup (n=16)	Yeni Tanı Grubu (n=29)	
Glukoz (mg/dL)	97.64±12.22	97.19±36.65	89.69±9.55	>0.05
Total kolesterol (mg/dL)	241.46±57.32	221.31±27.22	239.03±31.28	>0.05
LDL (mg/dL)	136.18±42.79	129.5±23.15	134.28±28.73	>0.05
HDL (mg/dL)	44.10±9.65	42.88±6.80	47.24±10.44	>0.05
Trigliserit (mg/dL)	247.73±59.62	205.69±38.37	206.72±34.75	>0.05
BUN (mg/dL)	18.55±3.59 ^{AY}	14.94±4.61 ^R	13.17±2.78 ^R	<0.05*
Kreatinin (mg/dL)	0.77±0.05	0.69±0.12	0.75±0.09	>0.05
AST (IU/L)	26±6.88	26±7.83	25.83±7.41	>0.05
ALT (IU/L)	29.82±6.94	33.25±5.58 ^Y	27.31±6.87 ^A	<0.05*
Hemoglobin (g/dL)	11.12±0.47	11.15±0.56	11.42±0.77	>0.05
Lökosit (/µl)	6.46±2.11 ^Y	6.99±0.83 ^Y	7.66±0.73 ^{AR}	<0.05*
Platelet (/µl)	240.91±57.91	244.06±52.58	238.55±67.59	>0.05

(*) Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(A) Aktif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

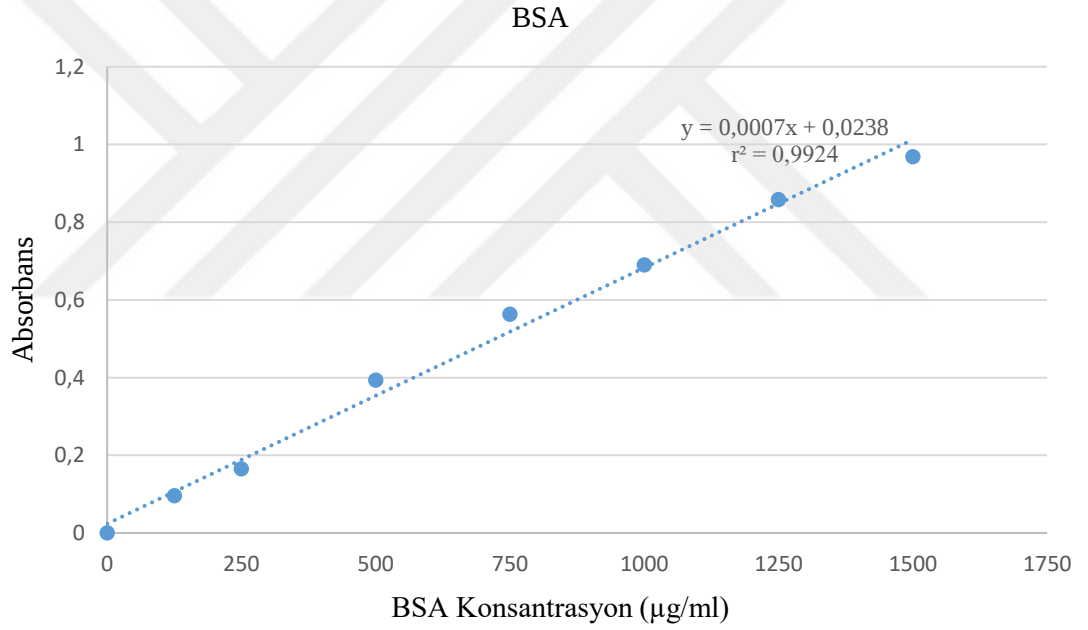
(R) Remisyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(Y) Yeni tanı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

3.2. Protein Ekspresyon Yöntemleri Sonuçları

3.2.1. Protein Miktar Tayini

Kontrol ve hasta gruplarından izole edilen periferik mononükleer hücrelerde Bradford yöntemi kullanılarak protein miktar tayini yapılmıştır. Standart olarak bovin serum albümin (BSA) kullanılmış ve elde edilen sonuçlarla standart protein eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.6).

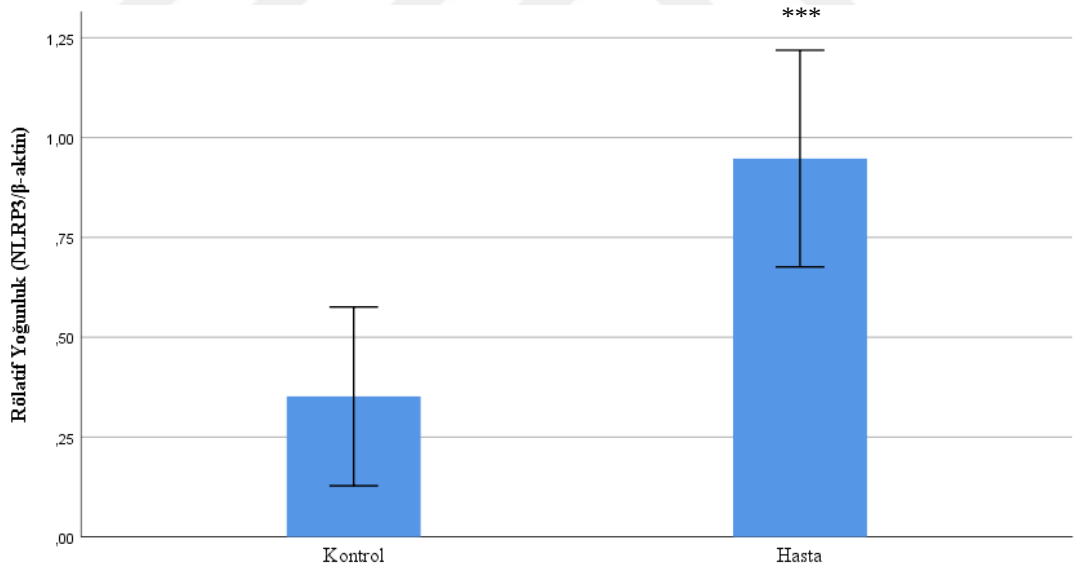


Şekil 3. 6. Standart protein eğrisi

3.2.2. Western Blot Yöntemi Sonuçları

Western blot yöntemi ile 30 kişiden oluşan kontrol ve 56 kişiden oluşan hasta grubunda yer alan her bir gönüllünün NLRP3 protein ekspresyon düzeyi saptanmıştır. Her kuyucuğa eşit miktarda protein yüklendiğini teyid etmek amacıyla memeli hücre ve dokularında ifade edilen bir protein olan β -aktin kullanılmıştır. Membranlar β -aktin ile değerlendirilerek normalizasyon sağlanmış ve her numune için rölatif yoğunluk hesaplamaları yapılmıştır.

Hasta grubun NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin kontrol grubunun yaklaşık 2.5 katı olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.7). Gruplar arasındaki farklılık incelendiğinde hasta grubun protein ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.001$).

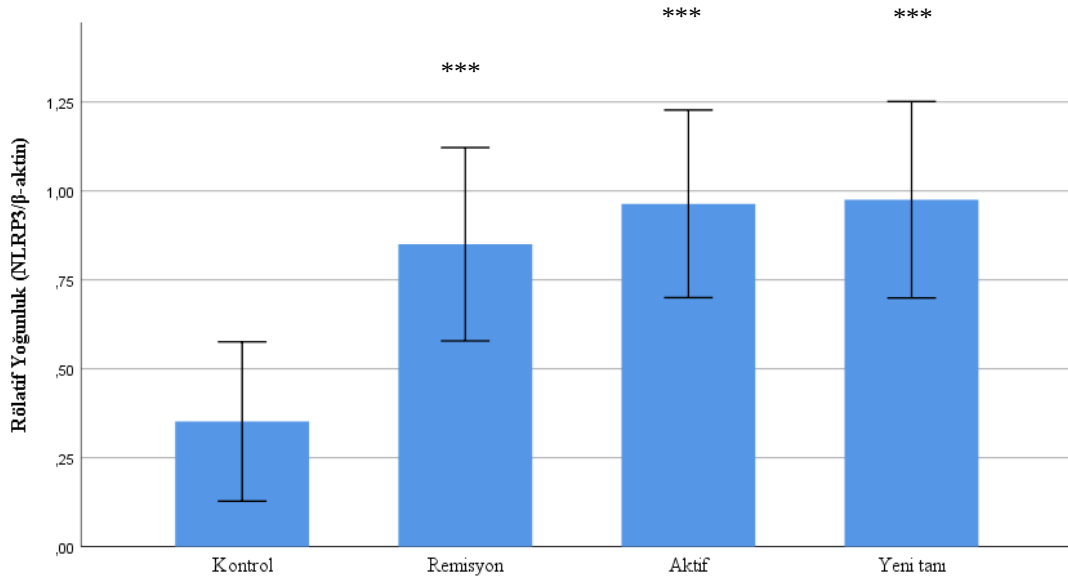


Şekil 3. 7. Kontrol ve hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri (***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.001$).

NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta

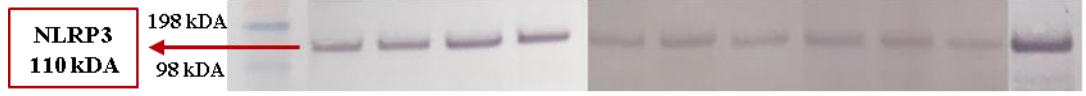
grubun protein ekspresyonu kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

Hasta grubu; remisyon dönemindeki hasta grubu, aktif dönemdeki hasta grubu, hastalık tanısını yeni almış ve bu hastalıkla ilgili ilaç tedavisi henüz başlamamış hasta grubu olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır. Bu hastalardaki NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında; remisyon dönemindeki hastaların NLRP3 protein ekspresyonlarının 2.40, aktif dönemdeki hastaların 2.77, yeni tanı grubundakilerin ise 2.83 katı olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Hasta grubu kendi içinde değerlendirildiğinde; remisyon dönemindeki hastaların NLRP3 protein ekspresyonlarının, aktif ve yeni tanı grubundakilere göre azaldığı gözlemlenmiştir. Yeni tanı grubundaki hastaların NLRP3 protein ekspresyonlarının remisyon dönemindeki hastaların 1.18, aktif dönemdeki hastaların 1.02 katı olduğu bulunmuştur. Aktif dönemdeki hastaların NLRP3 protein ekspresyonlarının ise remisyon dönemindeki hastaların 1.15 katı olduğu görülmüştür ($p>0.05$). Her bir numune için β -aktin ile normalizasyon sağlanmış ve sonuçlar Şekil 3.8’de özetlenmiştir.

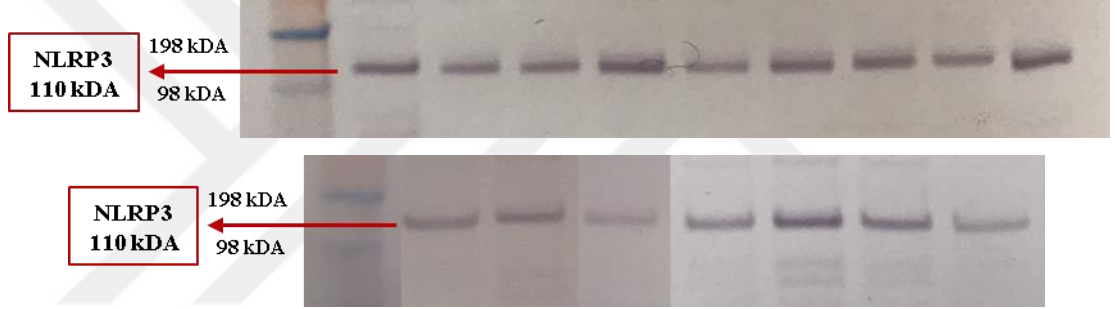


Şekil 3. 8. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri
(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

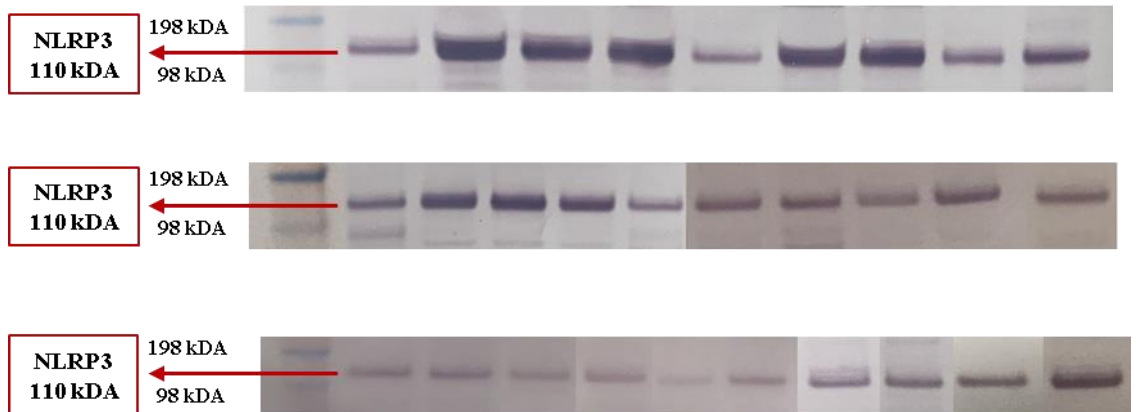
Hasta grubu remisyon dönemi, aktif dönem ve yeni tanı olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır. Tüm gruplarda yer alan hastalardan izole edilen periferik mononükleer hücrelerde western blot yöntemi ile NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş ve sonuçlar sırasıyla Şekil 3.9, 3.10 ve 3.11’de gösterilmiştir.



Şekil 3. 9. Remisyon dönemindeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyonları

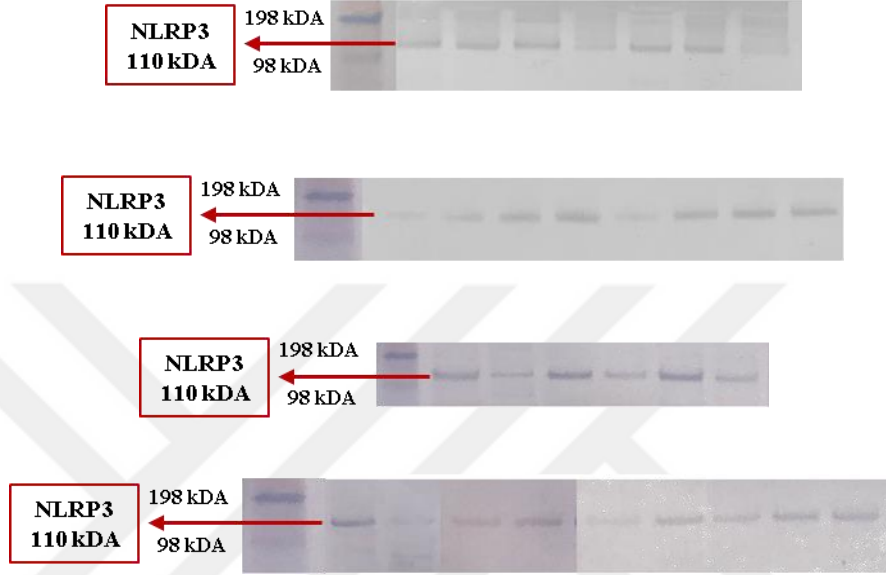


Şekil 3. 10. Aktif dönemdeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyonları



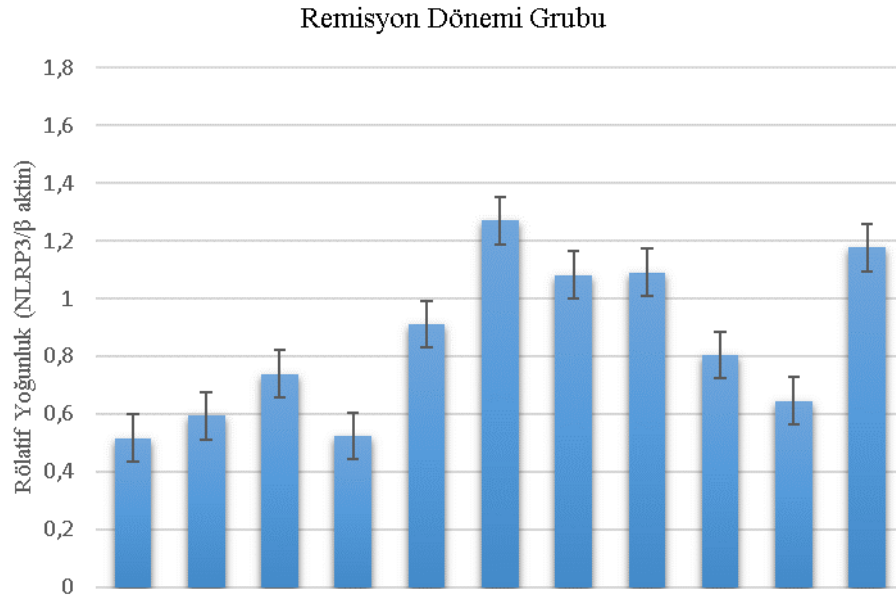
Şekil 3. 11. Yeni tanı grubundaki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyonları

Kontrol grubundaki bireylerden izole edilen periferik mononükleer hücrelerde western blot yöntemi ile NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş ve sonuçlar Şekil 3.12’de gösterilmiştir.

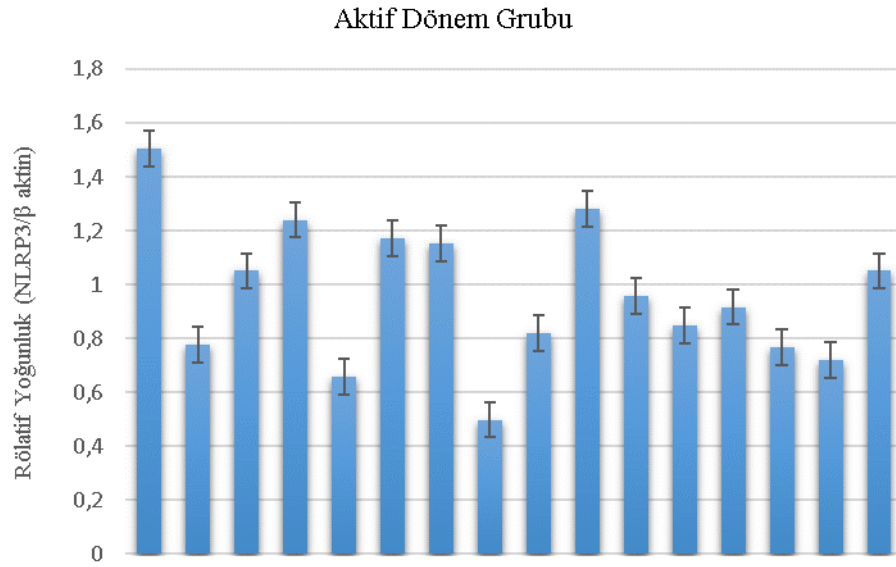


Şekil 3. 12. Kontrol grubundaki bireylere ait NLRP3 protein ekspresyonları

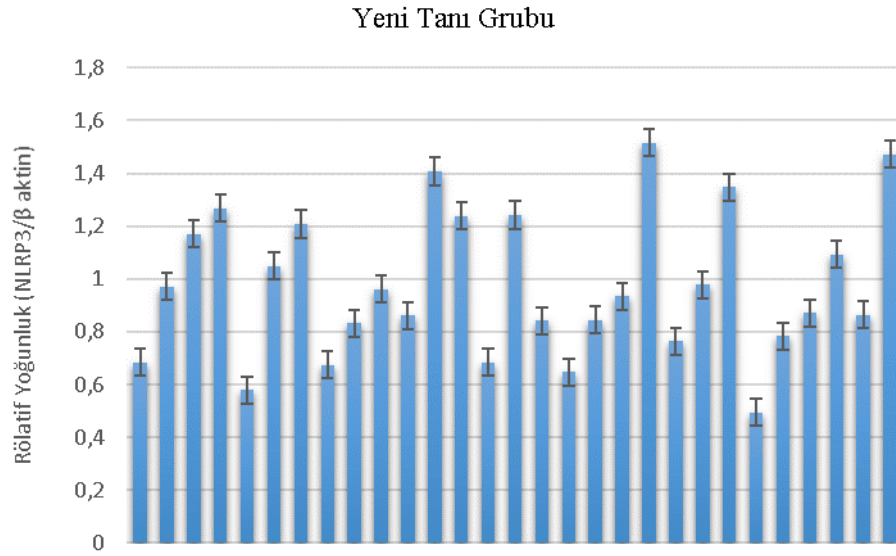
Remisyon dönemi, aktif dönem ve yeni tanı grubundaki bireylere ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri sırasıyla Şekil 3.13, 3.14 ve 3.15’te gösterilmiştir.



Şekil 3. 13. Remisyon dönemindeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri

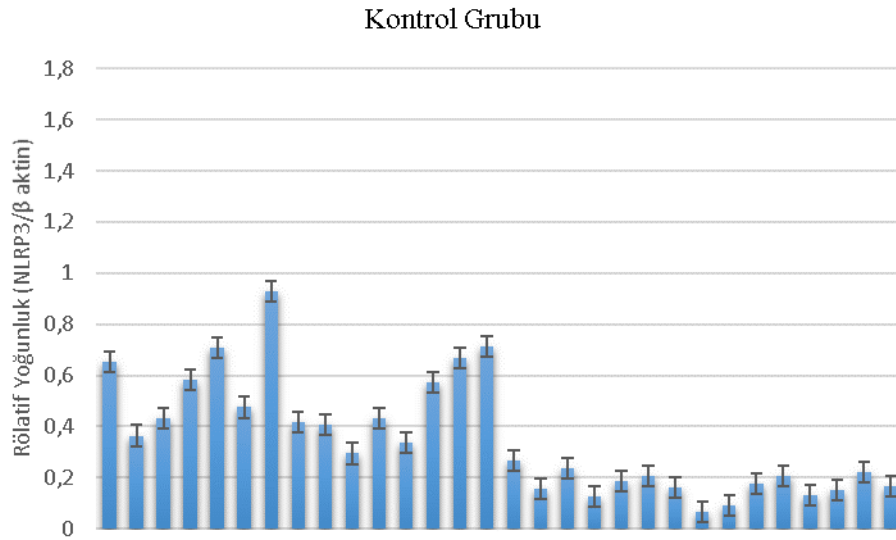


Şekil 3. 14. Aktif dönemdeki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri



Şekil 3. 15. Yeni tanı grubundaki hastalara ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri

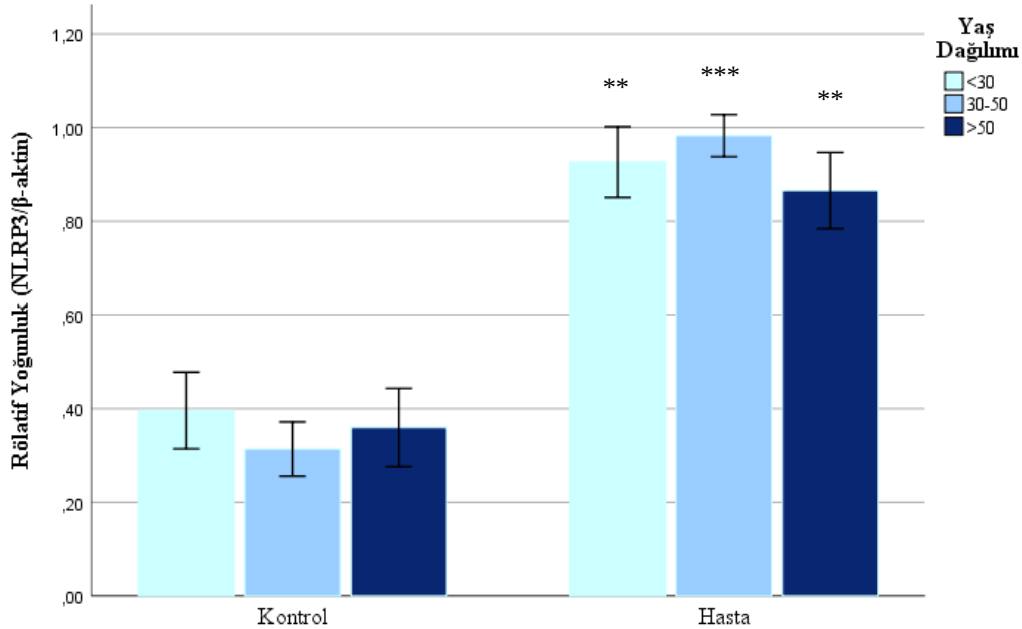
Kontrol grubundaki bireylere ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri Şekil 3.16’da gösterilmiştir.



Şekil 3. 16. Kontrol grubundaki bireylere ait NLRP3 protein ekspresyon düzeyi değişimleri

3.2.2.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri yaş dağılımına göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.17). Tüm yaş aralıkları ayrı ayrı incelendiğinde hasta grupların ekspresyon düzeylerinin aynı yaş aralığındaki kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. 30 yaşından küçük hasta grubunun aynı yaş aralığındaki kontrol grubunun yaklaşık 2.3 katı, 50 yaşından büyük hasta grubunun ise kontrol grubunun yaklaşık 2.4 katı protein ekspresyonu gösterdiği bulunmuştur ($p<0.01$). 30-50 yaş aralığında ise hasta grubun protein ekspresyonunun kontrol grubunun 3.1 katı olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Kontrol ve hasta grupları kendi içinde değerlendirildiğinde yaş grupları arasında ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Kontrol ve hasta grubu olarak ayrılmaksızın değerlendirildiğinde de yaş artışı ile ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($r=0.080$; $p>0.05$).



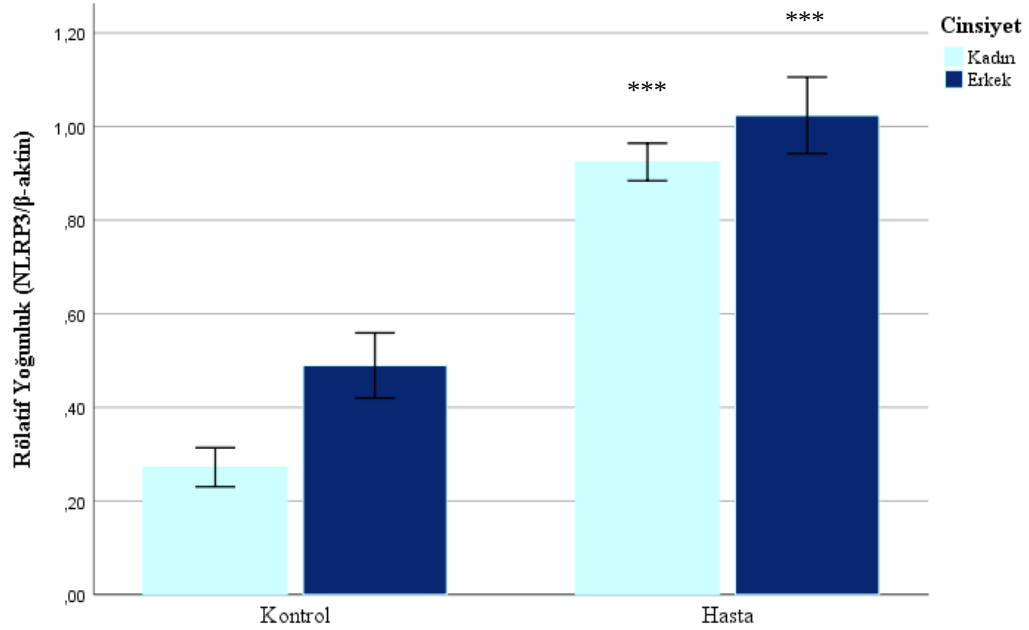
Şekil 3. 17. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

(**) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

(***) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

3.2.2.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

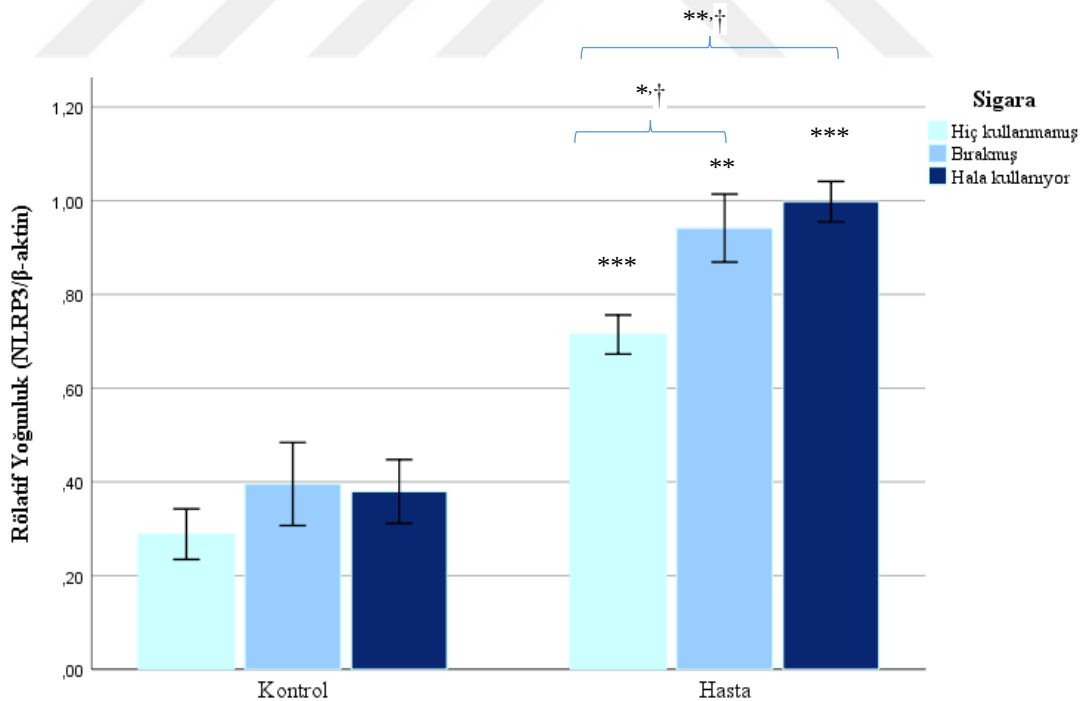
Kontrol ve hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri cinsiyete göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.18). Kontrol ve hasta gruplarında erkeklerin protein ekspresyon düzeylerinin kadınlardan yüksek olduğu, ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Hasta grubundaki kadınların protein ekspresyon düzeylerinin kontrol grubundaki kadınların yaklaşık 3.4 katı, erkek hastaların ise kontrol grubundaki erkeklerin yaklaşık 2.1 katı olduğu görülmüştür ($p<0.001$).



Şekil 3. 18. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri (***) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

3.2.2.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri sigara kullanma alışkanlıklarına göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.19). Hem kontrol, hem de hasta grupları arasında en düşük ekspresyon hiç sigara kullanmayan grupta bulunmuştur. Aynı alışkanlığı olan kişiler değerlendirildiğinde; hiç sigara kullanmayan hastaların kontrol grubunun yaklaşık 2.5 katı, sigara kullanan hastaların ise kontrol grubunun yaklaşık 2.6 katı ekspresyon gösterdiği bulunmuştur ($p<0.001$). Sigara kullanımını bırakan hastaların ekspresyon düzeylerinin ise kontrol grubunun yaklaşık 2.4 katı olduğu görülmüştür ($p<0.01$). Kontrol grubu kendi içinde değerlendirildiğinde sigara kullanım alışkanlıklarına göre ekspresyon düzeylerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Hasta grupta ise; hem sigara kullanımını bırakmış ($p<0.05$), hem de sigara kullanan hastaların ($p<0.01$) ekspresyon düzeylerinin hiç sigara kullanmamış hastalardan anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 3. 19. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

(***) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

(*†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(**†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

3.2.2.4. Laboratuvar Bulguları ile NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Hasta grubun NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile romatoid artrit tanısında kullanılan laboratuvar bulguları (ACPA, CRP, ESR, RF) ve DAS28 arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon katsayıları sırasıyla; $r_{ACPA}=0.068$, $r_{CRP}=0.184$, $r_{ESR}=-0.067$, $r_{RF}=0.068$, $r_{DAS28}=-0.009$ bulunmuştur. Protein ekspresyon düzeyleri ile bu parametreler arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Hasta grubun NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile glukoz ve lipid profili; hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları arasında korelasyon analizi yapılmıştır. NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile bu parametreler arasında da anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.8).

Çizelge 3. 8. Laboratuvar bulguları ile NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri arasındaki korelasyon analizleri sonuçları

Laboratuvar Bulguları	Rölatif yoğunluk (NLRP3/ β aktin)	
	Korelasyon katsayısı	<i>p</i> -değeri
Glukoz Profili		
Glukoz	-0,095	0,485
Lipid Profili		
Total kolesterol	-0,036	0,793
LDL	-0,072	0,598
HDL	0,024	0,858
Trigliserit	0,088	0,520
Böbrek Fonksiyon Testleri		
BUN	-0,051	0,707
Kreatin	-0,172	0,204
Karaciğer Fonksiyon Testleri		
AST	0,127	0,351
ALT	0,161	0,237
Hemogram		
Hemoglobin	-0,062	0,650
Lökosit	-0,116	0,395
Platelet	0,149	0,274

3.2.3. İmmünotokimya Yöntemi Sonuçları

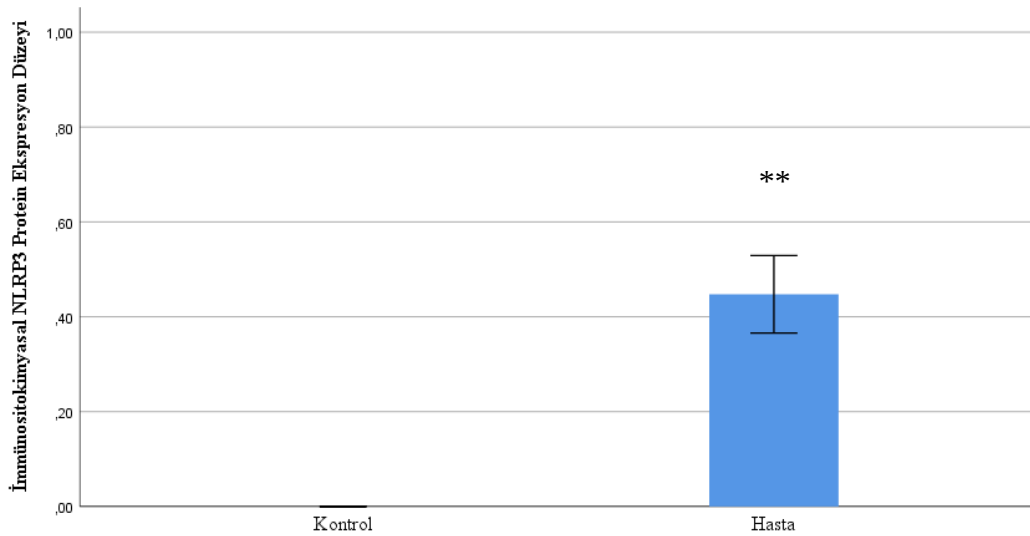
Kontrol ve hasta grubundan izole edilen periferik mononükleer hücrelerde immünotokimyasal yöntemle NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.9 ve Şekil 3.20’de gösterilmiştir. Hasta grubunda ortalama 0.45 pozitif boyanma saptanırken, kontrol grubunda hiç pozitif boyanma gözlenmemiştir. Hasta grubun immünotokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

Çizelge 3. 9. Kontrol ve hasta gruplarının immünotokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

Çalışma Grupları	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri
Kontrol Grubu	0.00
Hasta Grubu	0.45±0.08**

0: negatif ekspresyon, 1: pozitif ekspresyon olarak değerlendirilmiştir.

