

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid artrit, sistemik, kronik, ilerleyici otoimmün bir hastalıktır. Hastalığın temel klinik bulgusu periferik küçük eklemleri tutan simetrik, destrüktif poliartritir. Eklem dışı bulgular da görülebilir. Sinovyal eklemlerde şekil bozukluklarına, fonksiyon kaybına ve uzun dönemli morbidite ve mortaliteye neden olur (1,2). Enfeksiyonlar, gastrointestinal kanamalar, kronik enfeksiyona bağlı hızlanmış ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili mortalitede artış gözlenir (3).

Romatoid artrit, dünyada en sık görülen inflamatuvar artritir. Prevalansı değişik toplumlarda farklılıklar göstermekle birlikte yaklaşık % 0,5-1 arasındadır. Kadınlarda erkeklere oranla 2-4 kat daha fazla görülür. Bir yaşından itibaren ileri yaşlara kadar her yaşta ortaya çıkabilir ama genellikle 40-50 yaşlar arasında başlangıç gösterir (3,4).

Romatoid artrit etyolojisi ve patogenezi tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Ancak genetik, enfeksiyöz etkenler, hormonlar ve çevresel bir takım faktörlerin rol oynadığı kabul edilmektedir. Bu konuda “Genetik risk taşıyan hastalarda, bilinmeyen bir patojen ya da antijen sonucu immün yanıtın tetiklenmesi ile hastalığın oluşumu” geçerliliğini koruyan en önemli hipotezdir (5).

Romatoid artrit patogenezinde bir çok enfeksiyon etkeninin rolü olduğu düşünülmüştür. Suçlanan etkenlerin artrit oluşum mekanizmasındaki rolü ile ilgili değişik teoriler öne sürülmektedir. Enfeksiyon etkenlerinin romatoid artrit patogenezindeki yerini açıklamaya yönelik yapılan birçok çalışmaya rağmen henüz kesin sonuç alınamamıştır.

Romatoid artrit, hem hasta bireyler hem de genel anlamda toplum için önemli sosyal ve ekonomik etkilere sahiptir. Getirdiği yük göz önüne alındığında romatoid artrit etyopatogenezini araştırmaya yönelik yeni araştırmaların gerekliliği anlaşılmaktadır. Bu amaçla planlanan çalışmamızda romatoid artrit etyopatogenezinde etken olabileceği düşünülen enfeksiyöz ajanlardan Parvovirus B19, Epstein-Barr virus (EBV), Herpes Simplex virus (HSV) ve *Chlamydia trachomatis*' in romatoid artrit etyolojisindeki yerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmamızda, romatoid artrit tanısı konmuş hastaların serumlarında Parvovirus B19, EBV, HSV, *Chlamydia trachomatis* seropozitifliğini Enzyme-linked

immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile, Parvovirus B19, EBV, HSV, *Chlamydia trachomatis* (*C.trachomatis*) genom varlığını ve yükünü kantitatif Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) yöntemi ile araştırdık. Bu sonuçları sistemik lupus eritamotozus hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırarak Parvovirus B19, EBV, HSV, *Chlamydia trachomatis*'in romatoid artrit etyopatogenezindeki rolünü değerlendirmeyi hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Romatoid Artrit

Romatoid artrit nedeni tam olarak bilinmeyen, ilerleyici, inflamatuvar bir hastalıktır. Periferik küçük eklemleri tutan simetrik, yıkıcı poliartrit en önemli klinik bulgusudur. Hastalığın eklem dışı sistemik bulguları da görülebilir (2).

2.1.1. Tarihçe

Romatoid artrit (RA) teriminin ilk ne zaman kullanıldığı kesin değildir. Mississippi bölgesinde 6500 sene öncesine ait iskelet kalıntılarında RA ile uyumlu kemik bulgularına rastlanmıştır. Bazı araştırmacılar M.Ö. 5. yüzyılda Hipokrat'ın, M.Ö. 2. yüzyılda Soranus'un yazılarında hastalığı tanımladıklarını ileri sürmektedirler. Storey ve arkadaşlarının simetrik inflamatuvar artrit bulgularına sahip olgularla ilgili hastane kayıtlarına dayanarak hazırladıkları bir çalışmaları vardır. İngiliz genetikçi Sir Alfred Garrod 1876'da ilk kez romatoid artrit terimini kullanmıştır (6,7).

2.1.2. Epidemiyoloji

RA ile ilgili yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda olgu tanımlaması yapılırken; ilk olarak 1958 yılında belirlenen, 1994 yılında eski ve inaktif hastaları da kapsayacak şekilde modifiye edilen Amerikan Romatizma Cemiyeti; American Rheumatism Association (ARA) veya yeni tanımlaması ile American College of Rheumatology (ACR) kriterleri kullanılmaktadır (8).

Bir toplumdaki RA insidansı; belli bir zaman dilimi içerisinde karşılaşılan yeni hasta sayısını gösterir. Erken dönemde hastalığın tanısı oldukça zordur. RA gibi düşük sıklıkta rastlanan bir hastalığın insidansını araştırmak için belli sürede ve çok fazla sayıda hastayı izlemek gerekmektedir. Bu nedenle RA insidansını araştıran çalışmalar, daha çok belli bir dönemde sağlık kuruluşuna başvuran hastaların kayıtlarına dayanan çalışmalardır (2,4).

Özellikle Kuzey Amerika' da RA insidansı yüksek bulunmuştur. Avrupa ülkelerinde kuzeyden güneye doğru insidansda azalma olduğu gözlenmiştir. Kadınlarda ve yaşlılarda daha sık görülmektedir. Özellikle kadınlarda son birkaç dekatta RA insidansında düşme gözlenmektedir (10-13). Finlandiya'da yapılan bir çalışmada romatoid faktör negatif RA hastalarında belirgin azalma olduğu

gösterilmiştir (9). İngiltere’de yapılan bir çalışmada ise erkeklerde RA insidansı yaşla birlikte artarken, kadınlarda daha erken pik yaptığı, yaklaşık 45 yaşa kadar yükselip 75 yaş civarında plato çizdikten sonra azaldığı bildirilmiştir (12).

Çalışmalarda göze çarpan önemli bir bulgu; başlangıç yaşının her iki cinstede yükselmeye başlaması, RA şiddet ve insidansında ise düşüşün olmasıdır (9-12). Bunun nedeni; yeni tedavilerin uygulanması ya da “doğum yılı kohort etkisi” ile açıklanabilir. Bu hipoteze göre belli bir zaman diliminde doğan popülasyon yaşamları boyunca RA geliştirme açısından sonraki nesillere göre daha yüksek bir riske sahiptir. Bu teori; hastalığın erken dönemindeki yüksek insidansına etyolojik bir ajanın neden olduğunu ve hastalığa yakalanma riskinin her yeni nesille azaldığını düşündürülebilir (4,13). Ülkemizin bildirilmiş RA insidans rakamının olmayışı oldukça düşündürücüdür. Bunun nedeni sağlık kayıtlarındaki aksaklıklar ve insidans çalışmalarının güclüğü göz önüne alındığında bir ölçüde açıklanabilir.

Bir toplumdaki RA prevalansı; belli bir zaman diliminde toplam hastaların sayısını gösterir. Farklı toplumlarda bulunan RA sıklığını ya da aynı toplulukta farklı zamanlarda elde edilen verileri karşılaştırırken standardize yöntemler kullanımına dikkat etmek gerekir. RA sıklığının araştırıldığı prevalans çalışmalarında dünyanın çeşitli bölgelerinde farklılıklar görülmekle birlikte gelişmiş toplumlarda RA prevalans hızları birbirine benzemektedir. Bu yaklaşık olarak erişkin nüfusun % 0.5 ile 1’ i düzeyindedir (3,4,11-19).

RA prevalansı kuzeyli toplumlardan güneyli toplumlara doğru azalma eğilimindedir. En yüksek prevalans değeri Amerikan Pima ve Chippewa yerlilerinde bildirilmiştir. Japonya gibi Uzakdoğu ülkelerinde RA prevalansı oldukça düşüktür (11,12,14-17). RA’nın sanayileşme ile artış gösterdiği yönünde görüşler vardır (12). Son yıllarda yapılan çalışmalarda insidans hızında olduğu gibi RA prevalansında da bir azalma olduğu bildirilmiştir (11,12,18). Ülkemizde prevalans hızı ortalama %0,36 düzeyindedir. Bu değer Akdeniz toplumlarında görülen diğer prevalans oranlarına benzerlik göstermektedir (19).

2.1.3. Patogenez

Sinoviyal Patogenez

RA, kronik sinoviyal enflamasyonun kıkırdak ve kemikte ilerleyici hasara neden olduğu birçok eklemi tutan, sistemik bir hastalıktır. RA'da hem hücrel hem hümoral immünite rol oynar. İmmün reaksiyonun görüldüğü en önemli bölge sinoviyumdur. Sinoviyumun T hücreler ve makrofajlar gibi mononükleer hücrelerle infiltrasyonu ile sinoviyal intimal hiperplazi meydana gelir. Sonuç olarak kıkırdak ve subkondral kemik yıkımı oluşur (20,21).

Sinoviyumun görevi; eklem kıkırdağını besleyen ve eklem yüzeyinde sürtünmeyi önleyip kayganlaştırıcı rol oynayan sinoviyal sıvıyı salgılamaktır. Sinoviyanın iç ve dış olmak üzere iki hücre tabakası vardır. İntimal tabaka olarak adlandırılan iç tabakası, epitelin tipik özelliklerini göstermez. Bazal membranı yoktur ve avaskülerdir. İntrasellüler bağlar sıkı değildir. RA'da intimal tabakada hiperplazi, yeni kan damarı yapımı ve mononükleer hücre infiltrasyonu görülür. Sağlam eklemden bu membranın derinliği 1-2 hücreyi geçmez. RA'da ise 10 hücreyi geçtiği gösterilmiştir (20,21).

RA'da; intimal bölgede görülen Tip A (makrofaj benzeri) ve Tip B (fibroblast benzeri) hücrelerinde belirgin artış görülür. Makrofaj benzeri hücrelerdeki artış genellikle daha fazladır. Fibroblast ve makrofaj benzeri sinoviositler kıkırdak ve kemik hasarının çoğundan sorumludur. Bu hücreler RA patogenezinde önemli rol alan birçok enzim ve mediatörü üretebilirler (20,21).

Tip A hücreler; kemik iliğinden köken alırlar ve intimanın yüzeysel bölgelerinde daha fazla bulunurlar. Sitokinler, büyüme faktörleri, enflamatuvar mediatörler, doku yıkımına neden olan birçok enzim üretimi, antijen sunumu ve fagositoz gibi çok sayıda görevleri vardır. Başlıca salgıladıkları sitokinler interlekin-1(IL-1) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α)'dır. Yeni kan damarlarının oluşumunda da rol alırlar (20,21).

Tip B hücreler; mezenkimden köken alırlar. Belirgin salgılama görevleri vardır. Hyaluranik asit sentezinde görev alan üridin difosfoglukoz dehidrogenaz (UDPGD), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), matriks metalloproteinazlar (MMP), araşidonik asit metabolitleri ve sitokinler gibi enflamatuvar ve yıkım mediatörlerinin üretimini yapabilirler. Kıkırdak ve kemik

yıkımında etkin rol oynarlar. Subintimal tabaka ise değişik oranlarda lipid, kollagen lifleri, yoğun kan damarları, fibroblastlar, lenfatikler ve sinir uçları içerir. Subintimal kapiller damar ağı yaşıla birlikte sayıca azalır, doku fibrotik şekle dönüşür (20,21).

CD4+ T lenfositlerinin erken immün yanıtta önemli rolleri vardır. Bu hücreler sinoviyumda genellikle kapiller ve venüller etrafında bulunurlar. MHC-II pozitif makrofaj ve dendritik hücrelerle ilişkilidirler. Antijen sunan hücreler üzerinde bulunan antijenleri tanırlar. Bunun sonucunda sitokin salınımı, B hücre aktivasyonu ve düzenleyici fonksiyonlar gibi bir dizi immünolojik olay başlar. CD8+ T lenfositler ise daha az sayıda ve tüm dokuda yaygın haldedir (22).

RA patogenezinde tetikleyici uyaran bilinmese de dokudaki inflamatuvar sürecin CD4+ T hücre aktivasyonu ile başladığı düşünülmektedir. Ancak kronikleşmiş bazı olgularda sinoviyumda bu hücrelere ait sitokinlerden çok makrofaj sitokinleri bulunmaktadır. Kazanılmış immün yetmezlik sendromlu bazı RA hastalarında ilerleyici kıkırdak ve kemik yıkımının olması T hücre dışı mekanizmaların, özellikle makrofajların önemli rol aldığı hipotezini gündeme getirmiştir (23).

Genellikle CD4+ olan T hücreleri sinoviyayı infiltre eden hücrelerin %40'ını oluştururlar. Özgül reseptörleri aracılığıyla antijenle temasları sonucu aktivasyon gerçekleşir. Sinoviyal membranda T lenfosit aktivasyonu belirginleştiği zaman hareket kısıtlılığı, ağrı gibi klinik belirtiler başlar. Aktive olan T lenfositler IFN- γ (interferon- γ) ve IL-2 gibi sitokinleri salgırlar ve diğer T lenfosit hücrelerini, makrofajları ve fibroblastları uyarırlar. IFN- γ ; monosit ve makrofaj hücrelerinin sentez ve salınım fonksiyonlarını aktive eder. Aktive olan makrofajlardan IL-1 ve TNF- α salgılanır. IFN- γ , kollajen sentezini önleyen bir kapasiteye de sahiptir. Buna rağmen RA'lı hastaların sinoviyal sıvı ölçümlerinde IFN- γ düzeyleri çok düşük tespit edilmiştir. IFN- γ ile TNF- α 'nın birbirlerine zıt etkileri vardır. IFN- γ 'nın RA'lı hastalarda düşük saptanmasının nedeni TNF- α 'nın bu hastalarda artmış olmasından kaynaklanabilir (22,25,26).

B hücreleri sinoviyumdaki hücrelerin küçük bir kısmını (%1-5) meydana getirirler. CD4+ T lenfositler tarafından aktive edilen B lenfositler, plazma hücrelerine dönüşerek immünglobulin (Ig) ve romatoid faktör (RF) salgırlar. Salgılanan Ig'ler sinoviyal membran, sinoviyal sıvı ve eklem kıkırdağındaki

antijenlerle birleşerek immün kompleksleri oluştururlar. RF içeren immün komplekslerin proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinleri uyarabildiği bilinmektedir. Eklem boşluğuna yayılan immün kompleksler, komplemanı aktive ederek kemotaktik faktörlerin salınmasına yol açarlar. Kemotaktik faktörler; damarsal geçirgenliği artırır, polimorfonükleer lökositlerin ve monositlerin inflamasyon bölgesinde toplanmasını sağlar. Bu hücreler immün kompleksleri fagosite ederek doku hasarına neden olan prostoglandin, lökotrien, serbest radikal ve proteolitik enzimlerin yapım ve serbestleşmesine neden olur. Mast hücrelerinden salgılanan histamin gibi vazoaktif peptitler de inflamasyon bölgesine inflamatuvar hücrelerin girişini sağlar (22,26).

Sinovyumu kaplayan hücrelerin sayısında artışla birlikte mononükleer hücrelerin perivasküler alanda infiltrasyonu görülmektedir. Bu dönem ışık mikroskopuyla incelendiğinde; sinovyumu kaplayan hücrelerin hipertrofi ve hiperplazisi, mikrovasküler hasar, tromboz, yeni damar oluşumları gibi fokal veya segmental damarsal değişiklikler ve küçük kan damarları etrafında toplanmış mononükleer hücre infiltrasyonları görülür (27).

Fibroblast benzeri hücreler sinoviyumun önemli bir kısmını oluştururlar. Fagositik değildirler ve yüzeylerinde HLA-DR taşımazlar. Adezyon molekülleri ve büyüme faktörleri salgırlar. Normal büyüme kontrolleri bozulduğunda selim bir neoplazi gibi davrandıkları ve pannusun lokal invaziv özelliklerinden sorumlu oldukları düşünülmektedir (26).

Hastalığın kronik döneminde enfekte sinoviyum, özellikle kıkırdak ve kemiğin birleştiği alanlarda invaziv bir nitelik kazanır. Kıkırdak, kemik ve bağları erozyona uğratan bu invaziv kısma “pannus” denir. Histolojik olarak sinoviyumun diğer bölgelerinden farklıdır. Pannus ve sinoviyal doku tarafından salgılanan enzimler kıkırdak hasarına neden olur. Bu enzimler fibroblast benzeri Tip B hücreler tarafından salgılanan metalloproteinazlar (kollajenaz-1, kollajenaz-2), Tip A ve tip B hücreler tarafından sentezlenen serin, sistein (katepsin-B) proteazlardır (26).

Kıkırdak ve Kemik Yıkımı

RA’ daki fonksiyon kaybı, kronik inflamatuvar olayın neden olduğu eklem kıkırdağındaki geri dönüşsüz hasarın sonucudur. Kıkırdağın yapısında bulunan, eklem fonksiyonunda önemli görevleri olan matriksin sentezi ve yıkımı sitokinler

tarafından bir dengede tutulur. RA'da ise bu denge yıkım lehine bozulmuştur. IL-1 ve TNF- α bu yıkımda önemli rol oynar (28).

Eklem hasarı; kıkırdak ve kemiğe invazyon yapan pannusu oluşturmak için hücrelerin çoğalması ile başlar. Tip B fibroblast benzeri hücreler matriks metalloproteinazları, sitokinler ve arasıdonik asit metabolitleri gibi yıkıcı enzimleri üretirler. Makrofajlar IL-1 ve TNF- α salınımı ile inflamasyonu hızlandırırlar. Yeni kan damarları oluşumunu arttırarak pannusun daha derine invazyonunu sağlarlar (29).

RA'da inflamasyon, sitokinler aracılığıyla osteoklastik kemik yıkımını arttırır. Osteoklast farklılaşmasının ve aktivitesinin etkili bir inhibitörü olan osteoprotegerin(OPG) ile yapılan çalışmalar osteoklastların önemini göstermiştir. OPG; TNF reseptör ailesinin bir üyesidir. Osteoklast prekürsörleri üzerinde bulunan reseptör aktivator nükleer kappa B ligand (RANKL) ile etkileşirse osteoklastik aktiviteyi inhibe eder. RANKL osteoklastik aktivitede önemli role sahiptir. Sinoviyumda fibroblast ve aktif T hücreleri RANKL sentezler. IL-1 ve TNF- α , RANKL üretimini arttırırlar. Her iki sitokin osteoklastik aktiviteyi arttırırlar. Ayrıca osteoblastik apoptozu uyararak yeni kemik yapımını da engeller (30,31).

Adezyon Molekülleri

RA sinoviyumunda çok sayıda immün modülatör hücre bulunur. İnflamatuvar sürecin gerçekleşmesi için hücrelerin öncelikle endotele yapışmaları gerekir. Bunu sağlayan adezyon molekülleri; hücrelerin birbirleriyle ve ekstrasellüler matriksle bağlantılarını gerçekleştirirler. Hemostaz, vasküler ve epitelyal bütünlüğün sağlanması, immün cevap oluşumu, anjiogenezis gibi birçok olayda etkin rol oynarlar. E-selektin hücre ile endotel arasında ilk ilişkiyi kurar. İnterselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve VCAM-1'in olaya katılması ile hücre etkileşimleri daha güçlü hale gelir. ICAM-1 makrofajlarda, makrofaj benzeri sinoviyal hücrelerde ve fibroblastlarda bulunur. VCAM-1 ise sinovyal endotelden salınır. IL-1 ve TNF- α ve IFN- γ gibi sitokinler bu adezyon moleküllerinin sentezini arttırırlar (32,33).

Kemokinler

Kemokin terimi; sitokinlerin hücreler arasında kemotaksise aracılık eden özgül bir grubu için kullanılmaktadır. Kemokinler, adezyon molekülleri yardımı ile hücreleri inflamatuvar bölgelere çağıran proteinlerdir. IL-8 özellikle nötrofil kemotaksisinde önemli rol oynar. Kemokinler sinovyal makrofaj ve tip B fibroblast benzeri hücrelerden salınırlar. Angiogenesis ve diğer proinflamatuvar olaylarda görev alan başka kemokinler de bilinmektedir (34).

Matriks Metalloproteinazları

Matriks metalloproteinazları RA'lı hastalarda tip B fibroblast benzeri hücreler tarafından sentezlenirler. Ekstrasellüler matriksin yıkımı ve yeniden oluşumunda önemli görevleri vardır. Kıkırdak ve kemik yıkımına neden olurlar. IL-1 ve TNF- α bu enzimlerin sentezini artırır. Aktiviteleri doku metalloproteinaz inhibitörleri tarafından kontrol edilir (35).

Anjiyogenesis

RA'da sinoviyumda kan damarları proliferasyonunun fazla olması hem tümör büyümesine hem de yara iyileşmesine benzer. Anjiyogenesis özellikle hastalığın başlangıç döneminde fazladır. Hipoksi anjiyogenesis için güçlü bir uyarandır. Yeni oluşan kan damarları dokunun beslenmesini ve inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlar. Vasküler endotelial büyüme faktörü(VEGF) anjiyogenesisde önemli rol oynar. IL-8, IL-1 ve TNF- α gibi sitokinler anjiyogenesisi artırır (36).

Sitokinler

Hücreler arasındaki etkileşimi sağlayan protein yapısındaki aracı moleküllerdir. İmmün sistem hücrelerinin yanı sıra diğer birçok organ sistemleri üzerinde hücre büyümesi, aktivasyonu, inflamasyon ve doku onarımı gibi düzenleyici görevleri vardır. Sitokinler, lenfosit, monosit, makrofaj gibi birçok hücre tarafından üretilir. Hücre uyarımı ile sitokin sentezi başlar. Depolanmadan hemen salgılanırlar. Etkili olabilmeleri için hücre yüzeyindeki özgül membran reseptörlerine bağlanmaları gerekir. Sitokinler birbirlerine agonist ya da antagonist etki gösterebilirler. Farklı hücreler aynı sitokini, aynı hücre de çok sayıda farklı sitokini salgılayabilir. Farklı sitokinler hücre düzeyinde aynı veya benzer etkilere neden olabilir. Bir sitokin farklı hücreler üzerinde birden çok etki gösterebilir (37,38).

Hücre yüzeylerinde CD4 molekülü taşıyan Yardımcı T lenfositler (Th), antijen uyarımı, salgıladıkları ve etkileştikleri sitokin profiline göre alt gruplara ayrılırlar. Bunların en önemlileri Th1 ve Th2 hücrelerdir. Aynı farklılaşma özelliğinin diğer T hücreleri ve natural killer (NK) hücrelerinde de olabileceği bilinmektedir. Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki denge immün yanıtı şekillendiren en önemli unsurlardan biridir (39,40).

Th1 ve Th2 hücre farklılaşması ilk önce antijen sunucu hücreler tarafından başlatılmaktadır. Antijen sunan hücreler arasında özellikle dentritik hücreler oldukça önemlidir. Antijenle uyarılan dentritik hücreler IL-12 salgılar ve bu sitokin Th1 yönünde farklılaşmayı uyarır. NK hücreleri de IFN- γ üretimi ile hem dentritik hücrelerden IL-12 salınımını artırarak hem de direkt uyarım ile Th1 yanıtı yol açarlar. IFN- γ ve IL-12 varlığında Th1 yönünde farklılaşmış T hücreleri, IL-2, IL-3, TNF- α , TNF- β , IFN- γ , granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi sitokinleri üretir. Hücrel immün yanıt, hücre içi patojenlere karşı savunma ve kanser hücrelerinin yok edilmesinde görev alırlar. Otoimmün hastalıkların çoğunda artmış Th1 sitokin yanıtının görülmesi dikkat çekicidir (40,41).