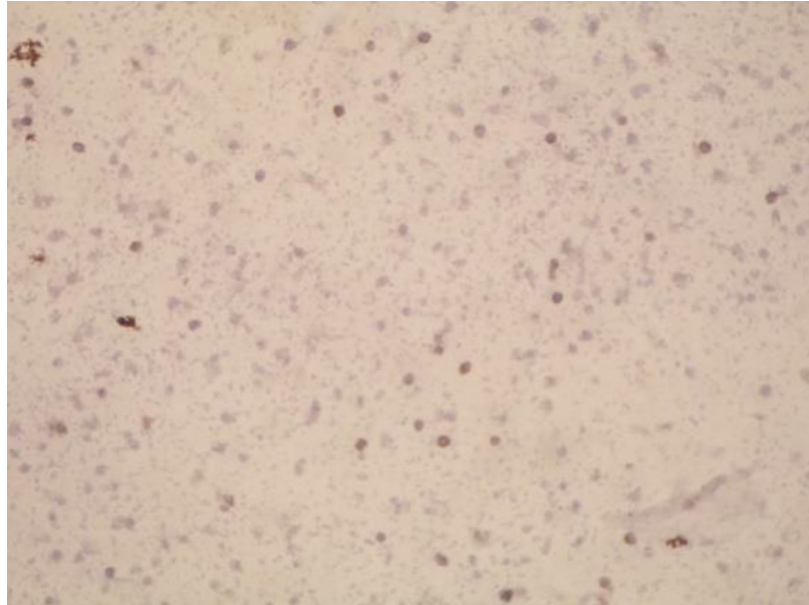
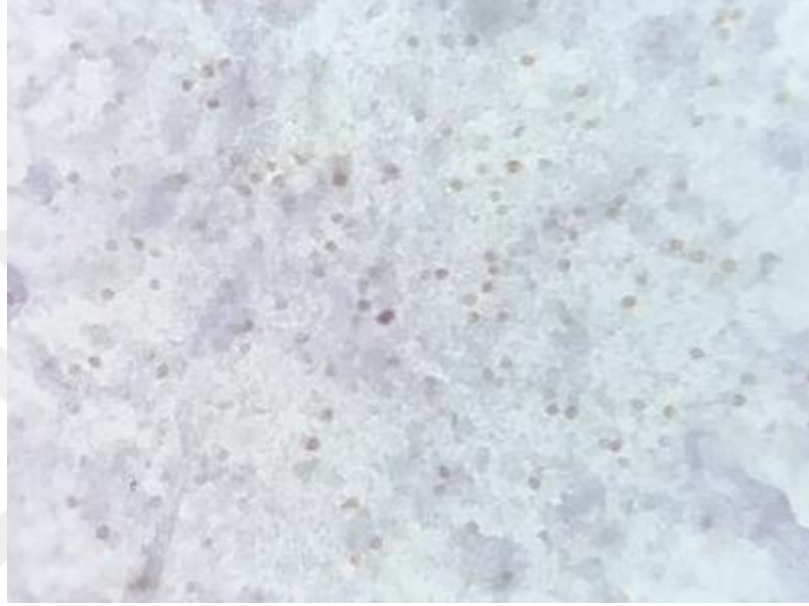
(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



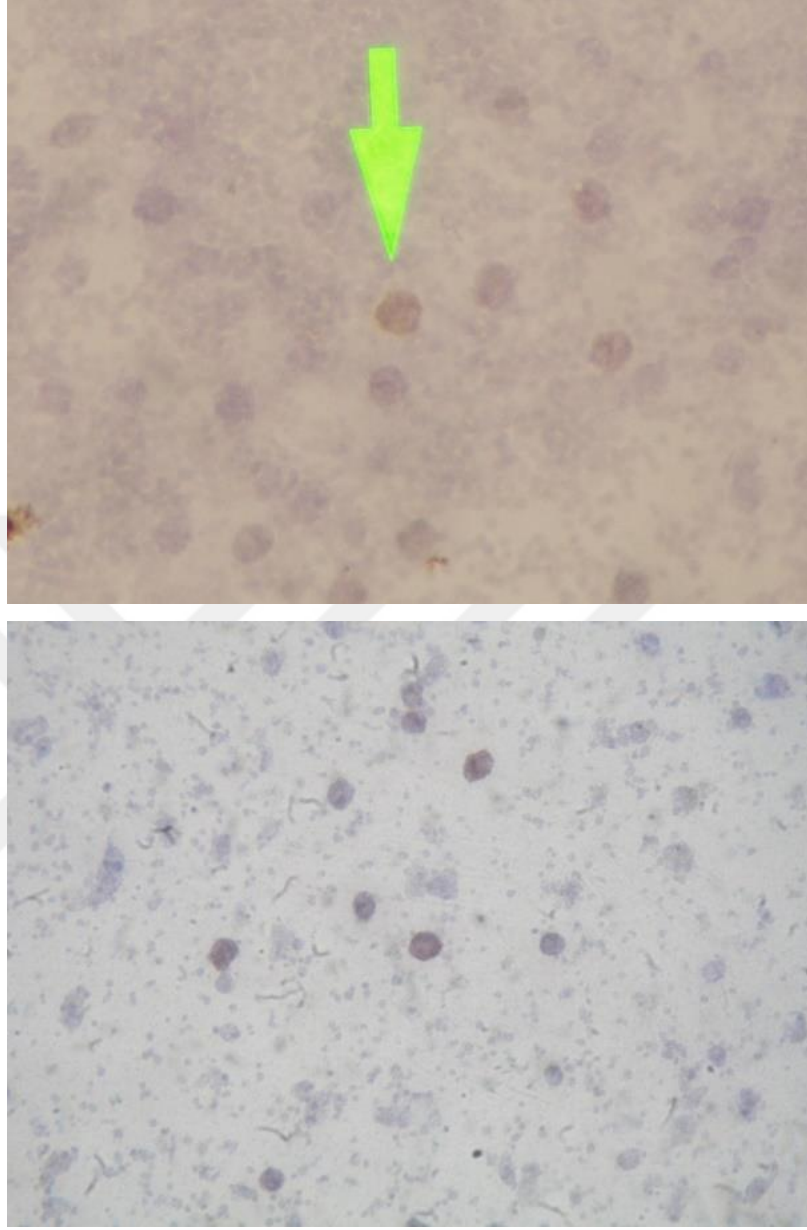
Şekil 3. 20. Kontrol ve hasta gruplarının immünotokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

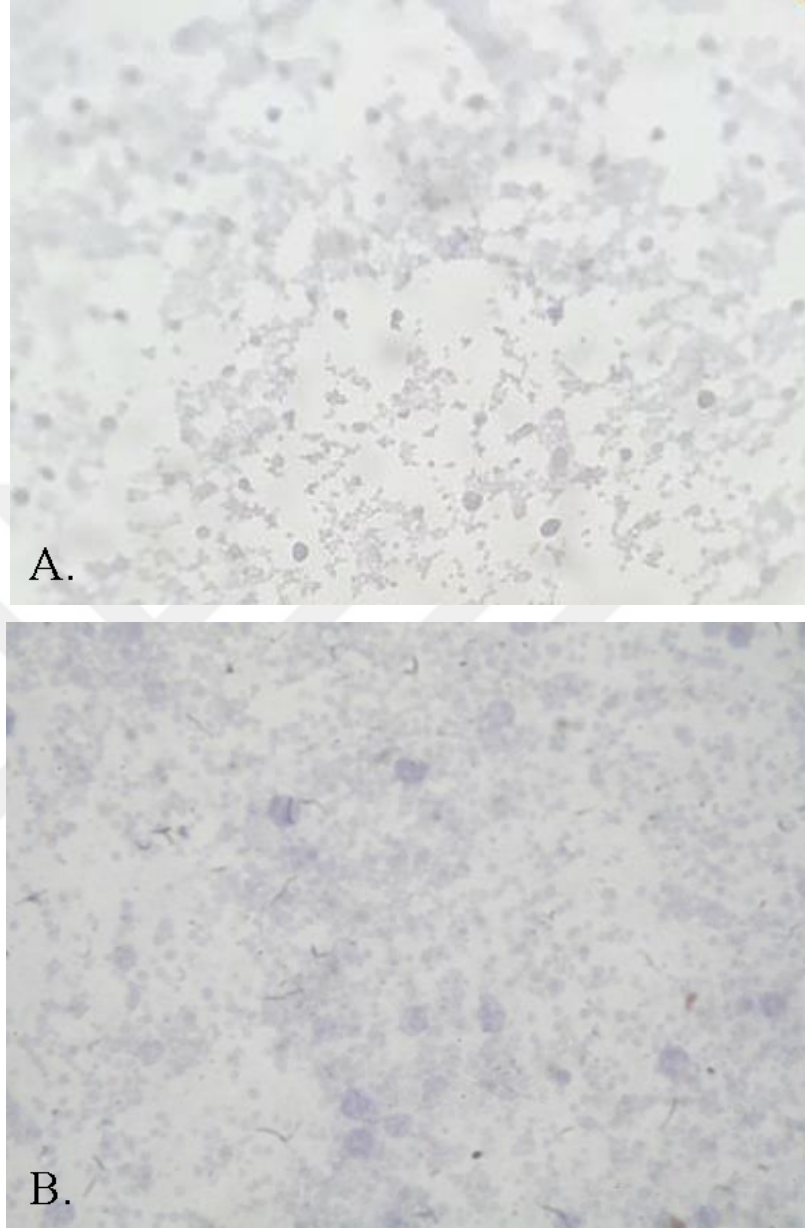
Hasta grubundan izole edilen periferel mononükleer hücrelerde immünsitokimyasal yöntem ile NLRP3 proteininin pozitif boyanmalarına ait ışık mikrofrafisi Şekil 3.21 ve 3.22’de, negatif boyanmalarına ait ışık mikrofrafisi ise Şekil 3.23’de gösterilmiştir.



Şekil 3. 21. Hasta grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünsitokimyasal pozitif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofrafisi (X40)

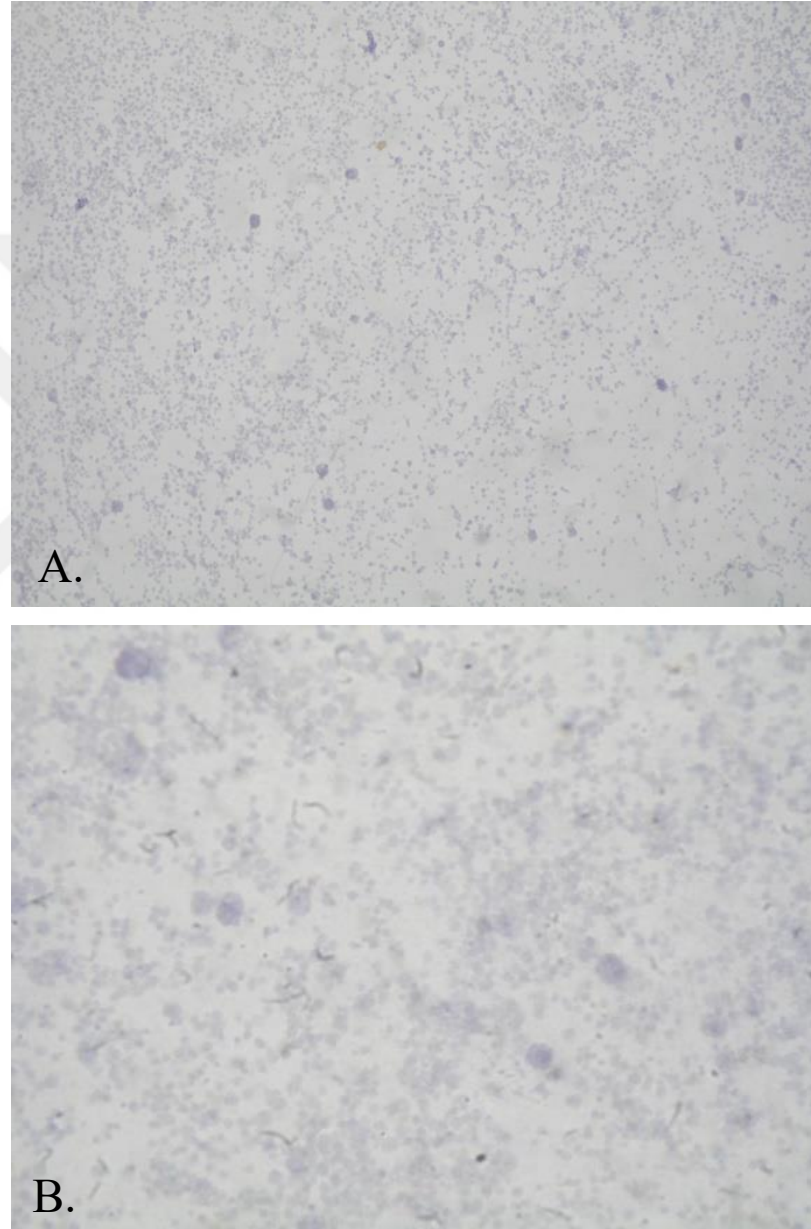


Şekil 3. 22. Hasta grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünohistokimyasal pozitif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofrafı (X100)



Şekil 3. 23. Hasta grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünositokimyasal negatif boyanma görüntülerine ait ışık mikrografi (A. X40 ve B. X100)

Kontrol grubundan izole edilen periferel mononükleer hücrelerde NLRP3 proteininin ekspresyon düzeyleri değerlendirildiğinde hiç pozitif boyanma olmadığı görülmüştür. Kontrol grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin negatif boyanmalarına ait ışık mikrofasi Şekil 3.24'te gösterilmiştir.



Şekil 3. 24. Kontrol grubunun periferel mononükleer hücrelerinde NLRP3 proteininin immünositokimyasal negatif boyanma görüntülerine ait ışık mikrofasi (A. X40 ve B. X100)

Hastalığın aktivitesine göre sınıflandırılan hastalardan izole edilen periferik mononükleer hücrelerin NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal yöntemle incelenmiştir. Hasta gruplarından elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile birlikte Çizelge 3.10 ve Şekil 3.25’de gösterilmiştir.

Tüm gruplar karşılaştırıldığında en yüksek immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyonunun aktif dönemdeki hastalarda gözlemlendiği belirlenmiştir. Aktif dönemdeki hasta grubunda ortalama 0.50 pozitif boyanma saptanmış olup, kontrol grubu ile kıyaslandığında aktif dönemdeki hastaların ekspresyonunun anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$). Yeni almış ve bu hastalıkla ilgili tedavisi henüz başlamamış hastalardan oluşan grupta ortalama 0.46 pozitif boyanma görülmüş olup, kontrol grubu ile kıyaslandığında bu grubun ekspresyon düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). Aktif dönemdeki hastaların protein ekspresyonlarının yeni tanı grubundakilerden yüksek olduğu; ancak, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Ortalama 0.33 pozitif boyanma ile hasta grubu içinde en düşük NLRP3 protein ekspresyonunun remisyon dönemindeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Remisyon dönemindeki hastaların protein ekspresyonları aktif ve yeni tanı grubundakilerden düşük bulunsalar da, gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Kontrol grubuyla kıyaslandığında ise remisyon dönemindeki hastaların ekspresyon düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

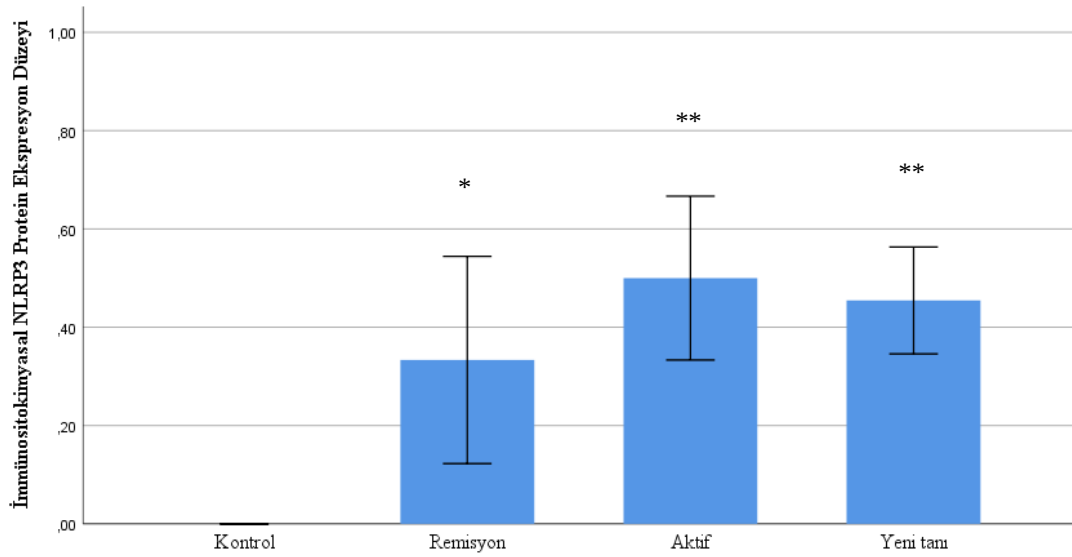
Çizelge 3. 10. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

Çalışma Grupları		NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri
Kontrol Grubu		0.00
Hasta Grubu	Remisyon	0.33±0.21*
	Yeni tanı	0.46±0.11**
	Aktif	0.50±0.17**

0: negatif ekspresyon, 1: pozitif ekspresyon olarak değerlendirilmiştir.

(*) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



Şekil 3. 25. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

(*) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

3.2.3.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

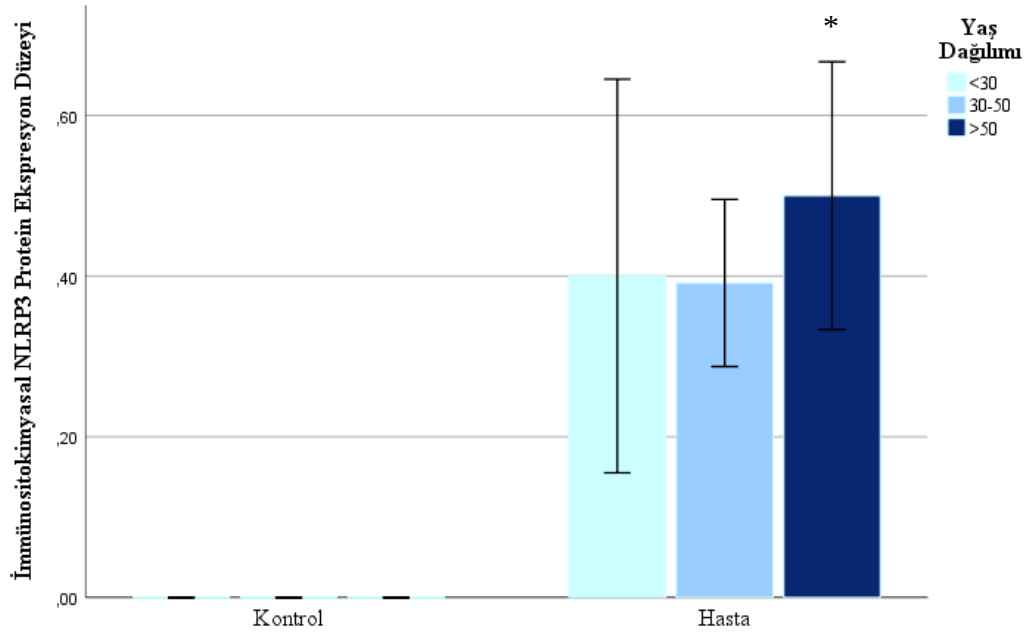
Kontrol ve hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri yaş dağılımına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.11) (Şekil 3.26). Tüm yaş aralıkları ayrı ayrı incelendiğinde, hasta grupların NLRP3 ekspresyon düzeylerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu bulunmuştur. 50 yaşından büyük hastaların aynı yaş aralığındaki kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek ekspresyon gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol ve hasta grupları kendi içinde değerlendirildiğinde yaş grupları arasında NLRP3 ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Kontrol ve hasta grubu olarak ayrılmaksızın incelendiğinde yaş artışı ile ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($r=0.124$; $p>0.05$).

Çizelge 3. 11. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

Çalışma Grupları	Yaş	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri
Kontrol Grubu	<30	-
	30-50	-
	>50	-
Hasta Grubu	<30	0.40±0.25
	30-45	0.39±0.10
	>50	0.50±0.17*

0: negatif ekspresyon, 1: pozitif ekspresyon olarak değerlendirilmiştir.

(*) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).



Şekil 3. 26. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

(*) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.05$)

3.2.3.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

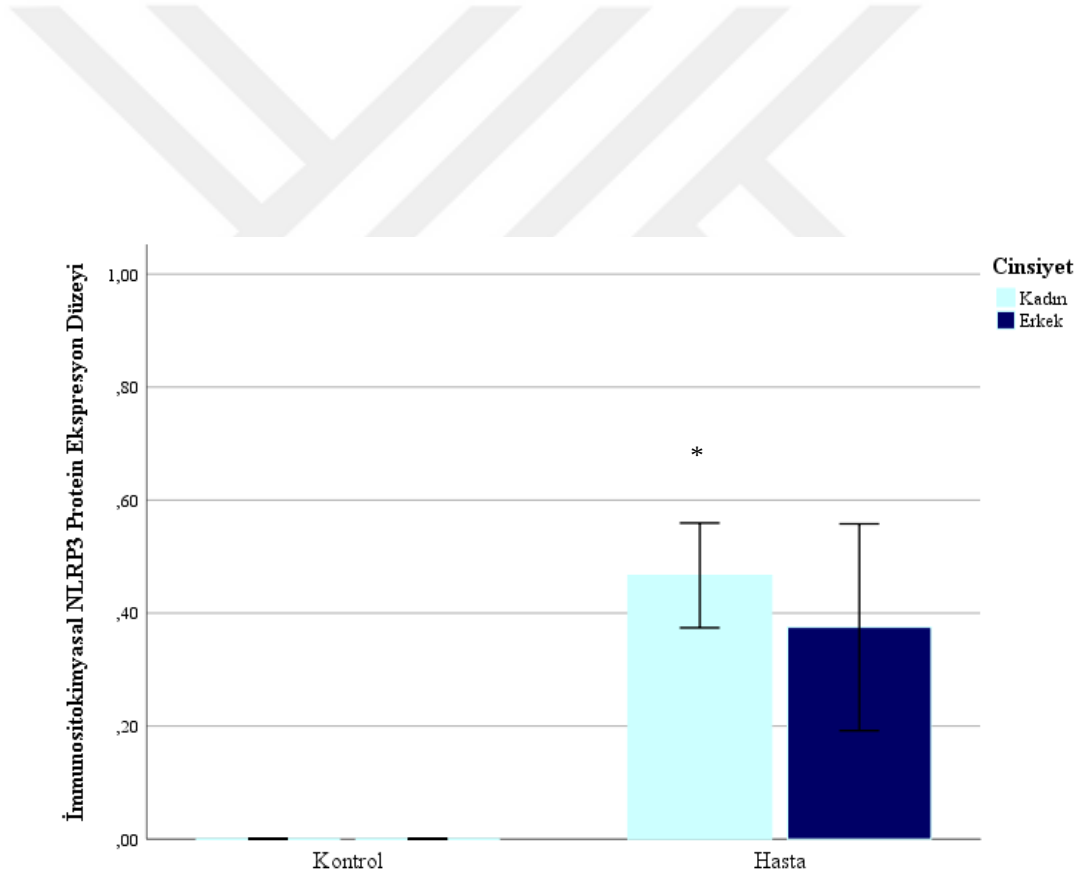
Kontrol ve hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri cinsiyete göre değerlendirilmiştir. Kadın hastaların erkek hastalardan daha fazla ekspresyon gösterdiği bulunmuştur. Ancak gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Her cinsiyet kendi içinde değerlendirildiğinde; hem kadın, hem erkek hastaların protein ekspresyon düzeylerinin kontrol gruplarından yüksek olduğu görülmüştür. Kadınlarda bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0.05$), erkeklerde anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 3. 12) (Şekil 3.27).

Çizelge 3. 12. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

Çalışma Grupları	Cinsiyet	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri
Kontrol Grubu	Kadın	-
	Erkek	-
Hasta Grubu	Kadın	0.48±0.09*
	Erkek	0.38±0.18

0: negatif ekspresyon, 1: pozitif ekspresyon olarak değerlendirilmiştir.

(*) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).



Şekil 3. 27. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

(*) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

3.2.3.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Değerlendirilmesi

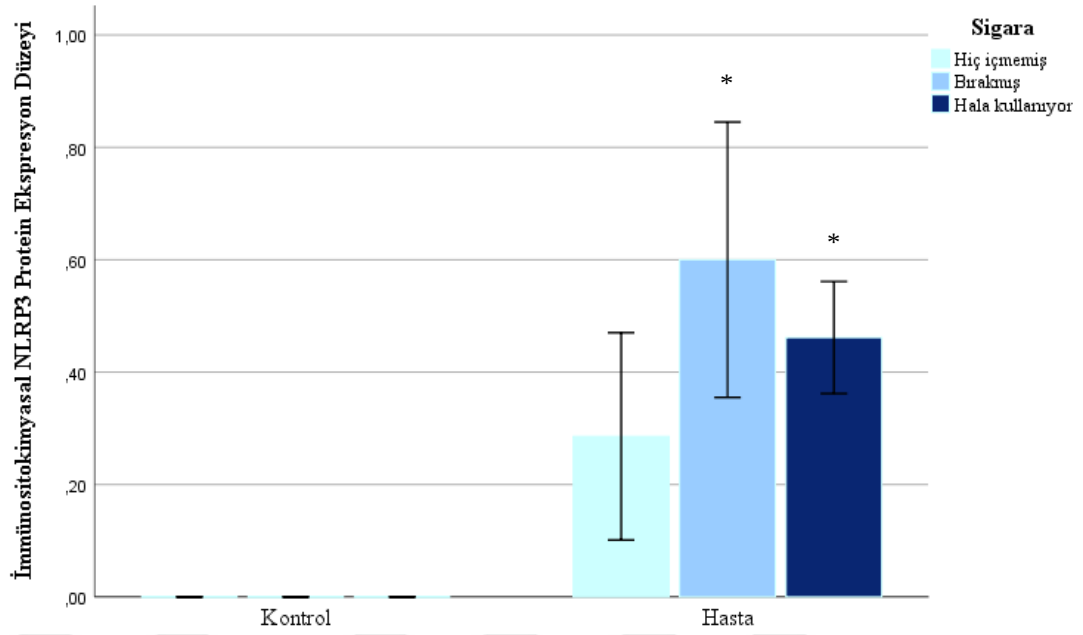
Kontrol ve hasta gruplarının immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri sigara kullanım alışkanlıklarına göre değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol grupları kendi içinde değerlendirildiğinde gruplar arasında sigara kullanım alışkanlıkları açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları kıyaslandığında ise; hala sigara kullanan ve sigara kullanımını bırakan hastaların ekspresyon düzeylerinin kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 3.13) (Şekil 3.28).

Çizelge 3. 13. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri

Çalışma Grupları	Sigara	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri
Kontrol Grubu	Hiç kullanmamış	-
	Bırakmış	-
	Hala kullanıyor	-
Hasta Grubu	Hiç kullanmamış	0.29±0.18
	Bırakmış	0.60±0.24*
	Hala kullanıyor	0.46±0.10*

0: negatif ekspresyon, 1: pozitif ekspresyon olarak değerlendirilmiştir.

(*) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$)



Şekil 3. 28. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri
(*) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

3.2.3.4. Laboratuvar Bulguları ile NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Hastaların romatoid artrit tanısında kullanılan laboratuvar bulguları (ACPA, CRP, ESR, RF) ve DAS28 ile immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Değerlendirilen parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Korelasyon katsayıları sırasıyla; $r_{ACPA}=0.212$; $r_{CRP}=-0.063$; $r_{ESR}=-0.046$; $r_{RF}=0.212$; $r_{DAS28}=0.056$ bulunmuştur ($p>0.05$).

Hastaların glukoz ve lipid profili; hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları ile immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmış; bu parametreler arasında korelasyon analizi yapılmıştır. İncelenen parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.14).

Çizelge 3. 14. Laboratuvar bulguları ile immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları

Laboratuvar Bulguları	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri	
	Korelasyon katsayısı	<i>p-değeri</i>
Glukoz Profili		
Glukoz	0,255	0,123
Lipid Profili		
Total kolesterol	-0,019	0,908
LDL	0,145	0,384
HDL	0,007	0,965
Trigliserit	0,194	0,243
Böbrek Fonksiyon Testleri		
BUN	0,181	0,276
Kreatin	-0,137	0,411
Karaciğer Fonksiyon Testleri		
AST	0,223	0,178
ALT	0,044	0,794
Hemogram		
Hemoglobin	-0,194	0,243
Lökosit	-0,080	0,633
Platelet	0,103	0,538

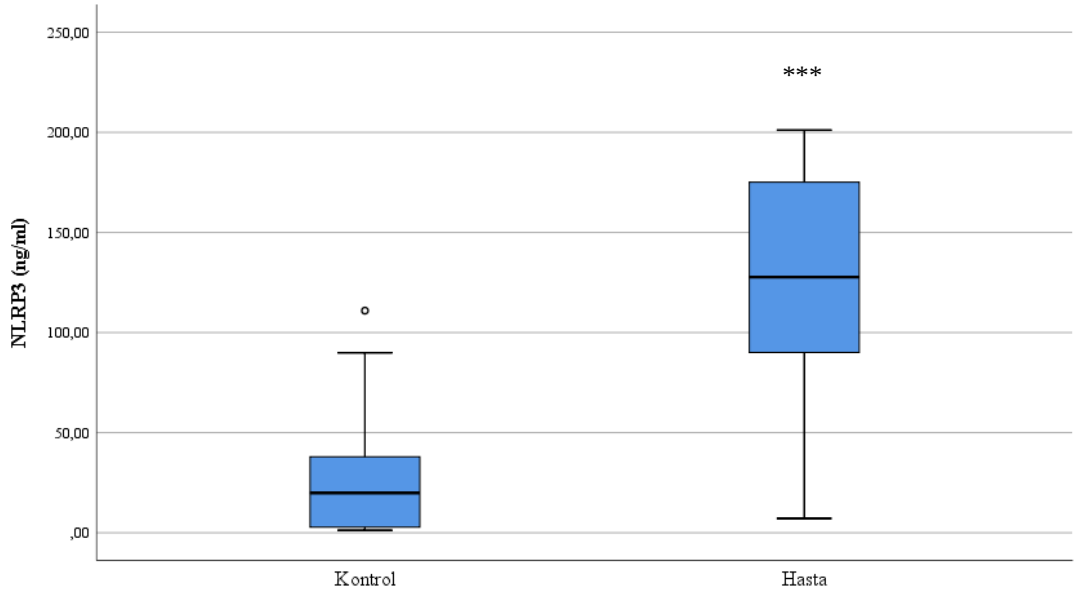
3.3. Plazma NLRP3 Düzeyleri

Kontrol ve hasta gruplarından izole edilen plazmalarda NLRP3 düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 3.15’de gösterilmiştir. Hasta grubun ortalama NLRP3 düzeyinin kontrol grubunun yaklaşık 4.7 katı olduğu bulunmuştur. Gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$) (Şekil 3.29).

Çizelge 3. 15. Kontrol ve hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri

Çalışma Grupları	NLRP3 (ng/ml)
Kontrol Grubu	26.26±5.30
Hasta Grubu	124.71±7.47***

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).



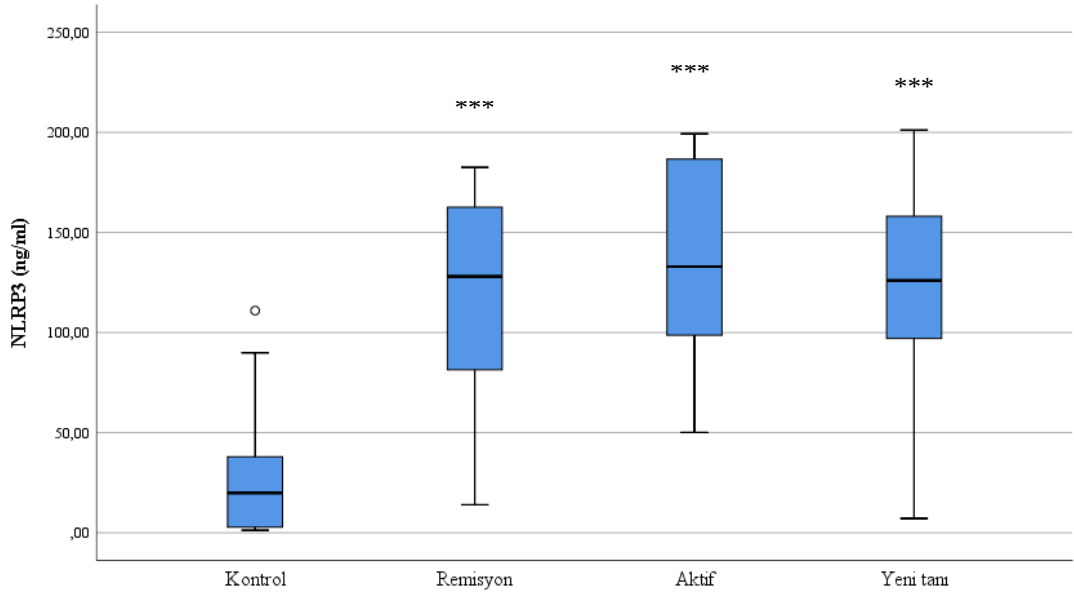
Şekil 3. 29. Kontrol ve hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri
(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

Hastalığın aktivitesine göre sınıflandırılan hastalardan izole edilen plazmalarda NLRP3 düzeyleri ölçülmüş olup, sonuçlar kontrol grubu ile birlikte Çizelge 3.16 ve Şekil 3.30’da gösterilmiştir. Tüm gruplar arasındaki en yüksek ortalama NLRP3 düzeyinin aktif dönemdeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Aktif dönemdeki hastaların NLRP3 düzeyinin kontrol grubunun yaklaşık 5.3 katı olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). Aktif dönemdeki hastaların ortalama NLRP3 düzeyinin remisyon dönemindeki hastaların yaklaşık 1.2 katı, yeni tanı grubundaki hastaların ise yaklaşık 1.1 katı olduğu, ancak gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Yeni tanı grubundaki hastaların NLRP3 düzeyinin kontrol grubunun yaklaşık 4.6 katı olduğu bulunmuş olup, gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Yeni tanı grubundaki hastaların ekspresyon düzeylerinin remisyon dönemindeki hastaların 1.1 katı olduğu bulunmuştur ($p>0.05$). Hasta grupları içinde en düşük NLRP3 düzeyi remisyon dönemindeki hastalarda görülmüştür. Remisyon dönemindeki hastaların NLRP3 düzeyinin kontrol grubunun 4.4 katı olduğu bulunmuş olup, gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$).

Çizelge 3. 16. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri

Çalışma Grupları		NLRP3 (ng/ml)
Kontrol Grubu		26.26±5.30
Hasta Grubu	Remisyon	115.77±17.67***
	Aktif	137.12±12.86***
	Yeni Tanı	121.26±10.77***

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).



Şekil 3. 30. Kontrol ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri
(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.001$).