NK, mast ve eozinofil hücrelerden salınan IL-4, Th2 yönünde farklılaşmayı uyarır. Antijen sunucu hücrelerin ürettiği IL-6 da Th2 yanıtı neden olur. Th2 hücreler; IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , GM-CSF sitokinlerini salgılar ve humoral immün cevabın oluşmasında önemli rolleri vardır. Görüldüğü gibi bazı sitokinler hem Th1 hem de Th2 tarafından salgılanabilmektedir. IL-10 ve transforme edici büyüme faktörü (TGF- β) gibi sitokinlerin Th1 ve Th2 den farklı olarak daha çok üçüncü bir grup olan regülatör T hücreler (Treg) tarafından salgılandığı düşünülmektedir. Bu yeni hücre grubu ile ilgili son yıllarda yapılan çok sayıda çalışma vardır. Organa özgü immüniteyi baskılamak, immün hemostazı sağlamak, patojene immün yanıtı arttırmak gibi immünitenin düzenlenmesinde önemli görevleri olduğuna inanılmaktadır (39,41,42).

Th1/Th2 farklılaşması sitokinlerin doğrudan ya da negatif feed-back mekanizmalarınca düzenlenir. IFN- γ ve IL-12 sitokinleri Th2 dönüşümünü baskılar. Ayrıca IFN- γ kendisini üreten Th1 hücre yanıtını bir süre sonra durdurur. IL-4 ve IL-10 sitokinleri de Th1 oluşumunu baskımlarken, IL-4 sitokini Th2 yolu üzerine bir süre sonra negatif-feedback etki gösterir. Treg hücreleri ise IL-10 üretimi ile her iki tip

immün cevabı baskılayarak immünosupresyona yol açar. Aslında sitokinlerin salınımı, birbirleriyle ve hedef hücre ile etkileşim mekanizmalarına bakıldığında oldukça karmaşık bir sitokin şebekesinden söz edilebilir (41).

Sitokinler inflamasyonun hem gelişmesinde ve hem de sonlandırılmasında görev alabilirler. IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α ve GM-CSF pro-inflamatuvar sitokinler arasında sayılabilir. İnflamatuvar yanıtın kontrolü ise IL-4, IL-10, IL-13, IFN- α ve TGF- β gibi antiinflamatuvar sitokinler veya antagonist etki gösteren reseptörler yoluyla olur. İnflamasyonun oluşumunda proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mekanizmanın bozulduğu düşünülmektedir. Ancak otoimmün hastalıklara baktığımızda daha karmaşık bir mekanizma ile karşılaşırız. Örneğin; TNF- α veya IFN- γ gibi proinflamatuvar kabul edilen bazı sitokinlerin süreç içinde immünsüpresif etkilerinin de olabildiği gösterilmiştir (39,43).

RA patogenezinde sitokinler önemli role sahiptir. Sinoviyada sitokin seviyeleri belirgin düzeyde artar. En belirgin artış, TNF- α ve IL-1'de görülür. Bu sitokinlerin; sinovyal dokunun proliferasyonu, kemotaksis, anjiyogenez ve damar geçirgenliğini artırıcı etkileri vardır. Matriks metalloproteinazları, adezyon molekülleri ve diğer sitokinlerin salınımı gibi olayların güçlü uyarıcılarıdır. Birbirlerine sinerjistik etki gösterirler. IL-1 hastalığın daha çok yıkıcı etkilerinden, TNF- α ise proliferatif ve inflamatuvar etkilerinden sorumludur. İnhibitörleri ya da reseptörleri tarafından homeostatik olarak düzenlenir ve etkileri kontrol edilir. Sinovyal sıvıda çözünebilir durumda bulunan p55 ve p75 şeklinde işaretlenmiş TNF reseptörleri vardır. Bunlar hücrelerin yüzey reseptörlerine bağlanma sırasında sitokin ile yarışarak TNF- α aktivitesini inhibe ederler. Yine sinovyal sıvıda IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) bulunur ve IL-1 ile yarışarak inhibitör etki gösterir. Antiinflamatuvar bir sitokin olarak bilinen TGF- β ' nın RA'da oldukça kompleks bir rolü olduğu düşünülmektedir. T hücrelerinin sinovyal sıvıda azalmış cevabından sorumlu faktörlerden birisi olduğu sanılmaktadır (22,30,44,45).

IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, GM-CSF, makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), TGF- β gibi sitokinlerin de patogeneizde önemli rolü olduğu gösterilmiştir. IFN- γ ; ekstraselüler matriks sentez ve yıkım dengesini, sitokinin uyardığı fibroblast benzeri sinoviyositler aracılığı ile kollajen sentezini azaltarak değiştirir. IL-17; IL-1 ve TNF- α ' nın kollajenaz ve sitokin üretiminin indüklenmesi

için fibroblast benzeri sinoviyosit fonksiyonu ile ilişkili birçok fonksiyonunu taklit eder. IL-6 patogenezdaki önemli sitokinlerden biridir. Bu sitokin özellikle RA'da artmış akut faz parametrelerinden sorumludur. C-reaktif protein (CRP), α -1-antitripsin, fibrinojen, haptoglobulin, serum amiloid A artışı ve poliklonal hipergammaglobulinemi gibi etkileri vardır (46,47).

2.1.4. Klinik Özellikler

RA, başlangıçta el, el bilekleri ve ayakları, daha sonra ise tüm sinovyal eklemleri simetrik olarak tutabilen kronik, eroziv sinovit ile karakterize bir hastalıktır. Hastaların çoğunda sistemik bulgular vardır. RA olguların % 55-65'inde yavaş ve sinsi olarak başlar. İlk bulgular yorgunluk, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı, yaygın kas-iskelet ağrıları gibi özgül olmayan yakınmalardır. Bazen düşük dereceli ateş, raynaud fenomeni gibi atipik bulgular olabilir. Myalji, artralji, sabah tutukluğu ve eklemlerde şişlikler şeklinde gelişen prodromal dönem haftalar veya aylarca devam edebilir. Hastalık ilerledikçe tutulan eklem sayısı da yavaş yavaş artar, tutulum genellikle simetriktir. Hastalığın ilk yıllarında inflamasyon bulguları ön plandadır. İleri dönemde, hastalığın kontrol altına alınamadığı kişilerde deformiteler ve eklem hasarı fonksiyon kaybına yol açar (22).

Hastaların % 8-15' inde semptomlar akut başlangıç gösterir. Sinsi başlangıca göre daha az simetri vardır. Ateş yüksekliği en önemli bulgu olabilir. Akut başlangıçlı RA'nın ayırıcı tanısında sepsis ve vaskülit gibi hastalıklar göz önünde bulundurulmalıdır. %15-20 oranında daha çok sistemik semptomların ön planda olduğu ve kliniğin haftalar içinde geliştiği subakut başlangıç görülebilir (22).

Nadir görülen başlangıç şekillerinden biri; tek veya az sayıda eklemi tutan başlangıç tipidir. Daha çok genç kadınlarda görülür. Diz veya dirsek gibi bir veya birkaç eklem kronik veya aralıklı tutulumu vardır. Genellikle akut faz yanıtı yoktur ve RF negatiftir. Orta yaşlı erkeklerde daha çok rastlanan sistemik başlangıç tipinde ise; karaciğer fonksiyon testlerinde anormallik, myalji, anemi, kilo kaybı, plörezi, perikardit, organomegali ve döküntü gibi eklem dışı bulgulara daha sık rastlanır. En belirgin semptom ateştir. RF negatiftir ve subkutan nodüller görülmez (48).

Ortalama iki-üç gün süren, düzensiz aralıklarla tekrarlayan, akut mono veya oligoartiküler artrit ile karakterize diğer bir başlangıç şekli palindromik tiptir. Bu hastaların yarısında bir kaç aydan 20 yıla kadar değişen süre içinde klasik RA kliniği

görülmektedir. Polimiyaljia romatikayı taklit eden, daha çok omuz eklemi çevresinde ağrı ile ortaya çıkan geç başlangıçlı RA; 65 yaş ve üzeri hastalarda görülür. Sabah tutukluğu ile omuz ve kalça çevrelerinde ağrı ön plandadır. Yaşlı hastalarda RA, gençler ile karşılaştırıldığında genellikle daha benign seyirlidir (48).

RA, hastalığın aktivitesine göre erken, ilerleyici ve geç hastalık olarak sınıflandırılabilir. Erken hastalık döneminde henüz eklem hasarına bağlı klinik bulgular yoktur. Radyolojik olarak kemik yıkımı ve eklem hasarının görülmediği evredir. Hastalığın bu evresinde inflamasyon yoğundur. Kemik erozyonu oluşum hızı plato oluşturacak düzeyde fazladır. Hastaların bir kısmı bu evrede kalır, diğerlerinde ise ilerlemeye devam eder. Remisyon daha çok oluşur. İlerleyici hastalık döneminde tedaviye rağmen hastalık devam eder. İnatçı poliartrit ve radyolojik olarak kemik yıkımı vardır. Tablo yavaş ya da hızlı ilerler. Sonuçta destrüktif, sakatlık gelişen tablo oluşur. Geç hastalık dönemi önemli eklem hasarının oluştuğu ve bazı komplikasyonların oluştuğu evredir. Olguların çoğunda hastalık süresi uzundur. Hasar oranı hastalığın şiddetini yansıtır (6).

RA tüm sinoviyal eklemleri etkileyebilir. Genellikle simetriktir ama bazen asimetric başlayıp simetric tutulumuna doğru ilerleme gösterebilir. Sabah sertliği, ağrıdan haftalar hatta aylar önce başlayabilmektedir. Gece hareketsiz kalmaya bağlı olarak interstisiyel alandaki ödem nedeniyle geliştiği düşünülmektedir. Sabah kalktıktan sonra kasların hareketiyle beraber bu sıvı lenfatik sistem tarafından drene edilmekte ve tutukluk geçmektedir (22,49).

Tutulan Eklemler: Özellikle metakarpofalengial (MKF), proksimal interfalengial (PİF) ve metatarsofalengial (MTF) eklemlerde başlar. Bu eklemlerde ağrı, şişlik ve duyarlılık gözlenir. Daha sonra el bilekleri, dizler, dirsekler, ayak bilekleri ve kalçalar tutulur. RA karakteristik bulgularını el ve el bileği eklemlerinde gösterir. Bilek eklemının sinoviti RA'nın değişmez bir özelliğidir. Hareket kısıtlılığına, deformiteye ve median sinir sıkışması sonucu oluşan karpal tünel sendromuna neden olabilir. Kıkırdak ve kemik dokudaki inflamasyona bağlı yıkım, tendonlardaki gevşeme ve yırtılmalar el deformitelerinin gelişmesine katkıda bulunur. Ulnar deviasyon, çekiç parmak, pençe parmak, düğme iliği deformitesi, kuğu boynu deformitesi meydana gelebilir.

Dirsekler romatoid nodüllerin en sık görüldüğü eklemlerdir. Diz eklemi tutulumunda; sinovyal sıvının popliteal fossaya doğru ilerlemesi sonucu Baker kisti oluşur. Ayak eklemlerinin tutulumu yük taşımaları nedeniyle oldukça ağrılıdır. Temparomandibüler, sternoklaviküler ve krikoaritenoid eklemler de daha az sıklıkla tutulabilir. Boyunda özellikle C1-C2 tutulumu dışında omurga tutulumu yoktur ve hastalığın ileri dönemlerinde görülür (22,49).

Eklem Dışı Bulgular: RA hastalarının yaklaşık %40'ında hayatlarının bir döneminde eklem dışı tutulum görülür. Seropozitif hastalarda daha sık görülür ve kötü prognozu gösterir. Romatoid nodüller, palmar eritem, splinter hemorajiler ve atrofi gibi deri lezyonları tanımlamıştır. Romatoid nodüller, başta akciğer, skleralar ve kalp olmak üzere birçok organda da görülebilirler Solunum sistemi tutulumu siktir. Plevral efüzyon, plörezi, pulmoner nodüller, interstisyel akciğer fibrozisi, pnömotoraks ve ampiyem gibi semptomlara rastlanabilir.

Perikardit, endokardit, koroner vaskülit, kapak anomalileri, iletim bozuklukları dolaşım sisteminde görülen eklem dışı bulgulardır. Keratokonjonktivitis sikka, sklerit, episklerit, skleromalasi perforans gibi göz tutulumu semptomları olabilir. Bası nöropatileri, periferik nöropati, mononöritis multipleks, güçsüzlük ve atrofi gibi kas bulguları, anemi, trombositoz, amiloidoz, psikosomatik yakınmalar RA' da görülebilen diğer eklem dışı bulgulardır (49,50).

2.1.5. Tanı

ACR tarafından 1987 yılında yeniden düzenlenen kriterler hasta seçiminde tanı ölçütü olarak kullanılmaktadır (Tablo 1). Bir hastayı RA olarak tanımlayabilmek için bu kriterlerden en az 4 tanesi bulunmalıdır. İlk dört kriterin en az 6 hafta devam etmesi gerekmektedir (8).

Tablo 2.1. ACR 1987 RA Tam Kriterleri.

Sabah sertliği	Eklem çevresinde 1 saatten fazla süren sabah sertliği
En az 3 eklemdede artrit	En az üç eklem bölgesinde hekim tarafından kaydedilen yumuşak doku şişliği veya sinoviyal sıvı artışı ile beraber olan artrit
El eklemlerinde artrit	Elde en az bir eklem bölgesinde şişlik
Simetrik artrit	Aynı eklem bölgesinde bilateral olarak artrit (PİF, MKF, MTF'de mutlak bilateral tutulum olmayabilir)
Romatoid nodüller	Kemik çıkıntılar, eklem ekstansör yüzlerinde subkutan nodüller
RF pozitifliği	Herhangi bir yöntemle RF pozitifliğinin gösterilmesi
Radyolojik bulgular	Ön-arka el ve bilek grafilerinde RA'ya özgü erozyonların gösterilmesi

Laboratuvar bulguları nonspesifiktir ve diğer inflamatuvar hastalıklarda da gözlenir. Esas olarak klinik belirti ve bulgulara göre konulan tanıyı desteklemede veya hastalığın gidişini değerlendirmede kullanılırlar. RA tanısı için ideal bir laboratuvar testi yoktur. Proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), CRP, fibrinojen, ferritin, haptoglobulin gibi birçok akut faz proteini RA'nın alevli dönemlerinde çoğunlukla yükselir. Bununla birlikte albümin, prealbümin, transferin ve retinol bağlayıcı protein gibi negatif akut faz proteinlerinin seviyelerinde hastalığın alevlenme döneminde düşme görülür (49,51).

RA' da kronik hastalık anemisi gelişebilir. Normokrom veya hipokrom normositerdir. Demir eksikliği anemisi de görülebilir. Kronik hastalık anemisinin patogeneğinde proinflamatuvar sitokinlerin eritropoetin üretimini inhibe etmesi önemlidir. Aktif RA'lı hastalarda ve steroid ile tedavi gören hastalarda beyaz küre sayısı sıklıkla yüksektir. Trombositoz bulgusu genellikle anemi, lökositoz ve RF

pozitifliği ile birlikte. Böbrek ve karaciğer tutulumu varlığında karaciğer enzimlerinde yükseklik ve proteinüri görülebilir (49,51,52).

RA' da bir çok otoantikor saptanabilir. Ancak bu durum tüm otoimmün hastalıklarda görüldüğü için özgül değildir. Antinükleer antikor (ANA), anti-nötrofil sitoplazmik antikor(ANCA), anti-RA33, anti-calpastin, anti-kollagen tip II, anti-fibrinoktin ve glukoz 6 fosfat izomeraz (anti-GPI) antikorları görülebilir. Bununla birlikte RA için en önemli otoantikorlar romatoid faktör ve cyclic citrullinated peptid (anti-CCP) antikorlarıdır (6).

Romatoid Faktör:

İlk olarak 1922'de Meyer bazı serumların koyun, sıçan ve insan kırmızı kan hücrelerini aglutine ettiğini bildirdi. Daha sonra 1940 yılında Waaler bu serum faktörünün varlığını tanımladı ve romatoid faktör olarak adlandırıldı. Romatoid faktör, insan IgG moleküllerinin Fc kısmına karşı oluşan otoantikorlardır. IgG, IgA veya IgM yapısında olabilirler. Laboratuvar incelemelerinde incelenen IgM yapısındaki RF'dür. IgA tipinde RF pozitifliği; mukozal membranların veya sekretuar organ tutulumunu gösterebilir. Ya da kemik harabiyeti ile ilişkili olabilir. RF tanı kriterlerine alınmış tek serolojik testtir. Ancak RA için özgül değildir (53).

Normal erişkinlerde bazı çevresel uyarılar RF sentezini başlatabilmektedir. İmmün yanıtlar sırasında oluşan antijen-antikor kompleksleri, poliklonal B hücre aktivasyonu ve kronik viral enfeksiyonlar RF sentezini uyarabilir. Sağlıklı bireylerde ve yaşlılarda RF pozitif bulunabilir. Ayrıca bazı romatizmal hastalıklar, enfeksiyonlar, akut ve kronik inflamatuvar hastalıklar, malign durumlar ve bazı lenfoproliferatif hastalıklarda da RF yüksek düzeydedir (53).

Tanı konulurken mutlaka RF pozitif olması gerekmez. Ancak bu durum hastalığın şiddetinin, eklem dışı tutulumun ve kötü prognozun göstergesi olabilir. Serumlarında yüksek RF titresi bulunan bireylerde RA gelişme ihtimali daha fazladır ve titre arttıkça bu olasılık da artmaktadır. İlerlemiş olgularda daha yüksek oranda RF pozitifliği gözlenir. Romatoid nodüller ile RF birlikteliği oldukça sıktır. RF genellikle ELISA veya nefelometrik yöntem ile ölçülmektedir (53).

RF, B lenfositlerin yüzeyi ve kanda bulunabilir. Bazı immünolojik olaylarda görev alır. IgM tipi RF'nin; antijeni işleme ve sunma, düşük afiniteli IgG antijen

komplekslerinin stabilizasyonu, immün komplekslerin temizlenmesi ve opsonizasyonun artması gibi görevleri vardır (53).

Poliklonal B hücre aktivasyonu ile üretilen RF'ler potansiyel olarak bakteri ve parazitlere karşı oluşan humoral immün sistem yanıtını arttırabilirler. IgM türü RF'ler, virus veya bakterilerin yüzeyinde yer alan düşük afiniteli, IgG antikorlarına çapraz bağlanabilme yeteneğine sahiptir. IgM türü RF'ler IgG'lere bağlandıklarında komplemanı aktive ederler. Eğer IgG bir bakteri veya parazite bağlanmışsa sonuçta retikuloendoteliyal sistemin çok sayıdaki kompleman reseptörleri aracılığıyla bu organizmalar lizise uğratılır ve dolaşımdan temizlenir. Bu nedenle IgM türü RF sentezi, etkin bir poliklonal antikor yanıtının temel elemanlarından birisi olarak ele alınmalıdır (53).

Anti-CCP Antikorları

Bu antikorların RA için özgüllüğü oldukça yüksektir. Filagrin ve onun sirküler formu gibi sitrulinize proteinlere karşı oluşmuş antikorlardır. Antiperinükleer faktör (APF), Antikeratin antikorları (AKA), Antifilagrin(AFA) antikorları bu grubun içindedir. Bu antikorların düzeyi, birbirleriyle, RF pozitifliği ile ve RA aktivitesi ile ilişkilidir. APF ve AKA'ların ortak hedef antijeni keratin iplikçiklerine çapraz bağlanan bir protein olan filagrindir. AKA ve APF, ölçümü zor olduğu için rutine girememiştir. AFA ise; özgüllüğü yüksek ama duyarlılığı çok düşük olduğu için tanıda rutin dışı kalmıştır (54).

Sitrulin ise filagrin yapısında yer alan bir aminoasittir. Hastalığın tanısında kullanılabilecek daha özgül test arayışı sonucu, filagrinden izole edilen sitruline karşı antikorların tespit edildiği antiCCP-1 ELISA testleri geliştirilmiştir. Filagrinle ilişkisiz sitrulinize bazı peptitler, antijen bağlamasını arttıracak şekilde modifiye edilerek antiCCP-2 ELISA testleri kullanıma girmiştir. Bu testlerin hem duyarlılığı hem de özgüllüğü oldukça yüksektir (54).

RA'nın klinik belirtileri tam olarak ortaya çıkmadan önce anti-CCP pozitif saptanabilmesi erken tanı için oldukça önemlidir. Ayırıcı tanıda, bu antikorların özgüllüğünün yüksek olması dikkate değer bir kriterdir. Hastalığın şiddeti ve prognozu ile ilgili bilgi verebilir. RF negatif hastalarda tanıya yardımcı olabilir. Önümüzdeki yıllarda anti-CCP antikorları ile birlikte anti-p68, anti-RA33 ve anti-Sa

gibi diğ er bazı antikorların da RA tanısı ve takibinde öneminin artacağı düşünölmektedir (54).

2.1.6. Ayırıcı Tanı

RA ayırıcı tanısı zor bir hastalıktır. Tüm artrit yapan romatolojik hastalıklarla karıştırılabilir. Erken dönemde RA tanısı koymak oldukça zordur. Kliniklere poliartrit semptomları ile gelen hastaların az bir kısmı RA'dır. RA ayırıcı tanısında en sık karşılaşılan hastalıklar şunlardır;

*SLE başta olmak üzere bazı bağ dokusu hastalıkları (Skleroderma, polimiyozit, vaskülitler, mikst bağ dokusu hastalığı gibi)

*Seronegatif spondiloartropatiler (ankilozan spondilit, reaktif artrit, reiter sendromu, psöriatik artrit gibi)

*Polimiyaljiya romatika, fibromiyalji, stil hastalığı

*Osteoartrit, kristal artropatiler

*Bazı viral enfeksiyonlar, vaskülitler (Hepatit B,C, Rubella, HIV gibi)

*Bazı malignansiler (Myelodisplastik sendrom gibi), Paraneoplastik sendrom

*Oral kontraseptif kullanımına bağlı artritler (22,49)

2.1.7. Tedavi

Hastalığın tedavisinde nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar, kortikosteroidler kullanılabilir. Ayrıca hastalığı modifiye edici ilaçlar (DMARD) olarak adlandırılan antimalaryaller, altın tuzları, D-penisilamin, sülfasalazin ve bazı immünsupresif grubu ilaçların da tedavide yeri vardır. Son zamanlarda geliştirilmiş biyolojik ajanlardan TNF- α blokerleri de tedavi seçenekleri arasında sayılabilir (6,22).

2.2. Romatoid Artrit Etyolojisi

RA'nın etyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik, enfeksiyöz ajanlar ve çevresel faktörlerin hastalık gelişiminde rol oynadığı düşünölmektedir. Genetik olarak yatkın bir konakçıda bilinmeyen bir patojen ya da antijen sonucu tetiklenen ve bunun sonucu gelişen kalıcı immün yanıt hipotezi hala geçerliğini korumaktadır (55).

2.2.1. Genetik Faktörler

RA'da genetik yatkınlığın olduğunu gösteren birçok veri vardır. Romatoid artritli bir kardeşe sahip bireylerde hastalık gelişme riski 2-4 kat artmaktadır. Monozigot ikizlerde RA görülme oranı dizigot ikizlere göre dört kat daha fazladır (5,6,55).

Romatoid artrit hastalığına yatkınlık oluşturan genetik risk faktörlerinin en önemlisi 6. kromozom üzerindeki HLA molekülü ile ilgilidir. HLA-DR4 bulunan kişilerde RA olma riski 4 ile 5 kat artmaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalarda aslında bu ilişkinin HLA-DR4 ile değil, bu molekül üzerindeki bir aminoasit dizisi ve bunu kodlayan alellerle ilgili olduğu ileri sürülmüştür. Moleküler yöntemlerle farklı HLA-DR4 allellerinin β zincirinin 3. çok değişken bölgesinde, 70-74. pozisyonlarında bulunan aminoasitlerin ortak bir dizini paylaştığı gösterilmiştir. Ortak epitop olarak isimlendirilen glutamin, lösin, arginin, alanin, alanin (QKRAA) aminoasitlerini içeren bu bölgenin, RA'da genetik yatkınlığa neden olabileceği düşünülmektedir. HLA-DR4'ün hastalığın kronikleşmesini, erozyon ve ağır hastalık gelişme riskini arttırdığı sanılmaktadır. Özellikle DR1 0401/0404 allellerini heterozigot olarak taşıyanlarda hastalığın ağır seyretme riskinin en yüksek olduğu gösterilmiştir (4,5,22).

Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar ile RA ile ilişkili HLA dışı genler tanımlanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalarda; T hücre reseptörü, kortikotropin salgılatıcı hormon, östrojen sentaz, IFN- γ ve diğer bazı sitokinlerin RA patogeneğinde rol alabileceği üzerinde durulmuştur (5,6). Tip I diyabet gibi diğer otoimmün hastalıklarla ilişkili bazı genlerin RA'da rol alabileceğini düşündüren bulgular vardır. Bu durum otoimmün hastalıkların etyopatogeneğinde bazı ortak faktörlerin olabileceğini göstermektedir (5).

2.2.2. Cinsiyet ve Hormonal Faktörler

RA'nın kadınlarda erkeklere oranla 2-4 kat daha fazla görülmesi hastalığın gelişiminde hormonal faktörlerin rolü olduğunu düşündürmektedir. Seks hormonlarının immün sistem üzerinde önemli etkileri vardır. Genelde östrojenin immün sistem üzerine aktive edici, androjenlerin ise baskılayıcı rol oynadıkları gösterilmiştir. Östrojenler T hücre supresör aktiviteyi azaltır. Progesteron ise T hücre supresör aktiviteyi arttırır (24). Kadınlar arasında RA insidansının daha yüksek

olmasının seks hormonları ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Özellikle östrojenlerin immün sistem üzerindeki uyarıcı etkileri göz önüne alındığında kadın/erkek oranındaki artıştan bu etkinin sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Androjenik hormonların özellikle de testosteronun RA'lı erkeklerde daha düşük düzeylerde olduğu gösterilmiştir (6).

RA'nın gebelikte gerilediği, doğum sonrası dönemde ise tekrar aktive olduğu görülmüştür (4,56). Özellikle gebelik sonrası emzirme döneminde RA riskinin 5 kat arttırdığı saptanmıştır Bu etki proinflatuvar bir hormon olan prolaktinin artışı veya prolaktine karşı oluşan yanıtla açıklanmaya çalışılmıştır (5,6).

Günümüzde kullanılan oral kontraseptiflerin son yıllarda özellikle genç kadınlarda RA gelişiminin azalmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak oral kontraseptif kullanımının RA gelişiminde gerçekten koruyucu mu yoksa geciktiren bir faktör mü olduğu henüz netlik kazanmamıştır (6,56).

2.2.3. Çevresel Faktörler

Genetik faktörler dışında hastalığa yatkınlık oluşturabilecek tüm faktörler çevresel etkenler olarak değerlendirilebilir. Diyetin RA üzerinde etkisi olduğunu düşündüren bulgular vardır. Örneğin; zeytinyağı ve balık yağı tüketiminin hastalığın gelişimi engelleyici etkisi olduğu bildirilmiştir. Bu etkinin nedeni bu yağ asitlerinin inflamasyonda rol oynayan arasıdonik asit ile yarışması olabilir. Bakır ve selenyum eksikliğinin de RA ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte hastalığı önleyici veya hastalığa sebep olabilecek kesin bir gıda veya diyet yoktur. Sigara içiminin RA gelişme riskini arttırdığı sanılmaktadır. Bu ilişki içilen sigara miktarının artmasıyla ve seropozitif hastalıkta daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Fazla miktarda kahve alımının RA oluşumunu arttırdığı yönünde görüşler vardır. Gut ile RA arasında ise tam olarak anlaşılammış negatif bir ilişki olduğu bilinmektedir. Birçok başka kronik hastalıkta olduğu gibi düşük eğitim düzeyine sahip RA'lı hastalarda, özellikle kadınlarda, hastalık ve ölüm oranları daha yüksek seviyededir (5,6,55,56).

2.2.4. Otoimmünite

Romatoid faktör, insan IgG moleküllerinin Fc kısmına karşı oluşan otoantikorlardır. RF'nin otoantikor olarak kabul edilmesi otoimmünitenin RA'da

önemli bir rol oynayabileceğine en önemli kanıt olmuştur. RA için en önemli otoantikörler RF ve anti-CCP antikörleridir. Bunların dışında RA'da kartilaja özel antijenlere ve eklem dışı antijenlere karşı oluşan birçok antikör görülebilir. Özellikle ısı şok proteinleri (İŞP) ve tip II kollagene karşı oluşan antikörler hem otoimmünitenin bir göstergesi kabul edilebilir, hem de etyolojide diğer etkenler olarak değerlendirilebilir (6,22,53).

Otoimmünite; kişinin kendi antijenlerine karşı immün yanıt geliştirmesidir. Bunun sonucunda gelişen hastalıklar ise otoimmün hastalıklar adıyla anılır. Otoimmün hastalıkların çoğunluğunun etyolojisi günümüzde belirsizliğini korumaktadır. Otoimmünitenin etyolojisinde var olan bazı görüşlerin en önemlisi self toleranstan sorumlu mekanizmaların kırılması veya bozulmasıdır. Self antijenlere tolerans, normalde bazı self antijen spesifik lenfositlerin maturasyonunu önleyen seleksiyon ve matur self reaktif lenfositleri yok eden ya da inaktive eden mekanizmalarla sağlanır. Self toleransın kaybolması; anormal seleksiyon veya self reaktif lenfositlerin regülasyonundaki bozukluk sonucu olabilir. Tüm bu anormallikler nedeniyle de self antijenler immün sisteme sunulur (38).

Birçok faktör otoimmünitenin gelişimine neden olabilir. Antijen sunan hücreleri ve lenfositleri etkileyen immünolojik anormallikler, otoimmüniteye yatkınlık sağlayan genler, mikrobiyal enfeksiyonlar, doku yaralanmaları bu faktörler arasında sayılabilir. Bu faktörlerin kombinasyonu farklı hastalıkları oluşturabileceğinden, otoimmün hastalıklardaki heterojenitenin de nedeni olabilir. Otoimmün hastalıklar, klinik olarak sistemik veya organa özel görülebilir (38).

Enfeksiyonlar bazı mekanizmalarla otoimmünite gelişimini uyarabilir. Özellikle dokudaki enfeksiyonlar, lokal inflamasyonu uyarabilir ve dokuda antijen sunucu hücrelerdeki kostimülatörlerin salınımına neden olarak T hücre anerjisi bozulabilir. Enfeksiyonla gelişen doku yaralanması, self antijenlerde değişikliğe neden olarak yeni antijen oluşumuna yol açabilir. Ayrıca enfeksiyon etkenleri, self antijenlere benzerlik gösteren antijenleri içinde barındırabilir. Böylece, mikroorganizmalara karşı gelişen immün yanıt, self antijenlere karşı reaksiyona da neden olabilir. Bu olay "moleküler benzerlik" olarak adlandırılır (38).

Isı Şok Proteinleri:

Hücreler tarafından strese yanıt olarak sentez edilirler. Görevleri arasında proteinlerin intrasellüler translokasyonlarını kolaylaştırma ve sonuç olarak da ısı, bakteri ve oksijen radikalleri gibi etkenlerden hücreleri korumaları vardır. İnsan IŞP ile bakteri IŞP arasında aminoasit diziliminde moleküler benzerlikler olabilir. İnflamatuvar artritlerde sinovyal hücrelerin IŞP oluşturdukları ve bunların çapraz reaksiyon veren T hücreler ve antikorlar tarafından tanındığı bildirilmektedir (24).

Tip II Kollajen:

RA'lı hastaların serumlarında denatüre tip II kollajene karşı oluşan antikor titresi yüksek bulunmuştur. Anti-kollajen antikorlar RA için özgül değildir. Eklem yıkımı ve inflamasyonun devamında rol oynadıkları düşünülmektedir (24).

2.2.5. Enfeksiyon Etkenleri

Çeşitli bulgulara dayanarak enfeksiyon etkenleri ile otoimmünite ilişkilendirilmiştir. Çoğunlukla viruslar ve bazı bakteriler suçlanmıştır. Viral partiküllerin hücre içinde görülmesi, antiviral antikorların yüksek olması, viral RNA ile reaksiyon veren anti RNA antikorlarının varlığı virusların rolünü desteklemektedir. Enfeksiyon oluşması ile otoimmün hastalığın belirtilerinin başlaması arasında bir zaman geçtiği için patojen ajanı saptamak zordur. Mikroorganizmalar inflamasyonu tetikleyerek, Th1-Th2 dengesini bozarak, T hücre repertuarını değiştirerek ya da moleküler taklit yoluyla otoimmün yanıt oluşmasını kolaylaştırır:

- İnflamasyonun geliştiği dokulardaki hasar self antijen değişikliğine neden olarak yeni antijen oluşumuna yol açabilir. Böylece organizma kendi dokularına karşı reaktif duruma geçebilir.

- Mikrobiyal ajanların yapısal proteinleri konak antijenleri ile benzerlik gösterebilir. Bu durumda immün sistem mikroorganizmaya karşı reaksiyon verirken kendi antijenlerine de reaksiyon oluşturur.

- Th1/Th2 dengesi bozulabilir. Th1 hücre tarafı zayıflar ve denge Th2 tarafına kayarsa humoral immünite artar, otoimmünite gelişmesi kolaylaşabilir. Herpes viruslar, bazı bakteriler ve mikoplazma, IL-10' a benzer protein sentezler. Bu durum immün sistemin Th2 hücre aktivitesinin Th1'e göre üstünlüğünü sağlamış

olur. Otoimmün patoloji oluşmasını da kolaylaştırır. Otoimmün bireylerde Th1 aktivitesinin zayıflaması, bakteri, virus ya da mikoplazma türü enfeksiyonların sık gelişmesine neden olur (57).

Bazı olgularda hastalığın bir enfeksiyondan kısa süre sonra başlaması, bazen de aşılama sonrası gelişmesi nedeniyle RA'nın bir enfeksiyon ajanı ile tetiklendiğine inanılmış ve bu yönde araştırmalar yapılmıştır. Birçok bakteri ve virüsün RA gelişiminde etkili olabileceği ileri sürülmüş ancak kesin kanıtlar bulunamamıştır (4,22).

RA ile enterik bakteriler arasındaki ilişki araştırılmıştır. RA'lı hastalarda artmış oranda IgG tipi *Proteus mirabilis* antikorlarının bulunması, bu mikroorganizmanın da hastalıktan sorumlu tutulup RA'yı tetikleyebileceği düşünülmüştür. Ancak kesin olarak kanıtlanamamıştır (58). *Escherichia coli* DNAj proteini bakteriyel bir ısı şok proteinidir. Bunun barsak enfeksiyonu ile kronik artrit arasında ilişkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. RA'lı hastaların sinovyal sıvı T hücrelerinde bu proteine karşı yanıtın olduğu ve etyolojisinde moleküler benzerliğin rolü olabileceği bildirilmiştir. Çeşitli kıkırdak proteinleri ile mikobakteriyel proteinler arasında immünolojik çapraz reaksiyonların bulunması bu mikroorganizmanın etyolojik faktör olabileceğini düşündürmüştür. Ancak bu hipotezler kesin olarak ispatlanamamıştır (20,22).

Mikoplazmalar olası ajanlar olarak düşünülmelerine rağmen yapılan çalışmalar bu düşünceyi doğrulamamıştır. Ayrıca rubella, lentivirüs, retrovirus, sitomegalovirüsün etyolojik rolleri araştırılmış net bir bağlantı kurulamamıştır. Diğer birçok viral enfeksiyonda olduğu gibi hepatit B enfeksiyonlarında da romatoid faktör pozitifleşebilmektedir. Hepatit B enfeksiyonu geçirenlerin %10-30'unda artrit gelişmektedir. Elde edilen bu bulgular ışığında virüslerin uygun genetik ve daha bilemediğimiz bazı faktörlerin de katkısıyla RA'da tetikleyici olabilecekleri düşünülmektedir (6,22,24,49,55).

RA etyolojisinde yeri olduğu düşünülen ve çalışmamızda karşılaştırdığımız Parvovirus B19, EBV, HSV ve *Chlamydia trachomatis* ile ilgili genel bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

2.3. Parvovirus B19:

2.3.1. Tarihçe

İnsanda hastalık oluşturan ilk *Parvovirus*, Parvovirus B19 olarak tanımlanmıştır. Parvovirus B19 ilk kez 1974 yılında Cossart ve arkadaşları tarafından hepatit B yüzey antijeni araştırılan bir kan vericisinin serumunda saptanmıştır. 1985 yılında Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi tarafından *Parvoviridae* ailesi içinde Parvovirus B19 olarak isimlendirilmiştir (59).

2.3.2.Epidemiyoloji:

Parvovirus B19 tüm dünyada yaygın bir viral enfeksiyon etkenidir. Genel popülasyonda virusa karşı IgG antikorlarının prevalansı 1-5 yaş arası çocuklarda %37 iken, 50 yaş üzerinde erişkinlerde %87 oranındadır. Ilıman iklimlerde sıklıkla kış sonu, bahar ve yaz başında pik yapar. 3-5 yıllık periyotlarla epidemilere neden olur (59,60).

2.3.3. Sınıflandırma:

Parvoviridae ailesi vertebralıları enfekte eden *Parvovirinae* ve böcekleri enfekte eden *Densovirinae* alt ailelerine ayrılır. *Parvovirinae* alt ailesi, *Erythrovirus*, *Dependovirus*, *Parvovirus*, *Andovirus* ve *Bocovirus* olmak üzere 5 gruba ayrılır. *Bocovirus* yakın zamanda tanımlanmış alt solunum yolları enfeksiyonlarının bir etkenidir. Parvovirus B19; eritroid kökenli hücrelerde replike olabilen *Erythrovirus* genusuna dahil edilir. İnsanları enfekte eden yakın zamanda tanımlanmış diğer *Erythrovirus*'lar, daha az görülen genotip-2 ve genotip-3'dür. Parvovirus B19 izolatları arasında genetik değişkenlik DNA düzeylerine göre %2'nin altındadır. Bununla birlikte genotip-1 (Parvovirus B19) ile genotip-2 ve genotip-3 arasında belirgin düzeyde nükleotid değişkenliği vardır (59,60).

2.3.4.Virus Yapısı:

Parvovirus B19 iki kapsomer proteininden oluşan kapsid yapısı ve doğrusal, tek iplikli DNA genomuyla oldukça basit bir yapıya sahiptir. Yaklaşık 22-24 nm çapında ikozahedral simetrik zarfsız viruslardır. Kapsid yapısı 60 kapsomerik ünitelerden oluşur. Parvovirus B19 kapsidi; %4'ünü oluşturan minör viral kapsid proteini VP1 ve % 96'sını oluşturan majör viral kapsid proteini VP2 olmak üzere iki

yapısal proteinden meydana gelir. Yapısal olmayan proteini ise viral replikasyonda rol alan DNA bağlayıcı NS1 proteindir. Parvovirus B19 genomunun protein kodlayan bölgesinde iki büyük iki küçük açık okuma bölgeleri (open reading frame, ORF) bulunur. Major sol uç ORF; translokasyonla erken viral proteinlerden yapısal olmayan NS1'i oluşturur. Major sağ uç ORF ise enfeksiyonun geç dönemlerinde eksprese edilen VP1 ve VP2 yapısal proteinlerini oluşturur (59,60).

Minör kapsid proteini VP1'in yapısı "VP1'e özgül bölge" adı verilen kısım dışında VP2 ile aynıdır. VP1'e özgül bölgesinde virus enfektivitesi için gerekli olan fosfolipaz A2 bulunur. Fosfolipaz A2; fosfolipidleri araşidonik aside parçalar. Araşidonik asitten enflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan prostoglandin ve lökotrienler sentezlenir. NS1 proteini genomda yer alan tek protomer olan P6'yı transaktive eder, hücrel apoptozu indükler ve inflamatuvar sitokin olan IL-6'yı salgılayan genlerin aktivasyonunu yapar (59,60).

X ışını kristallografi çalışmaları, Parvovirus B19'un dış yüzey yapısının diğer parvoviruslardan belirgin çıkıntılar taşımaması ile farklı olduğunu göstermiştir. Küçük DNA genomu ve zarf içermeyen virion yapısı sayesinde Parvovirus B19 fiziksel inaktivasyona yüksek düzeyde direnç göstermektedir. Virus 56°C'de 1 saat stabil kalmakta ve ayrıca lipid çözücülerinden etkilenmemektedir. Virusun inaktivasyonu için formalin, L-propiolakton ya da gama radyasyonu kullanılmaktadır (59,60).

2.3.5. Replikasyon ve Patogenez:

Parvovirus B19'un yaşam döngüsü diğer zarfsız DNA viruslarına benzerlik gösterir. Virus; hedef hücrenin sitoplazmik membranındaki reseptörlere tutunur, hücre içine alınır ve asıl replikasyon bölgesi olan çekirdeğe taşınır. Daha sonra sırasıyla bunu DNA replikasyonu, RNA transkripsiyonu, viral kapsidin oluşması, genomun paketlenmesi ve lizis ile yeni oluşan matür virionların ortama salınması izler (59).

Parvovirus B19'un hücre tropizmi sınırlıdır. Sadece eritroid progenitör hücre nükleuslarında replike olur. Parvovirus B19'u bağlayan hücrel reseptör, kan grubu antijenlerinden P antijeni (glikosfingolipid globosid) olarak tanımlanmıştır. P antijeni eritroid öncül hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edilmekte ve virusun bu hücrelere olan afinitesini açıklamaktadır. Eritrosit yaşam süresi çeşitli nedenlerle

kısalmiş olan virusa duyarlı kişilerde bu durum ciddi aplastik krizlere neden olur. Bunun dışında P antijen reseptörü, beyaz kan hücreleri, trombositler, trofoblastlar, endotel hücreleri, plasenta, fetal hepatosit ve kardiyak myositler gibi birçok hücre tipinde bulunabilir. Bu hücre tipleri de patogeneizde rol alabilir. Fakat bu hücrelerin tümünde virusla enfeksiyon oluşmamaktadır (59,60).

Virusla ilişkili hastalıkların patogenezinin açıklanmasında, Parvovirus B19 enfeksiyonlarında virusa karşı oluşan immün yanıt ve virusun immün sistemin düzenlenmesine olan etkileri önem kazanır. İmmün yanıtla ilişkili olarak virusa karşı özgül IgG antikorlarının ortaya çıkması ile eritema infeksiyozum ve artrit belirtileri belirgin hale gelir. Viral enfeksiyona karşı otoimmün reaksiyonlar da tanımlanmıştır. Parvovirus B19 enfeksiyonuna bağlı oluşan otoantikorlardan anti-VP2 antikorlarının çeşitli otoantijenlerle çapraz reaksiyon verdikleri saptanmıştır. Özellikle romatolojik açıdan izlenen enfekte kişilerdeki VP1'in fosfolipaz A2 benzeri aktivitesinin rol oynadığı anti-fosfolipid antikorlarının varlığı persistan enfeksiyonla ilişkilidir. NS1; IL-6 ve TNF- α artışını indükleyerek artrit ve sinovyal erozyon gibi immünolojik belirtilere neden olur. Poliklonal B hücre aktivasyonu ile enfekte kişilerde saptanabilen artmış otoantikor sentezine de yol açmaktadır (61,62). Parvovirus B19'un direkt sinovyal enfeksiyon yolu ile RA etyolojisinde yeri olduğu düşünülmektedir (6,22,24,55).

2.3.6.Klinik:

Bireyler arasında solunum yoluyla, kan ve kan ürünleri ile parenteral yolla ve anneden bebeğe vertikal yolla bulaş olabilir. Parvovirus B19 enfeksiyonu yaklaşık %25 oranında asemptomatik olarak izlenir. Özgül olmayan grip benzeri semptomlar da görülmektedir. İmmün sistemi sağlıklı kişilerde görülen enfeksiyon genellikle akut ve kendini sınırlayan bir hastalıktır. İmmün sistemi baskılanmış ya da eritrosit yarılanma ömrünün azaldığı bireylerde enfeksiyon kronik hale gelebilir. Bu durumlarda tekrarlayan döküntü, artrit ve kronik anemi bulguları izlenmektedir. Parvovirus B19, AIDS hastalarında görülen "pure-red cell aplazi" nin en önemli nedenidir. Parvovirus B19 enfeksiyonu en sık çocuklarda görülür ve eritema infeksiyozum (5. hastalık) şeklinde ortaya çıkar. Baş ağrısı, ateş, halsizlik, bulantı ve burun akıntısı gibi prodromal belirtilerden sonra ortaya çıkan "tokatlanmış yanak" görüntüsünde fasiyal eritem, hastalığın tipik bulguları arasındadır. Eritrosit yarılanma

ömrünün azaldığı bireylerde geçici aplastik krize neden olabilir. Artropati ile Parvovirus B19 enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar vardır. Artrit/artropati gibi eklem semptomları, yetişkinlerin %33'ünde ve kadınlarda erkeklerden daha yüksek oranda görülebilir. Akut ve genellikle orta şiddette olan eklem belirtileri; eklemde erozif değişiklikler meydana gelmeyen periferik poliartrit şeklindedir. Bu semptomlar genellikle birkaç hafta devam eder ve kendini sınırlar. Ancak bazen aylarca ya da yıllarca kalabilir. Kronik B19 artropatisi görülen hastaların yaklaşık %50'si RA tanı kriterlerini sağlamaktadır (59,60).

Viremi inokülasyondan 6 gün sonra belirlenebilir ve 8-9. günlerde pik yapar. Enfeksiyondan 10-12 gün sonra VP1 ve VP2'ye özgül IgM antikorların ortaya çıkması ile viremi azalır. Kapsid antijenlerine karşı sentezlenen tanısal öneme sahip IgM antikorları, enfeksiyonda ilk oluşan antikorlardır. IgM antikorları enfeksiyonu takip eden 2-3 ay serumda bulunabilir. İnokülasyondan 2 hafta sonra IgG sınıfı antikorlar ortaya çıkmaya başlar ve eritema enfeksiyozumun tipik döküntüleri görülebilir (59,60).