3.3.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma NLRP3 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının plazma NLRP3 düzeyleri yaş dağılımına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.17) (Şekil 3.31). Tüm yaş aralıkları ayrı ayrı incelendiğinde hasta grupların NLRP3 düzeylerinin kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Hasta grupların NLRP3 düzeylerinin aynı yaş aralığındaki kontrol gruplarının; 30 yaşından küçüklerde yaklaşık 9.4, 50 yaşından büyüklerde 3.7 katı olduğu bulunmuştur ($p < 0.01$). 30-50 yaş aralığındaki hastaların NLRP3 düzeylerinin ise aynı yaş aralığındaki kontrol grubunun yaklaşık 3.9 katı olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Hasta grubu kendi içinde değerlendirildiğinde yaş dağılımı ile plazma NLRP3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Kontrol grubunda ise 50 yaşından büyük bireylerin plazma NLRP3 düzeylerinin, 30 yaşından küçük bireylerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

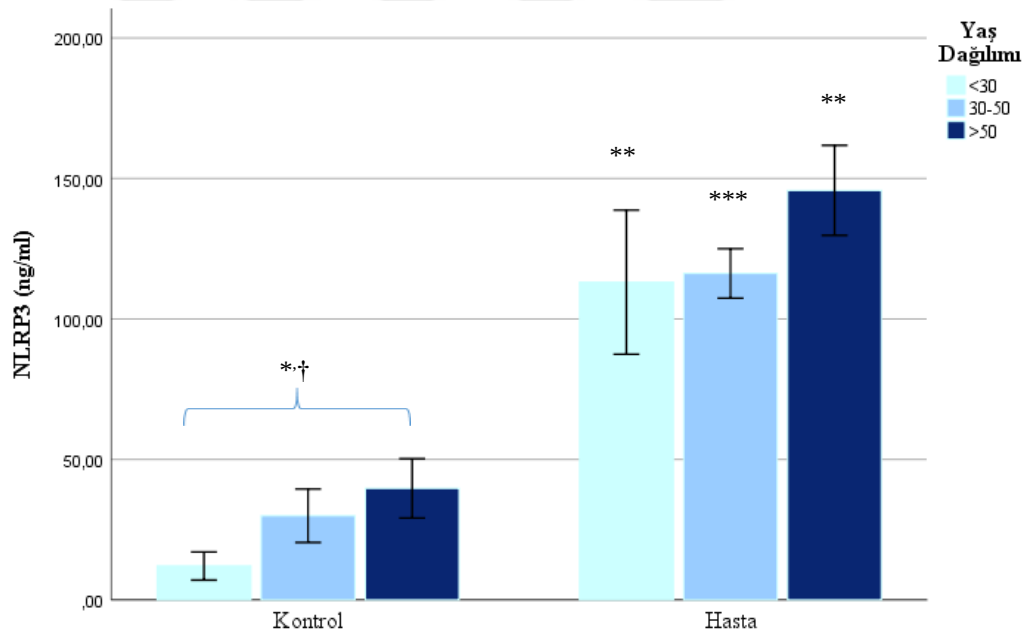
Çizelge 3. 17. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma NLRP3 düzeyleri

Çalışma Grupları	Yaş	NLRP3 (ng/ml)	
Kontrol Grubu	<30	12.07±5.01	*†
	30-50	29.94±9.50	
	>50	39.70±10.54	
Hasta Grubu	<30	113.07±25.63**	
	30-50	116.19±8.81***	
	>50	145.75±16.02**	

(**) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).

(***) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.001).

(*†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).



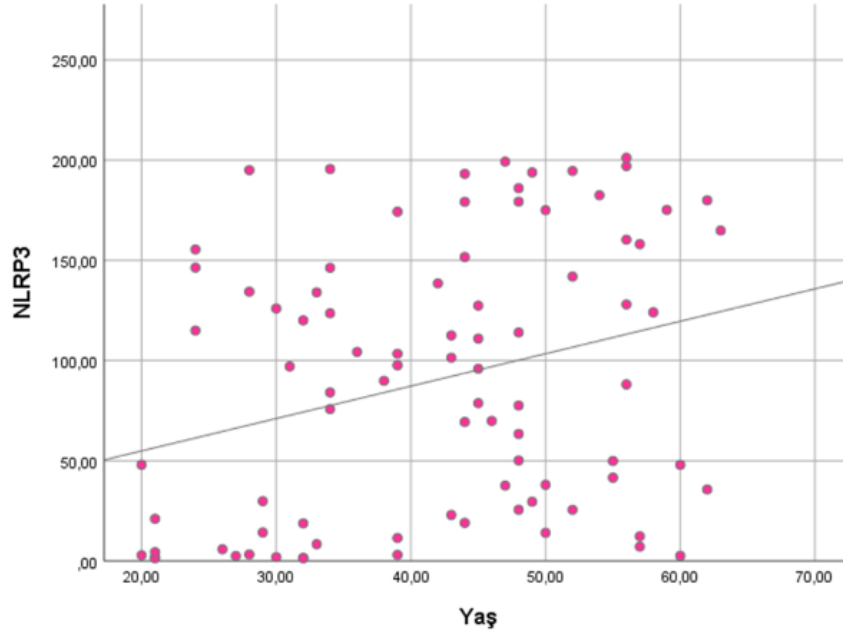
Şekil 3. 31. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma NLRP3 düzeyleri

(**) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).

(***) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.001).

(*†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

Kontrol ve hasta grubu olarak ayrılmaksızın değerlendirildiğinde ise yaş artışı ile plazma NLRP3 düzeylerinin pozitif yönlü ve anlamlı olarak arttığı görülmüştür ($r=0.305$; $p=0.004$, $p<0.01$) (Şekil 3.32).



Şekil 3. 32. Plazma NLRP3 düzeyleri ile yaş dağılımı korelasyon grafiği

3.3.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma NLRP3 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının NLRP3 düzeyleri cinsiyete göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.18) (Şekil 3.33). Hem kontrol, hem hasta gruplarında kadınların NLRP3 düzeylerinin erkeklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda kadınların NLRP3 düzeylerinin erkeklerin yaklaşık 3.7 ($p<0.01$), hasta grubunda ise yaklaşık 1.3 katı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Hasta grubundaki kadınların NLRP3 düzeylerinin kontrol grubundaki kadınların yaklaşık 3.6, hasta grubundaki erkeklerin ise kontrol grubundaki erkeklerin yaklaşık 10 katı olduğu bulunmuştur ($p<0.001$).

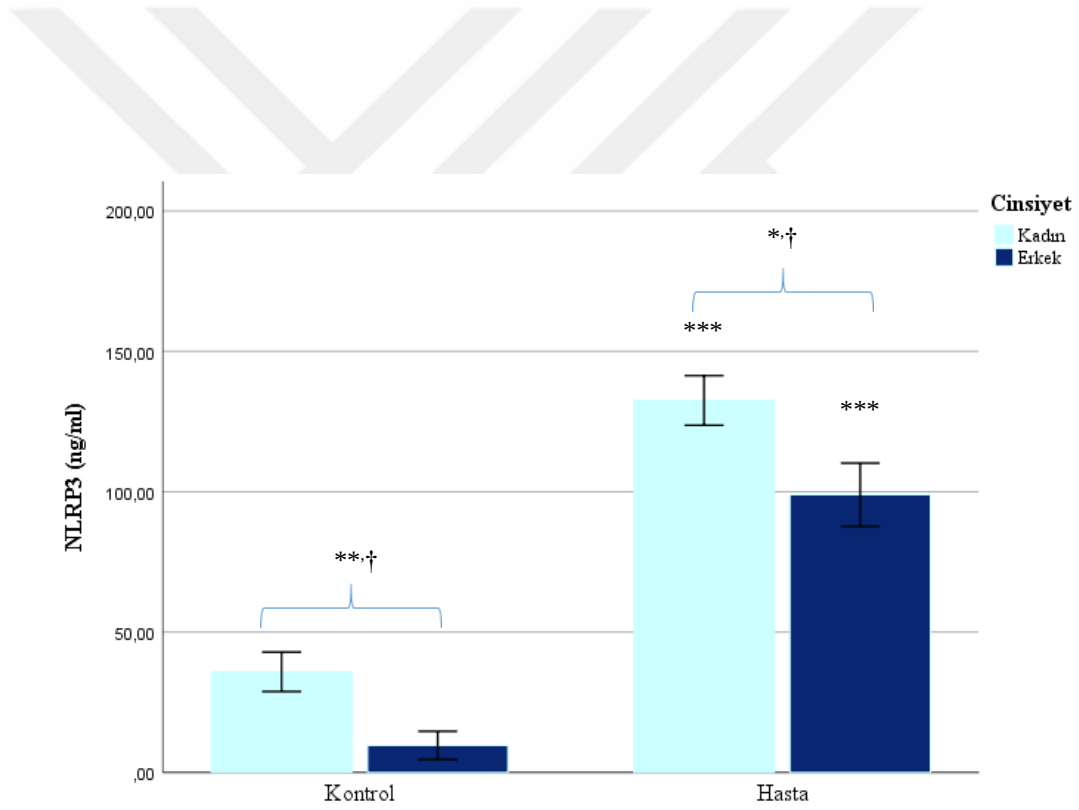
Çizelge 3. 18. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma NLRP3 düzeyleri

Çalışma Grupları	Cinsiyet	NLRP3 (ng/ml)
Kontrol Grubu	Kadın	35.89±7.03
	Erkek	9.63±5.02
Hasta Grubu	Kadın	132.52±8.83***
	Erkek	98.90±11.27***

(***) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.001).

(*†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(**†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).



Şekil 3. 33. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma NLRP3 düzeyleri

(***) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.001).

(*†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(**†) İşaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).

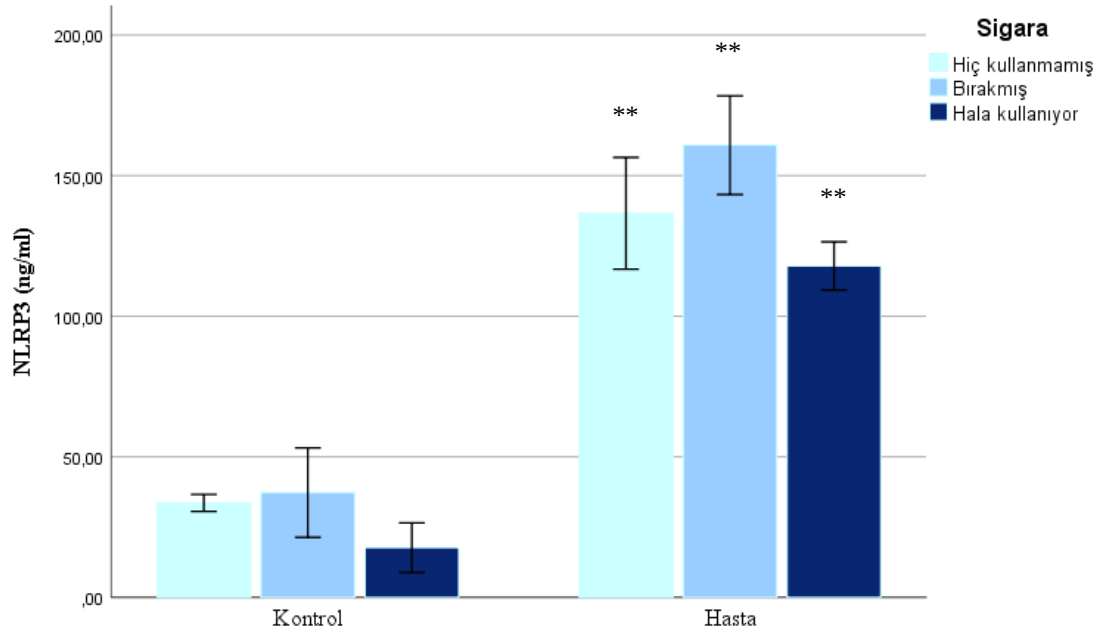
3.3.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma NLRP3 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarında yer alan bireylerin sigara kullanım alışkanlıkları ile NLRP3 düzeyleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.19) (Şekil 3.34). Hasta ve kontrol grupları sigara kullanım alışkanlıklarına göre kendi içinde değerlendirildiğinde, gruplar arasında NLRP3 düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında ise; hiç sigara kullanmayan hastaların NLRP3 düzeylerinin aynı alışkanlığa sahip kontrol grubunun yaklaşık 4.1 katı olduğu görülmüştür. Sigara kullanımını bırakanların yer aldığı hasta grubunun NLRP3 düzeylerinin kontrol grubunun yaklaşık 4.3 katı olduğu görülmüştür. Sigara kullanan hastaların NLRP3 düzeylerinin ise aynı alışkanlığa sahip kontrol grubunun yaklaşık 6.6 katı olduğu bulunmuştur ($p<0.01$).

Çizelge 3. 19. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma NLRP3 düzeyleri

Çalışma Grupları	Sigara	NLRP3 (ng/ml)
Kontrol Grubu	Hiç kullanmamış	33.60±3.02
	Bırakmış	37.27±15.89
	Hala kullanıyor	17.69±8.82
Hasta Grubu	Hiç kullanmamış	136.59±19.87**
	Bırakmış	160.82±17.54**
	Hala kullanıyor	117.87±8.61**

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



Şekil 3. 34. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma NLRP3 düzeyleri
(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.01$).

3.3.4. Plazma NLRP3 Düzeylerinin Regresyon Analizleri

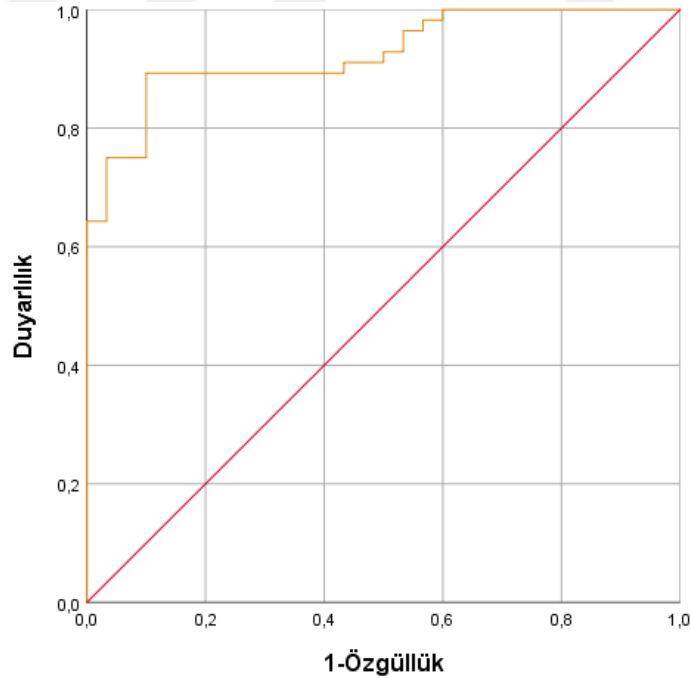
Plazma NLRP3 düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun NLRP3 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (%95 GA: 1.024-1.058) ($p < 0.001$) (Çizelge 3.20).

Çizelge 3. 20. Plazma NLRP3 düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları

	Odds oranı	%95 GA Alt sınır - Üst sınır	Wald-değeri	p-değeri
Plazma NLRP3	1.041	1.024-1.058	22.411	0.000

3.3.5. Plazma NLRP3 Düzeylerinin ROC Analizi

ROC analizine göre plazma NLRP3 için EAKA değeri 0.926 ± 0.027 (%95 GA: 0.872-0.979) olarak bulunmuş olup, sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.001$). Kontrol ve hasta gruplarını ayırt etme NLRP3 parametresinin tanı değerinin “oldukça yüksek” olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.35).



Şekil 3. 35. Plazma NLRP3 ROC eğrisi

3.3.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma NLRP3 Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Hasta grubun plazma NLRP3 düzeyleri ile romatoid artrit tanısında kullanılan laboratuvar bulguları (ACPA, CRP, ESR, RF) ve DAS28 skoru arasında korelasyon analizi yapılmıştır. NLRP3 düzeyleri ile bu parametreler arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$). Korelasyon katsayıları sırasıyla; $r_{ACPA}=0.043$; $r_{CRP}=-0.119$; $r_{ESR}=0.112$; $r_{RF}=0.043$; $r_{DAS28}=-0.014$ olarak bulunmuştur.

Hasta grubun plazma NLRP3 düzeyleri ile glukoz ve lipid profilleri; hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları karşılaştırılmış ve korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 3.21). NLRP3 düzeyleri ile bu laboratuvar bulguları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3. 21. Laboratuvar bulguları ile plazma NLRP3 düzeyleri ile korelasyon analizleri sonuçları

Laboratuvar Bulguları	NLRP3	
	Korelasyon katsayısı	<i>p</i> -değeri
Glukoz Profili		
Glukoz	0,152	0,265
Lipid Profili		
Total kolesterol	0,099	0,469
LDL	0,086	0,529
HDL	0,086	0,528
Trigliserit	-0,050	0,716
Böbrek Fonksiyon Testleri		
BUN	-0,074	0,589
Kreatin	0,118	0,386
Karaciğer Fonksiyon Testleri		
AST	-0,007	0,959
ALT	-0,059	0,665
Hemogram		
Hemoglobin	-0,083	0,544
Lökosit	-0,036	0,792
Platelet	-0,084	0,538

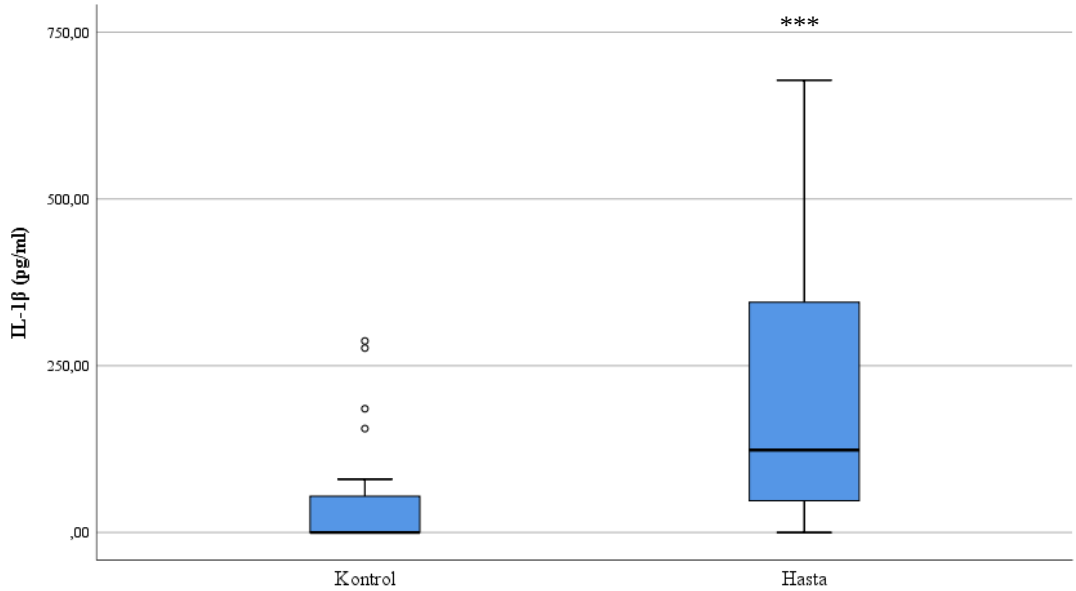
3.4. Plazma IL-1 β Düzeyleri

Kontrol ve hasta grubundan izole edilen plazmalarda IL-1 β düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 3.22’de özetlenmiştir. Hasta grubun ortalama plazma IL-1 β düzeyinin, kontrol grubunun yaklaşık 5.6 katı olduğu bulunmuştur. Gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$) (Şekil 3.36).

Çizelge 3. 22. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri

Çalışma Grupları	IL-1 β (pg/ml)
Kontrol Grubu	39.31 $\pm$ 14.79
Hasta Grubu	221.78 $\pm$ 31.53***

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).



Şekil 3. 36. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri
(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

Hastalığın aktivitesine göre sınıflandırılan hastalardan izole edilen plazmalarda IL-1 β düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar kontrol grubu ile birlikte Çizelge 3.23’de gösterilmiştir. Tüm gruplar arasındaki en yüksek ortalama IL-1 β düzeyinin aktif dönemdeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Aktif dönemdeki hastaların ortalama IL-1 β düzeyinin yeni tanı grubundaki hastaların yaklaşık 1.2 katı olduğu, ancak gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Aktif dönemdeki hastaların ortalama IL-1 β düzeyinin remisyon dönemindeki hastaların yaklaşık 1.9 katı olduğu ve gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Ortalama IL-1 β düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında; aktif dönemdeki hastaların yaklaşık 7, yeni tanı grubundaki hastaların yaklaşık 5.5 katı olduğu ve gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). Hasta grupları içinde en düşük ortalama IL-1 β düzeyinin ise remisyon dönemindeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Remisyon dönemindeki hastaların ortalama IL-1 β düzeyinin kontrol grubunun yaklaşık 3.6 katı olduğu görülmüş ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 3.37).

Çizelge 3. 23. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri

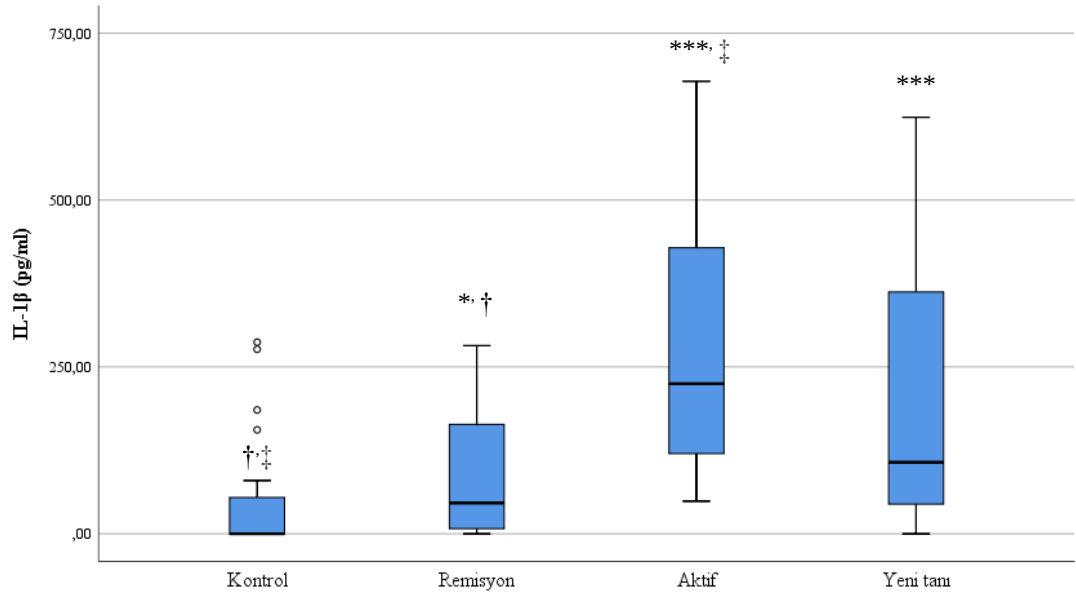
Çalışma Grupları	IL-1 β (pg/ml)
Kontrol Grubu	39.31 $\pm$ 14.79 ^{†, ‡}
Hasta Grubu	
Remisyon	147.47 $\pm$ 71.57 ^{*, †}
Aktif	276.09 $\pm$ 51.27 ^{***, †, ‡}
Yeni Tanı	220.00 $\pm$ 46.56 ^{***}

(*) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

(†) Aktif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(‡) Remisyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).



Şekil 3. 37. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri

(*) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.001).

(†) Aktif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

(‡) Remisyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

3.4.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-1 β Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri yaş dağılımına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.24) (Şekil 3.38). Tüm yaş aralıkları ayrı ayrı incelendiğinde hasta grupların IL-1 β düzeylerinin kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. 30 yaşından küçük ve 50 yaşından büyük hastaların IL-1 β düzeylerinin kendi yaş aralıklarındaki kontrol gruplarının yaklaşık 4 katı olduğu bulunmuştur (p<0.05). 30-50 yaş aralığındaki hastaların IL-1 β düzeylerinin ise aynı yaş aralığındaki kontrol grubunun yaklaşık 20 katı olduğu görülmüştür (p<0.001). Kontrol ve hasta grupları kendi içinde kıyaslandığında yaş değişimi ile IL-1 β düzeylerinin anlamlı olarak değişmediği görülmüştür (p>0.05). Kontrol ve hasta grubu olarak ayrılmaksızın

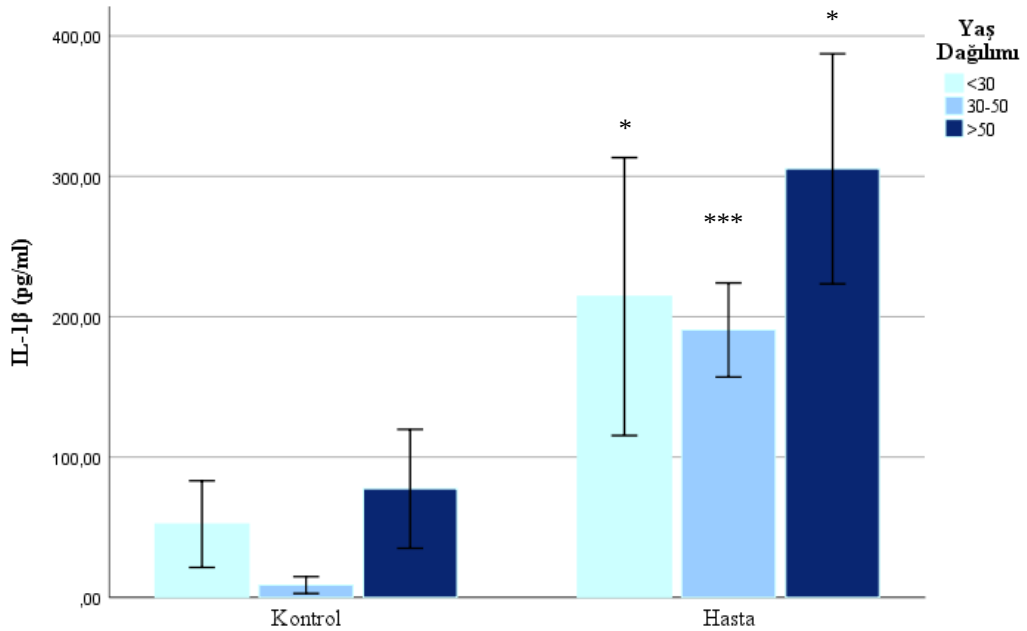
değerlendirildiğinde de yaş ile IL-1 β düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($r=0.153$; $p>0.05$).

Çizelge 3. 24. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma IL-1 β düzeyleri

Çalışma Grupları	Yaş	IL-1 β (pg/ml)
Kontrol Grubu	<30	52.26 $\pm$ 30.87
	30-50	8.83 $\pm$ 5.99
	>50	77.41 $\pm$ 42.34
Hasta Grubu	<30	214.37 $\pm$ 98.99*
	30-50	190.52 $\pm$ 33.49***
	>50	305.35 $\pm$ 81.97*

(*) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(***) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).



Şekil 3. 38. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma IL-1 β düzeyleri

(*) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(***) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

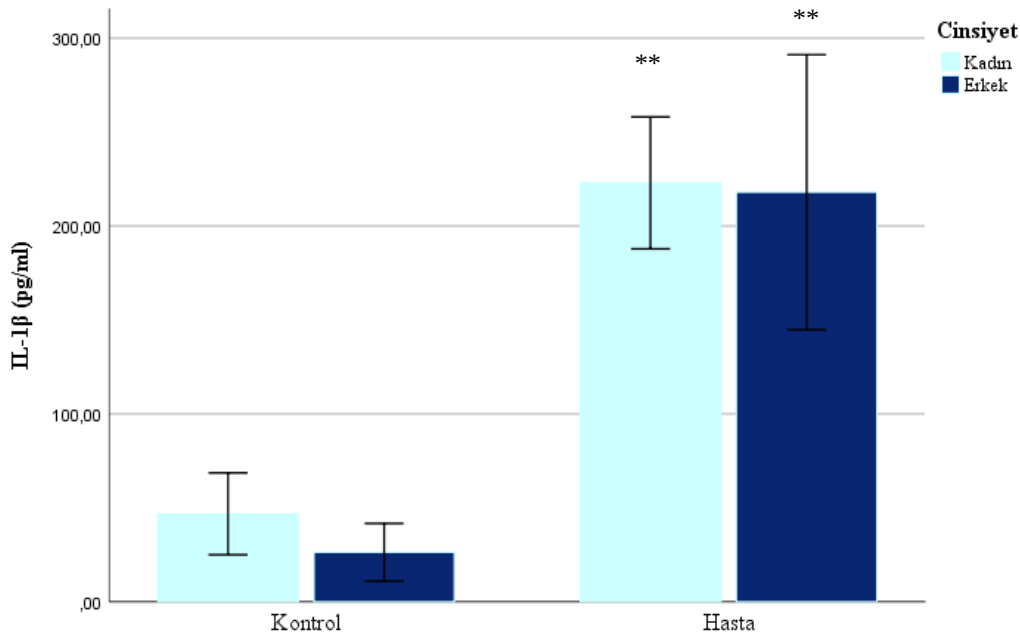
3.4.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-1 β Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeyleri cinsiyete göre değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 3.25 ve Şekil 3.39’da özetlenmiştir. Hem hasta, hem kontrol grubunda kadınların IL-1 β düzeylerinin erkeklerden fazla olduğu bulunmuştur. Ancak gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Hasta grubundaki kadınların IL-1 β düzeylerinin kontrol grubundaki kadınların yaklaşık 4.8 katı, hasta grubundaki erkeklerin ise kontrol grubundaki erkeklerin yaklaşık 8.4 katı olduğu görülmüştür ($p<0.01$).

Çizelge 3. 25. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-1 β düzeyleri

Çalışma Grupları	Cinsiyet	IL-1 β (pg/ml)
Kontrol Grubu	Kadın	46.81 $\pm$ 21.75
	Erkek	26.35 $\pm$ 15.35
Hasta Grubu	Kadın	222.93 $\pm$ 35.12**
	Erkek	217.98 $\pm$ 73.18**

(**) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



Şekil 3. 39. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-1 β düzeyleri

(**) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

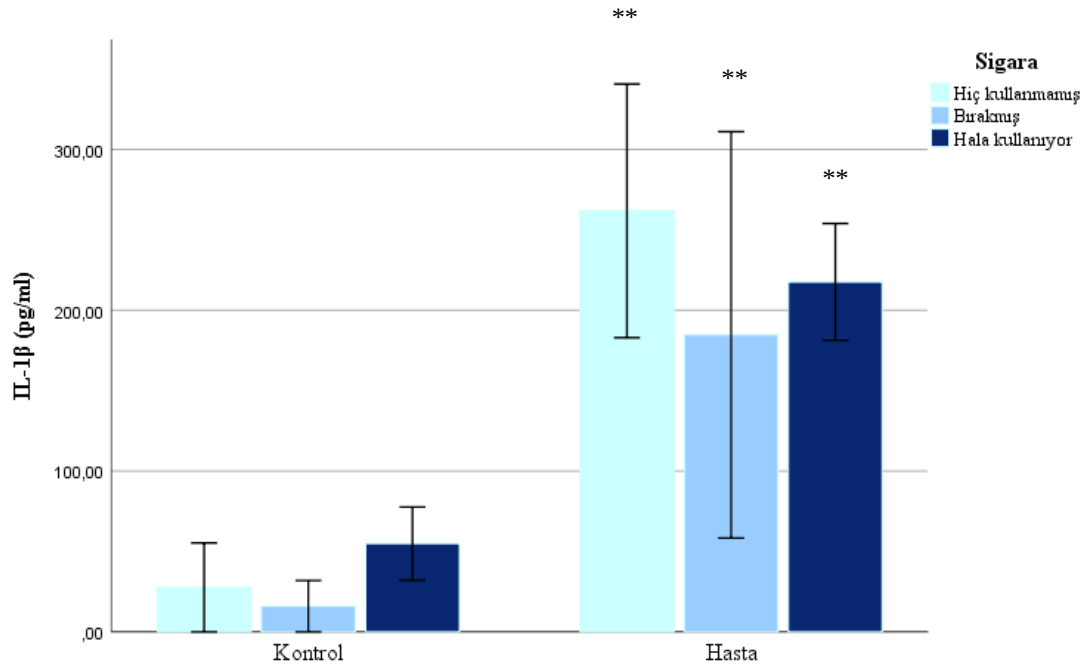
3.4.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-1 β Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarında yer alan bireylerin sigara kullanım alışkanlıkları ile plazma IL-1 β düzeyleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.26) (Şekil 3.40). Hasta ve kontrol grupları kendi içinde değerlendirildiğinde gruplar arasında sigara kullanım alışkanlıklarına göre anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında ise; hiç sigara kullanmayan hasta grubun IL-1 β düzeylerinin kontrol grubunun yaklaşık 7.8 katı olduğu görülmüştür. Sigara kullanımını bırakanların IL-1 β düzeyleri ile kontrol grubu kıyaslandığında aradaki farkın 10 kattan daha fazla olduğu bulunmuştur. Hala sigara kullanan hastaların IL-1 β düzeylerinin ise aynı alışkanlığı olan kontrol grubunun yaklaşık 4.5 katı olduğu bulunmuştur ($p<0.01$).

Çizelge 3. 26. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-1 β düzeyleri

Çalışma Grupları	Sigara	IL-1 β (pg/ml)
Kontrol Grubu	Hiç kullanmamış	27.65 $\pm$ 2.77
	Bırakmış	15.97 $\pm$ 1.60
	Hala kullanıyor	57.87 $\pm$ 22.78
Hasta Grubu	Hiç kullanmamış	261.81 $\pm$ 36.34**
	Bırakmış	184.71 $\pm$ 12.63**
	Hala kullanıyor	217.62 $\pm$ 78.86**

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



Şekil 3. 40. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-1 β düzeyleri

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.01$).

3.4.4. Plazma IL-1 β Düzeylerinin Regresyon Analizleri

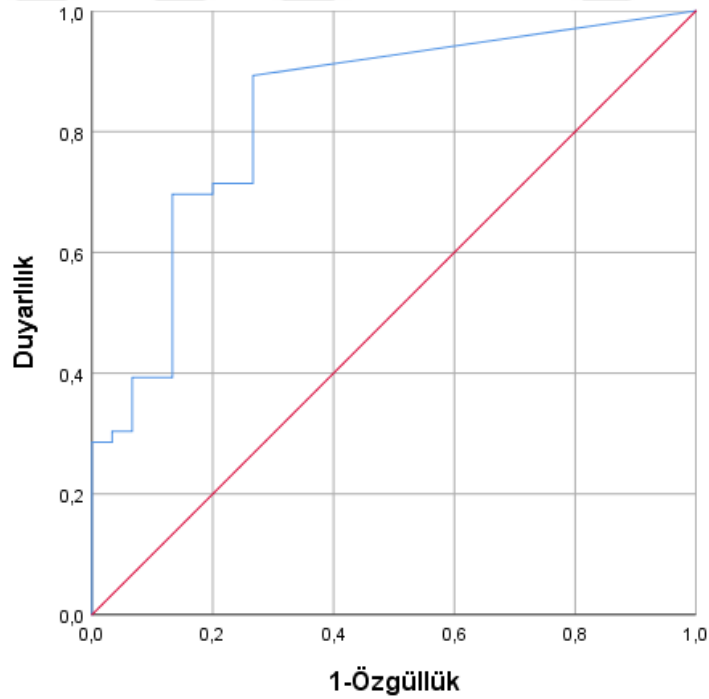
Plazma IL-1 β düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun IL-1 β düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (%95 GA: 1.003-1.017) ($p = 0.004$) (Çizelge 3.27).

Çizelge 3. 27. Plazma IL-1 β düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları

	Odds oranı	%95 GA	Wald-değeri	<i>p-değeri</i>
		Alt sınır - Üst sınır		
IL-1β	1.010	1.003-1.017	8.526	0.004

3.4.5. Plazma IL-1 β Düzeylerinin ROC Analizi

ROC analizine göre plazma IL-1 β için EAKA değeri 0.834 ± 0.047 (%95 GA: 0.742-0.926) bulunmuş olup, sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.001$). Kontrol ve hasta gruplarını ayırt etme IL-1 β parametresinin tanı değerinin “iyi” olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.41).



Şekil 3. 41. Plazma IL-1 β ROC eğrisi

3.4.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma IL-1 β Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Hasta grubun plazma IL-1 β düzeyleri ile romatoid artrit tanısında kullanılan laboratuvar bulguları (ACPA, CRP, ESR, RF) ve DAS28 arasında korelasyon analizi yapılmıştır (Şekil 3.23). Plazma IL-1 β düzeyleri ile hem RF, hem ACPA arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. Korelasyon katsayısı her iki parametre için $r=-0.318$ olarak bulunmuştur ($p<0.05$). Plazma IL-1 β düzeyleri ile CRP, ESR ve DAS28 parametreleri arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir. Korelasyon katsayılarının sırasıyla; $r_{CRP}=0.104$, $r_{ESR}=0.171$, $r_{DAS28}=0.101$ olduğu bulunmuştur ($p>0.05$).