Seronegatif olan gebelerde ortaya çıkan enfeksiyonlar, spontan düşük, ölü doğum, ağır fetal anemi, hepatomegali, non-immün hidrops fetalis ile sonuçlanabilir. Riskin en yüksek olduğu dönem gestasyondan sonraki ilk 20 haftadır. Nedeni bilinmeyen non-immün hidrops fetalislerin %16-18'inden parvovirus B19 sorumludur. Non-immün hidrops fetalisde fetusta anemi, yaygın ödem ve kalp yetmezliği bulguları saptanır (59,60).

2.3.7.Tanı:

Parvovirus B19, hücre kültürlerinde güçlükle üretilebilmektedir. Parvovirus B19'un başarılı replikasyonu, farklılaşmamış, aktif olarak replike olan bir eritroid hücrenin enfeksiyonunu gerektirir. Taze olarak elde edilen fetal kord kanı ve kemik iliği aspirasyon örneklerinde parvovirus B19 üretilebilir. Ancak klinik laboratuvarlarda rutin olarak kullanılması uygun değildir. Parvovirus B19 enfeksiyonlarının tanısında genellikle viral antijenlerin, viral nükleik asitlerin ve virusa karşı gelişen immün yanıtın saptandığı yöntemler kullanılmaktadır. Parvovirus B19 enfeksiyonlarının saptanmasında yaygın olarak yararlanılan yöntem, viral proteinlere karşı sentezlenen IgM ve IgG tipi antikorların gösterilmesidir. Laboratuvarlarda en çok tercih edilen testler ELISA, İmmün Floresan Antikor (IFA)

ve Western Blot testleridir. Bu testler ile akut dönemde VP1/VP2'ye karşı oluşan IgM antikoru, bunu takip eden VP1/VP2 IgG ve NS1-IgG antikoru, ayrıca IgG antikoru'nun aviditesi saptanabilir. Western Blot testlerinde VP1, VP2, ve NS1 antijenleri kullanılır. Ancak kullanılan antijenler denatüre olduğu için bu testin tanısal değeri sınırlıdır. Parvovirus B19 enfeksiyonlarının tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip nükleik asit testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Hibridizasyon yöntemleri yüksek viremi aşamasında tanı için yeterli duyarlılığa sahiptir ancak mililitrede 10^5 genom kopyası'nın altındaki düzeylerde yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, hızlı ve pratik olmasının yanı sıra yüksek duyarlılık ve kantitasyon yapabilme özellikleri ile "Real-time" PCR testleri günümüzde Parvovirus B19 tanısında tercih edilen nükleik asit testleridir (59,60).

2.3.8.Tedavi:

Parvovirus B19 enfeksiyonu spesifik bir tedavi gerektirmez. Bazı olgularda klinik duruma göre anti-enflamatuvar ilaçlar, kan transfüzyonu, kordosentez, intrauterin transfüzyon ve Ig infüzyonu uygulanmaktadır (59,60).

2.4. EBV:

2.4.1. Tarihçe:

Onkogenik potansiyeli tanımlanan ilk insan virusu olan EBV; enfeksiyöz mononükleozisin (EMN) primer etyolojik ajanıdır. 1964 yılında Epstein, Achorg ve Barr tarafından Burkitt lenfomalı hastaların biyopsi örneklerinden yapılan hücre kültürlerinde saptanmıştır. 1966'da Gertrude ve Henle bu virusa karşı antikoru'nun saptanması için IFA testini geliştirmiştir. 1968'de EMN'in etyolojik ajanı olarak tanımlanmıştır. 1970'de nazofarengeal karsinomlu hastalardan alınan doku örneklerinde gösterilmiştir. 1980 yılında Non-Hodgkin lenfomalı hastalarda ve AIDS hastalarının oral hairy lökoplaki lezyonlarında saptanmıştır (63).

2.4.2.Epidemiyoloji:

EBV enfeksiyonunun sıklığı oldukça yüksektir ve dünyanın her yerinde görülebilir. Primer enfeksiyon, düşük hijyene sahip kalabalık topluluklarda yaşamın ilk dekadında görülür. Gelişmiş ülkelerde toplumun %50'si puberteye kadar seropozitif olmaktadır. Aile içi bulaşma sıklığı yüksektir. İmmün yetmezliği olan

olgular dışında kan ürünleri ile bulaşma klinik olarak önemli değildir. Çocukluktaki primer enfeksiyonlar çoğunlukla asemptomatiktir. Genç erişkinlerde ise primer enfeksiyonların çoğu klasik EMN'ye benzer tabloda, klinik şiddeti değişkenlik gösteren ve kendini sınırlayan lenfoproliferatif bir hastalıktır. EBV suşları, EBV nükleer antijeni (EBNA) genindeki polimorfizme göre tip A ve tip B olarak sınıflandırılırlar. Çalışmalarda tip A'ya tip B'den daha sık rastlandığı ve EMN'de baskın tip olduğu gösterilmiştir. Her iki tip ile ikili enfeksiyona da rastlanmaktadır. İmmün yetmezliği olan kişilerde çoklu EBV suşları ile ko-enfeksiyonlar gösterilmiştir (63,64).

2.4.3. Sınıflandırma:

İnsan Herpes Virus-4 olarak bilinen EBV, *Herpesviridae* ailesinin *Gammaherpesvirinae* alt ailesinin bir üyesidir (64).

2.4.4. Virus Yapısı:

EBV; 180-200 nm çapında, 162 kapsomere sahip, çift iplikli ikozahedral simetrik kapsidi olan, lipitten zengin bir zarfla çevrelenen herpesvirus morfolojisine sahip DNA virüsüdür. Olgun virionda lineer, latent enfekte hücrelerde sirküler ve epizomal yapıda çift sarmal DNA içerir. Lineer genomun sonunda, tekrarlayan iki terminal bölge arasında DNA sekans bölgeleri bulunur. Bu terminal tekrarların çeşitli kombinasyonlarda birleşmesi ile çembersel yapılaşma oluşur. EBV-DNA'nın konak hücre kromozomal DNA'sına dahil oluşu başlıca lenfoblastoid hücrelerde gösterilmiştir (63,64).

2.4.5. Replikasyon ve Patogenez:

EBV; primer olarak B lenfositlerini ve diğer hücreleri CD21 (CR2 veya C3d) reseptörleri aracılığıyla enfekte eder. B hücreleri EBV'nin latent kaldığı yerdir. Reseptörü eksprese etmeyen epitel hücreleri ise projeni virusu üreten başlıca yerlerdir. B hücrelerinde EBV nükleer antijenlerinin (EBNA), EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3, EBNA-4, EBNA-5, EBNA-6 ve latent membran proteinlerinin (LMP-1, 2A ve 2B) ekspresyonu olur. EBV tükürük ve cinsel ilişki yoluyla bulaşır. B lenfositler, tükürük bezi ve farinks epitel hücrelerine tropizm gösterir. Oral kavite, parotis kanalının epitel hücreleri ve orofarinks skuamoz epitel hücrelerinde EBV

DNA'sı gösterilmiştir. Bu bölgeler virusun replikasyon ve salınım yeri olarak kabul edilir. Vajinal-servikal hücrelerde, nazofarinks kanseri ve T lenfoma hücrelerinde de EBV'nin gösterilmesi, CD21'in B hücreler dışında başka hücrelerde de olabileceğini veya EBV'nin bu reseptör dışında başka yollarla da hücreye girebileceğini düşündürmektedir (64-66).

EBV litik, persistan, latent ve transformasyona neden olan enfeksiyonlara yol açar. EBV çoğaldığı hücrede sitopatik etki yapmaz. Kromozomuna EBV genomu entegre olan hücre, sürekli çoğalma özelliği kazanarak transforme hücreye dönüşür. Virus; prekürsör ve olgun B lenfositlerini, lenfoblastoid hücre dizilerine transforme etme yeteneğindedir. Virusla enfekte olan B lenfositlerde antijen uyarısı olmuş gibi bir dizi cevap başlar. Burada nükleer antijenler ve membran proteinlerini içeren latent proteinler görev alır ve B lenfositleri aktiveleştirir (64-66).

Litik dönemde B lenfositlerinin EBV ile enfeksiyonu hücre ölümüyle sonlanır. EBNA litik dönemde ilk görülen antijendir ve viral DNA varlığını gösteren immünolojik bir belirleyicidir. Early antijenlerin (EA) oluşması ile viral DNA sentezi başlar. EA'nın hücre çekirdeğinde ve sitoplazmasında diffüz (D) ve sınırlı (R) olmak üzere iki komponenti vardır. EBV DNA'sının oluşması viral kapsid antijeni (VCA) yapımına yol açar. Tam virus oluşumunu hücre lizisi izler. VCA, virusun çoğaldığı hücrelerde en fazla saptanan proteindir (64,65,67).

B hücrelerinde, latentlikle ilgili proteinlerin ekspresyonuna göre üç tip latentlik tanımlanmıştır. EBNA-1 hepsinde bulunan bir proteindir. Ayrıca latent B hücrelerinin hepsinde EBER-1 ve EBER-2 olarak bilinen, yüksek sayıda kopyalanan, EBV'nin kodladığı RNA'lar vardır. Bunlar fonksiyonları tam olarak tanımlanmamış, poliadenillenmemiş RNA'lardır. EBV'nin latent enfeksiyonu daha sık görülür. EBNA-1 proteininin *oriP* adlı viral başlatıcıya bağlanması ile B hücrelerinin latent enfeksiyonu gerçekleşir. EBNA-1 ayrıca EBNA-2'nin oluşumunu sağlayarak onun da LMP-1 ve LMP-2 üretimini başlatmasına sebep olur. LMP-1; bir çok hücreler arası adezyon proteinleri ve CD23'ün sentezlenmesini sağlar. LMP-1 morfolojik olarak epitel ve B hücrelerini transforme eder. Ayrıca bcl2 upregülasyonu ile apoptozu engeller. Bu şekilde LMP-1, EBV'ye bağlı onkogeneze önemli bir rol oynar. Latent formda birçok gen kopyaları içeren yeni transforme hücrelerin bir

kısmı yaşam boyu dolaşımında kalırken, bir kısmı T lenfositlerince parçalanır. Bir kısmı da spontan litik siklusa girerek antikor yanıtına neden olabilir (64-67).

Reaktivasyonun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Forbol esterleri, nitrosamidler, sodyum bütirat, primidinler gibi bazı kimyasalların reaktivasyonu tetiklediği bilinmektedir. Latent durumdaki hücrenin yeniden litik siklusa girmesi EBV enfeksiyonunun reaktivasyonu ile sonuçlanır. Bu süreçte pek çok litik viral protein ekspres olarak immün sistemi inhibe eder ve EBV'nin çok erken geni aktive olur. Bunu viral replikasyondan sorumlu olan EA ve VCA üretimi ile yeni virionların yapılması izler. Sonuçta litik siklus gelişir (64-67).

EBV enfeksiyonuna karşı hem humoral hem de hücrel immün yanıt gelişmektedir. Hücrel immünite yardımcı ve supresör T hücreler ile NK hücrelerini içerir. B hücre proliferasyonunu ve aktivasyonunu durdurmak amacıyla CD8+ sitotoksik T hücrelerin artışı uyarılarak T helper/T supresör oranında geçici bir ters dönme olur. EBV enfeksiyonunda karakteristik olan atipik lenfositozu (Downey hücresi) oluşturan bu CD8+ sitotoksik T hücrelerdir. Aynı zamanda EMN'deki belirti ve bulgulara da sebep olan TNF, IL-6 ve IL-1 gibi sitokinlerin çoğunu salgılayan da bu T lenfositlerdir. EMN'de EBV spesifik CD4+ lenfositlerde de hafif artış saptanmıştır ancak bunun klinik önemi olup olmadığı bilinmemektedir (64,68).

EBV; RA etyolojisinde düşünülen etkenlerden biridir. Bunun nedeni HLA-DR4 ile EBV'ye ait glikoprotein 110 arasındaki moleküler benzerlik olmasıdır. Bu özellik paylaşılan epitop olarak tanımlanır. Ayrıca RA'lı hastalarda EBV gp110 proteinine T hücre yanıtının azaldığı gözlenmiştir. Bu proteine karşı T hücre yanıtının azalması enfeksiyonun kontrolünü güçleştirmektedir. EBV gp110 EBV replikasyonunun kontrolünde önemli rolü olan bir proteindir (6,22,24,49,55,69).

2.4.6.Klinik:

Primer EBV enfeksiyonları, özellikle erken çocukluk döneminde genellikle asemptomatik geçirilir. Gençlerde görülen primer enfeksiyonların %50'sinde hafiften ciddiye kadar değişen, kendini sınırlayan lenfoproliferatif bir hastalık olan klasik EMN tablosu gözlenir. Primer EMN enfeksiyonunun klinik bulguları genellikle immünopatolojiktir. Klinik olarak birçok hastada boğaz ağrısı, ateş ve lenfadenopati vardır. İnkübasyon süresi 30-50 gündür. Retroorbital baş ağrısı, miyalji ve karında doluluk hissi diğer sık prodromal belirtilerdir. Boğaz ağrısı en sık şikayettir ve

hastanın daha önce yaşadıklarının en şiddetlisidir. Hastalarda %3-20 sıklıkta, genellikle gövde ve kollarda görülen, maküler, peteşiyal, skarlatiniform, ürtiker tarzı veya eritema multiforme benzeri döküntü görülür. Döküntü ilk birkaç günde başlar ve 1-6 gün sürer. EMN'li hastalarda ampisilin verilmesiyle %90-100 oranında kaşıntılı, makülopapüler bir döküntü olduğu ve bunun ilacın verilmesinden 5-10 gün sonra görülüp ayak tabanı ve avuç içi dahil vücuda yayıldığı bildirilmektedir. Klinik tablo 1-4 hafta sürmektedir (64,65,67).

Komplikasyonlar sık görülür ve bazen primer enfeksiyonun tek belirtisi olabilir. Çok nadir olarak dalak rüptürü, sınırlanamayan enfeksiyon ve lenfohistiyositoz nedeni ile ölümcül seyredebilir. İmmün yetmezliği olan hastalarda primer enfeksiyon sıklıkla ağır ve ölümcül seyreder. İmmün yetmezliği olan hastada, EBV reaktivasyonları bir dizi lenfoproliferatif hastalık ile ilişkilidir. Fetal EMN enfeksiyonundan lenfomaya kadar değişen klinik ile karşılaşılabilir. Bazı tümörlerin etyolojisi EBV ile ilişkili bulunmuştur. Endemik Burkitt lenfoma ve nazofaringeal karsinomlarda %95'in üzerinde, Hodgkin hastalığının %40-50'sinde, gastrik adenokarsinomların %2-6'sında, T/NK lenfomaların %90'ından fazlasında ve lenfoepitelioma benzeri karsinomların %44-93'ünde tümör hücrelerinde EBV genomu saptanmıştır (64).

2.4.7.Tanı:

EMN kliniği gösteren vakaların yaklaşık %70'inde lenfositoz görülür. Periferik yaymada %10-20 oranında Downey hücrelerine rastlanabilir. EMN dışı birçok enfeksiyonda da Downey hücre olarak tanımlanan bu atipik lenfositler görülebilir. Ancak EMN dışı diğer EBV enfeksiyonlarında Downey hücresi görülmez. Trombositopeni, anemi ve karaciğer enzimlerinde yükselme sık karşılaşılan bulgulardır (65,67).

EMN hastalarında yaklaşık %90 vakada Paul ve Bunnell tarafından tanımlanmış koyun eritrositlerini aglutine eden heterofil antikorlara rastlanır. Klasik EMN geçiren hastalarda bu antikorları göstermek tanı koydurucudur. Spesifik EBV antijenlerine karşı oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon göstermezler. Klinik ile beraber $>1/40$ titrede heterofil antikor varlığı EMN'nin bir göstergesidir. Son zamanlarda heterofil antikorların saptanması için in-house Paul- Bunnell testlerinin

yerine %80-85 doğru sonuç veren hızlı kalitatif aglütinasyon veya immünokromatografik testler tercih edilmektedir (64,65,67).

Primer EBV enfeksiyonunun tanısı için tercih edilen, EBV antijenlerine spesifik antikörlerin saptandığı serolojik testlerdir. Serum örnekleri ELISA veya IFA yöntemleriyle çalışılabilir. Birçok olguda serolojik tanıda tek bir serum örneği yeterlidir. EBV için serolojik yöntemlerle VCA IgM, VCA IgG, bazen de VCA IgA, erken antijenin yaygın komponentine karşı EA/D IgG, erken antijenin restriktif komponentine karşı anti EA/R IgG ve EBNA IgG antikörleri saptanmaktadır. VCA IgM 4 haftadan sonra kaybolmaya ve VCA IgG düzeyleri de düşmeye başlar. Ancak, VCA IgG hayat boyu kalır ve varlığı EBV seropozitifliğinin en güvenilir parametresidir. EBNA'ya karşı antikörler genellikle hastalığın 2. ile 4. ayları arasında pozitifleştikten sonra ömür boyu serumda bulunurlar. EBV serolojik profillerine göre; anti VCA(-) ise duyarlıdır. VCA IgM akut enfeksiyonda tanı koydurucudur. Akut enfeksiyon dışında kronik enfeksiyon ya da reaktivasyonda saptanamaz. EBNA'ya karşı antikörlerin bulunması hastalığın akut fazda olmadığını gösteren önemli bir göstergedir. Anti VCA(+) ve anti EBNA(-) ise primer enfeksiyondur. Anti VCA IgG ve anti EBNA(+) ise geçirilmiş enfeksiyondur. Yeni veya reaktive enfeksiyon tanısında anti EA-D çok yararlıdır. Anti EBNA negatif iken anti EA varlığı primer enfeksiyonu; anti EBNA(+) iken anti EA'nın da (+) olması ise reaktive olmuş eski enfeksiyonu gösterir (64,65,67).

EBV için hücre kültürleri rutin bir işlem değildir ancak araştırma amaçlı kullanılmaktadır. EBV izolasyonu için taze ayrılmış insan kordon kanı lenfositleri, hücreden arındırılmış ve filtre edilmiş tükrük veya boğaz çalkantı örneği ile inoküle edilerek 4 hafta izlenir. EBV'yi serum veya patolojik materyallerde göstermek için en spesifik yöntem nükleik asit hibridizasyonudur. Bunun için Southern hibridizasyon, in situ hibridizasyon ve PCR yöntemleri kullanılmaktadır (64,65,67).

2.4.8.Tedavi:

EMN genellikle kendiliğinden düzelir. Özel durumlarda destekleyici tedavi, antiviral ajanlar veya kortikosteroidler ile tedavi gerekli olabilir. Antivirallerin yararlı etkileri ile ilgili yeterli delillerin olmamasına rağmen, EBV ile ilişkili malignitelerin tedavisinde immünomodülasyonun nükleozid analogları ile kombinasyonu tercih edilen bir yaklaşımdır. Tümörlerde EBV'nin varlığının

gösterilmesi tedavi edici yaklaşımları belirlemede de yararlı olmaktadır. EBV enfeksiyonunun önlenmesi için hijyen şartlarının ve sosyoekonomik koşulların düzeltilmesi önemlidir (64,65).

2.5. Herpes Simplex Virus I ve II:

2.5.1. Tarihçe:

Herpesvirusların konakları ile birlikte evrimleştikleri düşünülmektedir. Herpes tanımı; değişik nedenlere bağlı olarak deride sinsice gelişen ve yayılım gösteren yaraları tarif etmek için milattan öncesinden beri kullanılmıştır. Romalı bilgin Herodotus ağızdaki lezyonlar ve dudak vezikülleri ile ateş arasındaki ilişkiyi “herpes febralis” olarak isimlendirmiştir. HSV'nin enfeksiyon oluşturma özelliği ilk olarak 1919'da gösterilmiştir. Andrews ve Carmichael 1930'da HSV'ye karşı nötralizan antikorların varlığını daha önce enfekte olmuş erişkinlerin kanında göstermişler ve bu kişilerde tekrarlayan herpetik hastalığın meydana geldiğini bulmuşlardır. Birkaç yıl sonra, virüsün izole edildiği anatomik bölgenin genellikle antijenik tipte uygunluk gösterebileceğini belirtmişlerdir. 1960'larda antijenik farklılık gösteren suşlar tanımlanmıştır (70,71).

2.5.2. Epidemiyoloji:

HSV enfeksiyonları mevsimsel farklılık olmadan tüm dünyada görülmektedir. Doğal rezervuarları insandır. Virus, enfekte sekresyonlarla direkt temas yolu ile bulaşır. İnkübasyon süresi 1-26 gün arasında değişmektedir. HSV-1 ve HSV-2 dünyada yaygın olarak bulunan viruslardır. HSV-1 enfeksiyon sıklığı çocukluktan itibaren zamanla artar ve daha sonraki yıllarda %80'in üzerine çıkar. HSV-2 seroprevalansı erişkin döneme ve cinsel hayatın başlamasına kadar düşüktür. ABD'de HSV-2 enfeksiyon sıklığı erişkinlerde %22 oranında görülmektedir (70,71).

2.5.3. Sınıflandırma

HSV-1 ve HSV-2; *Herpesviridae* ailesinin *Alphaherpesvirinae* alt ailesi içinde Varicella-Zoster virus ve Herpes B virus ile birlikte yer almaktadır (71).

2.5.4. Virus Yapısı:

Lineer çift sarmallı DNA içerir. HSV virionu 120-300 nm çapındadır. DNA içeren elektrondan yoğun merkez kısmı ve bu merkezi çevreleyen 162 kapsomerden oluşan ikozahedral kapsidi vardır. Bağlanma, penetrasyon ve immün kaçışta rol oynayan viral glikoproteinleri içeren çıkıntılı zarf ile çevrili tegument tabakası mevcuttur. HSV-1 ve HSV-2'nin protein kodlayan bölgelerinde %83 oranında nükleotid benzerliği vardır. Glikoproteinlerden gB, gD, gH virüsün hücreye bağlanması ve girişi için önemlidir. Ayrıca nötralizan antikorların bağlandığı major epitoplara taşırlar. Glikoprotein B ve D nötralizan antikorlara karşı esas epitoplara taşırlar ve virüsün hedef hücreye tutunmasını sağlarlar. Enfeksiyon gelişiminde önemli rol oynayan glikoprotein G'nin HSV-1 ile HSV-2 arasında yapı ve antijenitesi çok az değişir. Bununla birlikte Glikoprotein G antijenik özgülüğü belirlediği için HSV-1 ve HSV-2 arasında antijenik cevapla ayrımı sağlanır (70,71).

Virüsün yarılanma ömrü 37°C'de 1,5-3 saattir. Viral zarf lipid açısından zengin olduğu için eter, kloroform, formaldehit ve alkolde kolayca inaktive olur. Tripsin, proteaz, aminopeptidaz gibi proteolitik enzimlerin çoğuna ve ultraviyoleye duyarlıdır. Virüs pH 4'ün altında, pH 10.5'in üstünde, 56°C'nin üstündeki sıcaklıklarda inaktive olur (70,71).