Hasta grubun plazma IL-1 β düzeyleri ile glukoz ve lipid profilleri, hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları karşılaştırılmış ve korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 3.28). Hemoglobin düzeyleri ile plazma IL-1 β düzeyleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon görülmüş olup, korelasyon katsayısı $r=0.271$ olarak bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer parametrelerle plazma IL-1 β düzeyleri arasında ise anlamlı korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3. 28. Laboratuvar bulguları ile plazma IL-1 β düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları

Laboratuvar Bulguları	IL-1 β	
	Korelasyon katsayısı	<i>p-değeri</i>
Glukoz Profili		
Glukoz	-0,083	0,543
Lipid Profili		
Total kolesterol	0,131	0,334
LDL	0,042	0,757
HDL	0,116	0,395
Trigliserit	-0,076	0,576
Böbrek Fonksiyon Testleri		
BUN	-0,064	0,637
Kreatin	-0,137	0,315
Karaciğer Fonksiyon Testleri		
AST	0,245	0,068
ALT	-0,156	0,252
Hemogram		
Hemoglobin	0,271*	0,043*
Lökosit	-0,147	0,281
Platelet	0,027	0,844

(*) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.05$).

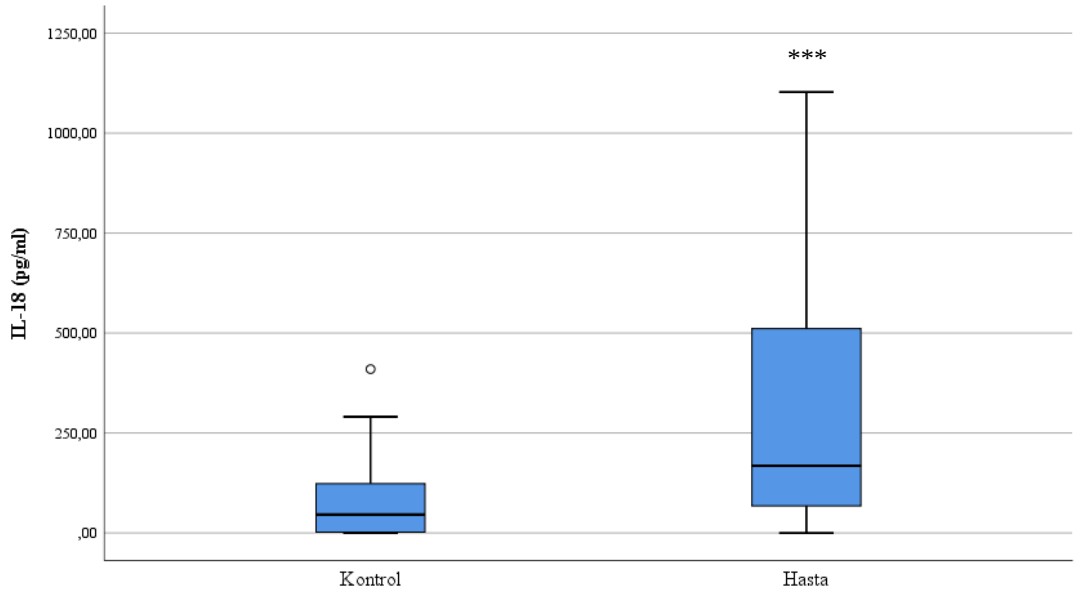
3.5. Plazma IL-18 Düzeyleri

Kontrol ve hasta grubundan izole edilen plazmalarda IL-18 düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 3.29’da gösterilmiştir. Hasta grubun ortalama IL-18 düzeyinin, kontrol grubunun yaklaşık 4 katı olduğu bulunmuştur. Gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$) (Şekil 3.42).

Çizelge 3. 29. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri

Çalışma Grupları	IL-18 (pg/ml)
Kontrol Grubu	83.08±17.84
Hasta Grubu	361.39±62.85***

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).



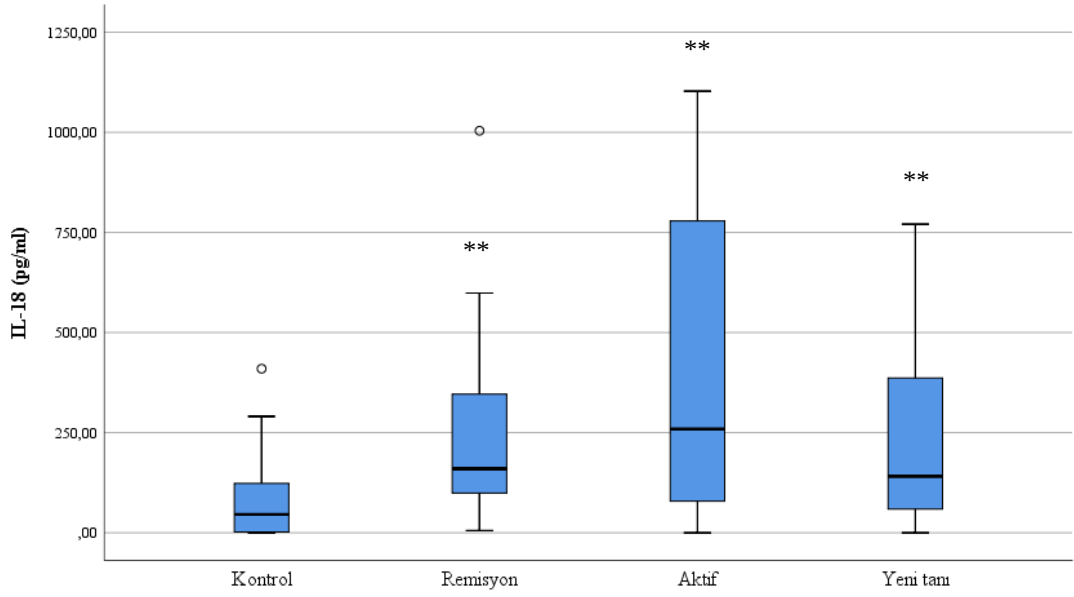
Şekil 3. 42. Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri
(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

Hastalığın aktivitesine göre sınıflandırılan hastalardan izole edilen plazmalarda IL-18 düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar kontrol grubu ile birlikte Çizelge 3.30'da gösterilmiştir. Tüm gruplar arasındaki en yüksek ortalama IL-18 düzeyinin aktif dönemdeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Aktif dönemdeki hastaların ortalama IL-18 düzeyinin; yeni tanı grubundaki hastaların yaklaşık 1.1 katı, remisyon dönemindeki hastaların yaklaşık 1.5 katı olduğu görülmüştür. Ancak gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). Ortalama IL-18 düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında; yeni tanı grubundaki hastaların yaklaşık 4.5 katı, aktif dönemdeki hastaların yaklaşık 4.8 katı olduğu görülmüş olup, gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Hasta grupları içinde en düşük ortalama IL-18 düzeyinin remisyon dönemindeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Remisyon dönemindeki hastaların IL-18 düzeyinin kontrol grubunun yaklaşık 3.3 katı olduğu görülmüş olup, gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$) (Şekil 3.43).

Çizelge 3. 30. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri

Çalışma Grupları		IL-18 (pg/ml)
Kontrol Grubu		83.08±17.84
Hasta Grubu	Remisyon	275.78±90.92**
	Aktif	401.28±100.56**
	Yeni Tanı	371.85±101.34**

(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



Şekil 3. 43. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri
(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

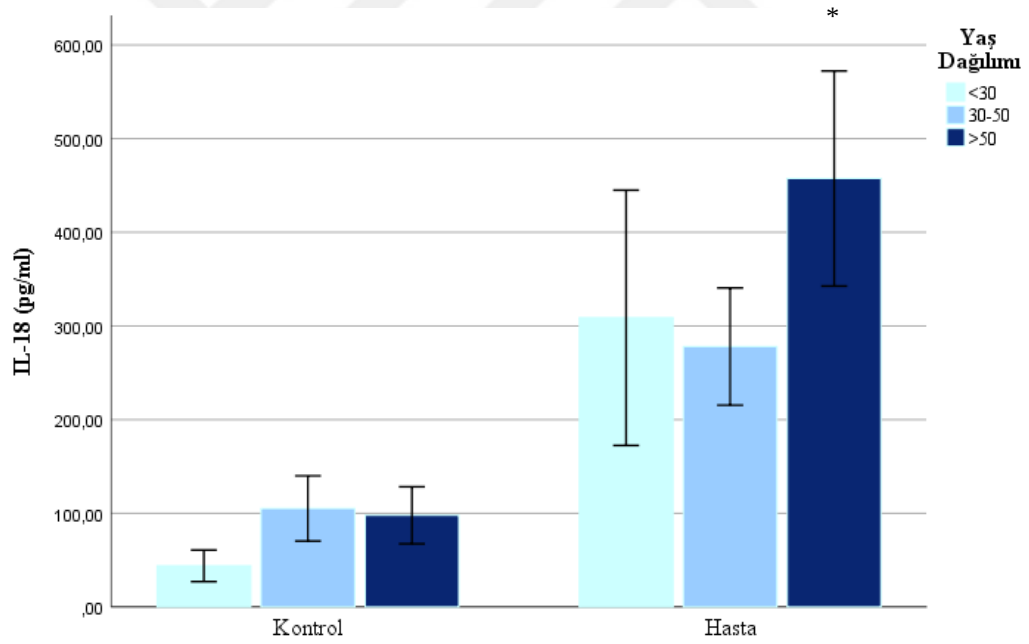
3.5.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri yaş dağılımlarına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.31) (Şekil 3.44). Tüm yaş aralıkları ayrı ayrı incelendiğinde hasta grupların IL-18 düzeyleri kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur. 50 yaşından büyük hastaların IL-18 düzeylerinin kontrol grubunun yaklaşık 4.5 katı olduğu bulunmuş olup, gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Kontrol ve hasta grupları kendi içinde kıyaslandığında ise yaş değişimi ile IL-18 düzeylerinin anlamlı olarak değişmediği görülmüştür ($p>0.05$). Bu veriye benzer şekilde; kontrol ve hasta grubu olarak ayrılmaksızın değerlendirildiğinde de yaş artışı ile IL-18 düzeylerindeki artış arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamış olup, korelasyon katsayısının $r=0.172$ olduğu görülmüştür ($p>0.05$).

Çizelge 3. 31. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma IL-18 düzeyleri

Çalışma Grupları	Yaş	IL-18 (pg/ml)
Kontrol Grubu	<30	43.94± 16.86
	30-50	105.21±34.83
	>50	97.89±30.45
Hasta Grubu	<30	308.70±136.30
	30-50	278.01±62.56
	>50	457.40± 114.82*

(*) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).



Şekil 3. 44. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımlarına göre plazma IL-18 düzeyleri

(*) Aynı yaş aralığındaki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.05).

3.5.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

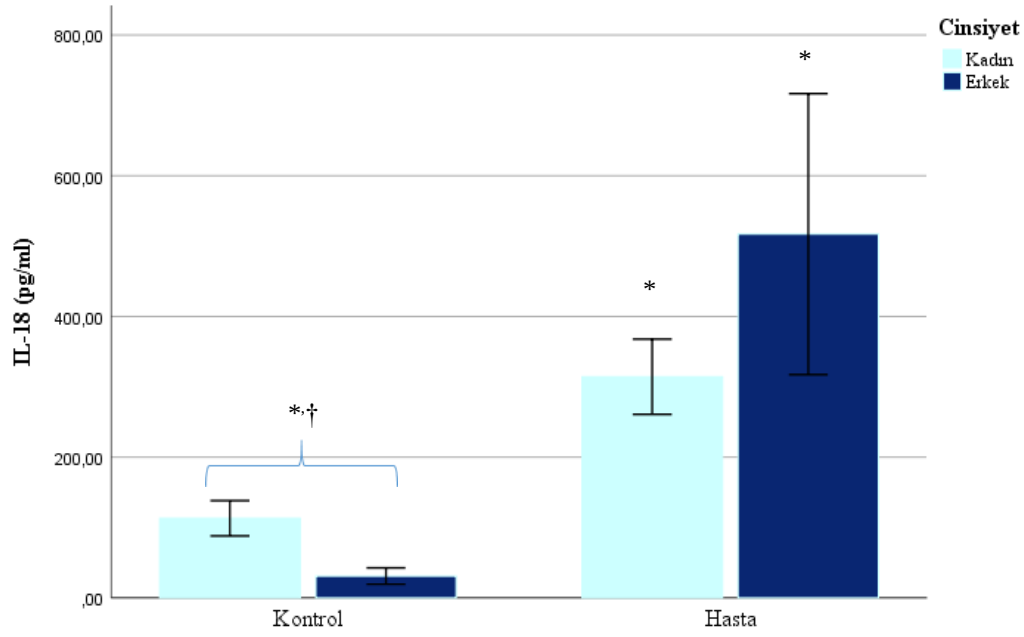
Kontrol ve hasta gruplarının plazma IL-18 düzeyleri cinsiyete göre değerlendirilmiştir. (Çizelge 3.32) (Şekil 3.45). Kontrol grubunda kadınların IL-18 düzeylerinin erkeklerin yaklaşık 3.6 katı olduğu görülmüş olup gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Hasta grubunda erkeklerin IL-18 düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmakla birlikte gruplar arasındaki farklılığın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Kadın hastaların IL-18 düzeylerinin kontrol grubundaki kadınların yaklaşık 2.8 katı, erkek hastaların IL-18 düzeylerinin ise kontrol grubundaki erkeklerin yaklaşık 16.5 katı olduğu görülmüştür. Gruplar arasındaki bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 3. 32. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-18 düzeyleri

Çalışma Grupları	Cinsiyet	IL-18 (pg/ml)
Kontrol Grubu	Kadın	113.22±25.08
	Erkek	31.02±11.62
Hasta Grubu	Kadın	314.33±53.43*
	Erkek	517.05±199.67*

(*) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(*†) İşaretli gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).



Şekil 3. 45. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma IL-18 düzeyleri

(*) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0.05$).

(*,†) İşaretli gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık vardır ($p < 0.05$).

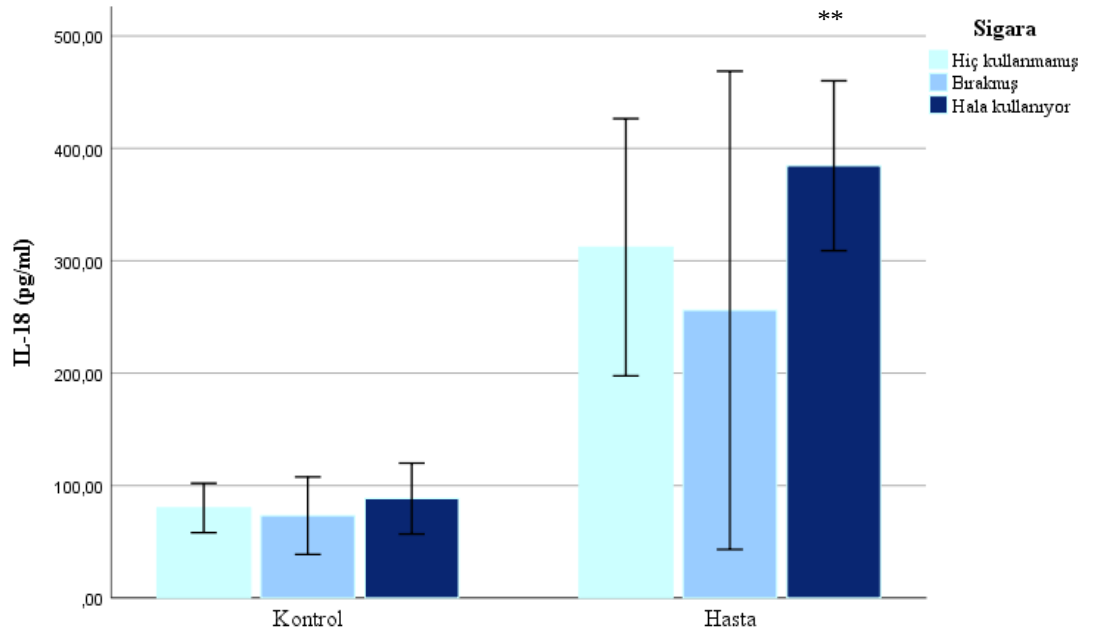
3.5.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma IL-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta grubunda yer alan bireylerin sigara kullanım alışkanlıkları ile plazma IL-18 düzeyleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 3. 31) (Şekil 3.46). Hasta ve kontrol grupları kendi içinde değerlendirildiğinde IL-18 düzeyleri ile sigara kullanım alışkanlıkları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p > 0.05$). Hem hasta, hem kontrol grubunda en düşük IL-18 düzeyleri sigara kullanımını bıraktığını bildiren grupta; en yüksek IL-18 düzeyleri ise hala sigara kullandığını bildiren grupta bulunmuştur. Hiç sigara kullanmayan kişiler değerlendirildiğinde, hasta grubun IL-18 düzeylerinin kontrol grubunun yaklaşık 3.9 katı olduğu görülmüştür. Sigara kullanımını bırakan hastaların IL-18 düzeylerinin kontrol grubunun yaklaşık 3.5 katı olduğu bulunmuştur. Hala sigara kullanan hastaların IL-18 düzeylerinin ise kontrol grubunun yaklaşık 4.4 katı olduğu bulunmuştur ($p < 0.01$).

Çizelge 3. 33. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-18 düzeyleri

Çalışma Grupları	Sigara	IL-18 (pg/ml)
Kontrol Grubu	Hiç kullanmamış	80.03±21.95
	Bırakmış	73.19±34.43
	Hala kullanıyor	88.41±31.54
Hasta Grubu	Hiç kullanmamış	312.05±114.45
	Bırakmış	255.88±212.75
	Hala kullanıyor	384.52±75.58**

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).



Şekil 3. 46. Kontrol ve hasta gruplarının sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma IL-18 düzeyleri

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).

3.5.4. Plazma IL-18 Düzeylerinin Regresyon Analizleri

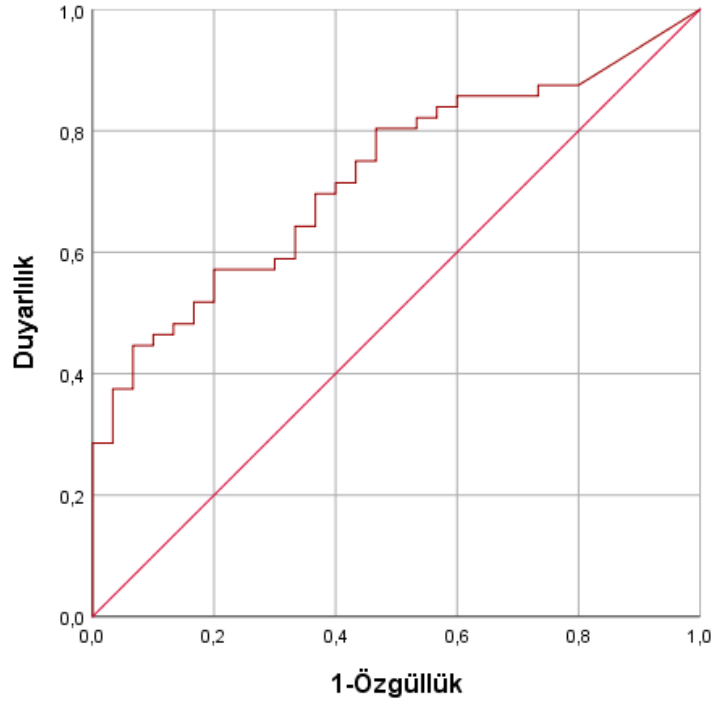
Plazma IL-18 düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun IL-18 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (%95 GA: 1.001-1.009) ($p= 0.012$) (Çizelge 3.34).

Çizelge 3. 34. Plazma IL-18 düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları

	Odds oranı	%95 GA	Wald-değeri	<i>p-değeri</i>
		Alt sınır - Üst sınır		
IL-18	1.005	1.001-1.009	6.268	0.012

3.5.5. Plazma IL-18 Düzeylerinin ROC Analizi

ROC analizine göre plazma IL-18 için EAKA değeri 0.725 ± 0.54 (%95 GA: 0.619-0.831) bulunmuş olup, sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.001$). Kontrol ve hasta gruplarını ayırt etme IL-18 parametresinin tanı değerinin “orta” olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.47).



Şekil 3. 47. Plazma IL-18 ROC eğrisi

3.5.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma IL-18 Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Hasta grubun plazma IL-18 düzeyleri ile romatoid artrit tanısında kullanılan laboratuvar bulguları (ACPA, CRP, ESR, RF) ve DAS28 skoru arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Plazma IL-18 düzeyleri ile bu parametreler arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$). Korelasyon katsayıları sırasıyla; $r_{ACPA}=-0.122$; $r_{CRP}=-0.055$; $r_{ESR}=0.112$; $r_{RF}=-0.122$; $r_{DAS28}=-0.020$ olarak bulunmuştur.

Hasta grubun plazma IL-18 düzeyleri ile glukoz ve lipid profilleri; hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları karşılaştırılmış ve korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 3.35). Bu parametreler ile IL-18 düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3. 35. Laboratuvar bulguları ile plazma IL-18 düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları

Laboratuvar Bulguları	IL-18	
	Korelasyon Katsayısı	<i>p-değeri</i>
Glukoz Profili		
Glukoz	-0,033	0,808
Lipid Profili		
Total kolesterol	-0,025	0,857
LDL	-0,086	0,528
HDL	-0,121	0,374
Trigliserit	-0,194	0,152
Böbrek Fonksiyon Testleri		
BUN	0,052	0,704
Kreatin	0,044	0,747
Karaciğer Fonksiyon Testleri		
AST	0,216	0,109
ALT	-0,220	0,104
Hemogram		
Hemoglobin	0,227	0,092
Lökosit	-0,241	0,074
Platelet	0,042	0,758

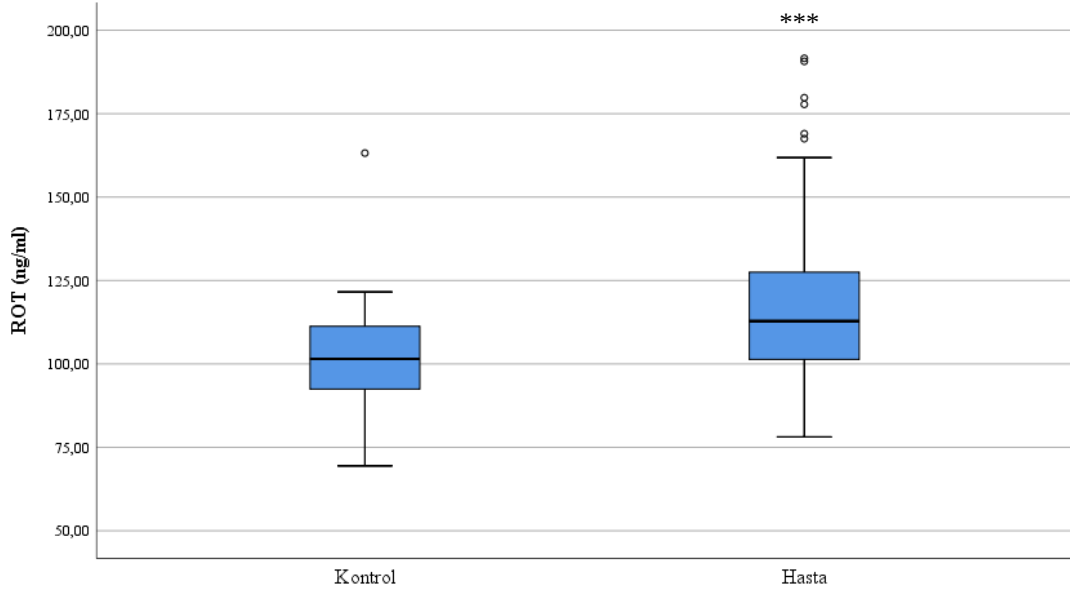
3.6. Plazma ROT Düzeyleri

Kontrol ve hasta gruplarından izole edilen plazmalarda ROT düzeyleri ölçülmüştür (Çizelge 3.36). Hasta grubunun ortalama ROT düzeyinin kontrol grubunun yaklaşık 1.2 katı olduğu görülmüştür. Gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.001$) (Şekil 3.48).

Çizelge 3. 36. Kontrol ve hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri

Çalışma Grupları	ROT (ng/ml)
Kontrol Grubu	101.39±3.14
Hasta Grubu	120.15±3.75***

(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).



Şekil 3. 48. Kontrol ve hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri
(***) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.001$).

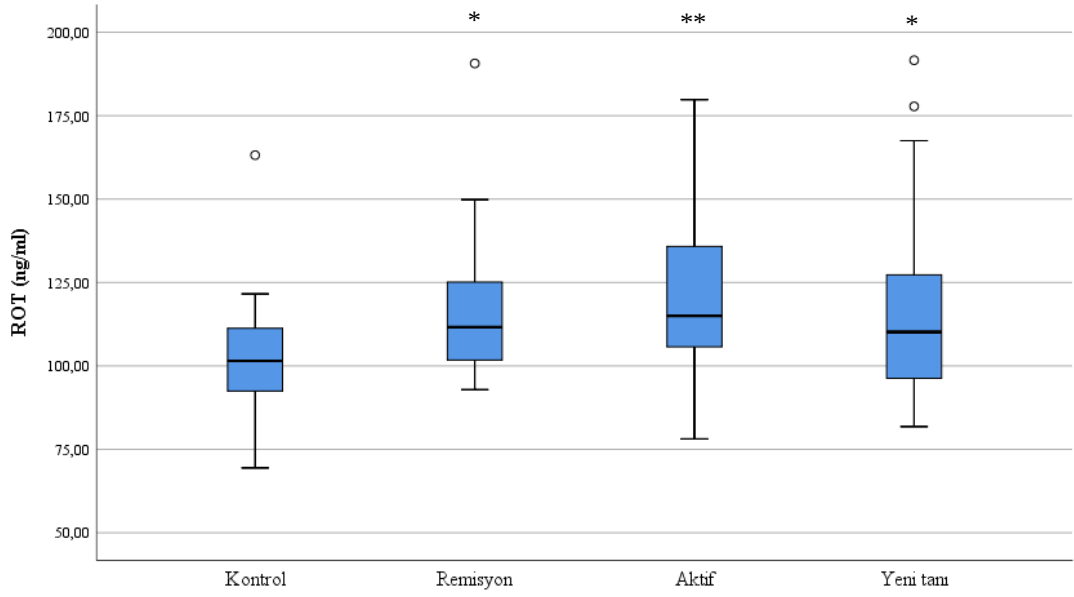
Hastalığın aktivitesine göre sınıflandırılan hastalardan izole edilen plazmalarda ROT düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar kontrol grubu ile birlikte Çizelge 3.37’de gösterilmiştir. Tüm gruplar arasındaki en yüksek ortalama ROT düzeyinin aktif dönemdeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Aktif dönemdeki hastaların ortalama ROT düzeyinin remisyon ve yeni tanı grubundaki hastaların yaklaşık 1.03 katı olduğu, ancak gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Aktif dönemdeki hastaların ROT düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$). Remisyon ve yeni tanı gruplarının ortalama ROT düzeyleri de kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 3.49).

Çizelge 3. 37. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri

Çalışma Grupları		ROT (ng/ml)
Kontrol Grubu		101.39±3.14
Hasta Grubu	Remisyon	119.99±8.60*
	Aktif	122.77±6.65**
	Yeni Tanı	118.77±5.48*

(*) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).



Şekil 3. 49. Kontrol grubu ve hastalık aktivitesine göre sınıflandırılan hasta gruplarının plazma ROT düzeyleri

(*) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

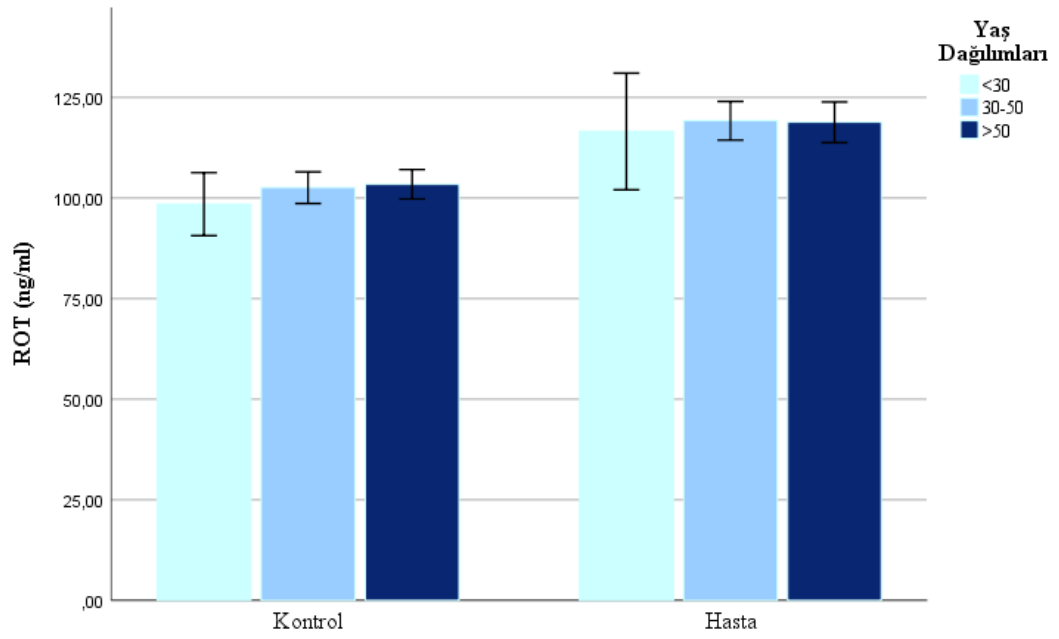
(**) Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.01$).

3.6.1. Yaşa Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma ROT Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta grubunun plazma ROT düzeyleri yaş dağılımlarına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.38) (Şekil 3.50). Hasta grupların ROT düzeylerinin aynı yaş grubundaki kontrol gruplarına göre yüksek olduğu, ancak gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grubu olarak ayrılmaksızın değerlendirildiğinde de yaş artışı ile ROT düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamış olup, korelasyon katsayısının $r=0.187$ olduğu görülmüştür ($p>0.05$).

Çizelge 3. 38. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma ROT düzeyleri

Çalışma Grupları	Yaş	ROT (ng/ml)
Kontrol Grubu	<30	98.46± 7.82
	30-50	102.57±3.92
	>50	103.41±3.65
Hasta Grubu	<30	116.53± 14.50
	30-50	119.19±4.82
	>50	118.81±5.04



Şekil 3. 50. Kontrol ve hasta gruplarının yaş dağılımına göre plazma ROT düzeyleri

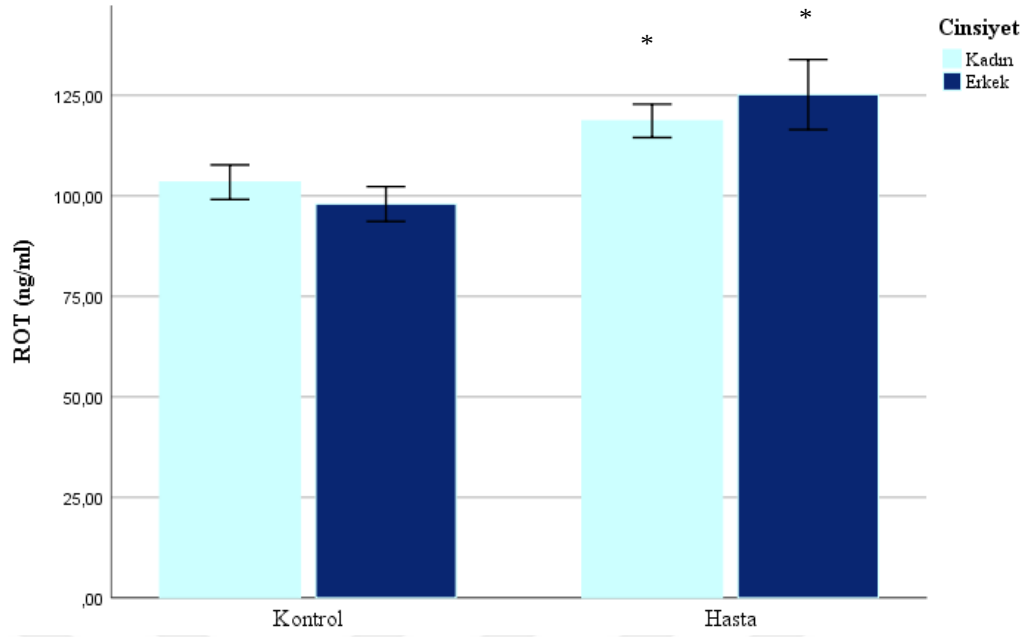
3.6.2. Cinsiyete Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma ROT Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarının ROT düzeyleri cinsiyete göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.39) (Şekil 3.51). Kontrol grubunda kadınların, hasta grubunda ise erkeklerin ROT düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Ancak gruplar arasındaki bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Hasta grubu kontrolle kıyaslandığında ise, hem kadın hem erkek hastaların ROT düzeylerinin aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Çizelge 3. 39. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma ROT düzeyleri

Çalışma Grupları	Cinsiyet	ROT (ng/ml)
Kontrol Grubu	Kadın	103.39±4.30
	Erkek	97.96±4.33
Hasta Grubu	Kadın	118.63±4.15*
	Erkek	125.18±8.72*

(*) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).



Şekil 3. 51. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre plazma ROT düzeyleri
(*) Aynı cinsiyetteki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$).

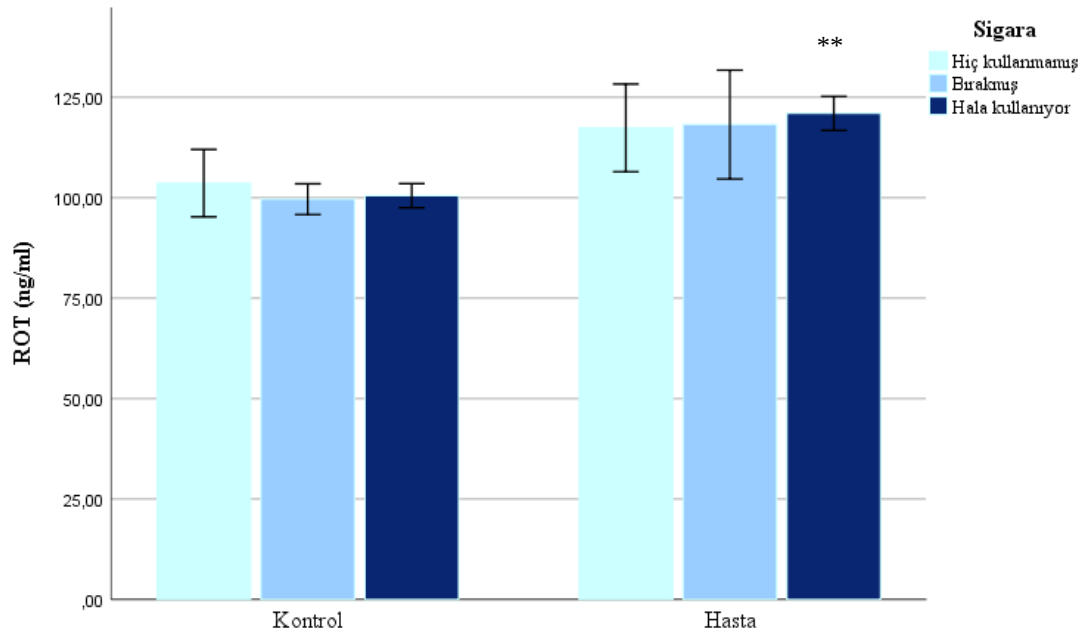
3.6.3. Sigara Kullanımına Bağlı Olarak Çalışma Gruplarının Plazma ROT Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Kontrol ve hasta gruplarında yer alan bireylerin sigara kullanma alışkanlıkları ile ROT düzeyleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.40) (Şekil 3.52). Hasta ve kontrol grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ROT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Sigara kullanımını bırakan ve hiç sigara kullanmayan hastaların ROT düzeylerinin aynı alışkanlığa sahip kontrol grubundan yüksek olduğu; ancak, gruplar arası farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Hala sigara kullanan hasta grubun ROT düzeylerinin ise aynı alışkanlığa sahip kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$).

Çizelge 3. 40. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma ROT düzeyleri

Çalışma Grupları	Sigara	ROT (ng/ml)
Kontrol Grubu	Hiç kullanmamış	103.62±8.38
	Bırakmış	99.63±3.83
	Hala kullanıyor	100.50±3.01
Hasta Grubu	Hiç kullanmamış	117.37±10.91
	Bırakmış	118.21±13.53
	Hala kullanıyor	120.98±4.24**

(*) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).



Şekil 3. 52. Kontrol ve hasta grupların sigara kullanım alışkanlıklarına göre plazma ROT düzeyleri

(**) Aynı alışkanlığa sahip kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0.01).

3.6.4. Plazma ROT Düzeylerinin Regresyon Analizleri

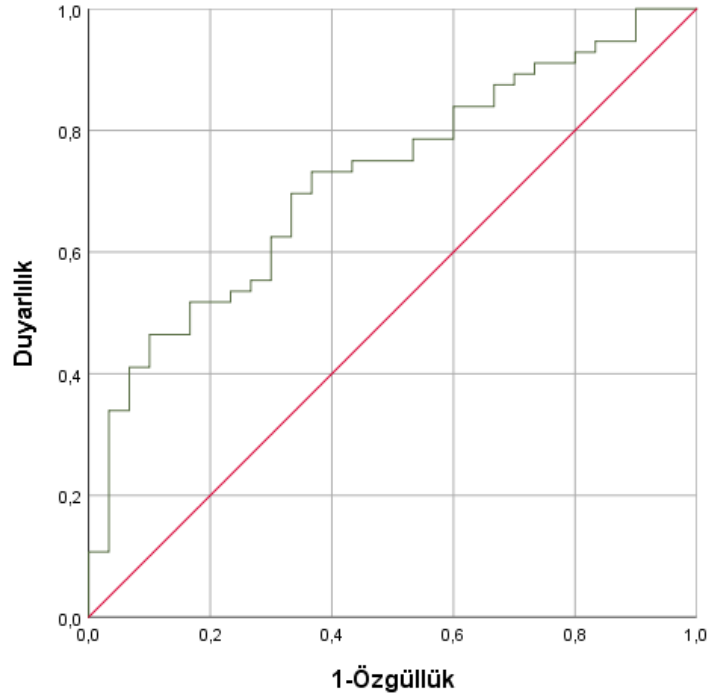
ROT düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun ROT düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (%95 GA: 1.009-1.064) ($p= 0.009$) (Çizelge 3.41).

Çizelge 3. 41. Plazma ROT düzeylerinin çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları

	Odds oranı	%95 GA	Wald-değeri	<i>p-değeri</i>
		Alt sınır - Üst sınır		
ROT	1.036	1.009-1.064	6.914	0.009

3.6.5. Plazma ROT Düzeylerinin ROC Analizi

ROC analizine göre ROT için EAKA değeri 0.720 ± 0.056 (%95 GA: 0.611-0.829) bulunmuş olup, sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır. Kontrol ve hasta gruplarını ayırt etme ROT parametresinin tanı değerinin “orta” düzeyde olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.001$) (Şekil 3.53).



Şekil 3. 53. Plazma ROT ROC eğrisi

3.6.6. Laboratuvar Bulguları ile Plazma ROT Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Hasta grubunun plazma ROT düzeyleri ile romatoid artrit tanısında kullanılan laboratuvar bulguları (ACPA, CRP, ESR, RF) ve DAS28 arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon katsayıları sırasıyla; $r_{ACPA}=-0.096$, $r_{CRP}=-0.036$, $r_{ESR}=0.099$, $r_{RF}=-0.096$, $r_{DAS28}=0.073$ bulunmuş olup, parametreler arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Hasta grubunun plazma ROT düzeyleri ile glukoz ve lipid profilleri; hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları karşılaştırılmış ve korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 3.42). Platelet, trigliserit, LDL ve total kolesterol düzeyleri ile plazma ROT düzeyleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer parametrelerle plazma ROT düzeyleri arasında ise anlamlı korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3. 42. Laboratuvar bulguları ile plazma ROT düzeyleri korelasyon analizleri sonuçları

Laboratuvar Bulguları	ROT	
	Korelasyon katsayısı	<i>p-değeri</i>
Glukoz Profili		
Glukoz	-0,117	0,390
Lipid Profili		
Total kolesterol	0,272*	0,043*
LDL	0,337*	0,011*
HDL	0,001	0,991
Trigliserit	0,268*	0,046*
Böbrek Fonksiyon Testleri		
BUN	0,122	0,370
Kreatin	-0,100	0,462
Karaciğer Fonksiyon Testleri		
AST	0,139	0,309
ALT	-0,002	0,988
Hemogram		
Hemoglobin	-0,178	0,190
Lökosit	-0,089	0,515
Platelet	0,320*	0,016*

(*) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.05$).

3.7. Protein Ekspresyonları ve Plazma Protein Düzeylerinin Korelasyon Analizleri

Romatoid artrit hastaları ve kontrol grubunda NLRP3 inflamazom yolağının etkisi farklı yöntemlerle değerlendirilmiş, elde edilen sonuçlar arasında korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 3.43). NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri western blot ve immünohistokimya yöntemleri ile değerlendirildiğinde sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.05$). Western blot sonuçları ile plazma NLRP3 ($p<0.001$), IL-1 β ($p<0.001$) ve IL-18 ($p<0.05$) düzeyleri arasında istatistiksel

olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. Western blot sonuçları ile plazma ROT düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 3. 43. Western blot yöntemi ile elde edilen NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin diğer bulgularla korelasyon analizleri sonuçları

	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri (western blot)		
	Korelasyon katsayısı	<i>p-değeri</i>	
NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri (immünositokimya)	0.348	0.011	$<0.05^*$
Plazma NLRP3 Düzeyleri	0.461	0.000	$<0.001^{***}$
Plazma IL-1β Düzeyleri	0.467	0.000	$<0.001^{***}$
Plazma IL-18 Düzeyleri	0.268	0.013	$<0.05^*$
Plazma ROT Düzeyleri	0.149	0.170	>0.05

(*) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.05$).

(***) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.001$).

İmmünositokimya yöntemi ile elde edilen NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri western blot yöntemi sonuçları ile kıyaslandığında, iki yöntemle elde edilen bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). İmmünositokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı korelasyon görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 3.44).

Çizelge 3. 44. İmmünositokimya yöntemi ile elde edilen NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin diğer bulgularla korelasyon analizleri sonuçları

	NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri (İmmünositokimya)		
	Korelasyon Katsayısı	<i>p-değeri</i>	
NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri (western blot)	0.348	0.011*	<0.05*
Plazma NLRP3 Düzeyleri	0.217	0.122	>0.05
Plazma IL-1β Düzeyleri	0.206	0.144	>0.05
Plazma IL-18 Düzeyleri	0.092	0.518	>0.05
Plazma ROT Düzeyleri	0.143	0.310	>0.05

(*) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.05$).

Plazma NLRP3 düzeyleri ve western blot yöntemi ile elde edilen protein ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunurken ($p<0.001$), immünositokimyasal protein ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$). Plazma NLRP3 düzeyleri ile IL-1 β ($p<0.001$), IL-18 ($p<0.01$) ve ROT ($p<0.001$) düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur (Çizelge 3.45).

Çizelge 3. 45. Plazma NLRP3 düzeylerinin diğer bulgularla korelasyon analizleri sonuçları

	Plazma NLRP3 Düzeyleri		
	Korelasyon Katsayısı	<i>p-değeri</i>	
NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri (western blot)	0.461	0.000	<0.001***
NLRP3 Protein Ekspresyon Düzeyleri (İmmünositokimya)	0.217	0.122	>0.05
Plazma IL-1β Düzeyleri	0.359	0.0007	<0.001***
Plazma IL-18 Düzeyleri	0.280	0.009	<0.01**
Plazma ROT Düzeyleri	0.395	0.0001	<0.001***

(**) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.01$).

(***) İstatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.001$).

4. TARTIŞMA

Romatoid artrit; eklem ve eklem çevresi dokularda ilerleyici hasarlarla karakterize, birçok organ ve dokuda önemli tutulumlara neden olan kronik, sistemik, otoimmün bir hastalıktır. Romatoid artrit dünyada ve Türkiye'de en sık görülen sistemik otoimmün hastalıklardandır (DSÖ, 2018; Sacks ve ark., 2010; Silman ve Hochberg, 2001). Hastalığın kesin oluşum ve gelişim nedeni bilinmemekle birlikte; patogenezinde genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin birlikte rol oynadığı düşünülmektedir (Deane ve ark., 2017). Farklı klinik tablolarla ortaya çıkan, etiyolojisi oldukça karışık olan bu hastalıkta eklem ve eklem dışı tutulumların hızlı ilerlemesi nedeniyle erken tanı ve uygun tedavi oldukça önemlidir. Hastalığın güncel tedavisinde genel eğilim immün sistemin baskılanması yönünde kurgulandığından; ikincil hastalıklar ortaya çıkmakta, kalıcı bir iyileşme sağlanamamakta, hastaların tedaviye verdiği yanıtlar değişmekte, dolayısıyla hastalık tamamen tedavi edilememektedir. Bu nedenle hastalığın erken aşamalarında optimal terapötik yanıt elde etmek için güvenilir biyolojik ajanlara duyulan ihtiyaç hala devam etmektedir. Ayrıca hastalığın tanısı amacıyla kullanılan otoantikorların düzeyleri farklı patolojilerde de değişebilmekte ve spesifik tanıya olanak sağlamamaktadır (Bonfiglioli ve ark., 2018; Cojocaru ve ark., 2010). Tüm bu nedenlerden dolayı uzun yıllardır bilinen, yaygın olarak gözlenen bir hastalık olmasına rağmen etiyopatogenezinin belirsizliğini koruması, yeni biyogöstergelere gereksinim olduğu gerçeğini ortaya çıkartmaktadır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde; NLRP3 inflamazomunun tekrarlayan ve kronik inflamasyondaki rolünün açıklanabilmesi için kriyopirin ile ilişkili periyodik sendromlar olarak adlandırılan nadir oto-inflamatuvar hastalıklar ile kanser, gut, diyabet, romatoid artrit gibi yaygın hastalıklar üzerinde çeşitli araştırmalar yapıldığı görülmüştür (Aksentijevich ve ark., 2007; Cook ve ark., 2010; Hoffman ve ark., 2001; Masters ve ark., 2009). NLRP3'ün inflamatuvar hasara bağlı moleküler patojenleri algılayarak pro-inflamatuvar sitokinler IL-1 β ve IL-18'in salınmasına yol açtığı, sonrasında bu duruma bağlı olarak dokular üzerinde yıkıcı etki oluşmasına neden olabileceği bildirilmiştir. NLRP3'ün bu yönüyle, romatoid artritte kemik rezorpsiyonu ve kırıkta yıkımında önemli rol oynayabileceği ifade edilmiştir (Joosten ve ark.,

1999; Horai ve ark., 2000). Farelerden izole edilen kemik iliği kaynaklı makrofajlar, monositler, splenik nötrofiller ve dendritik hücrelerde dinlenme durumunda NLRP3 protein ve gen ekspresyonlarının düşük olduğu belirtilmiştir. Hücreler lipopolisakarit ve TNF gibi sinyallerle indüklendiğinde ise ekspresyonun arttığı ifade edilmiştir (Guarda ve ark., 2011). Monositler veya makrofajlar tarafından salgılanan TNF ve IL-1 β 'nin, eklemlerde inflamatuvar süreçleri indüklemeye ve sürdürmeye yardımcı olduğu belirtilmiştir (Brennan ve McInnes, 2008; McInnes ve O'Dell, 2010). K⁺ akışı, ATP, ROT gibi uyarılar ile başlayan inflamazom aktivasyonunun, kaspaz-1 aracılığı ile inaktif pro-IL-1'in biyolojik olarak aktif IL-1'e bölünmesiyle sonuçlandığı ifade edilmiştir (Netea ve ark., 2009).

NLRP3 pyrin domaini, bir sitozolik kompleks oluşturmak üzere oligomerize olan üç protein; NLRP3, ASC ve pro-kaspaz-1'den oluşan bir hücre içi reseptördür. NLRP3 bağışıklık sisteminin doğuştan gelen bir bileşeni olup, asıl görevi kaspaz-1 aktivasyonu ve pro-inflamatuvar sitokinler IL-1 β ve IL-18'in salınımını düzenlemektir. Bu nedenle NLRP3 inflamazom yolağının inhibe edilmesinin anti-inflamatuvar bileşiklerin etki mekanizmalarından biri olabileceği ve romatoid artrit tedavisi için umut verici bir strateji olabileceği düşünülmektedir. Romatoid artrit ilerlemesinde inflamatuvar süreçlerin bir başka ortak modülatörü NLRP3'ün adaptor protein olan ASC ile etkileşerek öncelikle pro-kaspaz-1, sonrasında pro-IL-1 β ve pro-IL-18'i aktive etmesidir. Aktif kaspaz-1'in, IL-1 β ve IL-18'in hücre dışına çıkmasına aracılık ederek inflamatuvar cevaba katkıda bulunduğu bildirilmektedir. IL-1 β ve IL-18 salınmasının en iyi bilinen mekanizması, bir başlangıç primerleme sinyali ve ardından bir aktiveleştirme sinyali gerektiren NLRP3 aktivasyonudur. NLRP3 inflamazomu; hücre dışı ATP, sigara dumanı, asbest, çeşitli virüsler ve bakteriler gibi geniş bir uyarıcı dizisi ile aktive olabilmekte ve birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır (Bauernfeind ve ark., 2011; Guo ve ark., 2018).

NLRP3 inflamazom yolağı ile romatoid artrit ilişkisini incelemek amacıyla yürütülen çalışma sonuçları incelendiğinde; farklı araştırmacıların farklı görüşler ortaya koyduğu, sonuçların birbirini desteklemediği görülmektedir. Bu amaçla tez çalışmamızda romatoid artrit hastalarında NLRP3 inflamazom yolağının rolü

araştırılmıştır. Hasta grubu remisyon dönemi hastaları, aktif dönem hastaları ve yeni tanı almış, bu hastalıkla ilgili tedavisi başlamamış hastalar (yeni tanı) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Farklı hastalık aktivitesi gösteren hastalar kontrol grubu ile karşılaştırılmış, NLRP3 protein ekspresyonlarının ve NLRP3 inflamazom yolağı bileşenlerinin düzeyleri (NLRP3, IL-1 β , IL-18) farklı yöntemlerle değerlendirilmiştir. NLRP3 inflamazomunun hastalık üzerindeki etkisinin altında yatması olası mekanizmalardan biri olarak oksidatif stres göstergelerinden ROT düzeyleri incelenmiştir. Tüm çalışma grubumuzun cinsiyet, yaş, kullandıkları ilaçlar, romatoid artrit harici hastalıklar, sigara kullanım alışkanlıkları ile ilgili verileri toplanmıştır. Hasta grubun romatoid artrit tanısında kullanılan otoantikör düzeyleri ile çeşitli laboratuvar bulguları kayıt altına alınmış ve tüm bu veriler çalışmamız sonucunda ettiğimiz bulgularla kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubundan alınan tam kan numunelerinden izole edilen periferik mononükleer hücrelerde western blot yöntemi kullanılarak yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde; hasta grubunun NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Remisyon, aktif ve yeni tanı grubundaki hastaların ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi ile karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun protein ekspresyon düzeyleri kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). NLRP3 protein ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle incelendiğinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Hasta grubun periferik mononükleer hücrelerinde immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyonunun kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Aktif dönem ($p<0.01$), yeni tanı ($p<0.01$) ve remisyon dönemi ($p<0.05$) gruplarındaki hastaların immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyonlarının kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. En yüksek immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyonu aktif dönem hastalarında, hasta grubu içinde en düşük ekspresyon ise western blot yöntemi sonuçlarına benzer şekilde remisyon dönemi hastalarında bulunmuştur. Ancak hasta

grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Plazma NLRP3 düzeyleri değerlendirildiğinde ekspresyon verilerine benzer sonuçlar ortaya çıktığı görülmüştür. Hasta grubun ortalama plazma NLRP3 düzeyinin kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). Plazma NLRP3 düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi ile karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun plazma NLRP3 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Tüm gruplar içinde en yüksek ortalama plazma NLRP3 düzeyinin aktif dönem hastalarına, hasta grupları içinde en düşük ortalama NLRP3 düzeyinin ise remisyon dönemi hastalarına ait olduğu görülmüştür. Hasta grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); her hasta grubu kontrol grubuyla kıyaslandığında bulunan farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$). ROC analizine göre plazma NLRP3 için EAKA değeri 0.926 ± 0.027 (%95 GA: 0.872-0.979) bulunmuştur. Sonuçlar göz önüne alındığında romatoid artrit için kontrol ve hasta gruplarını ayırmada NLRP3 değişkeninin tanı değerinin oldukça yüksek olduğu değerlendirilmesi yapılabilmektedir ($p<0.001$). Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde Ruscitti ve ark. (2015) romatoid artrit hastalarının monositlerinde NLRP3 mRNA ve protein ekspresyonlarının kontrole göre arttığını, NLRP3 inflamazom aktivasyonu aracılığı ile IL-1 β üretiminin yükseldiği bildirilmiştir. Mathews ve ark. (2014) romatoid artrit hastalarının periferik mononükleer hücrelerinde ASC, MEFV, NLRP3-FL, NLRP3-SL ve CASP1 gen ekspresyonlarının kontrolden daha yüksek olduğunu, CARD8'in ise düşük olduğunu bildirmiştir. Aynı grup infliksimab tedavisi uygulandıktan 14 hafta sonra incelendiğinde ise hem ilaca cevap veren, hem vermeyen grubun ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmediğini ifade etmiştir. Choulaki ve ark. (2015) aktif romatoid artrit hastalarının tam kan hücrelerinde intraselüler NLRP3, ASC, aktif kaspaz-1, pro-IL-1 β düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmiştir. Romatoid artrit hastalarının sinoviyal dokularında NLRP3 inflamazom yolağı bileşenlerinin protein ve gen ekspresyonlarının arttığı ifade edilmiştir (Kolly ve ark., 2010). Romatoid artrit ve osteoartrit hastalarının sinoviyal dokularında aktif kaspaz-1 ve NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmış, romatoid artrit

hastalarında ekspresyonun daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Guo ve ark., 2018). Artrit modeli oluşturulan deney hayvanı çalışmalarında insan çalışmalarına benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür. Artrit oluşturulan A20^{myel-KO} farelerden elde edilen kemik iliği kaynaklı makrofajlarda NLRP3 inflamazom aktivitesinin arttığı protein ve gen ekspresyonları ile gösterilmiştir. Artmış NLRP3 inflamazom aktivitesinin romatoid artrit patolojisine katkı sağladığı, NLRP3 ve kaspaz-1 silinmesinin ise romatoid artrit ile ilişkili inflamasyon ve eklem yıkımına karşı koruyucu olduğu ifade edilmiştir (van de Walle ve ark., 2014). Kollajen indüklü romatoid artrit modeli oluşturulan DBA/1 farelerin eklem dokuları immünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubunda NLRP3 ekspresyonu görülmezken, romatoid artrit grubunda ekspresyonun arttığı; sinoviyal NLRP3 ekspresyon düzeyleri ile artrit klinik ve radyografik bulguları arasında korelasyon olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca serum NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve IL-33 düzeylerinin artritli farelerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2016). Kollajen indüklü romatoid artrit modeli oluşturulan DBA/1J farelerine tedavi amacıyla altıncı günden itibaren, iki hafta boyunca, iki günde bir kez olmak üzere 10 mg/kg (ip) selektif NLRP3 inhibitörü MCC950 bileşiği uygulanmıştır. MCC950 tedavisinin farelerin diz eklemlerindeki sinoviyal dokularda NLRP3 ve aktif kaspaz-1 protein ekspresyonunu inhibe ettiği, IL-1 β üretimini, sinoviyal inflamasyon ve kıkırdak erozyonunu azalttığı bildirilmiştir (Guo ve ark., 2018). Öte yandan bu görüşlerin aksine romatoid artrit hastalarında plazma/serum NLRP3 düzeylerinin, protein ve gen ekspresyonlarının kontrol grubuna göre azaldığını veya gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığını bildiren araştırmacılar da bulunmaktadır. Wang ve ark. (2014) romatoid artrit hastalarının periferik mononükleer hücrelerinde kaspaz-1 ve NLRP1 ekspresyon düzeylerini kontrol grubundan düşük bulurken; NLRP3, ASC ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmiştir. Hasta grubun granülositlerinde ise NLRP3, kaspaz-1 ve ASC mRNA ekspresyonlarının kontrol grubuna göre düşük olduğu ifade edilmiş olup; NLRP1 ve NLRP3'ün romatoid artrit için koruyucu olduğu sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir. Yang ve arkadaşları (2016) romatoid artrit hastalarının periferik mononükleer hücreleri ve nötrofillerinde NLRP3 mRNA ve protein ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ve hastalık şiddeti ile negatif korelasyon gösterdiğini ifade etmiştir. Kaspaz-1

aktivasyonu ve serum IL-18 düzeylerinin ise hasta grubunda arttığı bildirilmiş olup, hastalık şiddetinin artmasına neden olan kaspaz-1 aracılı IL-18 aktivasyonunun NLRP3 yolağından bağımsız farklı bir yolak aracılığıyla ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Benzer görüşü savunan deney hayvanı çalışmaları da bulunmaktadır. Ippagunta ve arkadaşları (2010) NLRP3^{-/-}, ASC^{-/-} ve kaspaz-1^{-/-} farelerde kollajen indüklemesiyle artrit modeli oluşturmuştur. Artrit oluşumu ile ASC arasında bir ilişki olduğu, ASC^{-/-} farelerin artritlen korunduğu, NLRP3^{-/-} ve kaspaz-1^{-/-} farelerde ise hastalık progresyonunun normal devam ettiği bildirilmiştir. NLRP3 inflamazom yolağının romatoid artrit hastalığındaki etkisini değerlendiren çalışma sonuçlarındaki farklılıkların; çalışma popülasyonunda yer alan gönüllülerin sayısı, etnik kökeni, yaş ve cinsiyet dağılımları, diğer hastalıkları, beslenme, sigara kullanımı gibi çevresel ve genetik faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Pro-inflamatuvar sitokin IL-1 kıkırdak yıkımı ile ilişkilendirildiğinden, romatoid artrit ilerlemesinde önemli rol oynayabileceği ve IL-1 reseptör antagonistlerinin romatoid artrit tedavisinde kullanılabileceği ifade edilmiştir. Birçok araştırmacı romatoid artritte IL-1 β ve IL-18'nin önemli görevi olduğu görüşünü savunmaktadır (Kay ve Calabrese, 2004; McInnes ve ark., 2005; Morel ve ark., 2001; Schiff, 2000). Çalışmamızda hasta grubunun plazma IL-1 β ve IL-18 düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). IL-1 β ve IL-18 düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun IL-1 β ($p=0.004$) ve IL-18 ($p=0.012$) düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hasta grubu içinde en düşük IL-1 β ve IL-18 düzeylerinin remisyon dönemindeki hastalara, en yüksek IL-1 β ve IL-18 düzeylerinin ise aktif dönemdeki hastalara ait olduğu görülmüştür. Aktif dönemdeki hastaların ortalama IL-1 β düzeyleri remisyon dönemindekilerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aktif, yeni tanı ve remisyon gruplarının ortalama IL-1 β ve IL-18 düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Verilerimiz IL-1 β gibi IL-18'in de NLRP3 yolağına bağlı olarak romatoid artrit patogenezinde rol oynadığını göstermiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda IL-1 β ve IL-18'in romatoid artrit

hastalığının ilerlemesinde rol oynadığı öne sürülmüş olup, bizim bulgularımız da bu durumu destekler durumdadır. Romatoid artrit hastalarının diz eklemlerinden alınan sinoviyal sıvılarda IL-1 β düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Rooney ve ark., 1990). Gracie ve ark. (1999) romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvılarında IL-18 mRNA ve protein ekspresyonlarının kontrol grubundan yüksek bulunduğunu ifade etmiştir. Başka bir grup araştırmacı romatoid artrit hastalarının dizlerindeki sinoviyal dokularında lokal inflamasyon, TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin artışı ile IL-18 ekspresyonu arasında ilişki olduğunu bildirmiştir (Joosten ve ark., 2003). Kay ve Calabrese (2004) romatoid artrit hastalarının plazma ve sinoviyal sıvılarında IL-1 konsantrasyonlarının arttığını, bu artışla birlikte hastalık aktivitesinin de arttığını ifade etmiştir. Başka bir grup araştırmacı serum IL-1 β düzeylerinin romatoid artrit başlangıcındaki erozyonlarla ilişkili olduğunu ifade etmiştir (Eklund ve ark., 2007).

Çalışmamızda hastalara ait HDL, LDL ve total kolesterol düzeyleri ile IL-1 β düzeyleri arasında yapılan korelasyon analizinde anlamlı bir ilişki bulunmazken; hemoglobin düzeyleri ile IL-1 β düzeyleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r=0.271$; $p<0.05$). Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde; IL-1 β inhibitörü uygulanan kardiyovasküler riski yüksek diyabet hastalarında HDL, LDL ve total kolesterol düzeylerinin etkilenmediği, hemoglobin düzeylerinin ise orta düzeyde azaldığı görülmüştür (Ridker ve ark., 2012).

NLRP3 inflamazom yolağını aktive eden kesin mekanizma belirsizliğini korumakta olup çok sayıda araştırma oksidatif stresin bu sürece dahil olabileceği görüşünü savunmaktadır. Oksidatif stres; ROT'lar ve oksidasyona neden olan diğer reaktif moleküller ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. ROT'lar hücre sinyalizasyonu, farklılaşması, proliferasyonu, büyümesi, apoptozu gibi birçok hücresel süreçte yer alan önemli sinyal molekülleridir. ROT düzeylerindeki kontrolsüz artışın neden olduğu oksidatif stres; proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyolojik moleküllerde hasara neden olabilmektedir (Horai ve ark., 2000). Romatoid artrit hastalarında serbest radikallerinin aşırı üretimi ya da antioksidan savunma sistemindeki zayıflamaya bağlı olarak oksidatif stress oluşumunun arttığı daha önceki yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Mateen ve ark.,

2016). ROT miktarındaki artışın; TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18 gibi inflamatuvar sitokinlerin stimülasyonuna neden olarak romatoid artrit oluşumuna katkı sağlayabileceğini bildiren çalışmalar yayınlanmıştır. Oksidatif stresin artışına bağlı olarak sinoviyal T lenfositleri, makrofajlar gibi immün hücrelerin aktive olduğu, aktive olan bu hücrelerin kemik ve kıkırdak erozyonuna yol açtığı bildirilmiştir (McInnes ve Schett, 2007; Mirshafiey ve Mohsenzadegan, 2008).

Çalışmamızda oksidatif stresin NLRP3, IL-1 β ve IL-18 salınması üzerine olası etkileri ROT düzeyleri açısından değerlendirilmiş olup, hasta grubun plazma ROT düzeylerinin kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$). ROT düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirildiğinde de hasta grubun ROT düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.009$). Aktif dönemdeki hastaların bulunduğu grupta ortalama ROT düzeylerinin yeni tanı ve remisyon dönemindeki hastalardan yüksek olduğu bulunmakla birlikte, bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). ROT düzeylerinin hastalığın patogenezi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. ROT oluşumuna bağlı olarak artan oksidatif stres, apoptotik hücre ölümü ve inflamasyonun indüklenmesine neden olarak kronik inflamasyona yol açmakta ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların patogeneze katkı sağlamaktadır (Khojah ve ark., 2016; Schieber ve Chandel, 2014). Vücutta oksidatif stresin artması direk eklem hasarına neden olabildiği gibi (Mateen ve ark., 2016); ROT artışına bağlı olarak farklı inflamatuvar sinyal yollarının tetiklenmesi, dolaylı yoldan romatoid artrit oluşumu ve hastalık aktivitesinin artmasına yol açabilmektedir (Phull ve ark., 2018; Quiñonez-Flores ve ark., 2016). Yapılan çalışmalarda romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvılarındaki T lenfositleri ve tam kan hücreleri ile monositlerinde ROT üretiminin kontrole göre arttığı ifade edilmiştir (Hassan ve ark., 2011; Remans ve ark., 2005). Mateen ve arkadaşları (2016) romatoid artrit hastalarının plazmalarında ROT üretimi, lipid peroksidasyon, protein oksidasyon ve DNA hasarının kontrole göre artış gösterdiğini belirtmiştir. Romatoid artrit hastaları kontrol grubuyla kıyaslandığında serum ROT ve reaktif nitrojen türleri düzeylerinin hasta grubunda daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Başka bir çalışmada romatoid artrit hastalarında plazma ROT ve inflamatuvar sitokin düzeylerinin kontrole göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Mateen ve ark., 2017).

Çalışmamızda platelet düzeyleri ile ROT düzeyleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($r=0.320$; $p<0.05$). Vücutta oksijen tüketiminin artması platelet agregasyonu ile ilişkilendirilmiş olup, yüksek doz hidrojen peroksit ve süperoksitin platelet birikimini arttırdığı bildirilmiştir (Freedman, 2008).

ROT düzeyleri ile LDL, trigliserit ve total kolesterol düzeyleri arasında da pozitif yönlü ve anlamlı bir ilişki bulunmuş olup korelasyon katsayıları sırasıyla $r_{LDL}=0.337$, $r_{total\ kolesterol}=0.272$, $r_{trigliserit}=0.268$ 'dir ($p<0.05$). Bu bulgulara benzer şekilde yağ asitleri ve trigliserit açısından zengin emülsiyonların lökositlerde ROT üretimini stimüle ettiği bildirilmiştir (Araujo ve ark., 1995). Koroner arter hastalarında ROT düzeyleri ile bozulmuş lipid profili arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir (Rao ve Kiran, 2011). Plazma lipoproteinlerinin; damarlardaki endotelial hücrelerle ilişkili ve oksidasyon reaksiyonlara duyarlı olmaları nedeniyle, damar yüzeyinde oksidatif stres biyogöstergesi olabilecekleri düşünülmektedir (Le, 2014).

Çalışmamızda yaş, cinsiyet, sigara kullanımı gibi faktörlerin NLRP3 inflamazom yolağı üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Yaşlanmanın birçok kronik hastalığın ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir. Yaş artışı ile inflamasyona neden olan endojen sinyallerin birçoğunun arttığı, NLRP3 inflamazom aktivasyonunun bu sürece katkısı bulunduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda yaş artışı ile plazma NLRP3 düzeyleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulunurken ($r=0.305$; $p=0.004$), yaş ile protein ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Kontrol grubunda yer alan 50 yaşından büyük bireylerin plazma NLRP3 düzeylerinin 30 yaşından küçük bireylerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum sağlıklı bireylerde de yaş artışının plazma NLRP3 düzeylerinin artmasına neden olabileceğini ifade etmektedir. NLRP3 inflamazom

aktivitesindeki azalmanın yaş ile ilişkili inflamasyonu azalttığı ifade edilmiştir (Youm ve ark., 2016). Wu ve ark. (2015) yaş ile periferik mononükleer hücrelerin NLRP3, ASC, kaspaz-1 ve IL-1 β gen ekspresyonlarının pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmiştir. Ancak çalışma grubu yalnızca ileri ateroskleroz veya diğer vasküler hastalıklardan etkilenen hasta bireylerden oluşmuş olup sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmadığından bulunan korelasyonun kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle de ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir. Bu görüşün tersine başka bir grup araştırmacı ise 50 yaşın üzerindeki sağlıklı bireylerde NLRP3 gen ekspresyonunun 50 yaşın altındakilere göre anlamlı düzeyde azaldığını ifade etmiştir (Connat ve ark., 2018).

Çalışmamızda yaş artışı ile plazma IL-1 β ve IL-18 düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamış olup korelasyon katsayıları sırasıyla $r_{IL-1\beta}=0.153$ ve $r_{IL-18}=0.172$ 'dir ($p>0.05$). IL-1 β ve IL-18'in yaşa bağlı değişimi ile ilgili yayınlanan çalışma sonuçları farklılıklar göstermektedir. Bazı araştırmacılar ileri yaşlarda IL-1 β , IL-18 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin düzeylerinin daha yüksek olduğunu bildirirken (Born ve ark., 1995; Fagiolo ve ark., 1993), bazı araştırmacılar ise bunun tersini ifade etmektedir (Gon ve ark., 1996; McLachlan ve ark., 1995). McLachlan ve ark. (1995) yaşlı bireylerden (>65) izole edilen monositlerde IL-1 ve ROT düzeylerinin gençlerden (~ 25) daha düşük olduğunu belirtmiştir. Başka bir çalışmada yaşlanmaya bağlı olarak artan oksidatif stresin IL-18 ve IL-1 β gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin düzeyinin artmasına neden olabileceği bildirilmiştir (Born ve ark., 1995).

Çalışmamızda yaş artışı ile ROT düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($r=0.187$; $p>0.05$). Yaşlanmaya ROT düzeylerinde artışa neden olduğunu bildiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Kirkwood ve Kowald, 2012). Ancak günümüzde bu görüşün aksine, ROT düzeyleri ile yaşlanma arasında direk ilişki olmadığını belirten, araştırma sonuçları da bulunmaktadır (Gladyshev, 2014). Oksidatif stres hücrelerin lokalize alanlarında ortaya çıktığında, toplam oksidatif hasarın analizi gerçek hasarı temsil edemeyebilmektedir. Yayınlanan sonuçlardaki farklılıkların çalışmaya katılan bireylerin genetik ve yaşam şekillerindeki diyet,

egzersiz, sigara kullanımı gibi çevresel faktörlerdeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

Cinsiyete göre değerlendirme yapıldığında hem kontrol, hem de hasta gruplarında kadınların plazma NLRP3 düzeylerinin erkeklerden anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinde ise hem hasta, hem de kontrol grubunda cinsiyet açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Connat ve ark. (2018) sağlıklı kadın ve erkeklerin tam kan örneklerinde NLRP3 gen ekspresyon düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmadığını bildirmiştir. Yang ve ark. (2015) sistemik lupus eritematöz hastası kadınlardan izole edilen stimüle edilmemiş makrofajlarda NLRP3 gen ekspresyonlarının kontrole göre anlamlı düzeyde arttığını, erkeklerden izole edilen stimüle edilmemiş makrofajlar kontrolle kıyaslandığında ise bir anlamlı bir farklılık bulunmadığını ifade etmiştir. Cinsiyetin NLRP3 yolağındaki pro-inflamatuvar sitokin düzeyleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde; kontrol grubundaki kadınların plazma IL-1 β ve IL-18 düzeylerinin erkeklerden yüksek olduğu, ancak yalnızca IL-18 düzeylerindeki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Hasta ve kontrol gruplarının ROT düzeyleri kendi içinde değerlendirildiğinde gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Bazı araştırmacılar kadınların oksidatif strese erkeklerden daha dayanıklı olduğunu ifade ederken (Kander ve ark., 2017), bazıları cinsiyetin oksidatif stres biyogöstergeleri üzerinde anlamlı bir etkiye neden olmadığını bildirmiştir (Enciso ve ark., 2018). Östrojenin pro-inflamatuvar sinyalleri azalttığı bilinmektedir. Östrojen düzeylerinde değişikliklere neden olan menstürasyon dönemi, menopoz gibi süreçlerin kadınlarda oksidatif stres ve inflamasyon parametrelerinin düzeylerinde değişikliklere neden olduğu ve bu durumun cinsiyetler arası farklılığı açıklayabileceği düşünülmektedir. Bu veriler, östrojenin makrofajlardan inflamazom aktivasyonunun artmasında rol oynayabileceğini düşündürmekte ve kadınların otoimmün hastalıklara yatkınlığını açıklayabilmektedir.