2.5.5. Replikasyon ve Patogenez:

HSV genellikle fibroblast ve epitelyal hücrelerin litik enfeksiyonuna sebep olur. Nöronlarda ise latent enfeksiyona yol açar. HSV'nin her iki tipine ait reseptörler benzer hücrelerde bulunur ama farklı yapılara bağlanırlar. Virusun çoğalması hücre tipine özgü konak reseptörleri aracılığı ile hedef hücreye bağlanmasıyla başlar. Bağlandıktan sonra virus zarfı hücre zarfı ile birleşir ve kapsid hücre içine salınır. Genomun transkripsiyonu ve replikasyonu nükleusta olur ve çok erken, erken, geç olmak üzere üç fazdan oluşur. Viral proteinlerin sentezi sitoplazmada olur. Çok erken gen ürünleri DNA sentezini stimüle eden ve erken viral genlerin transkripsiyonunu başlatan DNA bağlayan proteinlerdir. Latent enfeksiyon sırasında virüs replikasyonu çok erken fazdan sonra ilerlemez. İlk sentez edilen glikoproteinler gB ve gD, sınırsız oluşumu için gereklidir ve virüsün hücre içinde yayılımını uyarırlar. HSV'nin sınırsız suşları enfekte hücrelerin füzyonuna sebep

olup hücreden hücreye yayılır. Virüs uzun süre hücreye bağlı kalabilir. Çoğalma döngüsü epitel hücrelerinde 20 saatte tamamlanır (70,71).

HSV deri ve mukoza membranlarından vücuda girer. Genellikle lokalize enfeksiyon yapar. İmmün düşkün kişilerde viremi oluşabilir. Akut herpes enfeksiyonlarının karakteristik patolojik değişiklikleri; çok nükleuslu dev hücreler, epitel hücrelerinin balon dejenerasyonu, ödem, fokal nekroz ve eozinofilik Cowdry A tipi inklüzyon cisimcikleridir. Epitel hücrelerinin lizisi vezikül oluşumu ile sonuçlanır. Lezyon daha sonra püstüler hale gelir ve kabuk oluşur. Virus lezyon tabanındaki hücrelerden veya vezikül sıvısından izole edilebilir. Genellikle skar bırakmadan lezyon iyileşir. HSV-1 ve HSV-2, primer enfeksiyondan sonra geri aksonal akım ile dorsal kök ganglionlarına ulaşır. Burada ikinci bir üreme ve daha sonra latent enfeksiyon gerçekleşir. Stres, lokal travma, ateş, güneş ışığı, hormonlar, menstruasyon gibi çeşitli uyaranların etkisi ile virusa karşı antikorların bulunduğu kişilerde HSV aktive olur ve tekrarlayan enfeksiyonlar meydana gelir. HSV-1 trigeminal ganglionda latent kalır ve deri, mukoza ve korneal epitel gibi ektoderm kökenli dokuların genellikle trigeminal sinir ile innerve olduğu bölgelerinde enfeksiyon oluşturur. HSV-2 ise daha çok genital mukozada enfeksiyona neden olup sakral gangliyonda latent kalır (70,71). HSV; RA'da rolü olduğu düşünülen viruslar arasındadır. Ancak patojenik rolleri kesin olarak belirlenmemiştir. Artritli eklemlerde bulunabilmeleri, viral genom içeren veya diğer enflamatuvar hücrelerin migrasyonu ile ilgili olabilir (6,22,24,49,55).

2.5.6.Klinik:

HSV-1 ve HSV-2' ye bağlı enfeksiyonlar primer ve tekrarlayan enfeksiyonlar şeklindedir. HSV'nin primer enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir. En önemli özelliği insanda latent duruma geçme eğilimi ve düzensiz aralıklarla aktive olmasıdır. Primer HSV-1 enfeksiyonu erken çocukluk döneminde genellikle subklinik veya asemptomatiktir. Gingivostomatit, ateş ve submandibular lenfadenopati görülebilir. Erişkinlerde farenjit ve mononükleoz gözlenir. Keratokonjunktivit ve herpetik dolama primer HSV-1 enfeksiyonlarında diğer sık görülen klinik formlardır. Özellikle HSV-1'de artrit görülebilir. Tipik deri lezyonundan 3-4 gün sonra başlar ve genellikle iki hafta süren monoartrit gözlenir. HSV-2'nin neden olduğu primer enfeksiyon ise genital herpestir (70,71).

HSV, ölümcül sporadik ensefalitin en sık nedenidir. Tedavi edilmediği durumlarda mortalitesi %70'i geçmektedir. Primer herpes enfeksiyonu veya tekrarlayan mukokutanöz HSV enfeksiyonu olan hastalarda oluşabilir. Erken tedavi morbidite ve mortaliteyi azaltmaktadır. Ancak kalıcı sekeller sık görülmektedir. Yenidoğanlar hariç olguların tümünün etkeni HSV-1'dir. Klinik görünüm virüsün frontoorbital ve temporal korteksi tutmasına bağlı olarak gelişir. HSV-1 veya HSV-2 ile menenjit nadiren görülür. Ensefalite göre daha hafif seyreder. Bağışıklık sistemi yeterli olanlarda kendiliğinden ve sekel bırakmadan iyileşebilir. HSV enfeksiyonu olan annelerin bebeklerinde MSS enfeksiyonları, jeneralize enfeksiyonlar, deri, göz ve ağız enfeksiyonlarına neden olabilir ve mortalitesi yüksektir (70,71).

Tekrarlayan HSV enfeksiyonlarından en sık görüleni herpes labialistir. Yineleyen herpes enfeksiyonları vücudun diğer bölgelerinde de görülebilir. Bazı durumlarda da ağız salgılarında bulunan HSV-1'in aspire edilmesi ile solunum yollarında enfeksiyon yapabilir. İmmünsüpresif hastalarda suçiçeğini taklit eden yaygın deri döküntüleri oluşabilir. İmmünsüpresif hastalarda özofajit görülebilen diğer hastalıklardandır. Yenidoğan bebeklerde, immünsüpresif ve beslenme yetersizliği olan hastalarda dissemine HSV enfeksiyonu olabilir (70,71).

2.5.7.Tanı:

HSV tanısında örneklerin direkt incelenmesi, virüs izolasyonu, serolojik testler ve nükleik asit hibridizasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Herpes virus varlığı vezikül sıvısı, boğaz çalkantı suyu, boğaz sürüntüsü, tükürük, vajinal sekresyon, BOS, idrar, konjonktival sürüntü, lökositler ve organlardan alınan biyopsi örneklerinde araştırılabilir. Tzanck testi adı verilen direkt inceleme yönteminde lezyonların taban kazıntısından alınan örnekler Giemza ve Wright ile boyanarak tespit edilir. Bu yöntemle çok çekirdekli dev hücreler görülür (71).

Klinik örneklerde özgül HSV antikorları immunofloresan ve ELISA yöntemleri ile araştırılabilir. Bu yöntemlerle geçirilmiş HSV enfeksiyonu IgG titresine bakılarak belirlenebilir. HSV-IgM antikorları en çok yenidoğan enfeksiyonlarında tanıya yardımcıdır. HSV-1 ve HSV-2 arasında çapraz reaksiyon görülmesi tanıda sorun yaratabilir. Tekrarlayan HSV enfeksiyonlarında ise antikor titresini her zaman yükselmeyeceği için anlamlı değildir (71).

Herpes viruslar en iyi insan diploid fibroblast hücrelerinde (WI-38, MRC-5), Afrika yeşil maymun böbrek (Vero), Hep-2 hücrelerinde üremektedirler. HSV izolatlarının %95'i 5. günde sitopatik etki oluşturur. Enfekte hücrelerde sitoplazmik granülasyon oluşur, daha sonra hücreler büyür, yuvarlaklaşır ve refraktil şekle dönüşürler. İntranükleer inklüzyon cisimcikleri görülür. Günümüzde daha hızlı ve daha duyarlı olduğu için PCR yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır (71).

2.5.8.Tedavi:

HSV enfeksiyonlarının tedavisinde geliştirilen birçok antiviral ilacın hiçbiri latent herpes virusuna etki edememektedir. Günümüzde en çok kullanılan ajan asiklovir, hem HSV-1 hem de HSV-2'ye etkilidir. Ayrıca tekrarlayan herpes enfeksiyonlarında asiklovir yıllarca kullanılabilir. Asiklovire direnç gelişen hastalarda vidarabin ve foskarnet tedavisi uygulanabilir (70,71).

2.6. *Chlamydia trachomatis*:

2.6.1. Tarihçe:

Mısır'da yazılmış olan Eber papirüslerinde *C. trachomatis*'in neden olduğu trahoma ait bilgilere rastlanmaktadır. Halbersteadter ve Von Prowazek 1907 yılında trahom enfeksiyonundan aldıkları konjonktiva örneğini Giemsa ile boyayarak intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerini tespit etmişlerdir. Servikal ve üretral örneklerde, epitel hücrelerinde inklüzyon cisimciklerini göstermişlerdir. Bunun sonucunda trahom ve genital enfeksiyonlara aynı etkenin neden olabileceği görüşünü bildirmişlerdir. *C. trachomatis*'in izolasyonu ilk kez Lenfogranüloma Venerum (LGV)'lu bir hastadan yapılmıştır. Tang ve arkadaşları 1957 yılında embriyonlu yumurtanın sarı kesesinde *C. trachomatis*'i üretmişlerdir. 1965 yılında ise Gordon ve Quan, ilk kez hücre kültüründe *C. trachomatis*'i üretmeyi başarmışlardır (72,73).

2.6.2.Epidemiyoloji:

C. trachomatis gelişmiş ülkelerde en yaygın cinsel yolla bulaşan hastalık etkenidir. Dünyada ortalama her yıl 90 milyon kadar yeni *C. trachomatis* ile enfekte vaka görülmektedir. ABD'de 2004'te yaklaşık 1 milyon enfeksiyonda *C. trachomatis* etken olarak gösterilmiştir. Kadınlarda enfeksiyon genellikle subklinik veya asemptomatik seyrederek ve persistans gösterir. Bu nedenle enfekte kadınlar önemli bir

rezervuardır. Trahom, aile bireyleri ve aynı ortamda yaşayan aileler arasında kötü hijyenik koşullarda kolaylıkla bulaşabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, dünyada *C. trachomatis*'in neden olduğu trahom kaynaklı önlenebilir körlüğe sahip 1,3 milyon kişi olduğunu bildirmişlerdir (72-74).

2.6.3. Sınıflandırma:

C. trachomatis; *Chlamydiales* takımında *Chlamydiaceae* ailesinin içinde *Chlamydia* cinsinde yer alır (72-74).

2.6.4. Bakteri Yapısı:

Klamidyalar hareketsiz, zorunlu hücre içi mikroorganizmalardır. Yaklaşık 1200 kb büyüklüğünde çift iplikli çembersel bir yapı gösterirler. Mikoplazmalardan sonra bilinen en küçük prokaryotik genoma sahiptirler. Hücre duvarlarında diğer bakterilerden farklı olarak daha düşük endotoksik aktiviteye sahip bir lipopolisakkarit bulunmaktadır. Hücre duvarlarında muramik asit bulunmaz. Lipopolisakkarid ve çeşitli membran proteinlerinden oluşmuş iç ve dış membranları vardır. Protein ağırlığının yaklaşık %60'ını oluşturan *ompA* geni tarafından kodlanan major dış membran proteini, dış membranlarının önemli bir yapısal elemanıdır. Major dış membran proteinlerinde değişken parçaların bulunması, çok sayıda serovarin oluşmasına ve enfeksiyonların farklı klinik tablolarla seyretmesine neden olur. Klamidyalarda peptidoglikan tabaka yoktur. Bakterilerde olduğu gibi RNA ve DNA'yı bir arada bulundururlar. Ortadan ikiye bölünerek çoğalırlar. Viruslardan farklı olarak ribozomları bulunmaktadır. Bağımsız olarak üremelerini sağlayacak yeterli enerjiyi üretme yeteneğinden yoksun olduklarından sadece konak hücre içinde çoğalabilirler (72-74).

2.6.5. Replikasyon ve Patogenezi:

Kendine özgü yaşam siklusu klamidyaları diğer bütün bakterilerden ayırmaktadır. Bu farklılık laboratuvar tanısında, klinik seyrinde ve tedavisinde önemli sonuçlara neden olmaktadır. Bu döngüde elementer ve retiküler cisimcik olarak bilinen yapılar oldukça önemlidir (72-74).

Elementer cisimcik yaklaşık 0,3 µm büyüklüğündedir. Metabolik bakımdan inaktiftir. Merkezinde elektron yoğun bölge bulunmaktadır. Elementer cisimcik; bakterinin hücre dışı ortamda çoğalmadan canlılığını sürdürebilen enfeksiyöz

formudur. Konak hücresi dışında kısa süre canlı kalabilir. Konak hücreye girene kadar metabolik olarak inaktif ve dış koşullara dayanıklıdır. Konak hücre yüzeyine tutunması ile enfeksiyon başlar (72-74).

Retiküler cisimcik; yaklaşık 1 µm büyüklüğündedir. Konak hücre dışında yaşamını sürdüremez ve enfektif özelliği yoktur. Merkezinde elementer cisim gibi elektron yoğun bölge bulundurmaz. Metabolik yönden aktiftir. Bu nedenle yapısında çok sayıda ribozom bulundurur. Elementer cisimciklerde RNA ve DNA eşit orandadır. Retiküler cisimcikler ise DNA'dan 4 kat daha fazla RNA içermektedir. Retiküler cisimciklerin dış zarı, elementer cisime göre daha geçirgen özelliktedir. Bu özelliği metabolik aktivitesi için gerekli olan molekülleri konak hücreden almasını kolaylaştırır (72-74).

Elementer cisimcikler konak hücreye girdiklerinde metabolik yönden aktif ve ortadan ikiye bölünerek çoğalan retiküler cisimciklere dönüşürler. Bu olay sürekli büyüyen ve hücre içi inklüzyon cisimciklerine dönüşen vakuoller içinde gerçekleşir. Klamidyaların gelişim sikluslarının sonunda retiküler cisimcikler yeniden elementer cisimciklere dönüşür. 48-72 saat sonra enfeksiyonun oluşumuna katılmak üzere yüzlerce elementer cisimcik konak hücresinden salınır. *C.trachomatis*'in etkiledikleri hedef hücreler özellikle göz, genital bölge ve solunum sistemi epitel hücreleridir. Reseptör aracılı endositoz ile hücreye girer. *C.trachomatis*'e karşı hem hücresel hem de humoral yanıt oluşur. Enfekte epitelyal hücrelerden salınan IL-8 ve diğer proinflamatuvar sitokinler nötrofil cevabını uyarır. Proinflamatuvar sitokinleri indükleyen predominant klamidyal antijenin lipopolisakkarid olduğu düşünülmektedir. Klamidyalar bazen apoptozu uyarabilir, bazı durumlarda ise inhibe edebilirler. Bu da klamidyaların canlı kalabilmek için hedef hücrenin ölümü ile ilgili biyokimyasal yolları değiştirebildiklerini göstermektedir. (74,75).

C. trachomatis enfeksiyonlarında akut asimetrik oligoartrit bulgusu gözlenen HLA B27 ile ilişkili reaktif artrit görülebilir. *C. trachomatis*'in süperantijenler yolu ile sitokin üretimini arttırarak artriti tetiklediği veya şiddetlendirdiği sanılmaktadır. Bu nedenle RA etyolojisinde etken olduğu düşünülmektedir Ancak rolü kesin olarak saptanmamıştır (6,22,24,49,55).

2.6.6.Klinik:

C. trachomatis'in A, B, Ba ve C serotipleri trahom enfeksiyonuna neden olur. Trohom; özellikle üst göz kapağında bulunan, bulaşıcı ve kornea lezyonları nedeniyle körlükle sonuçlanabilen kronik bir folliküler keratokonjonktivittir. Görme kaybına neden olabilir. *C.trachomatis*'in D-K serotipleri genital sistem enfeksiyonları ile ilgilidir. Nongonokoksik üretrit en sık nedenidir. Enfekte annenin doğum kanalından yenidoğan bebeklere bulaşır. Bebeğe konjonktivit ile birlikte bazen pnömoniye neden olabilir. Tedavi edilmezse, skar ve korneal vaskularizasyon gelişebilir. *C.trachomatis*'in L1, L2, L2a, L2b ve L3 serotipleri gelişmiş ülkelerde nadir görülen ama Afrika, Asya, Güney Amerika ve Karayipler'de endemik olan LGV enfeksiyonuna neden olur. LGV; süpüratif inguinal adenit ile kendini gösteren ve cinsel ilişki ile bulaşan bir hastalıktır (72-75).

2.6.7.Tanı:

C. trachomatis enfeksiyonunun laboratuvar tanısı için alınacak örneğin tipi, hangi anatomik bölgeden alınacağı, klinik tabloya ve uygulanacak laboratuvar yöntemine bağlıdır. Hücre kültürlerinde etkenin izolasyonu, direkt fluoresan antikor, indirek mikroimmunofluoresan (MIF), ELISA ve nükleik asit amplifikasyon yöntemleri tanıda kullanılabilir (74).

Hücre kültüründe genellikle McCoy veya HeLa hücreleri kullanılmaktadır. Gram, Giemsa ve iyodin gibi boyalar, fluoresan antikor ile boyama tekniğine göre düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip oldukları için tercih edilmez. İntrastoplazmik inklüzyonları, major dış membran proteinine özel fluoresan boya ile işaretlenmiş monoklonal antikorlarla boyanarak gösterilirler. Shell vial yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü daha yüksektir. Rutin uygulamalarda ise hücre kültürü tekniğinin kullanılması tercih edilmemektedir (72,73,74,75).

Mikroimmunofluoresan yönteminde; klamidyal enfeksiyonların serotiplere spesifik IgM ve IgG tipi antikor yanıtları kantitatif olarak tespit edilebilir. Testin uygulamasında serotipleri temsil eden, saflaştırılmış, formalinize edilmiş elementer cisimcikler antijen olarak kullanılır. Fakat teknik ve yorumlama zorluklarından dolayı daha çok epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır. Klamidyal enfeksiyonların serolojik tanısında mikroimmunofluoresan yöntemindeki zorluklar nedeniyle daha kolay, daha otomatize ve objektif sonuçlar veren ELISA yönteminleri

geliştirilmiştir. Örneklerden klamidyal DNA izolasyonu ve çoğaltılmasına dayanan moleküler teknikler içinde özellikle PCR uygulaması, pratik olması ve kısa sürede sonuç alınabilmesi ile son yıllarda *C. trachomatis* tanısında en çok tercih edilen yöntemlerdendir (74).

2.6.8.Tedavi:

Tetrasiklinler, *C. trachomatis* enfeksiyonlarında genellikle birinci seçenek olan antibiyotiklerdir. Doksisisiklin, azitromisin, eritromisin, klaritromisin ve levofloksasin de önerilmektedir. Azitromisinin en önemli özelliği, tek doz olarak kullanılabilmesi ve enfeksiyonun yaygın olduğu olgularda bile tam iyileşmeyi sağlayabilmesidir. Tetrasiklinlerin kontrendike olduğu hamile kadınlar, infantlar, küçük çocuklar gibi olgularda eritromisin önerilmektedir (72-75).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Çalışma Gruplarının Seçilmesi ve Örneklerin Alınması

Çalışmamız Etik Kurul tarafından 25.12.06 tarihinde, 04 sayılı karar ile onaylandı. Ocak 2007-Ocak 2008 tarihleri arasında Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı' na başvuran, 1987 ACR tanı kriterlerine göre kesin tanısı konmuş, rastgele yöntemle seçilen, poliklinik ve/veya serviste yatan 87 RA hastası, 50 SLE hastası ve Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi kan bankasına başvuran sağlıklı donörlerden rastgele yöntemle seçilen 50 kişilik kontrol grubu çalışmaya alındı. Tüm gruplarda seçilen kişilerin adı, soyadı, yaşı, cinsiyeti, hasta ve hasta kontrol gruplarında hastalığın süresi, sigara, alkol, oral kontraseptif kullanımı, ailede RA öyküsü, ailede diğer otoimmün hastalık tanısı varsa istatistiksel amaçlı hazırlanmış anket formlarına kaydedildi.

Hastalardan ve kontrol grubundan 10ml periferik venöz kan örnekleri Becton Dickinson (BD) Vacutainer marka hazır jelli tüplere alındı. Bu kan örnekleri Heraeus Megafuge 1.0 R santrifüj cihazında 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı ve 2 ml'lik 10 adet eppendorf tüplerine serumlar kondu. Ayrılan serumlar çalışmaya kadar -70°C de saklandı.

3.2. ELISA Yöntemi İle Özgül Antikorların Saptanması

3.2.1. Parvovirus B19 IgM ve IgG Test Yöntemi:

Hasta ve kontrol grubunda Parvovirus B19 özgül antikorların saptanması için Parvovirus B19 IgM ve IgG (Focus Diagnostics Cypress, CA 90630 USA) ELISA kiti kullanıldı.

Parvovirus B19 IgM saptanması:

- 1) Yıkama solüsyonu 1/10 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
- 2) Hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek 1/100 oranında Parvovirus IgM örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.
- 3) Pozitif, negatif ve cut-off kontroller de 1/100 oranında Parvovirus IgM örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.

- 4) Kuyucuklara hazırlanan yıkama solüsyonu ile 5 dakika süreyle bir yıkama uygulandı.
- 5) Yüksek pozitif, düşük pozitif, negatif kontroller ve cut-off sırasıyla ilk dört kuyucuğa 100µl konuldu.
- 6) Dilüe edilen hasta ve kontrol grubundaki her bir serum diğer kuyucuklara 100µl konuldu. 60 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 7) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı (Bio-Tek ELx50) kullanıldı.
- 8) 100µl Parvovirus IgM konjugatı eklenerek 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 9) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı kullanıldı.
- 10) 100µl substrat kuyucuklara konuldu ve 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 11) Kuyucuklara 100µl stop solüsyon ilave edildi.

Parvovirus B19 IgG saptanması için bu basamaklarda Parvovirus IgG örnek sulandırıcı ve Parvovirus IgG konjugatı kullanılarak işlemler aynı sırayla tekrarlandı.

Deneylerin sonunda kuyucuklar otomatik ELISA okuma cihazı (Bio-Tek ELx800) ile 450 nm dalga boyunda fotometrik olarak okundu.

Sonuçların değerlendirilmesi:

<u>Örneğin absorbens değeri</u> ≤ 0.8	Negatif
Cut-off	
0.8 < <u>Örneğin absorbens değeri</u> < 1.2	Şüpheli pozitif
Cut-off	
<u>Örneğin absorbens değeri</u> ≥ 1.2	Pozitif
Cut-off	

3.2.2. EBV VCA IgG, IgM, EA-D IgG, EBNA IgG Test Yöntemi:

Hasta ve kontrol grubunda EBV özgül antikorların saptanması için EBV VCA IgG, IgM, EA-D IgG, EBNA IgG (Trinity Biotech USA, Jamestown, New York 14701, USA) ELISA kiti kullanıldı.

EBV VCA IgG saptanması:

- 1) Yıkama solüsyonu 1/20 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
- 2) Hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek 1/20 oranında EBV VCA IgG örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.
- 3) Pozitif, negatif kontroller ve kalibratör solüsyonu da 1/20 oranında EBV VCA IgG örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.
- 4) Yüksek pozitif, düşük pozitif, negatif kontroller ve kalibratör sırasıyla ilk dört kuyucuğa 100µl konuldu.
- 5) Dilüe edilen hasta ve kontrol grubundaki her bir serum diğer kuyucuklara 100µl konuldu. 25 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 6) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı (Bio-Tek ELx50) kullanıldı.
- 7) 100µl EBV VCA IgG konjugatı eklenerek 25 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 8) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı kullanıldı.
- 9) 100µl substrat kuyucuklara konuldu ve 10-15 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 10) Kuyucuklara 100µl stop solüsyon ilave edildi.