Sigara kullanımının romatoid artrit riskine etki eden önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir. Bazı araştırmacılar kadınlarda sigara kullanımının hastalık riskini

arttırdığını ifade ederken (Karlson ve ark., 1999); bazıları sigara kullanımının yalnızca erkeklerde hastalık riskini arttığını, kadınlarda riske etki etmediğini ifade etmektedir (Krishnan ve ark., 2003; Uhlig ve ark., 1999). Bazı araştırmacılar ise sigaranın hem kadınlarda, hem erkeklerde hastalık riskini arttırdığını, ancak erkeklerde daha fazla arttırdığını ifade etmiştir (Sugiyama ve ark., 2010). Kronik sigara kullanımının çeşitli hücrel mekanizmalar ve inflamatuvar yanıtlarda bozulmalara neden olarak morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve enzimatik değişiklikleri indüklediği ifade edilmiştir. Çalışmamızda, hastalıkta oldukça önemli yeri olan sigaranın NLRP3 inflamazom yolağına etkisi değerlendirildiğinde; sigara kullanan ($p<0.01$) ve sigara kullanımını bırakmış hastaların ($p<0.05$) NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin hiç sigara kullanmamış hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Hasta gruplarının aksine, kontrol grupları sigara kullanım alışkanlıklarına göre kendi içinde değerlendirildiğinde, gruplar arasında protein ekspresyon düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Sigara kullanımının hasta ve kontrol grupları arasında bu farklılığı ortaya çıkartmasının nedeninin; hastalık nedeniyle hali hazırda aktive olmuş periferik mononükleer hücrelerden sitokin ve inflamazom salımını daha da arttırmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda sigara kullanımının plazma NLRP3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa neden olmadığı bulunmuştur. Connat ve ark. (2018) sağlıklı bireylerin sigara kullanım alışkanlıklarının NLRP3 gen ekspresyon düzeyleri üzerinde anlamlı bir farklılığa neden olmadığını bildirmiştir. Wu ve ark (2018) ise insan aort endotelial hücrelerinde nikotin uygulamasının NLRP3 ve ASC protein ve gen ekspresyonlarını arttırdığını bildirmiştir. Bu artışın intraselüler ROT üretimindeki artıştan kaynaklanabileceği düşünülmüş ve hücrelere ROT inhibitörü N-asetil sistein uygulanmıştır. Bu uygulama sonucu hücrelerde NLRP3, ASC, kaspaz-1, IL-1 ve IL-18'in gen ekspresyon düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Han ve ark (2017) ise sigara dumanı ekstrelerinin insan monositleri ve makrofajlarında NLRP3 proteininin yapısının bozulmasını indüklediği ve protein düzeylerinin azalmasına yol açtığını ifade etmiştir. Ye ve arkadaşları (2019) sıçanlarda sigara dumanının *Candida albicans*'ın indüklediği NLRP3 inflamazom aktivasyonunu suprese ettiğini bildirmiştir. Sigara kullanımının NLRP3 inflamazom yolağına etkisi ile ilgili çok farklı görüşler bildirildiğinden

ilişkinin tam olarak açıklanabilmesi için daha kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda hiç sigara kullanmamış, sigara kullanımını bırakmış ve hala sigara kullanan hasta gruplarının plazma IL-1 β düzeylerinin, aynı alışkanlığı olan kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Plazma IL-18 düzeylerine bakıldığında ise farklılık yalnızca sigara kullanan hasta ve kontrol grupları arasında görülmüştür ($p<0.01$). Hasta ve kontrol grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ise sigara kullanımının plazma IL-1 β ve IL-18 düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilemediği görülmüştür ($p>0.05$). Yapılan çalışmalarda sigara kullananların balgam ve lavaj sıvılarında IL-1 β düzeyinin arttığı ifade edilmiştir (Chung, 2006; Ekberg-Jansson ve ark., 2001). Sigara kullanan bireylerden izole edilen monositlerde kullanmayanlara göre IL-1 β düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zeidel ve ark., 2002). Sigara dumanına maruz bırakılan bronşiyal epitel hücrelerin kontrole göre daha fazla IL-1 β salgıladığı ifade edilmiştir. Bunların aksine başka bir grup araştırmacı kronik periodontitis hastalarından sigara içicisi olanların IL-1 β gen ekspresyonlarının sigara içmeyenlerden düşük olduğunu ifade etmiştir (Moeintaghavi ve ark., 2017). Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları sigara kullanım alışkanlıkları açısından kendi içinde değerlendirildiğinde ise gruplar arasında ROT düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Tez çalışmamızdan western blot, immünositokimya ve ELISA yöntemleriyle elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, romatoid artrit patogenezinde NLRP3 inflamazom yolağının önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca NLRP3 inflamazomu ve inflamazom yolağında yer alan diğer parametrelerin hastalık aktivitesine göre farklı düzeylerde olduğu görülmüştür. ELISA, western blot ve immünositokimya yöntemleri ile elde edilen verilerin birbirini destekler nitelikte olduğu görülmüştür. NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri western blot ve immünositokimya yöntemleri ile değerlendirildiğinde sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.05$). Western blot protein ekspresyon düzeyleri ile plazma NLRP3 ($p<0.001$), IL-1 β ($p<0.001$) ve IL-18 ($p<0.05$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. Plazma NLRP3

düzeyleri ile IL-1 β (p<0.001), IL-18 (p<0.01) ve ROT (p<0.001) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. Tüm bu bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonların bulunması; hastalığın patogenezinde ve progresyonunda NLRP3 inflamazom yolağının etkili olabileceğini, bu yolaktaki parametrelerin düzeylerinin birbirleriyle etkileşimli olarak değişebileceğini düşündürmektedir.

Tez çalışmamızdan elde ettiğimiz tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde uzun yıllardır bilinen, yaygın olarak gözlenen, etiyopatogenezinin hala belirsizliğini koruduğu bu hastalıkta NLRP3'ün yeni bir biyogösterge olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca sonuçlarımız NLRP3 inflamazom yolağının inhibisyonunu sağlayabilecek yeni moleküllerin tasarlanması ve sentezlenmesinin, kesin tedavisi bulunamamış bu hastalığın tedavisine katkı sağlayabileceği görüşünü desteklemektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda romatoid artrit hastalarında NLRP3 inflamazom yolağının rolü ve oksidatif stresin bu yolak üzerine etkisi kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda bildirilmiştir.

Çalışma grubumuz önce hasta ve kontrol grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Sonrasında hasta grubu; aktif dönem hastaları, remisyon dönemi hastaları ve yeni tanı almış ilaç tedavisi başlamamış hastalar olmak üzere üç alt sınıfa ayrılmış olup; elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Kontrol ve hasta gruplarının tam kan numunelerinden izole edilen periferik mononükleer hücrelerde western blot ve immünohistokimya yöntemleri ile NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. Hem western blot ($p<0.001$), hem de immünohistokimya ($p<0.01$) yöntemleriyle elde edilen sonuçlar incelendiğinde; hasta grubun NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. En yüksek immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin aktif dönem hastalarına ait olduğu görülmüştür. Western blot yönteminde en yüksek NLRP3 protein ekspresyonları ise yeni tanı ve aktif dönem hastalarında gözlenmiştir.

Hasta grubun plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Aktif dönem hastalarının plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeylerinin diğer hasta grupları ve kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışma grubunun NLRP3 inflamazom yolağı parametreleri ve ROT düzeyleri yaş, cinsiyet ve sigara kullanım durumlarına göre değerlendirilmiştir. Yaş artışı ile

plazma NLRP3 düzeyleri arasında pozitif yönlü ve anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r=0.305$; $p=0.004$). Yaş ile plazma IL-1 β , IL-18, ROT ve NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri arasında ise anlamlı korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Cinsiyete göre değerlendirme yapıldığında hem kontrol, hem de hasta gruplarında kadınların plazma NLRP3 düzeylerinin erkeklerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Kontrol grubundaki kadınların plazma IL-18 düzeyleri kontrol grubundaki erkeklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Hasta ve kontrol gruplarının plazma ROT düzeyleri kendi içinde değerlendirildiğinde ise gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Sigara kullanım durumlarına göre yapılan değerlendirmede; sigara kullanan ($p<0.01$) ve sigara kullanımını bırakmış hastaların ($p<0.05$) NLRP3 protein ekspresyon düzeylerinin hiç sigara kullanmamış hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Sigara kullanımının plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p>0.05$).

NLRP3 protein ekspresyon, plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeyleri; çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi ile karıştırıcı faktörler yaş, cinsiyet ve sigara öyküsüne göre düzeltme yapılarak değerlendirilmiştir. Karıştırıcı faktörlerin etkisi elimine edildiğinde de hasta grubun NLRP3 protein ekspresyon ($p<0.001$), plazma NLRP3 ($p<0.001$), IL-1 β ($p=0.004$), IL-18 ($p=0.012$) ve ROT ($p=0.009$) düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT ölçümlerine ait ROC eğrisi çizilmiş ve EAKA'lar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Kontrol ve hasta gruplarını ayırmada bu değişkenlerin tanı değeri anlamlı olmakla birlikte, en yüksek tanı değerinin NLRP3'e ait olduğu saptanmıştır.

NLRP3 protein ekspresyonları western blot ve immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildiğinde sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.05$). Western blot yöntemiyle NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile plazma NLRP3 ($p<0.001$), IL-1 β ($p<0.001$) ve IL-18 ($p<0.05$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. Plazma NLRP3 düzeyleri ile IL-1 β , IL-18 ve ROT arasında korelasyon analizi yapıldığında da istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (IL-1 β için $p<0.001$, IL-18 için $p<0.01$, ROT için $p<0.001$). İncelenen parametreler arasında bulunan bu anlamlı korelasyonlar; hastalığın patogenezinde ve progresyonunda NLRP3 inflamazom yolağı bileşenlerinin etkili olabileceğini, bu yolaktaki bileşenlerin düzeylerinin birbirleriyle etkileşimli olarak değişebileceğini düşünmemizi sağlamaktadır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde; NLRP3 inflamazom yolağının romatoid artirit hastalığında aktive olduğu ve bu yolağın bileşenlerinin hastalığın patogenezinde önemli katkı sağladığı düşünülmektedir. Aktif dönem hastalarında bu bileşenlerin düzeylerinin daha yüksek olması; inflamazom yolağının hastalığın progresyon sürecine de katkısı olduğunu düşünmemizi sağlamaktadır.

Uzun yıllardır bilinen, yaygın olarak gözlenen, etiyopatogenezinin hala belirsizliğini koruduğu bu hastalıkta NLRP3'ün yeni bir biyogösterge olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca NLRP3 inflamazom yolağının inhibisyonunu sağlayabilecek yeni moleküllerin tasarlanması ve sentezlenmesinin, kesin tedavisi bulunamamış bu hastalığın tedavisine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Çalışmamız ülkemizde romatoid artirit hastalarında NLRP3 inflamazom yolağının incelendiği yayınlanmış ilk araştırmadır. Literatürler incelendiğinde bu hastalıkta NLRP3 inflamazomunun etkisinin araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmakla birlikte; birbirini desteklemeyen sonuçlar bildirildiğinden mekanizmanın aydınlatılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

ÖZET

Naif ve Aktif (Alevli) Dönemdeki Romatoid Artrit Hastalarında Oksidatif Stres ve İnflamasyon Parametrelerinin İncelenmesi

Romatoid artrit eklemlerde ağrı, şişkinlik ve geri dönüşümü olmayan hasarlarla karakterize kronik inflamasyona neden olan sistemik otoimmün bir hastalıktır. Uzun yıllardır bilinen, yaygın olarak gözlenen bir hastalık olmasına rağmen etiopatogenezinin belirsizliğini koruması bu patolojide yeni biyogöstergelere gereksinim olduğu gerçeğini ortaya çıkartmaktadır. NLRP3 inflamazom yolağının romatoid artiritte önemli rolü olduğunu ifade eden çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte; çalışma sonuçlarının farklılık göstermesi, hastalığın mekanizmasının aydınlatılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Ülkemizde NLRP3 inflamazom yolağının romatoid artrite etkisi ile ilgili yayınlanmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Tezimizin amacı romatoid artrit hastalığında NLRP3 inflamazom yolağının etkisinin ve oksidatif stresin bu yolağa katkısının olup olmadığının araştırılmasıdır. Çalışmamızda romatoid artrit hastaları ve kontrol grubunun periferik mononükleer hücrelerinde western blot ve immünohistokimya yöntemleriyle NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile plazmalarında NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeyleri ölçülmüştür. Hasta grubunda NLRP3 protein ekspresyon düzeyleri ile plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). En yüksek immünohistokimyasal NLRP3 protein ekspresyonu, plazma NLRP3, IL-1 β , IL-18 ve ROT düzeylerinin aktif dönem hastalarına ait olduğu görülmüştür. Western blot, immünohistokimya ve ELISA yöntemleriyle elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. Çalışmamızdan elde ettiğimiz tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde NLRP3 inflamazom yolağının romatoid artiritin patogenezi ve progresyonuna katkı sağladığı düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: immünohistokimya, inflamazom, romatoid artrit, NLRP3, western blot

SUMMARY

Investigation of Oxidative Stress and Inflammation Parameters in Patients with Naive and Active Rheumatoid Arthritis

Rheumatoid arthritis is a systemic autoimmune disease that causes chronic inflammation characterized by pain, swelling and irreversible damage in the joints. Although it has been known for many years, it is widely observed that its etiopathogenesis remains unclear, revealing the need for new biomarkers in this pathology. There are several studies indicate that NLRP3 inflammasome pathway have an important role in rheumatoid arthritis. However; due to the different results of these studies, further studies are needed to elucidate the mechanism of the disease. In addition, there is no published study to ascertain the impact of the NLRP3 inflammasome pathway on rheumatoid arthritis in our country. The aim of our study is to investigate the effect of NLRP3 inflammasome pathway in rheumatoid arthritis and whether oxidative stress contributes to this pathway. In our study, NLRP3 protein expressions were determined by western blot and immunocytochemistry methods in peripheral mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients and control group, and also NLRP3, IL-1 β , IL-18 and ROT levels were measured in plasma. NLRP3 protein expression and plasma NLRP3, IL-1 β , IL-18 and ROT levels in the patient group were found to be significantly higher than the control group ($p < 0.001$). The highest immunocytochemical NLRP3 protein expression, plasma NLRP3, IL-1 β , IL-18 and ROT levels were determined in active period patients. Moreover, statistically significant correlations were found between the results of western blot, immunocytochemistry and ELISA methods. All the data obtained from our study were evaluated and the results indicate that NLRP3 inflammasome pathway is thought to play an important role in the pathogenesis and progression of rheumatoid arthritis.

Keywords: immunocytochemistry, inflammasome, rheumatoid arthritis, NLRP3, western blot

KAYNAKLAR

- ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI S (2017). Cellular and Molecular Immunology, 9th Ed, Elsevier.
- ABDERRAZAK A, SYROVETS T, COUCHIE D, EL HADRI K, FRIGUET B, SIMMET T, ROUIIS M (2015). NLRP3 inflammasome: from a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases. *Redox Biol*, **4**:296-307.
- ACKERMAN IN, NGIAN GS, VAN DOORNUM S, BRIGGS AM (2016). A systematic review of interventions to improve knowledge and self-management skills concerning contraception, pregnancy and breastfeeding in people with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, **35**(1):33-41.
- AKDIS M, BURGLER S, CRAMERI R, EIWEGGER T, FUJITA H, GOMEZ E, KLUNKER S, MEYER N, O'MAHONY L, PALOMARES O, RHYNER C, OUAKED N, SCHAFFARTZIK A, VAN DE VEEN W, ZELLER S, ZIMMERMANN M, AKDIS CA (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*, **127**(3):701-21.
- AKDIS M, AAB A, ALTUNBULAKLI C, AZKUR K, COSTA RA, CRAMERI R, DUAN S, EIWEGGER T, ELJASZEWICZ A, FERSTL R, FREI R, GARBANI M, GLOBINSKA A, HESS L, HUÏTEMA C, KUBO T, KOMLOŠ Z, KONIECZNA P, KOVACS N, KUCUKSEZER UC, MEYER N, MORİTA H, OLZHAUSEN J, O'MAHONY L, PEZER M, PRATI M, REBANE A, RHYNER C2, RINALDI A, SOKOLOWSKA M, STANIC B, SUGITA K, TREIS A, VAN DE VEEN W, WANKE K, WAWRZYNIAC M, WAWRZYNIAC P, WİRZ OF, ZAKZUK JS, AKDIS CA (2016). Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin İmmünol*, **138**(4):984-1010.
- AKSENTIJEVIČ I, PUTNAM CD, REMMERS EF, MUELLER JL, LE J, KOLODNER RD, MOAK Z, CHUANG M, AUSTIN F, GOLDBACH-MANSKY R, HOFFMAN HM, KASTNER DL (2007). The clinical continuum of cryopyrinopathies: novel CIAS1 mutations in North American patients and a new cryopyrin model. *Arthritis Rheum*, **56**:1273–1285.
- ALAM J, JANTAN I, BUKHARISNA (2017). Rheumatoid arthritis: Recent advances on its etiology, role of cytokines and pharmacotherapy. *Biomed Pharmacother*, **92**:615-633.
- ALPIZAR-RODRIGUEZ D, PLUCHINO N, CANNY G, GABAY C, FINCKH A (2017). The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis. *Rheumatology, Rheumatology (Oxford)*, **56**(8):1254-1263.
- ANGELOTTI F, PARMA A, CAFARO G, CAPECCHI R, ALUNNO A, PUXEDDU (2017). One year in review 2017: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. **35**(3):368-378.

- ARAUJO FB, BARBOSA DS, HSİN CY, MARANHÃO RC, ABDALLA DS (1995). Evaluation of oxidative stress in patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis*, **117**(1):61-71.
- ARNSON Y, SHOENFELD Y, AMITAL H (2010). Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmün*, **34**: J258–J265.
- ARTIFONI M, ROTHSCHILD PR, BRÉZIN A, GUILLEVIN L, PUÉCHAL X (2014). Ocular inflammatory diseases associated with rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*, **10**(2):108-16.
- BARNETCHE T, CONSTANTIN A, CANTAGREL A, CAMBON-THOMSEN A, GOURRAUD PA (2008). New classification of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis susceptibility: a combined analysis of worldwide samples. *Arthritis Res Ther*, **10**(1):R26.
- BAUERNFEIND F, ABLASSER A, BARTOK E, KIM S, SCHMID-BURGK J, CAVLAR T, HORNUNG V (2011). Inflammasomes: current understanding and open questions. *Cell Mol Life Sci*, **68**(5):765-83.
- BEN HM, CORNELIS F, MARZOUK S, CHABCHOUB G, BAHLOUL Z, REBAI A, FAKHFAKH F, AYADI H, PETIT-TEIXEIRA E, MAALEJ A (2012). Association study of CARD8 (p.C10X) and NLRP3 (p.Q705K) variants with rheumatoid arthritis in French and Tunisian populations. *Int J Immunogenet*, **39**(2):131-6.
- BENJAMIN O, LAPPIN SL (2019). Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARD) In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. Erişim Adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507863/>. Erişim Tarihi: 28.03.2019.
- BERUBE LT, KIELY M, YAZICI Y, WOOLF K (2017). Diet quality of individuals with rheumatoid arthritis using the Healthy Eating Index (HEI)-2010. *Nutr Health*, **23**(1):17-24.
- BIANCHI ME (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*, **81**(1):1-5.
- BIJLSMA JW, JACOBS JW, BUTTGEREIT F (2015). Glucocorticoids in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, **33**(4)92:34-6.
- BIRTANE M, YAVUZ S, TASTEKIN N(2017). Laboratory evaluation in rheumatic diseases. *World J Methodol*, **7**(1):1-8.
- BODE JG, ALBRECHT U, HÄUSSINGER D, HEINRICH PC, SCHAPER F (2012). Hepatic acute phase proteins--regulation by IL-6- and IL-1-type cytokines involving STAT3 and its crosstalk with NF-κB-dependent signaling. *Eur J Cell Biol*, **91**(6-7):496-505.
- BONFIGLIOLI KR, CARRIÇO H, MOTA L, VARGAS-SANTOS AB, ALBUQUERQUE C, GIORGI R, RADOMINSKI S, PEREIRA I, GUIMARÃES MF, BERTOLO M, LOUZADA P, CUNHA MF, BRENOL C, CASTELAR-PINHEIRO G (2018). Extra-articular manifestations in

rheumatoid arthritis: a comprehensive analysis in a large cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **77**(2): 301.

BORN J, UTHGENANNT D, DODT C, NÜNNINGHOFF D, RINGVOLT E, WAGNER T, FEHM HL (1995). Cytokine production and lymphocyte subpopulations in aged humans. An assessment during nocturnal sleep. *Mech Ageing Dev*, **84**(2):113-26.

BOTTINI N, FIRESTEIN GS (2013). Epigenetics in rheumatoid arthritis: a primer for rheumatologists. *Curr Rheumatol Rep*, **15**(11):372.

BRENNAN FM, MCINNES IB (2008). Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, **118**(11):3537-45.

BRESNIHAN B, ALVARO-GRACIA JM, COBBY M, DOHERTY M, DOMLIJAN Z, EMERY P, NUKI G, PAVELKA K, RAU R, ROZMAN B, WATT I, WILLIAMS B, AÏTCHÏSON R, MCCABE D, MUSIĆ P (1998). Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum*, **41**:2196-204.

BRESNIHAN B, ROUX-LOMBARD P, MURPHY E, KANE D, FITZGERALD O, DAYER JM (2002). Serum interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **61**(8):726-9.

BROWN PM, PRATT AG, ISAACS JD (2016). Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers. *Nat Rev Rheumatol*, **12**(12):731-742.

BURMESTER GR (2001). Molecular mechanisms of action of gold in treatment of rheumatoid arthritis--an update. *Z Rheumatol*, **60**(3):167-73.

CANTARINI L, LOPALCO G, CASO F, COSTA L, IANNONE F, LAPADULA G, ANELLI MG, FRANCESCHINI R, MENICACCI C, GALEAZZI M, SELMI C, RIGANTE D (2015). Effectiveness and tuberculosis-related safety profile of interleukin-1 blocking agents in the management of Behçet's disease. *Autoimmun Rev*, **14**(1):1-9.

CAVALLI G, DINARELLO CA (2015). Treating rheumatological diseases and co-morbidities with interleukin-1 blocking therapies. *Rheumatology (Oxford)*, **54**(12):2134-44.

CHANG HH, DWIVEDI N, NICHOLAS AP, HO IC (2015). The W620 polymorphism in PTPN22 disrupts its interaction with peptidylarginine deiminase type 4 and Enhances citrullination and NETosis. *Arthritis Rheumatol*, **67**(9):2323-34.

CHAPLIN DD (2010). Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*, **125**(2):S3-23.

CHOI ST, KWON SR, JUNG JY, KIM HA, KIM SS, KIM SH, KIM JM, PARK JH, SUH CH (2018). Prevalence and Fracture Risk of Osteoporosis in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Multicenter Comparative Study of the FRAX and WHO Criteria. *J Clin Med*, **7**(12): pii: E507.

- CHONG HH. Bilateral knee septic arthritis: Was it from sternal wound? (2018) *Clin Case Rep*, **6**(9):1765-1768.
- CHOULAKI C, PAPADAKI G, REPA A, KAMPOURAKI E, KAMBAS K, RITIS K, BERTSIAS G, BOUMPAS DT, SIDIROPOULOS P (2015). Enhanced activity of NLRP3 inflammasome in peripheral blood cells of patients with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, **17**:257.
- CHOY E, GANESHALINGAM K, SEMB AG, SZEKANECZ Z, NURMOHAMED M (2014). Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: recent advances in the understanding of the pivotal role of inflammation, risk predictors and the impact of treatment. *Rheumatology (Oxford)*, **53**(12):2143-54.
- CHUNG KF (2006). Cytokines as targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Drug Targets*, **7**:675–681.
- CLARK IA, ALLEVA LM, VISSEL B (2010). The roles of TNF in brain dysfunction and disease. *Pharmacol Ther*, **128**(3):519-48.
- COHEN S, HURD E, CUSH J, SCHIFF M, WEINBLATT ME, MORELAND LW, KREMER J, BEAR MB, RICH WJ, MCCABE D (2002). Treatment of rheumatoid arthritis with anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, in combination with methotrexate: results of a twenty-four-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*, **46**(3):614-24.
- COJOCARU M, COJOCARU IM, SILOSI I, VRABIE CD, TANASESCUB R (2010). Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Maedica (Buchar)*, **5**(4): 286–291.
- CONNAT JL, DUMONT A, RÍALLAND M, FAÏVRE B, SORCI G (2018). Nlrp3 Gene Expression in Circulating Leukocytes Declines During Healthy Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, **73**(8):1045-1049.
- COOK GP, SAVIC S, WITTMANN M, MCDERMOTT MF (2010). The NLRP3 inflammasome, a target for therapy in diverse disease states. *Eur J Immunol*, **40**(3):631-4.
- CORRADO A, DONATO P, MACCARI S, CECCHI R, SPADAFINA T, ARCIDIACONO L, TAVARINI S, SAMMICHELI C, LAERA D, MANETTI AG, RUGGIERO P, GALLETTI B, NUTI S, DE GREGORIO E, BERTHOLET S, SEUBERT A, BAGNOLI F, BENSI G, CHIAROT E (2016). Staphylococcus aureus-dependent septic arthritis in murine knee joints: local immune response and beneficial effects of vaccination. *Sci Rep*, **6**:38043.
- CROFT M (2009). The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nat Rev Immunol*, **9**(4):271-85.
- DA ROCHA SOBRINHO HM, JARACH R, DA SILVA NA, SHIO MT, JANCAR S, TIMENETSKY J, OLIVEIRA MA, DORTA ML, RIBEIRO-DIAS F (2011). Mycoplasmal lipid-associated

membrane proteins and *Mycoplasma arthritidis* mitogen recognition by serum antibodies from patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, **31**:951–957.

DAHA NA, KURREEMAN FA, MARQUES RB, STOEKEN-RIJSBERGEN G, VERDUIJN W, HUIZINGA TW, TOES RE (2009). Confirmation of STAT4, IL2/IL21, and CTLA4 polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatology*. **60**(5): 1255-1260.

DARRIEUTORT-LAFFITE C, BOUTET MA, CHATELAIS M, BRION R, BLANCHARD F, HEYMANN D, LE GOFF B (2014). IL-1 β and TNF α promote monocyte viability through the induction of GM-CSF expression by rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Mediators Inflamm*, **2014**:241840.

DEANE KD, DEMORUELLE MK, KELMENSEN LB, KUHN KA, NORRIS JM, HOLERS VM (2017). Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, **31**(1):3-18.

DEL RINCON I, ESCALANTE A (1999). HLA-DRB1 alleles associated with susceptibility or resistance to rheumatoid arthritis, articular deformities, and disability in Mexican Americans. *Arthritis Rheum*, **42**(7):1329–38.

DELVES PJ, MARTIN SJ, BURTON DR, ROITT IM (2017). Roitt's Essential Immunology. 13th Ed. Wiley-Blackwell, p.47.

DELVES PJ, MARTIN SJ, BURTON DR, ROITT IM (2017). Roitt's Essential Immunology. 13th Ed. Wiley-Blackwell, p.226-228.

DEMORUELLE MK, DEANE KD, HOLERS VM (2014). When and where does inflammation begin in rheumatoid arthritis? *Curr Opin Rheumatol*, **26**(1):64-71.

DEQUATTRO K, IMBODEN JB (2017). Neurologic Manifestations of Rheumatoid Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, **43**(4):561-571.

DIEHL SA, SCHMIDLIN H, NAGASAWA M, BLOM B, SPITS H (2012). IL-6 triggers IL-21 production by human CD4⁺ T cells to drive STAT3-dependent plasma cell differentiation in B cells, *Immunol Cell Biol*, **90**(8):802-11.

DINARELLO CA (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*, **281**(1):8-27.

DINARELLO CA (2013) Overview of the interleukin-1 family of ligands and receptors. *Semin Immunol*, **25**(6):389-93.

DINARELLO CA (2007). Historical Review of Cytokines1. *Eur J Immunol*. **37**(1): 34–45.

- DIXIT VD (2013). Nlrp3 inflammasome activation in type 2 diabetes: is it clinically relevant? *Diabetes*, **62**(1):22-4.
- EASTGATE JA, SYMONS JA, WOOD NC, GRINLINTON FM, DI GIOVINE FS, DUFF GW (1988). Correlation of plasma interleukin 1 levels with disease activity in rheumatoid arthritis. *Lancet*, **2**(8613):706-9.
- EBRINGER A, RASHID T (2006). Rheumatoid Arthritis is an Autoimmune Disease Triggered by Proteus Urinary Tract Infection. *Clin Dev Immunol*, **13**(1): 41–48.
- EKBERG-JANSSON A, ANDERSSON B, BAKE B, BOÏJSEN M, ENANDEN I, ROSENGREN A, SKOOGH BE, TYLÉN U, VENGE P, LÖFDAHL CG (2001). Neutrophil-associated activation markers in healthy smokers relates to a fall in DL(CO) and to emphysematous changes on high resolution CT. *Respir Med*, **95**:363–373.
- EKLUND KK, LEIRISALO-REPO M, RANTA P, MÄKI T, KAUTIAINEN H, HANNONEN P, KORPELA M, HAKALA M, JÄRVINEN P, MÖTTÖNEN T (2007). Serum IL-1beta levels are associated with the presence of erosions in recent onset rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, **25**(5):684-9.
- EMERY P (2015). Atlas of Rheumatoid Arthritis. Springer Healthcare.
- ENCISO JM, LÓPEZ DE CERAÍN A, PASTOR L, AZQUETA A, VETTORAZZI A (2018). Is Oxidative Stress Involved in the Sex-Dependent Response to Ochratoxin a Renal Toxicity? *Food Chem Toxicol*, **116**(PT B):379-387.
- ENTEZAMI P, FOX DA, CLAPHAM PJ, CHUNG KC (2011). Historical perspective on the etiology of rheumatoid arthritis. *Hand Clin*, **27**(1):1-10.
- FAGIOLO U, COSSARIZZA A, SCALA E, FANALES-BELASIO E, ORTOLANI C, COZZI E, MONTI D, FRANCESCHI C, PAGANELLI R (1993). Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people. *Eur J Immunol*, **23**(9):2375-8.
- FIRESTEIN G, BUDD R, GABRIEL SE, MCINNES IB, O'DELL J (2012). Kelley's Textbook of Rheumatology. 9th Ed, Saunders.
- FIRESTEIN GS, BOYLE DL, YU C, PAINE MM, WHISENAND TD, ZVAIFLER NJ, AREND WP (1994). Synovial interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 balance in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **37**(5):644-52.
- FLEISCHMANN RM, DAMJANOV NS, KIVITZ AJ, LEGEDZA A, HOOCK T, KINNMAN N (2015). A randomized, double-blind, placebo-controlled, twelve-week, dose-ranging study of decernotinib, an oral selective JAK-3 inhibitor, as monotherapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*, **67**(2):334-43.
- FREEDMAN JE (2008). Oxidative stress and platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **28**(3):S11-6.

- FRIEDMAN B, CRONSTEIN B (2019). Methotrexate mechanism in treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. **86**(3):301-307
- FRISELL T, SAEVARSDOTTIR S, ASKLING J (2016). Family history of rheumatoid arthritis: an old concept with new developments. *Nat Rev Rheumatol*, **12**(6):335-43.
- GABRIEL SE (2008). Cardiovascular Morbidity and Mortality in Rheumatoid Arthritis. *Am J Med*, **121**(10):9-14.
- GABRIEL SE (2008). Why do people with rheumatoid arthritis still die prematurely? *Ann Rheum Dis*, **67**(3): iii30-4.
- GAFFEN SL, JAIN R, GARG AV, CUA DJ (2014). The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol*, **14**(9):585-600.
- GARROD AE (1890). A Treatise on Rheumatism and Rheumatoid Arthritis. London: Charles Griffin and Company.
- GIBOFSKY A (2012). Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *Am J Manag Care*, **18**(13):295-302.
- GIROTTI M, DONEGAN JJ, MORILAK DA (2013). Influence of hypothalamic IL-6/gp130 receptor signaling on the HPA axis response to chronic stress. *Psychoneuroendocrinology*, **38**(7):1158-69.
- GLADYSHEV VN (2014). The free radical theory of aging is dead. Long live the damage theory! *Antioxid Redox Signal*, **1**;20(4):727-31.
- GOMEZ-CABRERO D, ALMGREN M, SJÖHOLM LK, HENSVOLD AH., RINGH MV, TRYGGVADOTTIR R, KERE J, SCHEYNIUS A, ACEVEDO N, REINIUS L, TAUB M, MONTANO C, ARYEE MJ, FEINBERG JI, FEINBERG AP, TEGNÉR J, KLARESKOG L, CATRINA AI, EKSTRÖM TJ (2016). High-specificity bioinformatics framework for epigenomic profiling of discordant twins reveals specific and shared markers for ACPA and ACPA-positive rheumatoid arthritis. *Genome Med*. **8**(1): 124.
- GON Y, HASHIMOTO S, HAYASHI S, KOURA T, MATSUMOTO K, HORIE T (1996). Lower serum concentrations of cytokines in elderly patients with pneumonia and the impaired production of cytokines by peripheral blood monocytes in the elderly. *Clin. Exper. Immunol*, **106**:120-126.
- GRACIE JA, FORSEY RJ, CHAN WL, GILMOUR A, LEUNG BP, GREER MR, KENNEDY K, CARTER R, WEI XQ, XU D, FIELD M, FOULIS A, LIEW FY, MCINNES IB (1999). A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, **104**(10):1393-401.
- GRACIE JA, ROBERTSON SE, MCINNES IB (2003). Interleukin-18. *J Leukoc Biol*, **73**: 213-224.

- GREGERSEN PK, SILVER J, WINCHESTER RJ (1987). The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **30**: 1205–1213.
- GUARDA G, ZENGER M, YAZDI AS, SCHRODER K, FERRERO I, MENU P, TARDIVEL A, MATTMANN C, TSCHOPP J (2011). Differential expression of NLRP3 among hematopoietic cells. *J Immunol*, **186**(4):2529-34.
- GUO C, FU R, WANG S, HUANG Y, LI X, ZHOU M, ZHAO J, YANG N (2018). NLRP3 inflammasome activation contributes to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*, **194**(2):231-243.
- HAJIAN-TILAKI, K (2013). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian journal of internal medicine*, **4**(2):627-635.
- HAN S, JEROME JA, GREGORY AD, MALLAMPALLI RK (2017). Cigarette smoke destabilizes NLRP3 protein by promoting its ubiquitination. *Respir Res*, **18**(1):2.
- HARVEY GP, FITZSIMMONS TR, DHAMARPATNI AA, MARCHANT C, HAYNES DR, BARTOLD PM (2013). Expression of peptidylarginine deiminase-2 and -4, citrullinated proteins and anti-citrullinated protein antibodies in human gingiva. *J Periodontal Res*, **48**(2):252-61.
- HASSAN SZ, GHEITA TA, KENAWY SA, FAHIM AT, EL-SOROUGY IM, ABDOU MS (2011). Oxidative stress in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients: relationship to disease manifestations and activity. *Int J Rheum Dis*, **14**(4):325-31.
- HE J, DING Y, FENG M, GUO J, SUN X, ZHAO J, YU D, LI Z (2013). Characteristics of Sjögren's syndrome in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **52**(6):1084-9.
- HE J, WANG Y, FENG M, ZHANG X, JIN YB, LI X, SU LC, LIU S, WANG AX, CHEN XM, WU LJ, YU XX, XU N, LIU XY, YAN HM, WANG YF, JIA B, LI JF, TAO JM, ZHANG FX, YU P, CUI LF, YANG J, LI ZB, XIE JL, WEI P, SUN WW, GONG L, CHENG YJ, HUANG CB, WANG XY, WANG Y, GUO HF, JIN HT, LIU X, WANG GC, WANG YH, HE L, ZHAO Y, LI XX, ZHANG Y, GUO JP, LI ZG (2016). Dietary intake and risk of rheumatoid arthritis-a cross section multicenter study. *Clin Rheumatol*, **35**(12):2901-2908.
- HELLGREN K, ILIADOU A, ROSENQUIST R, FELTELIUS N, BACKLIN C, ENBLAD G, ASKLING J, BAECKLUND E (2010). Rheumatoid arthritis, treatment with corticosteroids and risk of malignant lymphomas: results from a case-control study. *Ann Rheum Dis*, **69**(4):654-9.
- HELMICK CG, FELSON DT, LAWRENCE RC, GABRIEL S, HIRSCH R, KWOH CK, LIANG MH, KREMERS HM, MAYES MD, MERKEL PA, PILLEMER SR, REVELLE JD, STONE JH; National Arthritis Data Workgroup (2008). Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum*, **58**(1):15-25.