EBV EA-D IgG saptanması için bu basamaklarda EBV EA-D IgG örnek sulandırıcı ve EBV EA-D IgG konjugatı kullanılarak işlemler aynı sırayla tekrarlandı.

EBV EBNA IgG saptanması için bu basamaklarda EBV EBNA IgG örnek sulandırıcı ve EBV EBNA IgG konjugatı kullanılarak işlemler aynı sırayla tekrarlandı.

EBV VCA IgM saptanması:

- 1) Yıkama solüsyonu 1/20 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
- 2) Hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek 1/40 oranında EBV VCA IgM örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.

- 3) Pozitif, negatif kontroller ve kalibratör solüsyonu da 1/40 oranında EBV VCA IgM örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.
- 4) Yüksek pozitif, düşük pozitif, negatif kontroller ve kalibratör sırasıyla ilk dört kuyucuğa 100µl konuldu.
- 5) Dilüe edilen hasta ve kontrol grubundaki her bir serum diğer kuyucuklara 100µl konuldu. 25 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 6) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı (Bio-Tek ELx50) kullanıldı.
- 7) 100µl EBV VCA IgM konjugatı eklenerek 25 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 8) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı kullanıldı.
- 9) 100µl substrat kuyucuklara konuldu ve 10-15 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 10) Kuyucuklara 100µl stop solüsyon ilave edildi.

Deneylerin sonunda kuyucuklar otomatik ELISA okuma cihazı (Bio-Tek ELx800) ile 450 nm dalga boyunda fotometrik olarak okundu.

Sonuçların değerlendirilmesi:

Her kitin içinde belirtilen faktör sayısı kalibratör değeri ile çarpılarak cut-off bulundu.

Faktör sayısı x Kalibratör değeri = Cut-off

$\frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Cut-off}} \leq 0.9 \text{ ISR (Immun Status Ratio)}$ Negatif

$0.9 \text{ ISR} < \frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Cut-off}} < 1.1 \text{ ISR}$ Şüpheli pozitif

$\frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Cut-off}} \geq 1.1 \text{ ISR}$ Pozitif

3.2.3. HSV- 1 ve HSV-2 IgG ve IgM Test Yöntemi:

Hasta ve kontrol grubunda HSV özgül antikorların saptanması için HSV-1 ve HSV-2 IgM ve IgG (DIA-PRO Diagnostic Bioprobes Srl Via Columella n°31 20128 Milano/Italy) ELISA kiti kullanıldı.

HSV-1 IgG saptanması:

- 1) Yıkama solüsyonu 1/20 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
- 2) Hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek 1/100 oranında HSV-1 IgG örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.
- 3) Pozitif, negatif kontroller ve kalibratör solüsyonu sulandırılmadan kullanıldı.
- 4) Pozitif, negatif kontroller ve kalibratör sırasıyla ilk üç kuyucuğa 100µl konuldu.
- 5) Dilüe edilen hasta ve kontrol grubundaki her bir serum diğer kuyucuklara 100µl konuldu. 60 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 6) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı (Bio-Tek ELx50) kullanıldı.
- 7) 100µl HSV-1 IgM konjugatı eklenerek 60 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 8) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı kullanıldı.
- 9) 100µl substrat kuyucuklara konuldu ve 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 10) Kuyucuklara 100µl stop solüsyon ilave edildi.

HSV-2 IgG saptanması için bu basamaklarda HSV-2 IgG örnek sulandırıcı ve HSV-2 IgG konjugatı kullanılarak işlemler aynı sırayla tekrarlandı.

Deneylerin sonunda kuyucuklar otomatik ELISA okuma cihazı (Bio-Tek ELx800) ile 450 nm dalga boyunda fotometrik olarak okundu.

Sonuçların değerlendirilmesi:

Calibrator $2=5arbU/\mu l$ optik dansite değerinin üzeri pozitif, altındaki değerler negatif olarak kabul edildi.

HSV-1 IgM saptanması:

- 1) Yıkama solüsyonu 1/20 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
- 2) Hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek 1/100 oranında HSV-1 IgM örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.

- 3) Pozitif, negatif kontroller ve kalibratör solüsyonu sulandırılmadan kullanıldı.
- 4) Pozitif, negatif kontroller ve kalibratör sırasıyla ilk üç kuyucuğa 100µl konuldu.
- 5) Dilüe edilen hasta ve kontrol grubundaki her bir serum diğer kuyucuklara 100µl konuldu. 60 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 6) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı (Bio-Tek ELx50) kullanıldı.
- 7) Liyofilize halde bulunan konjugat 1.9ml konjugat/antijen dilüenti ile sulandırıldı. Üzerine 2 ml'ye tamamlanacak şekilde 0.1 ml enzim konjugat ilave edildi.
- 8) Kuyucuklara sulandırılarak hazırlanan 100µl HSV-1 IgM konjugatı eklenerek 60 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 9) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 4 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı kullanıldı.
- 10) 100µl substrat kuyucuklara konuldu ve 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 11) Kuyucuklara 100µl stop solüsyon ilave edildi.

HSV-2 IgM saptanması için bu basamaklarda HSV-2 IgM örnek sulandırıcı ve HSV-2 IgM konjugatı kullanılarak işlemler aynı sırayla tekrarlandı.

Deneylemlerin sonunda kuyucuklar otomatik ELISA okuma cihazı (Bio-Tek ELx800) ile 450 nm dalga boyunda fotometrik olarak okundu.

Sonuçların değerlendirilmesi:

Cut-off = Negatif kontrol + 0.250 formülü ile hesaplandı.

	$\frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Cut-off}} \leq 1.0$	Negatif
1.0 <	$\frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Cut-off}} < 1.2$	Şüpheli pozitif
	$\frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Cut-off}} \geq 1.2$	Pozitif

3.2.4. *C. trachomatis* IgG ve IgM Test Yöntemi:

Hasta ve kontrol grubunda *C. trachomatis* özgül antikorların saptanması için *C. trachomatis* IgM ve IgG (DRG Instruments GmbH, Germany) ELISA kiti kullanıldı.

C. trachomatis IgG saptanması:

- 1) Yıkama solüsyonu 1/20 oranında distile su ile sulandırılarak hazırlandı.
- 2) Hasta ve kontrol grubundaki her bir örnek 1/100 oranında *C. trachomatis* IgG örnek sulandırıcı ile sulandırıldı.
- 3) Pozitif, negatif kontroller ve cut-off solüsyonu sulandırılmadan kullanıldı.
- 4) Pozitif, negatif kontroller ve cut-off sırasıyla ilk üç kuyucuğa 100µl konuldu.
- 5) Dilüe edilen hasta ve kontrol grubundaki her bir serum diğer kuyucuklara 100µl konuldu. 60 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 6) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı (Bio-Tek ELx50) kullanıldı.
- 7) 100µl *C. trachomatis* IgG konjugatı eklenerek 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 8) İnkübasyon sonrasında kuyucuklar 3 kez 300µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Bu işlem için otomatik yıkayıcı kullanıldı.
- 9) 100µl substrat kuyucuklara konuldu ve 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 10) Kuyucuklara 100µl stop solüsyon ilave edildi.

C. trachomatis IgM saptanması için bu basamaklarda *C. trachomatis* IgM örnek sulandırıcı ve *C. trachomatis* IgM konjugatı kullanılarak işlemler aynı sırayla tekrarlandı.

Deneylemlerin sonunda kuyucuklar otomatik ELISA okuma cihazı (Bio-Tek ELx800) ile 450 nm dalga boyunda fotometrik olarak okundu.

Sonuçların değerlendirilmesi:

Örneğin absorbans değeri x10 ≤ 9 DU (DRG UNITS) Negatif

Cut-off

9 DU < <u>Örneğin absorbens değeri x 10</u> < 11 DU	Şüpheli pozitif
Cut-off	
<u>Örneğin absorbens değeri x 10</u> ≥ 11 DU	Pozitif
Cut-off	

3.3. Kantitatif Real-Time PCR Yöntemi ile Parvovirus B19, EBV, HSV, C. trachomatis Genom Varlığı ve Yükünün Araştırılması

Çalışma sırasında 2ml'lik eppendorf tüplerinde -70°C de saklanan hasta ve kontrol grubu serumları kullanıldı. ELISA profillerine göre nükleik asit pozitif olabileceği düşünülen hasta ve kontrol gruplarında real-time PCR işlemi iki kez tekrarlandı.

3.1. Parvovirus B19, EBV, HSV, C. trachomatis DNA Ekstraksiyonu:

Viral ve bakteriyal DNA ekstraksiyonu Mag Attract Virus Mini M48 kitleri (QIAGEN) kullanılarak BioRobot M48 otomatize sisteminde (QIAGEN) yapıldı.

- Reagentlerin hazırlanması:

Buffer AW2: 66ml buffer AW2 içine 160 ml etanol (%96-100lük) eklendi.

Buffer AW1: 27 ml buffer AW1 içine 35 ml etanol (%96-100lük) eklendi.

Proteaz: +4°C saklanan liyofilize haldeki proteaz içine 5,5 ml proteaz resüspanسیون buffer eklendi.

Carrier RNA: Liyofilize haldeki carrier RNA içine 1350 µl buffer AVE eklendi.

- Reagent panelinde üreticilerin önerileri doğrultusunda kit içinde belirtildiği şekilde uygun kuyucuklara belirtilen miktarda reagentler eklendi.

Rea L 4: 32 ml Etanol (%96-100lük)

Rea L 3: Boş

Rea L 2: 53 ml AW2

Rea L 1: 28,2 ml İsoopropanol Alkol

Rea S 6: 15,5 ml Buffer AVE

Rea S 5: Boş

Rea S 4: 27 ml Buffer AW1

Rea S 3: 22.1ml buffer AL+152 µl hazırlanan carrier RNA

Rea S 2: Hazırlanan proteazdan 5.1 ml

Rea S 1: 2.6 ml MagAttract süspanسیون

- Hazırlanan reagent container uygun panele yerleştirildi.
- Uygun panele pipet uçları yerleştirildi.
- İnternal kontrolün hazırlanması

IC 20 µl

Carrier RNA 1 µl

Buffer AVE 39 µl

Hazırlanan karışım örnek hazırlama pleytlerinin 6. Kuyucuğuna 60 µl eklendi. Örnek hazırlama pleytleri uygun panele yerleştirildi.

- 1.5 ml'lik mikrotüplere 400 µl hasta ve kontrol grubu serumları kondu.
- Cihazda hasta serumu 400 µl, elusion volume EBV, HSV, *C. trachomatis* için 100 µl Parvovirus B19 için 50 µl olacak şekilde 48 örnek için ayarlandı.
- Üreticinin önerileri doğrultusunda kit prosedürüne uygun şekilde cihaz çalıştırıldı ve elution buffer içinde DNA elde edildi.

3.3.2. Parvovirus B19 Real Time PCR

Parvovirus B19 Real Time PCR uygulaması üreticilerin önerileri doğrultusunda Parvovirus B19 RG PCR kitleri (Qiagen GmbH, D-40724, Hamburg) kullanılarak Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) otomatize sisteminde yapıldı.

- 30µl Parvovirus B19 RG master mix; hasta sayısı, standart ve negatif kontrol tüp sayısı kadar PCR tüplerine dağıtıldı.
- Standartların hazırlanması

Kitin içindeki 5 adet değişik konsantrasyonlardaki standartların içine 20µl internal kontrol kondu. Bu tüplerden 20 µl alınarak 30'ar µl master mix içeren PCR tüplerine eklendi.

- Standart değerleri:

1: 5×10^5 IU / µl

2: 5×10^4 IU / µl

3: 5×10^3 IU / µl

4: 5×10^2 IU / µl

5: 5×10^1 IU / µl

- Standartların hesaplanması:

$$\text{Sonuç (kopya/ml)} = \frac{\text{Standart değeri (kopya/}\mu\text{l)} \times \text{Elution Volume}(\mu\text{l})}{\text{Örnek volüm(ml)}}$$

formülüne göre hesaplandı.

- Kit içindeki negatif kontrole 100 μl internal kontrol eklendi. Bu karışımdan 20 μl alınarak 30 μl master mix içeren PCR tüplerine kondu.

- 30 μl master mix içeren tüplerin üzerine çalışma gruplarından elde edilen DNA örneklerinden 20 μl kondu.

- Tüpler Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) cihazına yerleştirildi.

- Cihazda yüklü olan Rotor-Gene 6000 Series Software sürüm 1.7 yazılım programında Parvovirus B19 programı seçilerek işlem başlatıldı. Bu program yardımıyla üreticinin önerileri doğrultusunda sonuçlar değerlendirildi.

Bu programa göre;

Başlangıç	95°C	10 dk	} 45 PCR siklusu
Siklusler	95°C	15 sn	
	55°C	30 sn (Annealing JOE + FAM)	
	72°C	20 sn	

Polimeraz zincir reaksiyonu sırasında hedef bölge FAM ile internal kontrol JOE ile boyanır. Bilgiler siklüsün 55°C lik anında toplanır.

Bu siklüsler sırasında cihaz tüp içindeki fluoresan boyalardan FAM artışını ekrana bir eğri şeklinde yansıtır. Bu eğri yardımıyla cihaz otomatik olarak miktar tayinini kopya/ml düzeyinde belirler.

3.3.3. EBV Real Time PCR

EBV Real Time PCR uygulaması üreticilerin önerileri doğrultusunda EBV RG PCR kit (QIAGEN Gmgb, D-22767, Hamburg) kullanılarak Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) otomatize sisteminde yapıldı.

- 30 μl EBV RG master mix; hasta sayısı, standart ve negatif kontrol tüp sayısı kadar PCR tüplerine dağıtıldı.

- Standartların hazırlanması

Kitin içindeki 4 adet değişik konsantrasyonlardaki standartların içine 20 μl internal kontrol kondu. Bu tüplerden 20'şer μl alınarak 30 μl master mix içeren PCR tüplerine eklendi.

- Standart değerleri:

1: 5×10^4 kopya/ μ l

2: 5×10^3 kopya / μ l

3: 5×10^2 kopya / μ l

4: 5×10^1 kopya / μ ml

- Standartların hesaplanması:

Sonuç (kopya /ml)= $\frac{\text{Standart değeri(kopya /}\mu\text{l)} \times \text{Elution Volume}(\mu\text{l})}{\text{Örnek volüm(ml)}}$

Örnek volüm(ml)

formülüne göre hesaplandı.

- Kit içindeki negatif kontrole 100 μ l internal kontrol eklendi. Bu karışımdan 20 μ l alınarak 30 μ l master mix içeren PCR tüplerine kondu.

- 30 μ l master mix içeren tüplerin üzerine çalışma gruplarından elde edilen DNA örneklerinden 20 μ l kondu.

- Tüpler Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) cihazına yerleştirildi.

- Cihazda yüklü olan Rotor-Gene 6000 Series Software sürüm 1.7 yazılım programında EBV programı seçilerek işlem başlatıldı. Bu program yardımıyla üreticinin önerileri doğrultusunda sonuçlar değerlendirildi.

Bu programa göre;

Başlangıç 95°C 10 dk

Siklusler 95°C 15 sn

55°C 30 sn (Annealing JOE + FAM)

72°C 20 sn

} 45 siklus

Polimeraz zincir reaksiyonu sırasında hedef bölge FAM ile internal kontrol JOE ile boyanır. Bilgiler siklüsün 55 derecelik anında toplanır.

Bu siklüsler sırasında cihaz tüp içindeki fluoresan boyalardan FAM artışını ekrana bir eğri şeklinde yansıtır. Bu eğri yardımıyla cihaz otomatik olarak miktar tayinini kopya/ml düzeyinde belirler.

3.3.4. HSV- 1/2 Real Time PCR

HSV–1/2 Real Time PCR uygulaması üreticilerin önerileri doğrultusunda Artus HSV–1/2 LC PCR kit (Qiagen GmbH, D–40724, Hamburg) kullanılarak Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) otomatize sisteminde yapıldı.

- 15µl HSV-1/2 LC master mix; hasta sayısı, standart ve negatif kontrol tüp sayısı kadar PCR tüplerine dağıtıldı.

- Standartların hazırlanması

Kitin içindeki 8 adet değişik konsantrasyonlardaki standartların içine 20µl internal control kondu. Bu tüplerden 5'er µl alınarak 15µl master mix içeren PCR tüplerine eklendi.

- Standart değerleri:

HSV-1:

1: 5×10^4 kopya /µl

2: 5×10^3 kopya /µl

3: 5×10^2 kopya /µl

4: 5×10^1 kopya /µl

HSV-2:

1: 5×10^4 kopya /µl

2: 5×10^3 kopya /µl

3: 5×10^2 kopya /µl

4: 5×10^1 kopya /µl

- Standartların hesaplanması:

$$\text{Sonuç (kopya/ml)} = \frac{\text{Standart değeri(kopya/µl)} \times \text{Elution Volume(µl)}}{\text{Örnek volüm(ml)}}$$

formülüne göre hesaplandı.

- Kit içindeki negatif kontrole 100 µl internal kontrol eklendi. Bu karışımdan 5µl alınarak 15µl master mix içeren PCR tüplerine kondu.

- 30 µl master mix içeren tüplerin üzerine çalışma gruplarından elde edilen DNA örneklerinden 5 µl kondu.

- Tüpler Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) cihazına yerleştirildi.

- Cihazda yüklü olan Rotor-Gene 6000 Series Software sürüm 1.7 yazılım programında HSV programı seçilerek işlem başlatıldı. Bu program yardımıyla üreticinin önerileri doğrultusunda sonuçlar değerlendirildi.

Bu programa göre;

Başlangıç 95°C 10 dk

Siklusler	95°C	5sn	}	10 siklus
	65°C	20 sn		
	72°C	15sn		
	95°C	5 sn	}	40 siklus
	55°C	20 sn		
	72°C	15sn		
	95°C	1 sn	}	1 siklus Melting Curve
	50°C	15 sn		
	80°C	0sn		
	40°C	30 saniye	}	1 siklus

Polimeraz zincir reaksiyonu sırasında hedef bölge LC640 ile internal kontrol LC705 ile boyanır. Bilgiler siklüsün 55 derecelik anında toplanır.

Bu siklüsler sırasında cihaz tüp içindeki fluoresan boyalardan LC640 artışını ekrana bir eğri şeklinde yansıtır. Bu eğri yardımıyla cihaz otomatik olarak miktar tayinini kopya/ml düzeyinde belirler.

Melting Curve siklus aşamasında 50°C ve 80°C arasında HSV-1 ve HSV-2 ayrımı yapılır. 65±1°C de pik görüldüğünde HSV-2, 69±1°C de pik görüldüğünde HSV-2 belirlenir ve üreticinin önerileri doğrultusunda otomatik analiz yapılarak HSV- 1 ve HSV-2 pozitifliği saptanır.

3.3.5. *C. trachomatis* Real Time PCR

C. trachomatis Real Time PCR uygulaması üreticilerin önerileri doğrultusunda Artus *C. trachomatis* Plus RG PCR kit (QIAGEN Gmgb, D-40724 ,Hamburg) kullanılarak Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) otomatize sisteminde yapıldı.

- *C. trachomatis* RG master mix içine 26µl magnezyum kondu. Bu karışımdan 15µl hasta sayısı, pozitif ve negatif kontrol tüp sayısı kadar PCR tüplerine dağıtıldı.

- Kit içindeki negatif kontrole 100 µl internal kontrol eklendi. Bu karışımdan 10 µl alınarak 15µl master mix içeren PCR tüplerine kondu.

- Kit içindeki pozitif kontrole 20µl internal kontrol eklendi. Bu karışımdan 10 µl alınarak 15µl master mix içeren PCR tüplerine kondu.
- 15µl master mix içeren tüplerin üzerine çalışma gruplarından elde edilen DNA örneklerinden 10 µl kondu.
- Tüpler Rotor-Gene 6000 series (Corbett-Research, Australia) cihazına yerleştirildi.
- Cihazda yüklü olan Rotor-Gene 6000 Series Software sürüm 1.7 yazılım programında *C. trachomatis* programı seçilerek işlem başlatıldı. Bu program yardımıyla üreticinin önerileri doğrultusunda sonuçlar değerlendirildi.

Bu programa göre;

Başlangıç	95°C	1 dk	} 45 siklus
Siklusler	95°C	11 sn	
	60°C	20 sn (Annealing JOE + FAM)	
	72°C	20 sn	

Polimeraz zincir reaksiyonu sırasında hedef bölge FAM ile internal kontrol JOE ile boyanır. Bilgiler siklüsün 55 derecelik anında toplanır.

Bu siklüsler sırasında cihaz tüp içindeki fluoresan boyalardan FAM artışını ekrana bir eğri şeklinde yansıtır. Bu eğri yardımıyla cihaz otomatik olarak miktar tayinini kopya/ml düzeyinde belirler.

3.4. Rutin Laboratuar Ölçümlerinin Yapılması

Serum örneği ayrıldıktan sonra CRP düzeyleri nefelometrik yöntemle ölçüldü (Beckman Coulter, Image Immunochemistry System, U.S.A). 0.8mg/dl üzeri değerler CRP için pozitif olarak kabul edildi.

RF düzeyleri nefelometrik yöntemle ölçüldü (Dade Behring BN Prospec, Germany). 15 IU/ml üzeri değerler RF için pozitif olarak kabul edildi.

Sedimentasyon düzeyleri sedimentasyon Vacuette SRS I00/II sistemi ile değerlendirildi. 20 mm/sa sedimentasyon değeri ve üzeri tüm hasta ve kontrol gruplarında yüksek kabul edildi.

Anti-DNA otoantikörlerinin saptanması için Trinity Biotech Captia dsDNA (Trinity Biotech USA; Jamestown, Newyork 14701, USA) ELISA kitleri kullanıldı. Üreticilerin önerileri doğrultusunda kit prosedürüne uygun şekilde yapılan çalışma sonunda ≥ 1.1 değeri pozitif kabul edildi.

ANA varlığını araştırmak için Zeus ANA Hep-2 IFA (Zeus Scientific, Inc. USA) kitleri kullanılarak immunofluoresan yöntemi kullanıldı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda elde edilen bulgular değerlendirilirken verilerin istatistiksel analizi için SPSS 15.0 programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilks testi ile araştırıldı. Normal dağılan verilere parametrik testler, normal dağılım göstermeyen verilere parametrik olmayan testler uygulandı. Normal dağılım gösterdiği saptanan verilerin karşılaştırılmasında, bağımsız örneklerde t testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin test edilmesinde ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi uygulandı. Çalışma gruplarındaki yaş ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde ANOVA testi kullanıldı. Grup farklılıklarının belirlenmesinde ise Post Hoc test olarak Tukey uygulandı. Gruplardan edilen sonuçlar ortalama \pm SD (standart sapma) olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar sonucu elde edilen p değeri için $<0,05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza Ocak 2007-Ocak 2008 tarihleri arasında Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı' na başvuran, kesin tanısı konmuş, takip ve tedavileri devam eden 87 RA ve 50 SLE hastası dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubu olarak Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi kan bankasına başvuran sağlıklı donörlerden rastgele yöntemle seçilen 50 kişi çalışmaya alındı. Tüm gruplarda seçilen kişilerin adı, soyadı, yaşı ve cinsiyeti gibi demografik özellikleri kaydedildi. Hasta ve hasta kontrol gruplarında etyolojik açıdan önemli olduğu düşünülen hastalığın süresi, sigara, alkol, oral kontraseptif kullanımı, ailede RA öyküsü, ailede diğer otoimmün hastalık tanısı gibi diğer özellikler sorgulandı.

RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarında rutin laboratuvar incelemesi olarak RF, CRP ve sedimentasyon ölçümleri yapıldı. SLE grubunda ANA ve anti-DNA otoantikor ölçümleri kaydedildi. Tüm veriler gruplar arasında karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarında etyolojik açıdan önemli olduğu düşünülen Parvovirus B19, EBV, HSV-1, HSV-2, *C.trachomatis* seropozitifliği ELISA yöntemi ile, Parvovirus B19, EBV, HSV-1, HSV-2, *C.trachomatis* genom varlığı ve yükü kantitatif RT-PCR yöntemi ile araştırıldı. Bu sonuçlar gruplar arasında karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

Tüm gruplardaki demografik bilgiler, rutin laboratuvar bulguları, ELISA ve RT-PCR sonuçları tablo 4.1., tablo 4.2. ,tablo 4.3., tablo 4.4., tablo 4.5. ve tablo 4.6.'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 4.1.(Devam) RA hasta grubunda demografik özellikler ve laboratuvar bulgular.

<i>Olgu</i>	<i>Cinsiyet</i>	<i>Yaş</i>	<i>Hastalığın süresi (yıl)</i>	<i>Sigara</i>	<i>Alkol</i>	<i>Oral kontraseptif</i>	<i>Ailede RA öyküsü</i>	<i>Ailede diğer otoimmün hastalık</i>	<i>RF</i>	<i>CRP</i>	<i>ESR</i>
51	K	30	2	-	-	-	-	-	+	+	+
52	K	61	10	-	-	-	+	-	+	+	+
53	K	62	15	-	-	-	+	-	+	+	+
54	E	48	15	+	+	-	-	-	+	+	+
55	K	26	5	-	-	-	-	-	+	+	+
56	K	40	5	-	-	+	-	-	+	+	+
57	K	32	1	+	-	-	-	-	+	+	+
58	K	54	8	-	-	-	-	-	-	+	+
59	E	59	16	-	-	-	-	-	+	+	+
60	K	59	30	-	-	-	-	-	+	+	+
61	K	61	5	-	-	-	-	-	+	+	+
62	K	30	2	+	-	-	-	-	-	-	-
63	K	48	5	-	-	-	-	-	+	+	+
64	K	59	10	+	-	-	-	-	+	+	+
65	K	54	10	-	-	-	-	-	+	+	+
66	E	62	2	+	-	-	-	-	+	+	+
67	E	77	20	-	-	-	-	-	-	+	+
68	K	52	2	-	-	-	-	-	+	+	+
69	K	59	3	-	-	-	-	-	+	+	+
70	K	25	5	-	-	-	-	-	+	-	+
71	K	63	2	-	-	-	-	-	+	+	+
72	E	63	15	+	+	-	+	-	+	+	+
73	K	74	10	-	-	-	-	-	+	+	+
74	K	41	5	-	-	-	-	-	+	-	+
75	E	45	3	+	-	-	-	-	+	+	+
76	E	65	16	+	+	-	+	-	+	+	+
77	K	54	10	-	-	-	-	-	+	+	+
78	K	56	4	-	-	-	-	-	+	+	+
79	K	62	4	-	-	-	-	-	+	+	+
80	K	39	10	-	-	-	-	-	+	+	+
81	K	55	10	-	-	-	-	-	+	+	+
82	K	32	4	-	-	-	-	-	+	+	+
83	K	76	10	-	-	-	-	-	+	+	+
84	K	41	6	-	-	-	+	-	+	+	+
85	K	56	1	-	-	-	-	-	+	+	+
86	E	45	5	-	-	-	-	-	+	+	+
87	E	67	10	-	-	-	-	-	+	+	+

Tablo 4.2.(Devam) RA hasta grubunda ELISA ve Real-Time PCR sonuçları.

<i>Olgu</i>	<i>Parvovirus Ig M</i>	<i>Parvovirus Ig G</i>	<i>EBV VCA IgM</i>	<i>EBV VCA Ig G</i>	<i>EBV EBNA Ig G</i>	<i>EBV EA-D IgG</i>	<i>HSV-1 Ig M</i>	<i>HSV-1 Ig G</i>	<i>HSV-2 Ig M</i>	<i>HSV-2 Ig G</i>	<i>Chlamydia trachomatis Ig M</i>	<i>Chlamydia trachomatis Ig G</i>	<i>Parvovirus B19 DNA</i>	<i>EBV DNA</i>	<i>HSV DNA</i>	<i>Chlamydia trachomatis DNA</i>
51	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
54	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
58	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
61	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
62	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
63	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
64	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
66	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
67	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
68	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
69	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
71	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
72	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
73	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
74	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
75	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
76	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
77	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
78	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
79	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
81	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
82	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
83	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
84	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
85	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
86	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
87	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.3. SLE hasta grubunda demografik özellikler ve laboratuvar bulgular.

<i>Olgu</i>	<i>Cinsiyet</i>	<i>Yaş</i>	<i>Hastalığın süresi (yıl)</i>	<i>Sigara</i>	<i>Alkol</i>	<i>Oral kontraseptif</i>	<i>Ailede SLE öyküsü</i>	<i>Ailede diğer otoimmün hastalık</i>	<i>RF</i>	<i>CRP</i>	<i>ESR</i>	<i>ANA</i>	<i>Anti-DNA</i>
1	K	32	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
2	K	55	25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
3	K	38	4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
4	K	29	4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
5	K	40	10	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
6	K	18	1	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
7	E	26	2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
8	K	33	4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
9	K	24	6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
10	K	35	11	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
11	E	18	2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
12	K	21	5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
13	E	51	15	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
14	K	28	4	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
15	K	21	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
16	K	42	25	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
17	K	62	8	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
18	K	51	4	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
19	K	31	4	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
20	K	17	1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
21	K	26	5	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
22	K	42	10	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
23	K	25	10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
24	K	33	14	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
25	K	42	8	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
26	K	30	10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
27	K	33	1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
28	K	62	30	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
29	K	38	1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
30	K	41	5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
31	K	27	6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
32	K	28	2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
33	K	50	13	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
34	K	46	23	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
35	K	26	2	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
36	K	24	6	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
37	K	41	1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
38	K	37	10	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
39	K	33	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
40	K	35	4	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
41	K	46	5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
42	E	38	23	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
43	K	31	1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
44	K	43	6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
45	K	27	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
46	K	35	5	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
47	K	50	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
48	K	30	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
49	K	36	6	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
50	K	50	4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Tablo 4.4. SLE hasta grubunda ELISA ve Real-Time PCR sonuçları.

Tablo 4.5. Sağlıklı kontrol grubunda demografik özellikler ve laboratuvar bulgular.

<i>Olgu</i>	<i>Cinsiyet</i>	<i>Yaş</i>	<i>RF</i>	<i>CRP</i>	<i>ESR</i>
1	K	35	-	-	-
2	K	34	-	-	-
3	K	22	-	-	-
4	E	38	-	-	-
5	E	47	-	-	-
6	E	28	-	-	-
7	E	26	-	+	-
8	E	34	-	-	-
9	E	23	-	-	-
10	E	45	-	-	-
11	E	38	-	-	-
12	E	35	-	-	-
13	E	27	-	-	-
14	K	42	-	-	-
15	E	30	-	-	-
16	E	23	-	+	+
17	E	42	-	-	-
18	E	25	-	-	-
19	E	50	-	-	-
20	E	60	-	+	-
21	E	42	-	-	-
22	E	25	-	-	-
23	E	23	-	-	-
24	K	34	-	-	-
25	E	26	-	-	-
26	K	20	-	-	-
27	E	40	-	+	-
28	E	34	-	-	-
29	E	19	-	-	-
30	E	32	-	-	-
31	E	19	-	-	-
32	E	31	-	-	-
33	E	25	-	-	-
34	E	25	-	-	-
35	K	21	-	-	-
36	E	28	-	-	-
37	E	32	-	-	-
38	E	20	-	-	-
39	E	37	-	-	-
40	E	37	-	-	-
41	E	34	-	+	+
42	E	25	-	-	-
43	E	34	-	+	-
44	E	23	-	-	-
45	E	41	-	-	-
46	E	39	-	-	-
47	E	40	-	-	-
48	E	44	-	+	-
49	E	23	-	-	-
50	E	31	-	-	-

Çalışmamızda RA hastalarının yaşı 24 ile 77, SLE hastalarının yaşı 17 ile 62 ve sağlıklı kontrol grubunun yaşı 19 ile 60 arasında değişmekteydi. RA grubundaki hastaların yaş ortalaması SLE grubuna göre daha yüksekti ve bu istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı idi ($p<0,001$). RA hastalarının 73'ü kadın, 14'ü erkekti. SLE hastalarının 46'sı kadın, 4'ü erkekti. Sağlıklı kontrol grubunun ise 7'si kadın, 43'ü erkekti. RA ve SLE grupları arasında cinsiyet yönünden fark yoktu ($p>0,05$). Grupların hastalık süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$). Her üç grubun demografik özelliklerine ait veriler tablo 4.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Grupların demografik özellikleri.

	RA (n=87)		SLE (n=50)		P değeri
	Ort.	SD	Ort.	SD	
Yaş	53,32	12,68	35,54	10,93	<0,001
Hastalık süresi(yıl)	10,59	8,21	7,82	6,95	0,055
Cinsiyet	n	%	n	%	
Kadın	73	83,9	46	92	<0,177
Erkek	14	16,1	4	8	

RA için risk oluşturabilecek alkol ve sigara kullanımı açısından RA ve SLE grupları arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). RA ve SLE grubundaki kadınların oral kontraseptif kullanımlarına göre anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Her iki hasta grubu ailede RA, SLE veya diğer otoimmün hastalık görülmesi yönünden sorgulandı ve istatistiksel olarak sonuçlar anlamlı değildi ($p>0,05$). Bu risk faktörlerinin ve soygeçmiş özelliklerinin RA ve SLE grubuna ait verileri tablo 4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Olası risk faktörleri ve soygeçmiş özellikleri.

		RA		SLE		P değeri	
		n	(%)	n	(%)		
Sigara	+	16	(18,4)	8	(16,0)	0,904	
	-	71	(81,6)	42	(84,0)		
Alkol	+	4	(4,6)	1	(2,0)	0,652	
	-	83	(95,4)	49	(98,0)		
Oral kontraseptif	K	+	7	(9,6)	4	(8,7)	1,000
		-	66	(90,4)	42	(91,3)	
	E	-	14	(100)	4	(100)	-
Ailede RA	+	13	(14,9)	3	(6,0)	0,196	
	-	74	(85,1)	47	(94,0)		
Ailede diğer otoimmün hastalık	+	1	(1,1)	4	(8,0)	0,059	
	-	86	(98,9)	46	(92,0)		

RF düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktaydı ($p<0,001$). RA grubunun RF pozitifliği hem SLE hem de sağlıklı kontrol grubundan ileri düzeyde anlamlı yüksekti ($p<0,001$). SLE grubu RF pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$). CRP düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktaydı ($p<0,001$). RA grubunun CRP pozitifliği hem SLE hem de sağlıklı kontrol grubundan ileri düzeyde anlamlı yüksekti ($p<0,001$). SLE grubu CRP pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). ESR düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktaydı ($p<0,001$). RA ve SLE grubunda ESR pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre ileri düzeyde yüksekti ($p<0,001$). ESR pozitifliğine göre RA ve SLE grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Her üç gruptaki RF, CRP ve ESR ölçümlerine ait veriler tablo 4.9.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Gruplar arasında RF, CRP, ESR ölçümlerinin karşılaştırması.

	RA		SLE		Sağlıklı kontrol		P değeri
	+	-	+	-	+	-	
RF	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	<0,001
CRP	76(87,4)	11(12,6)	7(14,0)	43(86,0)	0	50(100)	<0,001
ESR	80(92,0)	7(8,0)	33(66,0)	17(34,0)	7(14,0)	43(86,0)	<0,001
	84(96,6)	3(3,4)	44(88,0)	6(12,0)	2(4,0)	48(96,0)	<0,001

SLE hasta grubunda ANA ve Anti DNA ölçümleri yapıldı. 47 hastada (%94) ANA pozitifliği, 48 hastada (%96) antiDNA pozitifliği bulundu. Sayısal olarak yüksek bulundu. İstatistiksel olarak değerlendirilemedi.

Çalışmamızda RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında Parvovirus B19 IgM antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Gruplar arasında Parvovirus B19 IgG pozitifliğine göre anlamlı bir fark vardı ($p<0,05$). SLE grubunda Parvovirus B19 IgG özgül antikor pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti ($p<0,05$). RA grubu ile SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamakla birlikte RA grubunun Parvovirus B19 IgG pozitifliğinin özellikle sağlıklı kontrol grubundan yüksek olması dikkat çekiciydi ($p>0,05$). Her üç grubun Parvovirus B19 IgM ve IgG özgül antikor ölçümlerine ait veriler tablo 4.10.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Gruplar arasında Parvovirus B19 antikorlarının dağılımı.

	RA		SLE		Sağlıklı kontrol		P değeri
	+	-	+	-	+	-	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
Parvovirus B19 IgM	1(1,1)	86(98,9)	1(2,0)	49(98,0)	1(2,0)	49(98,0)	1,000
Parvovirus B19 IgG	46(52,9)	41(47,1)	32(64,0)	18(36,0)	19(38,0)	31(62,0)	0,033

RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarının tüm olgularında EBV VCA IgM antikorları negatif bulundu ve istatistiksel olarak değerlendirilemedi. Gruplar arasında EBV VCA IgG ve EBV EBNA IgG antikor pozitifliğine göre anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). EBV EA-D IgG antikor pozitifliğine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktaydı ($p<0,001$). SLE grubunda EBV EA-D IgG antikor pozitifliği RA grubuna göre ileri düzeyde yüksekti ($p<0,001$). SLE grubu serumlarında EBV EA-D IgG antikor pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,05$). RA grubu ile sağlıklı kontrol grupları arasında EBV EA-D IgG antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Her üç grubun EBV VCA IgM, VCA IgG, EBNA IgG ve EA-D IgG özgül antikor ölçümlerine ait veriler tablo 4.11.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Gruplar arasında EBV antikorlarının dağılımı.

	RA		SLE		Sağlıklı kontrol		P değeri
	+	-	+	-	+	-	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
EBV VCA IgM	0	87(100)	0	50(100)	0	50(100)	-
EBV VCA IgG	85(97,7)	2(2,3)	49(98,0)	1(2,0)	48(96,0)	2(4,0)	0,851
EBV EBNA IgG	85(97,7)	2(2,3)	50(100)	0	50(100)	0	0,362
EBV EA-D IgG	6(6,9)	81(93,1)	17(34,0)	33(66,0)	6(12,0)	44(88,0)	<0,001

RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında HSV-1 IgM, HSV-1 IgG, HSV- 2 IgM ve HSV-2 IgG özgül antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Her üç grubun HSV-1 ve 2 özgül antikor ölçümlerine ait veriler tablo 4.12.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.12. Gruplar arasında HSV-1 ve HSV-2 antikorlarının dağılımı.

	RA		SLE		Sağlıklı kontrol		P değeri
	+	-	+	-	+	-	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
HSV-1 IgM	0	87(100)	0	50(100)	2(4,0)	48(96,0)	0,145
HSV-1 IgG	86(98,9)	1(1,1)	50(100)	0	47(94,0)	3(6,0)	0,124
HSV-2 IgM	4(4,6)	83(95,4)	0	50(100)	2(4,0)	48(96,0)	0,427
HSV-2 IgG	5(5,7)	82(94,3)	6(12,0)	44(88,0)	6(12,0)	44(88,0)	0,368

RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında *C.trachomatis* IgM antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliğine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktaydı ($p<0,05$). SLE grubunda *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliği RA grubuna göre anlamlı yüksekti ($p<0,05$). *C.trachomatis* IgG özgül antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen SLE grubu ile sağlıklı kontrol grupları arasında Fakat RA grubunun Parvovirus B19 IgG pozitifliği özellikle sağlıklı kontrol grubundan daha yüksekti. RA grubu ile sağlıklı

kontrol grubu arasında *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliğine göre anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında da *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). Her üç grubun *C.trachomatis* özgül antikor ölçümlerine ait veriler tablo 4.13.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Gruplar arasında *C.trachomatis* antikorlarının dağılımı.

	RA		SLE		Sağlıklı kontrol		P değeri
	+	-	+	-	+	-	
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
<i>C.trachomatis</i> IgM	0	87(100)	2(4,0)	48(96,0)	0	50(100)	0,145
<i>C.trachomatis</i> IgG	1(1,1)	86(98,9)	6(12,0)	44(88,0)	1(2,0)	49(98,0)	0,012

Çalışmamızda RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarında Parvovirus B19, EBV, HSV, *C.trachomatis* genom varlığı ve yükü kantitatif Real Time PCR yöntemi ile araştırıldı. Tüm olgularda sonuçlar negatif bulundu ve istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

5. TARTIŞMA

Romatoid artrit in etyolojisi birçok otoimmün hastalıkta olduğu gibi kesin olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte genetik, enfeksiyöz ajanlar ve çevresel faktörlerin hastalık gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. En çok üzerinde durulan teori; genetik yatkınlığı olan bir kişide antijenik uyarı sonucu kalıcı immün yanıt gelişmesidir (5,55).

RA prevalansı yaklaşık % 0,5-1 arasındadır. Kadınlarda erkeklere oranla 2-4 kat daha fazla görülür. Genellikle dördüncü ve beşinci dekatlar arasında başlangıç gösterir (4). Östrojen hormonunun immün sisteme uyarıcı etkisi kadınlarda daha yüksek oranda RA görülmesinden sorumlu olabilir. Testesteronun RA'lı erkeklerde daha düşük düzeyde gösterilmesi bu görüşü desteklemektedir (6). Doran ve ark. 1955–1994 yılları arasındaki RA insidans çalışmalarında 609 RA hastasının 445'ini (%73,1) kadın, 164'ünü (26,9) erkek bulmuşlardır. Hastaların yaş ortalaması 58, hastalık süresi ortalama 14,2 yıldır (10). Carmona ve ark. İspanya'da yaptıkları prevalans çalışmasında kadın/erkek oranını 4/1 bulmuşlardır (15). Andrianakos ve ark. 1966–1999 yılları arasında Yunanistan'da yaptıkları çalışmada kadın/erkek oranının anlamlı düzeyde yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada hastaların yaş ortalaması 54,6 ve hastalık süresi ortalama 12,1 yıldır (76). Uhlig ve ark. çalışmalarında yaş ve kadın cinsiyeti RA için risk faktörleri arasında tanımlamışlardır (79).

Bizim çalışmamızda RA hastalarının 73'ü (%83,9) kadın, 14'ü (%16,1) erkekti. RA ve SLE grupları arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak fark yoktu. Her iki grupta kadınların oranı erkeklere göre daha yüksekti. RA grubunda hastalık başlangıç yaşı 24 ile 77 arasında değişiyordu ve hastaların yaş ortalaması 53,32 idi. RA grubundaki hastaların yaş ortalaması SLE grubuna göre daha yüksekti. Hastalık süresi ise yıl olarak ortalama 10,59'du. SLE hastalarının %90'ı genç ve doğurganlık yaşında olan kadınlardır (57). Bulduğumuz sonuçlar genel diğer çalışmalarla ve literatür bilgileri ile uyumludur. Yaş ve cinsiyetin RA için risk faktörü olabileceği görüşü desteklenmektedir.

RA etyolojisinde bazı çevresel faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir. Sigara ve alkol RA için riski arttıran faktörlerden bazılarıdır (5,6,56). Önceki çalışmalarda sigara içenler arasında artmış RA riski gösterilmiştir. Ayrıca sigara

kullanımının RF pozitifliği, romatoid nodüller, eklem erozyonu ve vaskülit oluşumu gibi RA'in şiddeti ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Sigara ve RA arasındaki mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Sigaranın immün sistem üzerine akut dönemde immüno stimülatör, kronik kullanım ile ise immüno süpresif etki gösterdiği düşünülmektedir. Antiöstrojenik etki veya oksidatif stres indüksiyonu ile RA' e yol açabileceği, üzerinde durulan bir diğer hipotezdir (77).

Symmons ve ark. İngiltere'de 18-70 yaş grubu RA hastaları arasında yaptıkları vaka-kontrol çalışmasında sigaranın potansiyel bir risk faktörü olduğu sonucunu bulmuşlardır (78). Bir diğer çalışmada Uhlig ve ark. özellikle seropozitif RA'lı erkek hastalarda sigaranın risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada kadın cinsiyet için sigara kullanımında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir (79). Hazes ve ark. ise RA başlangıcı ile sigara ve alkol kullanımı arasında ilişki bulamamışlardır (80). Cerhan ve ark. 55-69 yaş grubu kadınlarda yaptıkları çalışmada alkol kullanımının RA başlangıcı ile ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır (81). Bu çalışmada benzer şekilde sigara ve alkol kullanımı ile RA başlangıcı arasında ilişki bulamadık. Bununla birlikte RA'lı 14 erkek hastanın 9'unun sigara kullandığını gördük. Hasta grubumuzun çoğunlukla ileri yaş kadınlardan oluştuğunu ve ortalama 10 yıl gibi uzun süreli hastalık süresini göz önüne alarak bu sonucu Türkiye şartları içinde değerlendirmemiz gerekir.

Gonadal ve adrenal steroid hormonların immün sistem üzerinde önemli etkileri vardır. Genel olarak androjenler hü moral ve hü cre sel immün cevabı baskılayıcı etki gösterir ve anti-inflamatuvar hormon olarak görev yaparken, tersine östrojenler immün cevabı artırıcı rol oynarlar. RA'nın gelişiminde hormonal faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir (6,24). Özellikle RA'nın gebelikte gerilemesi, doğum sonrası dönemde ise tekrar aktive olduğunun gösterilmesi hormon-RA ilişkisini destekler niteliktedir (4,56). Gebelik sonrası emzirme döneminde RA riskinin artışı, proinflamatuvar bir hormon olan prolaktinin artışı veya prolaktine karşı oluşan yanıtla açıklanmaya çalışılmıştır (5,6). Östrojenin immün sistem üzerine uyarıcı etkisine rağmen özellikle son yıllarda kullanılan kombine oral kontraseptiflerin RA gelişiminin azalmasında rol aldığı düşünülmektedir. Burada progesteronun hafifletici etki gösterdiği söylenebilir (5,56).

Brennan ve ark. oral kontraseptiflerin RA gelişimini azaltabileceği sonucunu bulmuşlardır (82). Drossaers-Bakker ve ark. yaptığı bir başka çalışmada çoklu gebeliği olan hastalarda ve uzun dönem oral kontraseptif kullananlarda daha az radyolojik eklem hasarı, daha iyi fonksiyonel seviye gözlenmiştir. Ancak oral kontraseptif kullanımı ve gebeliğin uzun dönemde RA sonucunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkilemediği tespit edilmiştir (83). Biz çalışmamızda oral kontraseptif kullanımı ile RA ilişkisini araştırdık ve anlamlı sonuç bulamadık. Bu tespit ile oral kontraseptiflerin etyolojik etken olmadığı sonucunu desteklemekle birlikte koruyucu etken olabileceği savını desteklemek için de verilerimiz yetersizdir.