- HENSVOLD AH, MAGNUSSON PK, JOSHUA V, HANSSON M, ISRAELSSON L, FERREIRA R, JAKOBSSON PJ, HOLMDAHL R, HAMMARSTRÖM L, MALMSTRÖM V, ASKLING J, KLARESKOG L, CATRINA AI. (2015). Environmental and genetic factors in the development of anticitrullinated protein antibodies (ACPAs) and ACPA-positive rheumatoid arthritis: an epidemiological investigation in twins. *Annals of the rheumatic diseases*, **74**(2), 375-380.
- HESS A, AXMANN R, RECH J, FINZEL S, HEINDL C, KREITZ S, SERGEEVA M, SAAKE M, GARCIA M, KOLLIAS G, STRAUB RH, SPORNS O, DOERFLER A, BRUNE K, SCHETT G (2011). Blockade of TNF- α rapidly inhibits pain responses in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*. **108**(9):3731-6.
- HOEK VAN DEN J, BOSCHUIZEN HC, ROORDA LD, TIJHUIS GJ, NURMOHAMED MT, G. VAN DEN BOS GAM, DEKKER J (2017). Mortality in patients with rheumatoid arthritis: a 15-year prospective cohort study. *Rheumatol Int*, **37**(4): 487–493.
- HOFFMAN HM, MUELLER JL, BROIDE DH, WANDERER AA, KOLODNER RD (2001). Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet*, **29**(3):301-5.
- HOLMES D (2017). Immunometabolism: Physiologic role of IL-1 β in glucose homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*, **13**(3):128.
- HORAI R, SAIJO S, TANIOKA H, NAKAE S, SUDO K, OKAHARA A, IKUSE T, ASANO M, IWAKURA Y (2000). Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *J Exp Med*, **191**(2):313-20.
- HOU W, JIN YH, KANG HS, KIM BS (2014). Interleukin-6 (IL-6) and IL-17 synergistically promote viral persistence by inhibiting cellular apoptosis and cytotoxic T cell function. *J Virol*, **88**(15):8479-89.
- HUEBER AJ, ALVES-FILHO JC, ASQUITH DL, MICHELS C, MILLAR NL, REILLY JH, GRAHAM GJ, LIEW FY, MILLER AM, MCINNES IB (2011). IL-33 induces skin inflammation with mast cell and neutrophil activation. *Eur J Immunol*, **41**:2229–2237.
- HUGHES LB, MORRISON D, KELLEY JM, PADILLA MA, VAUGHAN LK, WESTFALL AO, DWIVEDI H, MIKULS TR, HOLERS VM, PARRISH LA, ALARCÓN GS, CONN DL, JONAS BL, CALLAHAN LF, SMITH EA, GILKESON GS, HOWARD G, MORELAND LW, PATTERSON N, REICH D, BRIDGES SL JR (2008). The HLA-DRB1 shared epitope is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in African Americans through European genetic admixture. *Arthritis Rheum*, **58**(2):349-58.
- HUNTER P (2012). The inflammation theory of disease. The growing realization that chronic inflammation is crucial in many diseases opens new avenues for treatment. *EMBO Rep*, **13**(11):968-70.

- ILAR A, GUSTAVSSON P, WIEBERT P, BENGTSSON C, KLARESKOG L, ALFREDSSON L (2017). Occupational exposure to asbestos and risk of rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **76**:248.
- IPPAGUNTA SK, BRAND DD, LUO J, BOYD KL, CALABRESE C, STIENSTRA R, VAN DE VEERDONK FL, NETEA MG, JOOSTEN LA, LAMKANFI M, KANNEGANTI TD (2010). Inflammasome-independent role of apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) in T cell priming is critical for collagen-induced arthritis. *J Biol Chem*, **285**(16):12454-62.
- IWATA S, NAKAYAMADA S, FUKUYO S, KUBO S, YUNOUE N, WANG SP, YOSHIKAWA M, SAITO K, TANAKA Y (2015). Activation of Syk in peripheral blood B cells in patients with rheumatoid arthritis: a potential target for abatacept therapy. *Arthritis Rheumatol*, **67**(1):63-73.
- JABRI B, ABADIE V (2015). IL-15 functions as a danger signal to regulate tissue-resident T cells and tissue destruction. *Nat Rev Immunol*, **15**(12):771-83.
- JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M, SHLOMCHIK MJ (2001). The components of the immune system. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th Ed, New York: Garland Science.
- JIANG D, CHEN S, SUN R, ZHANG X, WANG D (2018). The NLRP3 inflammasome: Role in metabolic disorders and regulation by metabolic pathways. *Cancer Letters*, **419**: 8-19.
- JO EK, KIM JK, SHIN DM, SASAKAWA C (2016). Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol*, **13**(2):148-59.
- JOOSTEN LA, HELSEN MM, SAXNE T, VAN DE LOO FA, HEINEGARD D, VAN DEN BERG WB (1999). IL-1 alpha beta blockade prevents cartilage and bone destruction in murine type II collagen-induced arthritis, whereas TNF-alpha blockade only ameliorates joint inflammation. *J Immunol*, **163**(9):5049-55.
- JOOSTEN LA, NETEA MG, MYLONA E, KOENDERS MI, MALIREDDI RKS, OOSTING M, STIENSTRA R, VAN DE VEERDONK FL, STALENHOEF AF, GIAMARELLOS-BOURBOULIS EJ, KANNEGANTI TD, VAN DER MEER JW (2010). Fatty acids engagement with TLR2 drive IL-1beta production via ASC-caspase-1 activation by urate crystals in gouty arthritis. *Arthritis Rheum*, **62**(11): 3237-3248.
- JOOSTEN LA, NETEA MG, KIM SH, YOON DY, OPPERS-WALGREEN B, RADSTAKE TR, BARRERA P, VAN DE LOO FA, DINARELLO CA, VAN DEN BERG WB. IL-32, a proinflammatory cytokine in rheumatoid arthritis (2006). *Proc Natl Acad Sci USA*, **103**(9):3298-303.
- JOOSTEN LA, RADSTAKE TR, LUBBERTS E, VAN DEN BERSSELAAR LA, VAN RIEL PL, VAN LENT PL, BARRERA P, VAN DEN BERG WB (2003). Association of interleukin-18 expression with enhanced levels of both interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in knee synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **48**: 339-347.

- JØRGENSEN KT, ROSTGAARD K, BACHE I, BIGGAR RJ, NIELSEN NM, TOMMERUP N, FRISCH M (2010). Autoimmune diseases in women with turner's syndrome. *Arthritis Rheum*, **62**: 658–666.
- JUN KR, CHOI SE, CHA CH, OH HB, HEO YS, AHN HY, LEE KJ (2007). Meta-analysis of the Association between HLA-DRB1 Allele and Rheumatoid Arthritis Susceptibility in Asian Populations. *J Korean Med Sci*, **22**(6):973.
- KAHLE P, SAAL JG, SCHAUDT K, ZACHER J, FRITZ P, PAWELEC G (1992). Determination of cytokines in synovial fluids: correlation with diagnosis and histomorphological characteristics of synovial tissue. *Ann Rheum Dis*, **51**(6):731-4.
- KAHLENBERG JM, FOX DA (2011). Advances in the medical treatment of rheumatoid arthritis. *Hand Clin*. **27**(1):11-20.
- KANDER MC, CUI Y, LIU Z (2017). Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*, **21**(5):1024-1032.
- KARLSON EW, LEE IM, COOK NR, MANSON JE, BURING JE, HENNEKENS CH (1999). A retrospective cohort study of cigarette smoking and risk of rheumatoid arthritis in female health professionals. *Arthritis Rheum*, **42**(5):910-7.
- KAY J, CALABRESE L (2004). The role of interleukin-1 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **43**(3):iii2-iii9.
- KHOJAH HM, AHMED S, ABDEL-RAHMAN MS, HAMZA AB (2016). Reactive oxygen and nitrogen species in patients with rheumatoid arthritis as potential biomarkers for disease activity and the role of antioxidants. *Free Radic Biol Med*, **97**:285-291.
- KIM HY, MIN JK, YANG HI, PARK SH, HONG YS, JEE WH, LEE SH, CHO CS, KIM TG, HAN H (1997). The impact of HLA-DRB1*0405 on disease severity in Korean patients with seropositive rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*, **36**(4):440–3.
- KIM ND, LUSTER AD (2015). The role of tissue resident cells in neutrophil recruitment. *Trends Immunol*, **36**(9):547-55.
- KINIKLI G, ATES A, TURGAY M, AKAY G, KINIKLI S, TOKGOZ G (2003). HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis in Turkey. *Scand J Rheumatol*, **32**(5):277–80.
- KIRKWOOD TB, KOWALD A (2012). The free-radical theory of ageing--older, wiser and still alive: modelling positional effects of the primary targets of ROS reveals new support. *Bioessays*, **34**(8):692-700.
- KISHIMOTO T, TANAKA T (2015). Interleukin 6. *Encyclopedia Of Inflammatory Diseases*, 1-8.

- KLARESKOG L, GREGERSEN PK, HUIZINGA TW (2010). Prevention of autoimmune rheumatic disease: state of the art and future perspectives. *Ann Rheum Dis*, **69**: 2062–2066.
- KLARESKOG L, STOLT P, LUNDBERG K, KÄLLBERG H, BENGTSSON C, GRUNEWALD J, RÖNNELID J, HARRIS HE, ULFGREN AK, RANTAPÄÄ-DAHLQVIST S, EKLUND A, PADYUKOV L, ALFREDSSON L (2006). A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum*, **54**(1):38-46.
- KODURI G, NORTON S, YOUNG A, COX N, DAVIES P, DEVLIN J, DIXEY J, GOUGH A, PROUSE P, WINFIELD J, WILLIAMS P; ERAS (Early Rheumatoid Arthritis Study) (2010). Interstitial lung disease has a poor prognosis in rheumatoid arthritis: results from an inception cohort. *Rheumatology (Oxford)*, **49**(8):1483-9.
- KOLLY L, BUSSO N, PALMER G, TALABOT-AYER D, CHOBAS V, SO A (2010). Expression and function of the NALP3 inflammasome in rheumatoid synovium. *Immunology*, **129**(2):178-85.
- KOLLY L, KARABABA M, JOOSTEN LA, NARAYAN S, SALVI R, PÉTRILLI V, TSCHOPP J, VAN DEN BERG WB, SO AK, BUSSO N (2009). Inflammatory role of ASC in antigen-induced arthritis is independent of caspase-1, NALP-3, and IPAF. *J Immunol*, **183**(6):4003-12.
- KOZIEL J, MYDEL P, POTEPA J (2014). The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. *Curr Rheumatol Rep*, **16**(3):408.
- KRISHNAN E, SOKKA T, HANNONEN P (2003). Smoking-gender interaction and risk for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, **5**(3):R158-62.
- KROOT EJ, LEEUWEN VAN MA, VAN RIJSWIJK MH, PREVOO MLL, VAN 'T HOF MA, VAN DE PUTTE LBA, VAN RIEL PLCM (2000). No increased mortality in patients with rheumatoid arthritis: up to 10 years of follow up from disease onset. *Ann Rheum Dis*, **59**(12):954-8.
- KVIEN TK, UHLIG T, ØDEGÅRD S, HEIBERG MS (2006). Epidemiological aspects of rheumatoid arthritis: the sex ratio. *Ann N Y Acad Sci*, **1069**:212-22.
- LAIJORANTA-NYMAN S, MÖTTÖNEN T, HERMANN R, TUOKKO J, LUUKKAINEN R, HAKALA M, HANNONEN P, KORPELA M, YLÄ-KERTTULA U, TOIVANEN A, ILONEN J; FIN-RACO TRIAL GROUP (2004). HLA-DR-DQ haplotypes and genotypes in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **63**:1406–12.
- LAMKANFI M, DIXIT VM (2012). Inflammasomes and their roles in health and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, **28**:137-61.
- LANDRÉ-BEAUVAIS AJ (2001). The first description of rheumatoid arthritis. Unabridged text of the doctoral dissertation presented in 1800. *Joint Bone Spine*, **68**(2):130-43.

- LATZ E, XIAO TS, STUTZ A (2013). Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol*, **13**(6):397-411.
- LAUGISCH O, WONG A, SROKA A, KANTYKA T, KOZIEL J, NEUHAUS K, SCULEAN A, VENABLES PJ, POTEMPA J, MÖLLER B, EICK S (2016). Citrullination in the periodontium--a possible link between periodontitis and rheumatoid arthritis. *Clin Oral Investig*, **20**(4):675-83.
- LE NA (2014). Lipoprotein-associated oxidative stress: a new twist to the postprandial hypothesis. *Int J Mol Sci*, **16**(1):401-19.
- LISTING J, KEKOW J, MANGER B, BURMESTER GR, PATTLOCH D, ZINK A, STRANGFELD A (2015). Mortality in rheumatoid arthritis: the impact of disease activity, treatment with glucocorticoids, TNF α inhibitors and rituximab. *Ann Rheum Dis*, **74**(2):415-21.
- LIU L, CHAN C (2014). The role of inflammasome in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*, **15**:6-15.
- LIU Y, ARYEE MJ, PADYUKOV L, FALLIN MD, HESSELBERG E, RUNARSSON A, REINIUS L, ACEVEDO N, TAUB M, RONNINGER M, SHCHETYNSKY K, SCHEYNIUS A, KERE J, ALFREDSSON L, KLARESKOG L, EKSTRÖM TJ, FEINBERG AP (2013). Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nat Biotechnol*, **31**(2):142-7.
- LIU X, QUAN N (2018). Microglia and CNS Interleukin-1: Beyond Immunological Concepts. *Front Neurol*, **9**:8.
- LOPEZ-CASTEJON G, BROUGH D (2011). Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine Growth Factor Rev*, **22**(4):189-95.
- LOPEZ JM, LOZA E, CARMONA L (2009). Systematic review on the safety of methotrexate in rheumatoid arthritis regarding the reproductive system (fertility, pregnancy, and breastfeeding). *Clin Exp Rheumatol*, **27**(4):678-84.
- LOU Y, HAN X, KUGLSTATTER A, KONDRU RK, SWEENEY ZK, SOTH M, MCINTOSH J, LITMAN R, SUH J, KOCER B, DAVIS D, PARK J, FRAUCHIGER S, DEWDNEY N, ZECIC H, TAYGERLY JP, SARMA K, HONG J, HILL RJ, GABRIEL T, GOLDSTEIN DM, OWENS TD (2015). Structure-based drug design of RN486, a potent and selective Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor, for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Med Chem*, **58**(1):512-6.
- LUNDSTRÖM E, KÄLLBERG H, ALFREDSSON L, KLARESKOG L, PADYUKOV L (2009). Gene-environment interaction between the DRB1 shared epitope and smoking in the risk of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis: all alleles are important. *Arthritis Rheum*, **60**(6):1597-603.

- LUBBERTS E, KOENDERS MI, VAN DEN BERG WB (2005). The role of T-cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models. *Arthritis Res Ther*, **7**(1):29-37.
- LUBBERTS E, VAN DEN BERG WB (2013). Cytokines in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis and Collagen-Induced Arthritis. In: *Madame Curie Bioscience Database*. Landes Bioscience.
- MA X, XU S (2013). TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis. *Biomed Rep*, **1**(2):177-184.
- MACCIÒ A, MADEDDU C, GRAMIGNANO G, MULAS C, TANCA L, CHERCHI MC, FLORIS C, OMOTO I, BARRACCA A, GANZ T (2015). The role of inflammation, iron, and nutritional status in cancer-related anemia: results of a large, prospective, observational study. *Haematologica*, **100**(1):124-32.
- MAESHIMA K, STANFORD SM, HAMMAKER D, SACCHETTI C, ZENG LF, AI R, ZHANG V, BOYLE DL, ALEMAN MUENCH GR, FENG GS, WHITAKER JW, ZHANG ZY, WANG W, BOTTINI N, FIRESTEIN GS (2016). Abnormal PTPN11 enhancer methylation promotes rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte aggressiveness and joint inflammation. *JCI Insight*, **1**(7):e86580.
- MAKOL A, MATTESON EL, WARRINGTON KJ (2015). Rheumatoid vasculitis: an update. *Curr Opin Rheumatol*, **27**(1):63-70.
- MANASTER BJ (2016). Diagnostic imaging: musculoskeletal: non-traumatic disease, 2nd Ed, Elsevier.
- MAN SM, KANNEGANTI TD (2015). Regulation of inflammasome activation. *Immunol Rev*, **265**(1):6-21.
- MAO Z, LIU C, JI S, YANG Q, YE H, HAN H, XUE Z (2017). The NLRP3 Inflammasome is Involved in the Pathogenesis of Parkinson's Disease in Rats. *Neurochem Res*, **42**(4):1104-1115.
- MARIGLIANO B, SORIANO A, MARGIOTTA D, VADACCA M, AFELTRA A (2013). Lung involvement in connective tissue diseases: a comprehensive review and a focus on rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*, **12**(11):1076-84.
- MATEEN S, MOIN S, KHAN AQ, ZAFAR A, FATIMA N (2016). Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PLoS One*, **11**(4):e0152925.
- MATEEN S, MOIN S, SHAHZAD S, KHAN AQ (2017). Level of inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis patients: Correlation with 25-hydroxy vitamin D and reactive oxygen species. *PLoS One*, **12**(6):e0178879.
- MATHEWS RJ, ROBINSON JI, BATTELLINO M, WONG C, TAYLOR JC; BIOLOGICS IN RHEUMATOID ARTHRITIS GENETICS AND GENOMICS STUDY SYNDICATE (BRAGGSS), EYRE S, CHURCHMAN SM, WILSON AG, ISAACS JD, HYRICH K, BARTON A, PLANT D, SAVIC S, COOK GP, SARZI-PUTTINI P, EMERY P, BARRETT JH, MORGAN AW, MCDERMOTT MF (2014). Evidence of NLRP3-inflammasome

activation in rheumatoid arthritis (RA); genetic variants within the NLRP3-inflammasome complex in relation to susceptibility to RA and response to anti-TNF treatment. *Ann Rheum Dis*, **73**(6):1202-10.

MAUER J, DENSON JL, BRÜNING JC (2015). Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer. *Trends Immunol*, **36**(2):92-101.

MCINNES IB, O'DELL JR (2010). State-of-the-art: rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **69**(11):1898-906.

MCINNES IB, SCHETT G (2007). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*, **7**:429-42.

MCINNE IB, SCHETT G (2017). Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. *The Lancet*, **389**(10086), 2328-2337.

MCINNES IB, GRACIE JA, LEUNG BP, WEI XQ, LIEW FY (2000). Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation. *Immunol Today*, **21**(7):312-5.

MCINNES IB, LIEW FY, GRACIE JA (2005). Interleukin-18: a therapeutic target in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther*, **7**(1):38-41.

MCLACHLAN JA, SERKIN CD, MORREY KM, BAKOUCHE O (1995). Antitumoral properties of aged human monocytes. *J. Immunol*, **154**:832-843.

MENDIOLA AS, CARDONA AE (2018). The IL-1 β phenomena in neuroinflammatory diseases. *J Neural Transm (Vienna)*, **125**(5):781-795.

MENG W, ZHU Z, JIANG X, TOO CL, UEBE S, JAGODIĆ M, KOCKUM I, MURAD S, FERRUCCI L, ALFREDSSON L, ZOU H, KLAESKOG L, FEINBERG AP, EKSTRÖM TJ, PADYUKOV L, LIU Y (2017). DNA methylation mediates genotype and smoking interaction in the development of anti-citrullinated peptide antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, **19**(1):71.

MEWAR D, MARINOU I, COOTE AL, MOORE DJ, AKIL M, SMILLIE D, DICKSON MC, BINKS MH, MONTGOMERY DS, WILSON AG (2008). Association between radiographic severity of rheumatoid arthritis and shared epitope alleles: differing mechanisms of susceptibility and protection. *Ann Rheum Dis*, **67**(7):980-3.

METCALF D (2013). The colony-stimulating factors and cancer. *Cancer Immunol Res*, **1**(6):351-6.

MIKULS TR, THIELE GM, DEANE KD, PAYNE JB, O'DELL JR, YU F, SAYLES H, WEISMAN MH, GREGERSEN PK, BUCKNER JH, KEATING RM, DERBER LA, ROBINSON WH, HOLERS VM, NORRIS JM (2012). *Porphyromonas gingivalis* and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **64**(11): 3522-30.

- MILICIC A, LEE D, BROWN MA, DARKE C, WORDSWORTH BP (2002). HLA-DR/DQ haplotype in rheumatoid arthritis: novel allelic associations in UK Caucasians. *J Rheumatol*, **29**: 1821–1826.
- MILNER CM, CAMPBELL RD (2001). Genetic organization of the human MHC class III region. *Front Biosci*, **6**: D914–D926.
- MIRSHAFIEY A, MOHSENZADEGAN M (2008). The role of reactive oxygen species in immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, **7**(4):195-202.
- MIYAJIMA A, KITAMURA T, HARADA N, YOKOTA T, ARAI K (1992). Cytokine receptors and signal transduction. *Annu Rev Immunol*, **10**: 295-331.
- MOEINTAGHAVI A, ARAB HR, RAHIM REZAEI SA, NADERI H, SHIEZADEH F, SADEGHI S, ANVARI N (2017). The Effects of Smoking on Expression of IL-12 and IL-1 β in Gingival Tissues of Patients with Chronic Periodontitis. *Open Dent J*, **11**:595-602.
- MOELANTS EA, MORTIER A, VAN DAMME J VE PROOST P (2013). Regulation of TNF- α with a focus on rheumatoid arthritis. *Immunol Cell Biol*, **91**(6): 393-401.
- MOLLARD E, PEDRO S, CHAKRAVARTY E, CLOWSE M, SCHUMACHER R, MICHAUD K (2018). The impact of menopause on functional status in women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **57**(5): 798-802.
- MOREL JC, PARK CC, KUMAR P, KOCH AE (2001). Interleukin-18 induces rheumatoid arthritis synovial fibroblast CXCL chemokine production through NF κ B activation. *Lab Invest*, **81**(10): 1371-83.
- MOTTRAM PL (2003). Past, present and future drug treatment for rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Immunol Cell Biol*, **81**(5): 350-3.
- MAKRYGIANNAKIS D, HERMANSSON M, ULFGREN AK, NICHOLAS AP, ZENDMAN AJ, EKLUND A, GRUNEWALD J, SKOLD CM, KLARESKOG L, CATRINA AI (2008). Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. *Ann Rheum Dis*, **67**(10):1488-92.
- NARVÁEZ JA, NARVÁEZ J, DE LAMA E, DE ALBERT M (2010). MR imaging of early rheumatoid arthritis. *Radiographics*, **30**(1):143-63.
- NETEA MG, NOLD-PETRY CA, NOLD MF, JOOSTEN LA, OPITZ B, VAN DER MEER JH, VAN DE VEERDONK FL, FERWERDA G, HEINHUIS B, DEVESA I, FUNK CJ, MASON RJ, KULLBERG BJ, RUBARTELLI A, VAN DER MEER JW, DINARELLO CA (2009). Differential requirement for the activation of the inflammasome for processing and release of IL-1 β in monocytes and macrophages. *Blood*, **113**(10):2324-35.

- NEWTON JL, HARNEY SM, WORDSWORTH BP, BROWN MA (2004). A review of the MHC genetics of rheumatoid arthritis. *Genes Immun*, **5**(3): 151-7.
- NGEULEU A, ALLALI F, MEDRARE L, MADHI A, RKAIN H, HAJJAJ-HASSOUNI N (2017). Sarcopenia in rheumatoid arthritis: prevalence, influence of disease activity and associated factors. *Rheumatol Int*, **37**(6):1015-1020.
- NIELEN MMJ, VAN SCHAARDENBURG D, REESINK HW, TWISK JWR, VAN DE STADT RJ, VAN DER HORST-BRUIJNSMA IE, DE KONING MHMT, HABIBUW MR, DIJKMANS BAC (2006). Simultaneous development of acute phase response and autoantibodies in preclinical rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **65**: 535-537.
- OĞUZTÜZÜN S, KILIÇ M, TANDOĞAN N, ÖZTÜRK L (2012). Usefulness of CA 15-3 for breast or ovarian primary sites in metastatic adenocarcinoma of pleural fluid. *Turk J Biol*, **36**: 171-175.
- ONISHI RM, GAFFEN SL (2010). Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, **129**(3):311-21.
- ORTIZ MA, DIAZ-TORNÉ C, HERNÁNDEZ MV, REINA D, DE LA FUENTE D, CASTELLVÍ I, MOYA P, RUIZ JM, COROMINAS H, ZAMORA C, CANTÓ E, SANMARTI R, JUAREZ C, VIDAL S (2015). IL-6 blockade reverses the abnormal STAT activation of peripheral blood leukocytes from rheumatoid arthritis patients. *Clin Immunol*, **158**(2):174-82.
- PADYUKOV L, SILVA C, STOLT P, ALFREDSSON L, KLARESKOG L (2004). A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **50**(10):3085-92.
- PATTISON DJ, HARRISON RA, SYMMONS DP (2004). The role of diet in susceptibility to rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Rheumatol*, **31**(7): 1310-9.
- PENNELL LM, GALLIGAN CL, FISH EN (2012). Sex affects immunity. *J Autoimmun*, **38**(2-3): J282–J291.
- PETROVIC-RACKOV L, PEJNOVIC N (2006). Clinical significance of IL-18, IL-15, IL-12 and TNF- α measurement in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, **25**(4):448-52.
- PHULL AR, NASIR B, HAQ IU, KIM SJ (2018). Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis. *Chem Biol Interact*, **281**: 121-136.
- PLENGE RM, PADYUKOV L, REMMERS EF, PURCELL S, LEE AT, KARLSON EW, WOLFE F, KASTNER DL, ALFREDSSON L, ALTSHULER D, GREGERSEN PK, KLARESKOG L, RIOUX JD (2005). Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in >4,000 samples from North America and Sweden: association of susceptibility with PTPN22, CTLA4, and PADI4. *Am J Hum Genet*, **77**(6): 1044-60.

- PLOSKER GL, CROOM KF (2005). Sulfasalazine: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs*, **65**(13):1825-49.
- PUNTIS D, MALIK S, SARAVANAN V, RYNNE M, HEYCOCK C, HAMILTON J, KELLY CA (2013). Urinary tract infections in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, **32**(3): 355-60.
- PUOLAKKA K, KAUTIAINEN H, POHJOLAINEN T, VIRTALA L (2010). No increased mortality in incident cases of rheumatoid arthritis during the new millennium. *Ann Rheum Dis*, **69**(11): 2057-8.
- QUIÑONEZ-FLORES CM, GONZÁLEZ-CHÁVEZ SA, DEL RÍO NÁJERA D, PACHECO-TENA C (2016). Oxidative Stress Relevance in the Pathogenesis of the Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Biomed Res Int*, **2016**: 6097417.
- RAHE MC, MURTAUGH MP (2017). Interleukin-21 Drives Proliferation and Differentiation of Porcine Memory B Cells into Antibody Secreting Cells. *PLoS One*, **12**(1):e0171171.
- RAO V, KIRAN R (2011). Evaluation of correlation between oxidative stress and abnormal lipid profile in coronary artery disease. *J Cardiovasc Dis Res*, **2**(1):57-60.
- REDLICH K, HAYER S, MAIER A, DUNSTAN CR, TOHIDAST-AKRAD M, LANG S, TÜRK B, PIETSCHMANN P, WOLOSZCZUK W, HARALAMBOUS S, KOLLIAS G, STEINER G, SMOLEN JS, SCHETT G (2002). Tumor necrosis factor alpha-mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum*, **46**(3):785-92.
- REMANS PH, VAN OOSTERHOUT M, SMEETS TJ, SANDERS M, FREDERIKS WM, REEDQUIST KA, TAK PP, BREEDVELD FC, VAN LAAR JM (2005). Intracellular free radical production in synovial T lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **52**(7):2003-9.
- REYES-CASTILLO Z, MUÑOZ-VALLE JF, LLAMAS-COVARRUBIAS MA (2018). Clinical and immunological aspects of anti-peptidylarginine deiminase type 4 (anti-PAD4) autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*, **17**(2):94-102.
- RHEINHEIMER J, DE SOUZA BM, CARDOSO NS, BAUER AC, CRISPIM D (2017). Current role of the NLRP3 inflammasome on obesity and insulin resistance: A systematic review. *Metabolism*, **74**: 1-9.
- RIECK M, ARECHIGA A, ONENGUT-GUMUSCU S, GREENBAUM C, CONCANNON P, BUCKNER JH (2007). Genetic variation in PTPN22 corresponds to altered function of T and B lymphocytes. *J Immunol*, **179**(7): 4704-10.
- RICH RR, FLEISHER TA, SHEARER WT, SCHROEDER H, FREW AJ, WEYAND CM (2018). *Clinical Immunology*, 5th Ed, Elsevier.

- RIDKER PM, HOWARD CP, WALTER V, EVERETT B, LIBBY P, HENSEN J, THUREN T; CANTOS PILOT INVESTIGATIVE GROUP (2012). Effects of interleukin-1 β inhibition with canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen: a phase IIb randomized, placebo-controlled trial. *Circulation*, **4**;126(23):2739-48.
- ROONEY M, SYMONS JA, DUFF GW (1990). Interleukin 1 beta in synovial fluid is related to local disease activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, **10**(5):217-9.
- ROSENGREN S, HOFFMAN HM, BUGBEE W, BOYLE DL (2005). Expression and regulation of cryopyrin and related proteins in rheumatoid arthritis synovium. *Ann Rheum Dis*, **64**(5):708-14.
- RUBEN BS, CONNOLLY MK (2014). Skin Manifestations in Rheumatic Disease: Chapter 16: Nodules in Rheumatoid Arthritis, Springer, 133–138.
- RUDAN I, SIDHU S, PAPANA A, MENG SJ, XIN-WEI Y, WANG W, CAMPBELL-PAGE RM, DEMAIO AR, NAIR H, SRIDHAR D, THEODORATOU E, DOWMAN B, ADELOYE D, MAJEED A, CAR J, CAMPBELL H, WANG W, CHAN KY; GLOBAL HEALTH EPIDEMIOLOGY REFERENCE GROUP (GHERG) (2015). Prevalence of rheumatoid arthritis in low- and middle-income countries: A systematic review and analysis. *J Glob Health*, **5**(1):010409.
- RUSCITTI P, CIPRIANI P, DI BENEDETTO P, LIAKOULI V, BERARDICURTI O, CARUBBI F, CICCIA F, ALVARO S, TRIOLO G, GIACOMELLI R (2015). Monocytes from patients with rheumatoid arthritis and type 2 diabetes mellitus display an increased production of interleukin (IL)-1 β via the nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing family pyrin 3(NLRP3)-inflammasome activation: a possible implication for therapeutic decision in these patients. *Clin Exp Immunol*, **182**(1): 35-44.
- SACKS JJ, LUO YH, HELMICK CG (2010). Prevalence of specific types of arthritis and other rheumatic conditions in the ambulatory health care system in the United States, 2001-2005. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, **62**(4): 460-464.
- SANDOUGHI M, FAZAELI A, BARDESTANI G, HASHEMI M (2011). Frequency of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis patients in Zahedan, southeast Iran. *Ann Saudi Med*, **31**(2): 171–3.
- SCHER JU, LITTMAN DR, ABRAMSON SB (2016). Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol*, **68**(1): 35-45.
- SCHIEBER M, CHANDEL NS (2014). ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr Biol*, **24**(10): R453–R462.
- SCHIFF M (2000). Role of interleukin 1 and interleukin 1 receptor antagonist in the mediation of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. **59**(1): i103–i108.

- SEYLER TM, PARK YW, TAKEMURA S, BRAM RJ, KURTIN PJ, GORONZY JJ, WEYAND CM (2005). BLyS and APRIL in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*, **115**(11):3083-92.
- SHAO XT, FENG L, GU LJ, WU LJ, FENG TT, YANG YM, WU NP, YAO HP (2009). Expression of interleukin-18, IL-18BP, and IL-18R in serum, synovial fluid, and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Med*, **9**(3):215-21.
- SHAW PJ, MICHAEL F, MCDERMOTT MF, KANNEGANTI TD (2011). Inflammasomes and autoimmunity. *Trends Mol Med*, **17**(2): 57–64.
- SHEN HH, YANG YX, MENG X, LUO XY, LI XM, SHUAI ZW, YE DQ, PAN HF (2018). NLRP3: A promising therapeutic target for autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, **17**(7): 694-702.
- SHODA H, NAGAFUCHI Y, TSUCHIDA Y, SAKURAI K, SUMITOMO S, FUJIO K, YAMAMOTO K (2017). Increased serum concentrations of IL-1 beta, IL-21 and Th17 cells in overweight patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*, **19**(1): 111.
- SIERAKOWSKI S, CUTOLO M (2011). Morning symptoms in rheumatoid arthritis: a defining characteristic and marker of active disease. *Scand J Rheumatol Suppl*, **125**: 1-5.
- SILMAN AJ, HOCHBERG MC (2001). Epidemiology of the rheumatic diseases. 2nd Ed, Oxford: Oxford University Press.
- SILMAN AJ, MACGREGOR AJ, THOMSON W, HOLLIGAN S, CATHY D, FARHAN A, OLLIER WE (1993). Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *Br J Rheumatol*, **32**(10): 903-7.
- SILMAN AJ, PEARSON JE (2002). Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*, **4**(3), S265.
- SIMARD JF, EKBERG S, JOHANSSON AL, ASKLING J (2016). What is the impact of chronic systemic inflammation such as rheumatoid arthritis on mortality following cancer? *Ann Rheum Dis*, **75**(5): 862-6.
- SIMMONDS RE, FOXWELL BM (2008). Signalling, inflammation and arthritis: NF-kappaB and its relevance to arthritis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)*, **47**(5):584-90.
- SIMON LS (2000). DMARDs in the treatment of rheumatoid arthritis: current agents and future developments. *Int J Clin Pract*, **54**(4): 243-9.
- SIMOPOULOS AP (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*, **21**(6): 495-505.
- SINGH JA, SAAG KG, BRIDGES SL JR, AKL EA, BANNURU RR, SULLIVAN MC, VAYSBROT E, MCNAUGHTON C, OSANI M, SHMERLING RH, CURTIS JR, FURST DE, PARKS D,

- KAVANAUGH A, O'DELL J, KING C, LEONG A, MATTESON EL, SCHOUSBOE JT, DREVLOW B, GINSBERG S, GROBER J, ST CLAIR EW, TINDALL E, MILLER AS, MCALINDON T (2016). 2015 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol*, **68**(1):1-26.
- SMOLEN JS, ALETAHA D, BARTON A, BURMESTER GR, EMERY P, FIRESTEIN GS, KAVANAUGH A, MCINNES IB, SOLOMON DH, STRAND V, YAMAMOTO K (2018). Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primers*, **4**: 18001.
- SMOLEN JS, ALETAHA D, MCINNES IB (2016). Rheumatoid arthritis. *Lancet*, **388**(10055):2023-2038.
- SODE J, VOGEL U, BANK S, ANDERSEN PS, THOMSEN MK, HETLAND ML, LOCHT H, HEEGAARD NH, ANDERSEN V (2014). Anti-TNF treatment response in rheumatoid arthritis patients is associated with genetic variation in the NLRP3-inflammasome. *PLoS One*, **9**(6): e100361.
- SOKKA T, ABELSON B, PINCUS T (2008). Mortality in rheumatoid arthritis: 2008 update. *Clin Exp Rheumatol*, **26**(5): S35-61.
- SONG YW, KANG EH (2010). Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. *QJM*, **103**(3):139-46.
- SPIERINGS J, VAN EDEN W (2017). Heat shock proteins and their immunomodulatory role in inflammatory arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **56**(2): 198-208.
- STAHL EA, RAYCHAUDHURI S, REMMERS EF, XIE G, EYRE S, THOMSON BP, LI Y, KURREEMAN FA, ZHERNAKOVA A, HINKS A, GUIDUCCI C, CHEN R, ALFREDSSON L, AMOS CI, ARDLIE KG; BIRAC CONSORTIUM, BARTON A, BOWES J, BROUWER E, BURTT NP, CATANESE JJ, COBLYN J, COENEN MJ, COSTENBADER KH, CRISWELL LA, CRUSIUS JB, CUI J, DE BAKKER PI, DE JAGER PL, DING B, EMERY P, FLYNN E, HARRISON P, HOCKING LJ, HUIZINGA TW, KASTNER DL, KE X, LEE AT, LIU X, MARTIN P, MORGAN AW, PADYUKOV L, POSTHUMUS MD, RADSTAKE TR, REID DM, SEIELSTAD M, SELDIN MF, SHADICK NA, STEER S, TAK PP, THOMSON W, VAN DER HELM-VAN MIL AH, VAN DER HORST-BRUIJNSMA IE, VAN DER SCHOOT CE, VAN RIEL PL, WEINBLATT ME, WILSON AG, WOLBINK GJ, WORDSWORTH BP; YEAR CONSORTIUM, WIJMENGA C, KARLSON EW, TOES RE, DE VRIES N, BEGOVICH AB, WORTHINGTON J, SIMINOVITCH KA, GREGERSEN PK, KLARESKOG L, PLENKE RM (2010). Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet*, **42**(6): 508-14.
- STAMP LK, JAMES MJ, CLELAND LG (2005). Diet and rheumatoid arthritis: a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*, **35**(2):77-94.
- STARK K, ROVENSKÝ J, BLAZICKOVÁ S, GROSSE-WILDE H, FERENCIK S, HENGSTENBERG C, STRAUB RH (2009). Association of common polymorphisms in known susceptibility genes with rheumatoid arthritis in a Slovak population using osteoarthritis patients as controls. *Arthritis Res Ther*, **11**(3): R70.

- STARK AK, SRISKANTHARAJAH S, HESSEL EM, OKKENHAUG K (2015). PI3K inhibitors in inflammation, autoimmunity and cancer. *Curr Opin Pharmacol*, **23**:82-91.
- STOLT P, KÄLLBERG H, LUNDBERG I, SJÖGREN B, KLARESKOG L, ALFREDSSON L; EIRA STUDY GROUP (2005). Silica exposure is associated with increased risk of developing rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis*, **64**(4):582-6.
- STOREY GD (2001). Alfred Baring Garrod (1819–1907). *Rheumatology (Oxford)*, **40**(10): 1189-90.
- SUGIYAMA D, NISHIMURA K, TAMAKI K, TSUJI G, NAKAZAWA T, MORINOBU A, KUMAGAI S (2010). Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*, **69**(1):70-81.
- SYMMONS DP, JONES MA, SCOTT DL, PRIOR P (1998). Longterm mortality outcome in patients with rheumatoid arthritis: early presenters continue to do well. *J Rheumatol*, **25**(6): 1072-7.
- SYMMONS DPM (2005). Looking back: rheumatoid arthritis—aetiology, occurrence and mortality. *Rheumatology*, **44**(4): 14–17.
- ŞİMŞEK G, OĞUZTÜZÜN S, GÜREŞÇİ S, KILIÇ M, BOZKURT ÖF, ÜNSAL A (2012). The expression of GST isoenzymes in acinar adenocarcinoma, intraepithelial neoplasia, and benign prostate tissue: correlation of clinical parameters with GST isoenzymes. *Turk J Biol*, **36**:687-693.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, “Sağlık İstatistikleri Yıllığı-2011”. Erişim Adresi: [http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/siy_2011.pdf]. Erişim Tarihi: 29/11/2018.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, “Sağlık İstatistikleri Yıllığı-2013”. Erişim Adresi: [http://www.saglik.gov.tr/Eklenti/5112,saglik-istatistik-yilligi-2013pdf.pdf?0]. Erişim Tarihi: 29/11/2018.
- TAKEDA T, MIZUGAKI Y, MATSUBARA L, IMAI S, KOIKE T, TAKADA K (2000). Lytic Epstein-Barr virus infection in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **43**(6): 1218-25.
- TAYLOR PC (2000). Antibodies for Inflammatory Disease. In, George AT, Urch CE, eds. Diagnostic and Therapeutic Antibodies. Totowa, NJ: Humana Press.
- TEDESCHI SK, BATHON JM, GILES JT, LIN TC, YOSHIDA K, SOLOMON DH (2018). Relationship Between Fish Consumption and Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, **70**(3): 327-332.
- TILSTRA JS, LIENESCH DW (2015). Rheumatoid Nodules. *Dermatol Clin*, **33**(3): 361-71.

- TOO CL, MUHAMAD NA, ILAR A, PADYUKOV L, ALFREDSSON L, KLARESKOG L, MURAD S, BENGTTSSON C; MYEIRA STUDY GROUP (2016). Occupational exposure to textile dust increases the risk of rheumatoid arthritis: results from a Malaysian population-based case-control study. *Ann Rheum Dis*, **75**(6):997-1002.
- TURNER MD, NEDJAI B, HURST T, PENNINGTON DJ (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*, **1843**(11): 2563-2582.
- Türkiye İstatistik Kurumu, “İstatistiklerle Türkiye-Turkey in Statistics 2014”. Erişim Adresi: [www.turkstat.gov.tr/IcerikGetir.do?istab_id=5]. Erişim Tarihi: 18/11/2018.
- UÇAR F, KARKUCAK M, ALEMDAROĞLU E, CAPKIN E, YÜCEL B, SÖNMEZ M, TOSUN M, KARACA A (2012). HLA-DRB1 allele distribution and its relation to rheumatoid arthritis in eastern Black Sea Turkish population. *Rheumatol Int*, **32**(4): 1003-7.
- UHLIG T, HAGEN KB, KVIEN TK (1999). Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, **26**(1):47-54.
- VALESINI G, GERARDI MC, IANNUCELLI C, PACUCCI VA, PENDOLINO M, SHOENFELD Y (2015). Citrullination and autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, **14**(6): 490-497.
- VAN DER WOUDE D, LIE BA, LUNDSTRÖM E, BALS A, FEITSMA AL, HOUWING-DUISTERMAAT JJ, VERDUIJN W, NORDANG GB, ALFREDSSON L, KLARESKOG L, PASCUAL-SALCEDO D, GONZALEZ-GAY MA, LOPEZ-NEVOT MA, VALERO F, ROEP BO, HUIZINGA TW, KVIEN TK, MARTÍN J, PADYUKOV L, DE VRIES RR, TOES REB (2010). Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: a meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations. *Arthritis Rheum*, **62**(5): 1236-45.
- VAN DE WALLE L, VAN OPDENBOSCH N, JACQUES P, FOSSOUL A, VERHEUGEN E, VOGEL P, BEYAERT R, ELEWAUT D, KANNEGANTI TD, VAN LOO G, LAMKANFI M (2014). Negative regulation of the NLRP3 inflammasome by A20 protects against arthritis. *Nature*, **512**(7512): 69-73.
- VARGA Z, SABZWARI SRA, VARGOVA V (2017). Cardiovascular Risk of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: An Under-Recognized Public Health Issue. *Cureus*, **9**(4): e1144.
- VASANTHI P, NALINI G, RAJASEKHAR G (2007). Role of tumor necrosis factor-alpha in rheumatoid arthritis: a review. *APLAR Journal of Rheumatology*, **10**(4), 270-274.
- VILCEK J (2003). The cytokines: an overview. In: Thompson AW, Lotze M, editors. The cytokine handbook. San Diego, CA: Academic Press; p. 3–18.

- VOLIN MV, KOCH AE (2011). Interleukin-18: a mediator of inflammation and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *J Interferon Cytokine Res*, **31**(10):745-51.
- VOSKUYL AE (2006). The heart and cardiovascular manifestations in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **45**(4):4-7.
- WANG T, ZHU CL, WANG S, MO LW, YANG GD, HU J, ZHANG F (2014). Role of NLRP3 and NLRP1 inflammasomes signaling pathways in pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Asian Pac J Trop Med*, **7**(10): 827-31.
- WARTOLOWSKA K, HOUGH MG, JENKINSON M, ANDERSSON J, WORDSWORTH BP, TRACEY I (2012). Structural changes of the brain in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, **64**(2):371-9.
- WEI XQ, LEUNG BP, ARTHUR HM, MCINNES IB, LIEW FY (2001). Reduced incidence and severity of collagen-induced arthritis in mice lacking IL-18. *The Journal of Immunology*, **166**(1), 517-521.
- WHITAKER JW, SHOEMAKER R, BOYLE DL, HILLMAN J, ANDERSON D, WANG W, FIRESTEIN GS (2013). An imprinted rheumatoid arthritis methylome signature reflects pathogenic phenotype. *Genome Med*, **5**(4): 40.
- WONGRAKPANICH S, WONGRAKPANICH A, MELHADO K, RANGASWAMI J (2018). A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging Dis*, **9**(1): 143-150.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Chronic diseases and health promotion/Chronic rheumatic conditions. Erişim Adresi: [<http://www.who.int/chp/topics/rheumatic/en/>]. Erişim Tarihi: 29/11/2018.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Quantifying environmental health impacts: Country profiles of environmental burden of disease by WHO regions. 2013. Erişim Adresi: [https://www.who.int/quantifying_ehimpacts/national/countryprofile/regions/en/]. Erişim Tarihi: 13/12/2018.
- WU X, HAKIMI M, WORTMANN M, ZHANG J, BÖCKLER D, DIHLMANN S (2015). Gene expression of inflammasome components in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of vascular patients increases with age. *Immun Ageing*, **12**:15.
- WU X, ZHANG H, QI W, ZHANG Y, LI J, LI Z, LIN Y, BAI X, LIU X, CHEN X, YANG H, XU C, ZHANG Y, YANG B (2018). Nicotine promotes atherosclerosis via ROS-NLRP3-mediated endothelial cell pyroptosis. *Cell Death Dis*, **7**;9(2):171.
- XU S, WANG Y, LU J, XU J (2012). Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of rheumatoid arthritis-induced osteoporosis. *Rheumatol Int*, **32**(11):3397-403.

- YANG CA, HUANG ST, CHIANG BL (2015). Sex-dependent differential activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes in SLE macrophages. *Rheumatology (Oxford)*, **54**(2):324-31.
- YANG Z, CAO J, YU C, YANG Q, ZHANG Y, HAN L (2016). Caspase-1 mediated interleukin-18 activation in neutrophils promotes the activity of rheumatoid arthritis in a NLRP3 inflammasome independent manner. *Joint Bone Spine*, **83**(3): 282-9.
- YE P, WANG X, GE S, CHEN W, WANG W, HAN X (2019). Long-term cigarette smoking suppresses NLRP3 inflammasome activation in oral mucosal epithelium and attenuates host defense against *Candida albicans* in a rat model. *Biomed Pharmacother*, **113**:108597.
- YOSHIDA Y, TANAKA T (2014). Interleukin 6 and rheumatoid arthritis. *Biomed Res Int*, **2014**:698313.
- YOUM YH, GRANT RW, MCCABE LR, ALBARADO DC, NGUYEN KY, RAVUSSIN A, PISTELL P, NEWMAN S, CARTER R, LAQUE A, MÜNZBERG H, ROSEN CJ, INGRAM DK, SALBAUM JM, DIXIT VD (2013). Canonical Nlrp3 inflammasome links systemic low-grade inflammation to functional decline in aging. *Cell Metab*, **18**(4):519-32.
- YOUNG-SU YI (2018). Role of inflammasomes in inflammatory autoimmune rheumatic diseases. *Korean J Physiol Pharmacol*, **22**(1): 1–15.
- ZAMORA-LEGOFF JA, KRAUSE ML, CROWSON CS, RYU JH, MATTESON EL (2017). Patterns of interstitial lung disease and mortality in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, **56**(3): 344-350.
- ZEGKOS T, KITAS G, DIMITROULAS T (2016). Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: assessment, management and next steps. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, **8**(3): 86–101.
- ZEIDEL A, BEILIN B, YARDENI I, MAYBURD E, SMIRNOV G, BESSLER H (2002). Immune response in asymptomatic smokers. *Acta Anaesthesiol Scand*, **46**:959–964.
- ZHANG Y, ZHENG Y (2016). Effects and mechanisms of potent caspase-1 inhibitor VX765 treatment on collagen-induced arthritis in mice. *Clin Exp Rheumatol*, **34**(1):111-8.
- ZHANG Y, ZHENG Y, LI H (2016). NLRP3 inflammasome plays an important role in the pathogenesis of collagen-induced arthritis. *Mediators of inflammation*, **2016**: 1-10.
- ZHU Z, WANG D, JIAO W, CHEN G, CAO Y, ZHANG Q, WANG J (2017). Bioinformatics analyses of pathways and gene predictions in IL-1 α and IL-1 β knockout mice with spinal cord injury. *Acta Histochem*, **119**(7):663-670.
- ZLATANOVIĆ G, VESELINOVIĆ D, CEKIĆ S, ŽIVKOVIĆ M, ĐORĐEVIĆ-JOCIĆ J, ZLATANOVIĆ M (2010). Ocular manifestation of rheumatoid arthritis-different forms and frequency. *Bosn J Basic Med Sci*, **10**(4): 323–327.

ZULMA X, YUNT MD, JOSHUA J. SOLOMON MD (2015). Lung Disease in Rheumatoid Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, **41**(2): 225–236.

2010 ACR/EULAR Classification Criteria for Rheumatoid Arthritis. Erişim Adresi: [https://www.eular.org/myUploadData/files/RA%20Class%20Slides%20ACR_Web.pdf]. Erişim Tarihi: 18/11/2018.



EKLER

Ek.1. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU				
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Naif ve aktif dönemdeki romatoid artrit hastalarında oksidatif stres ve inflamasyon parametrelerinin incelenmesi		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA		
	TELEFON	0312 595 82 27		
	FAKS	0312 310 63 70		
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Tülay ÇOBAN		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Toksikoloji		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı		
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
FAZ 4		☐		
Gözlemsel ilaç çalışması		☐		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐		
İlaç dışı klinik araştırma	☐			
Diğer ise belirtiniz: Deneyisel Araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Naif ve aktif dönemdeki romatoid artrit hastalarında oksidatif stres ve inflamasyon parametrelerinin incelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Version Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖMÜLLÜ OLME FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU KAPAK FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA ERGİSİZİ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BİTÇESİ	☐		
	ULYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	ELAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SUNUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:13 605 16	Tarih: 15 Temmuz 2016		
	Yukarıdaki bilgileri verilen başvuru dosyasındaki ilgili belgeler araştırmanın yapılmasını gerektiren, emniyet, yekün ve yöntemden dolayı olumsuz sonuçlanmayacağı ve uygun bulunmuş olup araştırmanın yapılmasını uygun bulduğuna dair karar verilmiştir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BASKANIN UNVANI/ ADI/ SOYADI:	Prof.Dr. Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Ünvanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlgili	Katılım *	İmza
Prof.Dr. Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	☒ E ☐ K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	☒ E ☐ K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. Sevil ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	☒ E ☐ K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. Sevil DEMİREL	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof.Dr. Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof.Dr. İnci ULHAZ	Ruh Sağlığı ve Psikiyatri	A.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof.Dr. Serap SIVRİ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof.Dr. Zülfi ŞENOCAK	İdrar	A.Ü. Hekim Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof.Dr. Buse ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Doç.Dr. Sibel YAĞCIOĞLU	İç Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	☒ E ☐ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Doç.Dr. Derya ÖZTUNA	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Doç.Dr. Sait Köpek TOPRAK	İmmünoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	☒ E ☐ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Yrd.Doç.Dr. Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Uz.Dr. Özde İLGİLİ	Tıp Tarihi ve Etik	A.Ü. Tıp Fakültesi	☒ E ☐ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Mihriban SUTAY	İç Hastalıkları	-	☐ E ☒ K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	

* Toplantıda Durum

Etik Kurul Başkanı

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet MELLİ

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfayı imza almıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I- BİREYSEL BİLGİLER

Adı: Sezen

Soyadı: YILMAZ-SARIALTIN

Doğum yeri ve tarihi: İstanbul-1987

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Tandoğan/ANKARA - 0 312 203 31 21

II- EĞİTİMİ (tarih sırasına göre yeniden-eskiye doğru)

Anadolu Üniversitesi/AÖF/Hukuk Bölümü/Adalet Pr./ 2017-Devam ediyor

Ankara Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmasötik Toksikoloji/Doktora/ 2014-Devam ediyor

Ankara Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmasötik Toksikoloji/ Tezli Yüksek Lisans/ 2010-2014

Anadolu Üniversitesi /AÖF/Dış Ticaret Bölümü/Dış Ticaret Pr./ 2008-2010

Ankara Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi/ 2005-2010

Yabancı Dili: İngilizce (YÖK DİL: 95, IELTSs: 7.5)

III- ÜNVANLARI (tarih sırasına göre eskiden-yeniye doğru)

Eczacı- 2010

Uzman Eczacı-2014

IV- MESLEKİ DENEYİMİ

Ankara Özel Güven Hastanesi-Eczacı

Eczane Sezen Yılmaz-Eczacı

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Araştırma Görevlisi

V- ÜYE OLDUĞU KURULUŞLAR

Türk Toksikoloji Derneği

Türk Eczacıları Birliği

Ankara Eczacı Odası

VI- BİLİMSEL İLGİ ALANLARI

BİLDİRİLER

Sözlü Bildiriler

1. EVRANOS AKSÖZ B, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T (2018). 4,5-Dihidro-1H-pirazol ve Hidrazon Türevi Bazı Bilesiklerin Antienflamatuvar Etkilerinin İncelenmesi. 2. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

2. ÖZBAY Ö, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T, KÖROĞLU A (2018). *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of some *Viola L.* species in Turkey. XV FISV CONGRESS 2018 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

3. ALTUNTAS DINLENÇ T, BAYDAR A, ACAR C, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T (2018). Preparation and antioxidant activity of heterocyclic indole derivatives. ICDDMCCP 2018:20th International Conference on Drug Design, Medicinal Chemistry and Clinical Pharmacy (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

4. YAZGAN AN, YILMAZ SARIALTIN S, CAN AGCA A, ÇOBAN T, SALTAN HG, SEVER YILMAZ B (2018). Determination of Anti-inflammatory and Antidiabetic Activities Of 14 Ballota Taxa Growing in Turkey. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum).

5. ALTUNTAS DINLENÇ T, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T (2018). Antiinflammatory Activity of Indole Derivatives Containing 4-Substituted Piperazine Moieties. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

6. ÇİÇEK POLAT D, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T, COSKUN M (2016). Antiinflammatory activity antioxidant activity phenol and flavonoid contents of Epimedium species growing in Turkey. XXth International Congress "Phytopharm 2016"and courses "GxP in biomedical research" (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

7. YILMAZ SARIALTIN S, ÇİÇEK POLAT D, COSKUN M, ÇOBAN T (2016). Comparison of Anti inflammatory and Antioxidant Potential of Various Flour Types. XXth International Congress "Phytopharm 2016"and courses "GxP in biomedical research" (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

8. YILMAZ S, ÇOBAN T (2016). Glifosatların Kanser Olusumundaki Rolü. 1st International Urban, Environment, Health Congress (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum).

Poster Bildiriler

1. SIMSEK G, KAYGIN P, YILMAZ SARIALTIN S, OGUZTÜZÜN S, ÇOBAN T (2018). Cytochrome P450s and GST pi isoenzymes expressions in bladder cancer. 7. Multidisipliner Kanser Araştırma ve 1. Temel Onkoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı (Özet Bildiri/Poster).

2. KAYGIN P, ERDEM A, SIMSEK G, **YILMAZ SARIALTIN S**, OGUZTÜZÜN S, ÇOBAN T (2018). Expressions of GSTP1, GSTM1 and p53 in human malignant, benign and metastasis ovarian tumor tissues. 7. Multidisipliner Kanser Arastırma ve 1. Temel Onkoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster).
3. EVRANOS AKSÖZ B, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T (2018). Pirazolin Türevi Bazı Bilesiklerin Membran Stabilize Edici Etkilerinin Araştırılması. 2. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi (Özet Bildiri/Poster).
4. EVRANOS AKSÖZ B, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T (2018). 2-Pirazolin Yapısındaki Bazı Bilesiklerin Antienflamatuvar Etkilerinin İncelenmesi. 2. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi (Özet Bildiri/Poster).
5. SEVER YILMAZ B, CAN AGCA A, **YILMAZ SARIALTIN S**, YAZGAN AN, SALTAN HAYRIYE G, ÇOBAN T (2018). In Vitro Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antidiabetic Activity Of An Endemic Plant In Turkey-Named *Aethionema dumanii*. XXVII Silae Congress, Milazzo 9-13th September, Sicilya (Özet Bildiri/Poster).
6. ÇİÇEK POLAT D, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T, COSKUN M (2018). Antioxidant Potential and Anti-inflammatory Activity of Olive Leaf (*Olea Europae* L.). 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
7. ALTUNTAS DINLENÇ T, BAYDAR A, **YILMAZ SARIALTIN S**, ÇOBAN T (2018). In vitro anti-inflammatory activity of novel 5-fluoro and 5-methoxy indole-piperazine derivatives. International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
8. ÖZBAY Ö, **YILMAZ SARIALTIN S**, KÖROĞLU A, ÇOBAN T (2018). Preliminary Screening of Methanol Extracts of *Viola* sp. for Anti-tyrosinase Activity. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).

- 9. KARACAOGLU M, YILMAZ SARIALTIN S, SALTAN HG, ÇOBAN T (2018).** Comparison of Different Extraction Techniques with Regard to the Anti-Inflammatory Activity of *Asparagus officinalis*. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 10. EVRANOS AKSÖZ B, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T (2018).** Investigations on Synthesis and Antioxidant Activity of Some Pyrazoline Derivatives. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 11. CUMHUR B, YILMAZ SARIALTIN S, GÜMÜSOK S, ÇOBAN T, KILIÇ CS (2018).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of the Fruits, Stems and Leaves of *Sambucus ebulus* L. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 12. ÇİÇEK POLAT D, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T, COSKUN M (2018).** Determination of Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Walnut Leaves (*Juglans regia* L.). 12th International Symposium on Pharmaceuticals Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 13. EVRANOS AKSÖZ B, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T (2018).** Determination of Free Radical Scavenging Capacity of 4,5-Dihydro-1h-Pyrazole and Hydrazone Derivatives. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 14. GÜMÜSOK S, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T, KILIÇ CS (2018).** Determination of Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Opopanax hispidus. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 15. EVRANOS AKSÖZ B, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T (2018).** Synthesis and Antioxidant Activity of Some Pyrazoline Derivatives. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).

- 16. YILMAZ SARIALTIN S, ÇİÇEK POLAT D, COSKUN M, ÇOBAN T (2018).** Plants Used in the Treatment of Cellulite. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Poster).
- 17. ERIK I, YILMAZ SARIALTIN S, YALÇIN CÖ (2017).** Main toxic compounds of palm oil. International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development (Özet Bildiri/Poster).
- 18. KURTUL E, YILMAZ SARIALTIN S, TEKIN M, BAHADIR ACIKARA Ö, ÇOBAN T (2017).** Anti-inflammatory activity of *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm., *Alchemilla persica* Rothm. and their constituents ellagic acid and quercetin-3-glucuronide. 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (Özet Bildiri/Poster).
- 19. ÇİÇEK POLAT D, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T, COSKUN M (2017).** Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activities and Total Phenolic Content of *Prunus Spinosa* L. Growing in Turkey. 2. International Gazi Symposium Series (Özet Bildiri/Poster).
- 20. OKUR ME, ÇİÇEK POLAT D, YILMAZ SARIALTIN S, ÖZBEK H, ARSLAN R (2017).** Anti-Inflammatory Activities, Phenolic and Flavonoid Contents of Aqueous, Ethanol and Methanol Extracts of *Capparis Ovata* Var. *Palaestina*. 2. International Gazi symposium Series (Özet Bildiri/Poster).
- 21. SALTAN HG, YILMAZ SARIALTIN S, YAZGAN AN, SEVER YILMAZ B, CAN AGCA A, ÇOBAN T (2017).** The antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic activities *Sternbergia lutea* ssp. *lutea* and *Sternbergia lutea* ssp. *sicula*. 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) (Özet Bildiri/Poster).
- 22. HÜRKUL MM, YILMAZ SARIALTIN S, SOYAL BS, ÇOBAN T, KÖROĞLU A (2017).** *Melampyrum arvense* L. var. *elatius*'un Antioksidan Kapasitesi ve Anti-

tirozinaz Etkisinin Araştırılması. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

23. OKUR ME, ÇİÇEK POLAT D, YILMAZ SARIALTIN S, YOLTAS A, ÖZBEK H, ARSLAN R (2017). Investigation of antimicrobial and antioxidant activity of *Capparis ovata* var. *palaestina*. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

24. PERK BÖ, YILMAZ SARIALTIN S (2017). Asbest Maruziyetinin İnsan Sağlığına Etkisi. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

25. YILMAZ SARIALTIN S, SARIALTIN F (2017). Electromagnetic Radiation and the Carcinogenic Potential. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

26. ÇİÇEK POLAT D, YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T, COSKUN M (2017). Antiinflammatory Activity and Quantitative Determination of Rutin in *Prunus spinosa* L. Grown in Turkey. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

27. YILMAZ SARIALTIN S, HÜRKUL MM, SOYAL BS, KÖROĞLU A, ÇOBAN T (2017). Anti-inflammatory and Radical Scavenging Capacity of *Melampyrum arvense* var. *elatius* Boiss. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

28. YILMAZ SARIALTIN S, PERK BASAK Ö (2017). Applications, Allergenic and Carcinogenic Potential of p-phenylenediamine. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

29. YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T (2017). Palm Oil As a Global Health Concern. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

30. ÇOBAN T, YILMAZ SARIALTIN S (2017). Çevresel Kirleticiler ve Bağırsak Mikrobiyotası. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies (Özet Bildiri/Poster).

31. PERK BÖ, YILMAZ SARIALTIN S (2016). Potential Risks of Electronic Nicotine Delivery Systems: Electronic Cigarettes. 2nd International Congress of Forensic Toxicology (Özet Bildiri/Poster).

32. YILMAZ SARIALTIN S, PERK BÖ (2016). The Benefits and Potential Risks of Mercury in Dental Amalgam. 2nd International Congress of Forensic Toxicology (Özet Bildiri/Poster).

33. SALTAN HG, YILMAZ S, ÇOKSARI G, BAHADIR ACIKARA Ö, ARTIK N, ÇOBAN T (2016). Antioxidant Potential of *Momordica charantia*. The Society of Toxicology 55th Annual Meeting and ToxExpo (Özet Bildiri/Poster).

34. YILMAZ S, ÇOKSARI G, BAHADIR ACIKARA Ö, ARTIK N, SALTAN HG, ÇOBAN T (2015). In vitro Anti-inflammatory Activities of Fruit and Seed Extracts of *Momordica charantia* L by HRBC Membrane Stabilization Method. 9th Congress of the Turkish Society of Toxicology with the participation of the Hellenic Society of Toxicology . (Özet Bildiri/Poster).

35. YILMAZ S, ÇOKSARI G, BAHADIR ACIKARA Ö, ARTIK N, SALTAN HG, ÇOBAN T (2015). A Comparative Study on Antioxidant Potentials of The Various Solvent Extracts From Different Parts of *Momordica charantia*. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster).

36. YILMAZ S, DEMIRBÜĞEN M, YALÇIN CÖ (2014). Toxicology Pharmacology Detection and Legal Status of Synthetic Cannabinoids. 1st International Congress and workshop of Forensic Toxicology, (Özet Bildiri/Poster).

37. YILMAZ S, ÜSTÜNDAG A, ÜLKER Ö, DUYDU Y (2014). Investigation of Antioxidant Activity of Boric Acid in V79 Cell Cultures. 50th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) (Özet Bildiri/Poster).

38. YILMAZ S, ÜSTÜNDAG A, ÜLKER Ö, DUYDU Y (2014). Borik Asitin Oksidatif DNA Hasarı Üzerindeki Koruyucu Etkisinin Hücre Kültüründe Araştırılması. Türk Toksikoloji Derneği III. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu (Özet Bildiri/Poster).

KİTAPLAR

1. Casarett and Doull's Toksikolojinin Temelleri, Bölüm adı: Çevresel Toksikoloji-Nanotoksikoloji (2017). Nobel Tıp Kitabevi, Editör: SİNAN SÜZEN, BULUT DEMİREL, AHMET OGUZ ADA, GONCA ÇAKMAK DEMİRCİGİL, ONUR ERDEM, PINAR ERKEKOGLU, Türkçe (Kitap Tercümesi).

YAYINLAR

1. YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T (2018) An Overview on the Role of Macular Xanthophylls in Ocular Diseases. *Records of Natural Products*, **12**(2), 107-120.

2. SALTAN HG, YILMAZ SARIALTIN S, YAZGAN A, SEVER YILMAZ B, CAN AĞCA A, ÇOBAN T (2017). The antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic activities of *Sternbergia lutea* ssp. *lutea* and *Sternbergia lutea* ssp. *Sicula*. *Toxicology Letters*, **280** (1): S89. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.07.246

3. **YILMAZ SARIALTIN S, ÇOBAN T** (2017). Glifosat ve Glifosat Bazlı Herbisit Kullanımının İnsan Sağlığı Açısından Riskleri-Human Health Risks of the Use of Glyphosate and Glyphosate-Based Herbicides. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci*, **6**(1):1-14.
4. **YILMAZ S, ÜSTÜNDAĞ A, ÜLKER Ö, DUYDU Y** (2016). Protective Effect of Boric Acid on Oxidative DNA Damage In Chinese Hamster Lung Fibroblast V79 Cell Lines. *Cell Journal*, **17**(4), 748-754.
5. **SALTAN HG, YILMAZ S, ÇOKSARI G, BAHADIR ACIKARA Ö, ARTIK N, ÇOBAN T** (2016). Antioxidant Potential of Momordica charantia. *The Toxicologist*. **150**(1): 113.
6. **HAJAR H, SALTAN HG, BAHADIR ACIKARA Ö, YILMAZ S, ÇOBAN T, TEKİN M** (2015). Antioxidant Activity of Five Lathyrus L Species Growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **12**(3), 369-376.
7. **YILMAZ S, ÜSTÜNDAĞ A, ÜLKER Ö, DUYDU Y** (2014). Investigation of Antioxidant Activity of Boric Acid in V79 Cell Cultures. *Toxicology Letters*. 229:S128. doi. 10.1016/j.toxlet.2014.06.458

PROJELER

1. Naif ve Aktif (Alevli) Dönemdeki Romatoid Artrit Hastalarında Oksidatif Stres ve İnflamasyon Parametrelerinin İncelenmesi, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, (Araştırmacı). Proje No: 17L0237005. Tarih: 04/04/2017 (Devam Ediyor).

VII- DİĞER BİLGİLER

KURSLAR VE SERTİFİKALAR

1. ISO 9001:2015 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi. Ankara, Kurs, 08.12.2018-09.12.2018 (Uluslararası)
2. ISO 13485:2016 Tıbbi Cihazlar İçin Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi. Ankara, Kurs, 08.12.2018-09.12.2018 (Uluslararası)
3. ISO 45001:2018 İş Sağlığı Ve Güvenliği Yönetim Sistemi Temel Eğitimi. Ankara, Kurs, 08.12.2018-09.12.2018 (Uluslararası)
4. İyi Laboratuvar Uygulamaları. Ankara, Kurs, 08.12.2018-09.12.2018 (Uluslararası)
5. İyi Üretim Uygulamaları Eğitimi. Ankara, Kurs, 08.12.2018-09.12.2018 (Uluslararası)
6. ISO 45001:2018 Occupational Health Safety Management System Basic Training. Ankara, Sertifika (Uluslararası)
7. ISO 13485:2016 Medical Devices Quality Management System Basic Training. Ankara, Sertifika (Uluslararası)
8. ISO 9001:2015 Quality Management System Basic Training. Ankara, Sertifika, 2018 (Uluslararası)
9. GMP-GOOD Manufacturing Practices Training. Ankara, Sertifika, 2018 (Uluslararası)
10. GLP-Good Laboratory Practices Training. Ankara, Sertifika, 2018 (Uluslararası)
11. Ankara Üniversitesi'nde Çevre Yönetimi ve Sıfır Atık Uygulamaları Eğitim Programı. Ankara Üniversitesi, Kurs, 08.11.2018-08.11.2018 (Ulusal)
12. Ulusal ve Uluslararası Proje Hazırlama Eğitim Programı. Ankara Üniversitesi, Kurs, 28.05.2018-28.05.2018 (Ulusal)

- 13.** Araştırma Görevlileri İçin Araştırma Yöntemleri Eğitim Programı (Sağlık Bilimleri Alanı). Ankara Üniversitesi, Kurs, 09.04.2018-27.04.2018 (Ulusal)
- 14.** Mobbing ve Cinsel Tacizle Mücadele Eğitim Programı. Ankara Üniversitesi, Kurs, 16.03.2018-16.03.2018 (Ulusal)
- 15.** Temel Bilirkişilik Eğitimi. Ankara Barosu, Kurs, 04.12.2017-08.12.2017 (Ulusal)
- 16.** Nicel ve Nitel Analiz Yöntemleri Eğitim Programı (SPSS, Nvivo). Ankara Üniversitesi, Kurs, 13.02.2017 - 17.02.2017 (Ulusal)
- 17.** İş Sağlığı ve İş Güvenliği Eğitim Programı. Ankara Üniversitesi, Kurs, 13.11.2015 -13.11.2015 (Ulusal)
- 18.** Araştırma Görevlileri için Eğiticilerin Eğitimi. Ankara Üniversitesi, Kurs, 24.11.2014 -25.12.2014 (Ulusal)
- 19.** Kimyasalların Neden Olduğu Hastalıkların Gelişimi ve Tedavisinde Genetik Farklılıkların Önemi ve Analizi. Ege Üniversitesi, Kurs, 12.06.2014 -12.06.2014 (Ulusal)
- 20.** Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası/Certificate of Animal Use in Experimental Research. Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu. 16.09.2013 - 25.09.2013 (80 saat) (Ulusal)
- 21.** EC Brighton English Language School. Brighton/Birleşik Krallık, 2012-2013 (Uluslararası)
- 22.** Temel Oryantasyon ve Sağlıklı İletişim Becerileri Eğitimi, Ankara Güven Hastanesi, 2010 (Ulusal)
- 23.** Temel Yaşam Desteği Eğitimi, Ankara Güven Hastanesi, 2010 (Ulusal)
- 24.** Web Tasarım (Html, Photoshop, Swish, Dreamweaver), Milli Eğitim Bakanlığı, 27.10.2007-23.02.2008 (160 saat) (Ulusal)
- 25.** Diksiyon, Milli Eğitim Bakanlığı, 13.02.2007-08.05.2007 (100 saat) (Ulusal)