Monozigot ikizlerde dizigot ikizlere göre daha yüksek oranda RA görülmesi ve belli coğrafik bölgelerde RA sıklığının artması etyolojisinde genetik faktörlerin de olabileceği görüşünü desteklemektedir. İkizler ile ilgili yapılan çalışmalarda monozigot ikizlerde hastalığın birlikte görülme sıklığı %15–30, dizigot ikizlerde ise % 4 oranındadır (6,22). Bellamy ve ark. bu oranı monozigot ikizlerde %21, dizigot ikizlerde ise %0 bulmuşlardır (84). Del Puente ve ark. Pima yerlilerinde, Harvey ve ark. da Chippewa yerlilerinde en yüksek RA prevalansını bildirmişlerdir (16,17). Bu da bölgesel ve etnik özelliklerin de RA etyolojisinde etkili olabileceğini göstermektedir.

HLA-DR4 bulunan kişilerde RA olma riski 4 ile 5 kat artmaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalarda aslında bu ilişkinin HLA-DR4 ile değil, bu molekül üzerindeki bir aminoasit dizisi ve bunu kodlayan alellerle ilgili olduğu ileri sürülmüştür. Farklı HLA-DR4 allellerinin β zincirinin 3. çok değişken bölgesinde, 70–74. pozisyonlarında bulunan aminoasitlerin ortak bir dizini paylaştığı görülmüştür. Ortak epitop olarak isimlendirilen glutamin, lösin, arginin, alanin, alanin (QKRAA) aminoasitlerini içeren bu bölgenin, RA'da genetik yatkınlığa neden olabileceği düşünülmektedir (4,5,22). Kınıklı ve ark. ülkemizde yaptıkları çalışmada da ortak epitop taşıyan HLA-DRB1 alel sıklığı RA hastalarında sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur (85).

Biz çalışmamızda RA hasta grubu ile SLE hasta grubunda, özellikle birinci derece akrabalarında RA veya diğer otoimmün hastalık varlığını sorguladık. Sonuçta ailevi özgeçmiş ile RA etyolojisini ilişkilendiremedik. Bu sonucu almamızda

sorgulamaya sağlıklı kontrol grubunu dahil etmemiş olmamız ve moleküler düzeyde HLA tiplendirmesi yapmamış olmamız etkili olabilir.

RF, IgG moleküllerinin Fc kısmına karşı oluşan otoantikorlardır. RA tanı kriterlerine alınmış tek serolojik test olmasına rağmen hastalık için özgül değildir. Artmış B hücre aktivasyonu ve poliklonal hipergamaglobülinemi ile seyreden çeşitli enfeksiyöz veya otoimmün hastalıklarda RF pozitifliği görülebilir. RF'nin otoantikor olarak kabul edilmesi otoimmüitenin RA'da önemli bir rol oynayabileceğine kanıt kabul edilebilir. RA için en önemli otoantikorlar RF ve anti-CCP antikorlarıdır. Bunların dışında RA'da kartilaja özel antijenlere ve eklem dışı antijenlere karşı oluşan birçok antikor görülebilir. Bu antikorlar hem otoimmüitenin bir göstergesi kabul edilebilir, hem de etyolojide diğer etkenler olarak değerlendirilebilir (6,22,53).

Dolaşımda serbest halde bulunan veya B hücre yüzeyindeki RF'lerin immün sistem üzerinde önemli etkileri vardır. Serbest haldeki RF'ler immün komplekslere bağlanarak stabilizasyonunu, opsonizasyonunu ve dolaşımdan temizlenmesini artırır. B hücre yüzeyinde bulunan RF'ler ise makrofajların sunamadığı immün kompleks içindeki az miktardaki antijeni T hücrelere sunabilir. Yani RF'ler konak savunmasında görev alırlar. Buna zıt olarak kompleman ve inflamatuvar hücre aktivasyonu da sinoviti artırırlar. Buna rağmen etyolojide primer rolü olduğu söylenemez. RA'yı arttırdığı düşünülen RF'yi kodlayan genler üzerinde araştırmalar sürdürülmektedir (22,53).

Özellikle kesin tanısı konmuş RA hasta grubunda RF'nin duyarlılığı %70–90, özgüllüğü % 95 civarındadır. RF, RA'lı hastaların %60-80'inde bulunur (52,53). Diğer birçok otoimmün hastalıkta RA'dan farklı olarak genelde RF düşük titrelerde pozitif bulunmaktadır. SLE'li hastaların %15'inde RF pozitif olabilir. SLE'ye özgül, rutinde en çok istenen otoantikorlar ise özellikle ANA ve anti-DNA'dır (86). Biz çalışmamızda RA grubunda RF pozitifliğini %87,4, SLE grubunda %14 oranında bulduk. Sağlıklı kontrol grubunda ise pozitif olgu tespit edemedik. RA grubunun RF pozitifliği ile SLE grubu ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı. SLE grubu RF pozitifliğini de sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulduk. SLE hasta grubunda %94 ANA pozitifliği, %96 anti-DNA pozitifliği tespit ettik. Sonuçlarımız literatür bilgileri ile uyumludur. RF; hastalığın başlangıcında,

klirik seyir ve Őiddetinde, tedaviye yanıtta önemli bir göstergedir. Risk faktörü olarak değerlendirmek ve ayırımı yapmak zordur.

RA tanısı için ideal bir laboratuvar testi yoktur. Akut veya kronik inflamasyon durumlarında salınan proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle ESH, CRP, fibrinojen, ferritin, haptoglobulin gibi birçok akut faz proteini yükselir. Rutin uygulamada en sık bakılan pozitif akut faz proteini CRP'dir. ESR ise başta fibrinojen ve globulinler olmak üzere bazı akut faz proteinlerindeki artışı yansıtır. Klinik belirti ve bulgulara göre konulan tanıyı desteklemede veya hastalığın gidişini değerlendirmede kullanılırlar (24,51-53).

ESR, RA'lı hastaların çoğunda yüksektir. Aynı zamanda hastalık aktivitesinin ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılır. CRP genelde aktivite göstergesi olmasına rağmen romatizmal hastalıkların seyri sırasında yüksek seyredabilen bir faktördür. RA'da aktif hastalığı olanların hemen hepsinde CRP yüksekliği gözlenir ve titresi hastalık aktivite indeksleri ile korelasyon gösterir. SLE'de ise hastaların ancak %20-30 gibi bir kısmında CRP yüksekliği gözlenir (24,87). Çalışmamızda RA hastalarının CRP düzeyleri SLE ve sağlıklı kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksekti. SLE grubu CRP pozitifliği de sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. RA ve SLE grubunda ESR pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre ileri düzeyde yüksekti. Bu sonuçlar tanısal anlamda literatür bilgisi ile uyumlu bulundu.

RA etyopatogenezinde birçok enfeksiyon ajanının tetikleyici role sahip olduğu düşünölmüş ancak kesin kanıtlar bulunamamıştır. Çeşitli enfeksiyon etkenleri ile RA etyolojisi arasında ilişki varlığını araştırmak amaçlı birçok çalışma yapılmıştır. Bunların içinde enterik bakteriler, mikoplazma, klamidy, mikobakteriler, rubella, retrovirus, CMV, hepatit B, spiroketler, *H.pylori* ve anaeroblar gibi birçok etken sayılabilir (6,20,22,24,49,55).

RA ile enterik bakteriler arasındaki ilişki araştırılmıştır. RA etyolojisinde rol aldığı düşünölen enterik bakterilerin moleküler taklitçilik mekanizması ile etkili olabilecekleri ileri sürölmektedir. *E.coli* DNAj proteini bakteriyal bir ısı şok proteindir. Bunun barsak enfeksiyonu ile kronik artrit arasında ilişkili olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (4,20,22). Newkirk ve ark. *P. mirabilis* ve *E. coli* antikör yüksekliği ile erken seropozitif RA hastaları arasında ilişki bulmuşlardır. Ancak bu bakterilerin etyolojide rolü olduğunu söyleyebilmek için

yeni çalışmaların gerekliliğini belirtmişlerdir (88). Chandrashekara ve ark. ise çalışmalarında *P. mirabilis*'in hastalığın başlangıcı veya şiddetlenmesinde rolü olmadığını tespit etmişlerdir (89).

Mikoplazmalar da olası ajanlar olarak düşünölmelerine rağmen çalışmalar bu düşünöneyi doğrulayamamıştır. Mikoplazma artritinde olduğu gibi, mikoplazma kaynaklı süperantijenler makrofajlardan T hücre bağımsız sitokin üretimini direkt olarak arttırarak tip II kollajen ile immünize edilmiş farelerdeki artriti tetiklediği ya da şiddetlendirdiği gösterilmiştir (90). Ramirez ve ark. yaptığı vaka kontrol çalışmasında da bu yargıyı destekleyen sonuçlar alınmış ve RA grubu hasta serumlarında *Mycoplasma pneumoniae* IgG antikorlarının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gösterilmiştir (91). Tersine Hoffman ve ark. ise RA hastalarının sinoviyal sıvı ve dokularında mikoplazma DNA' sını tespit edememişlerdir (92).

Mycobacterium tuberculosis' de RA etyolojisinde etkili olduğu düşünölen mikroorganizmalardan biridir. RA ile tüberküloz arasında klinik ve patolojik benzerlikler olması, çeşitli kartilaj proteoglikanları ile mikobakteriler arasında çapraz reaksiyonların bulunması bu görüşü desteklemektedir. Kempell ve ark. *Mycobacterium tuberculosis*' in RA'ya benzer artritlerde rolü olabileceğini ama sonuçlar değerlendirilirken BCG aşısı ile duyarlılığın da göz ardı edilmemesi gerektiğini belirtmişlerdir (93). Öğrendik ve ark. oral anaerob etkenlerden *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. melaninogenica* ve *B. forsythus*'un RA etyopatogenezinde önemli olabilecekleri sonucuna varmışlardır (94). Fungal etkenlerin de RA etyolojisindeki rolünü araştıran deneysel çalışmalar vardır. Yoshitomi ve ark. genetik duyarlılığı olan farelerde fungal β -glukanın otoimmün artriti indüklemeye rolü olabileceğini belirtmişlerdir (95). Bazı aşuların da RA etyopatogenezinde etkili olabileceği düşünölmüştür. Pope ve ark. genetik duyarlılığı olan bireylerde rekombinant hepatit B aşısının RA gelişmesinde tetikleyici olabileceğini göstermişlerdir (96).

Parvovirus B19 dünyada oldukça yaygın bir enfeksiyon etkenidir. Artropati ile parvovirus B19 enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Artrit/artropati gibi eklem semptomları yetişkinlerin %33'ünde ve kadınlarda erkeklerden daha yüksek oranda görülebilir. Akut ve genellikle orta şiddette olan

eklem belirtileri; eklemdede erozif değişiklikler meydana gelmeyen periferall poliartirit Şeklindedir. Bu semptomlar genellikle birkaç hafta devam eder ve kendi kendini sınırlar. Ancak bazen aylarca ya da yıllarca kalabilir. Kronik B19 artropatisi görülen hastaların yaklaşık %50'si romatoid artrit tanı kriterlerini sağlamaktadır (59,60).

Parvovirus B19 enfeksiyona karşı otoimmün reaksiyonlar da tanımlanmıştır. Anti-VP2 antikörlerinin çeşitli otoantijenlerle çapraz reaksiyon verdikleri saptanmıştır. Özellikle romatolojik açıdan izlenen enfekte kişilerdeki VP1'in fosfolipaz A2 benzeri aktivitesinin rol oynadığı anti-fosfolipid antikörlerinin varlığı persistan enfeksiyonla ilişkilidir. NS1; IL-6 ve TNF- α artışını indükleyerek artrit ve sinovyal erozyon gibi immünolojik belirtilere neden olur. Poliklonal B hücre aktivasyonu ile enfekte kişilerde saptanabilen artmış otoantikör sentezine de yol açmaktadır. (61,62). Özellikle erişkinlerde Parvovirus B19'un RA benzeri eklem belirtilerine neden olması etyolojik ajan olarak düŐünülmesine yol açmıŐtır. Parvovirus B19'un direkt sinovyal enfeksiyon yolu ile RA etyolojisinde yeri olabileceği dŐnlmektedir (6,22,24,55).

Çalışkan ve ark. 31 RA, 20 erken sinovitli, 25 SLE, 25 osteoartrit ve 50 sağlıklı bireyde parvovirus B19 IgM ve IgG antikrlerini araştırmışlardır. RA'lı grupta antikör pozitifliğini sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır. RA 'lı grup ile hasta kontrol grupları arasında ise antikör pozitifliği açısında anlamlı bir fark tespit edememişlerdir (97). Lefrere ve ark. Parvovirus B19 seropozitifliğini RA'da %33, sağlıklı kontrol grubunda %25,3 bulmuŐlar ama bunun anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (98). Nikkari ve ark. Parvovirus B19 seropozitifliği yönünden RA ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulamamışlardır (99). Kamanlı ve ark. 29 RA'lı, 16 reaktif artritli ve 32 sağlıklı bireyde ELISA yöntemi ile Parvovirus B19 IgM ve IgG antikrlerini araştırmışlardır. Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır (100).

Bizim alıŐmamızda RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında Parvovirus B19 IgM zgl antikör düzeylerinde anlamlı fark bulamadık. Parvovirus B19 IgG zgl antikör pozitifliğine göre RA grubu ile SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Fakat RA grubunun Parvovirus B19 IgG pozitifliği özellikle sağlıklı kontrol grubundan daha yüksekti. Çalışmamızda SLE grubu serumlarında Parvovirus B19 IgG zgl antikör pozitifliğini ise sağlıklı

kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulduk. Bu bizim için çalışma amacımızdan farklı, şaşırtıcı ama literatür bilgileri ile uyumlu bir sonuçtu. Kronik seyirli otoimmün bir hastalık olan SLE'nin etyopatogenezinde viruslar dahil birçok etken rol oynayabilir. Geçirilmiş Parvovirus B19 enfeksiyonu da hastalık oluşumunu tetikleyen nedenlerden biri olabilir. Çalışmamızın sonucunun desteklediği bu hipotezi yeni bir araştırma konusu gibi düşünebiliriz.

Takahashi ve ark. sinoviyumda Parvovirus B19 VP1 protein ekspresyonunun RA'ya spesifik olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada 14 RA hastasının kemik iliği örneklerinin 5'inde (%36), 39 RA hastasının sinovyal doku örneklerinin 30'unda (%77) parvovirus B19 DNA'sını göstermişlerdir. 26 osteoartritli hastanın sinovyal sıvı örneğinin 4'ünde (%15), 31 travmatik eklem hastasının sinovyal sıvı örneğinin 5'inde (%16) parvovirus B19 DNA'sını göstermişlerdir (101). Chen ve ark. RA grubunda parvovirus B19 DNA pozitifliğini kontrol gruplarına göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. RA'lı 72 hastanın 22'sinin (%30,6) plazmasında, 14 RA'lı hastanın 8'inin (%75.0) sinoviyal sıvısında parvovirus B19 DNA'sını göstermişlerdir. Burada özellikle sinoviyal sıvıdaki oranın yüksekliği dikkat çekicidir (102). Çalışkan ve ark. erken sinovitli 20 hastanın 3'ünde, RA'lı 31 hastanın 4'ünde parvovirus B19 DNA'sını göstermişlerdir (97). Nikkari ve ark. RA ve kontrol gruplarında parvovirus B19 DNA'sı tespit edememişlerdir (99).

Parvovirus B19 DNA'sı saptamaya yönelik real-time PCR yöntemiyle çalıştığımız bu çalışmada grupların hiçbirinde parvovirus B19 DNA'sı saptanmadı. Bunda DNA varlığını yalnızca serum örneklerinde araştırıp sinoviyal sıvı ve doku örneklerini çalışmamıza dahil etmememiz etkili olabilir. Bu tip hasta grupları ile yapılan çalışmalarda özellikle sinovyal sıvı ve doku örneklerinin değerli bir materyal olduğu bilinmekle birlikte, invaziv bir işlem olması nedeniyle olası riskler göz önüne alındığından çalışmaya dahil edilmemiştir. Literatürde Parvovirus B19 ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda hasta ve kontrol grubu sayılarının bizim çalışmamızdan daha az olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmalarda uygulanan moleküler yöntemler genellikle in-house, farklı primerlerin kullanıldığı, kontaminasyona açık, daha subjektif yöntemlerdir. Bizim çalışmamızın hasta ve kontrol grup sayıları bu araştırmalardan daha yüksek olup karşılaştırma için yeterli düzeydedir. Ayrıca kullandığımız moleküler yöntem, kontaminasyon riskinin en az olduğu, CE onaylı,

standardize, özgülüğü ve duyarlılığı yüksek, tam otomatize real time PCR yöntemidir. Sonuç olarak bizim çalışmamız ve diğer çalışmaların sonuçlarına baktığımızda hem uyumlu hem de farklı sonuçları görebiliyoruz. Bu farklılıkları olgu seçimi, kontrol grubu seçimi, karşılaştırılan kriterler, izlem süresi, istatistiksel analiz ve bölgelerdeki genetik- sosyal özelliklerde bir standardizasyon olmaması ile yorumlayabiliriz.

EBV; RA etyolojisinde rolü olduğu düşünülen bir diğer etkidir. Bunun en önemli nedeni; RA'ya genetik yatkınlığı arttırdığı düşünülen HLA-DR4 alelinin β zincirinde bulunan QKRAA motifli aminoasit dizini ile EBV'ye ait gp 110 proteini arasında moleküler benzerlik olmasıdır. Bu özellik paylaşılan epitop teorisi olarak adlandırılır. Bir hipoteze göre; bu paylaşılan epitopa karşı oluşan antikorların eklem proteinlerini etkilemesi ile oluşan hasar RA oluşumunu tetikleyebilmektedir. Ayrıca EBV EBNA-1 antijeninin major epitopu p107'nin kollajen ve keratin ile çapraz reaksiyon vererek RA başlangıcında etkili olabileceği de düşünülmektedir. EBV enfeksiyonunun, genetik yatkınlığı olan bireylerde ortak epitop teorisi ile RA'yı başlatabileceği gibi, otoimmün bir hastalık olan RA'daki immünite bozukluğunun da latent enfeksiyonu tetikleyebileceği unutulmamalıdır (103). Saal ve ark. RA hastalarındaki EBV DNA yükü ve HLA-DRB1 paylaşılan epitop dizininin her ikisini de sağlıklı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır. Paylaşılan epitop pozitifliği ile birlikte EBV varlığının hastalık riskini daha da arttırdığı sonucuna varmışlardır (104).

Ferrell ve ark. EBV VCA, EBNA ve EA antikor düzeyini RA hastalarında osteoartritli kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulmuşlardır (105). Ersoy ve ark. 36 ankilozan spondilit, 38 RA ve 41 sağlıklı bireyden oluşan 3 grupta EBV-VCA IgM ve IgG pozitifliğini araştırmışlardır. RA'lı grupta VCA IgM pozitifliğini her iki gruba göre anlamlı yüksek bulmuşlardır (106). Zhang ve ark. RA, reaktif artrit ve sağlıklı bireylerden oluşan her üç grubun tümünde EBV VCA IgG'yi pozitif tespit etmişlerdir. EBV VCA IgM'i ise yalnızca 1 RA hastasında saptamışlardır (107). Gear ve ark. EBV VCA antikor düzeylerine göre RA ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulamamışlardır (108). Sculley ve ark. EBV EBNA-2 antikorlarını RA grubunda %68, kontrol grubunda %48 oranında tespit etmişlerdir (109). Marchini ve ark. RA'da %25, burkitt lenfomada %12, EMN'de %22, sağlıklı kontrol grubunda

%30 düzeyinde EBV EBNA-1 antikorunu tespit etmişler ve bunun anlamlı olmadığını belirtmişlerdir (110). Slovin ve ark. RF pozitif RA hastaları, RF pozitif artrit olmayan bireyler, RF pozitif RA dışı artritli hastalar ve sağlıklı bireylerden oluşan dört grupta EBV VCA ve EBNA antikor düzeylerine göre anlamlı fark bulamamışlardır (111).

Bizim çalışmamızda RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarının tümünde EBV VCA IgM antikorlarını negatif bulduk ve istatistiksel olarak değerlendiremedik. Gruplar arasında EBV VCA IgG ve EBV EBNA IgG antikor düzeylerine göre anlamlı fark bulamadık. Çalışmamızda tüm gruplarda EBV VCA IgG ve EBV EBNA IgG antikor pozitifliğini %90'ın üzerinde tespit ettik. EBV enfeksiyonu gelişmekte olan ülkelerde yetişkin yaş grubunda %90-95 oranında antikor pozitifliği gösterir (64-67). Çalışma gruplarımızda yaş ortalamasının 30'un üzerinde olduğunu ve ülkemizin sosyoekonomik özelliklerini düşünürsek akut enfeksiyon göstergesi olan EBV VCA IGM için pozitif sonuç bulmamamız literatür bilgileri ile uyumludur. EBV VCA IgG ve EBV EBNA IgG yüksek pozitiflik oranları da toplumda geçirilmiş EBV enfeksiyon prevalansını göstermektedir.

EBV enfeksiyonunun tüm dünyada yaygın olması, yaşam boyu konakta latent kalabilmesi ve bağışıklık sistemini sürekli uyarabilmesi nedeniyle RA gibi SLE için de risk oluşturabilir. SLE, etyolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülen, çok sayıda otoantikorun varlığı ile karakterize, aktivasyon ve remisyon dönemleriyle seyreden sistemik otoimmün bir hastalıktır. Hastalığı tetikleyici çevresel etkenler arasında öne sürülen virüslerden immün sistemle olan farklı ilişkileri nedeniyle retrovirüsler, CMV ve özellikle EBV en çok ilgi çekenleri olmuştur. EBV proteinleri ve otoantijenler arasında moleküler benzerlik olduğu gösterilmiştir. Anti-Sm D1 proteininin 95-119 aminoasitleri ile EBNA-1'in 35-58 aminoasitleri arasında homolog bir dizin tanımlanmıştır. SLE-EBV ilişkisinin araştırıldığı serolojik çalışmalarda, SLE'li hastalarda EBV antikorlarının RA dahil çeşitli kontrol grupları ve araştırılan diğer viral serolojilere göre yüksek bulunduğu dikkat çekmektedir. Özellikle EBV EA antikorunun yüksek bulunduğu çalışmalarda bu sonuç, reaktivasyonda artış veya moleküler benzerlik nedeniyle çapraz reaksiyon şeklinde yorumlanmıştır. Seropozitiflik saptanan SLE'lilerde virüs yükü, seropozitif kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur (114).

Bizim çalışmamızda da EBV EA-D IgG antikor düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık vardı. RA grubu ile sağlıklı kontrol grupları arasında EBV EA-D IgG antikor pozitifliği düzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bununla birlikte SLE grubu serumlarında EBV EA-D IgG antikor pozitifliğini RA grubuna göre ileri düzeyde yüksek, sağlıklı kontrol grubuna göre ise anlamlı yüksek bulduk. Bu sonuçlar literatür bilgileri ile uyumludur.

EBV'nin RA etyolojisindeki rolünü araştırmaya yönelik moleküler düzeyde de birçok çalışma vardır. Balandraud ve ark. 84 RA, 69 sağlıklı kontrol ve 22 RA dışı diğer romatizmal hastalık tanılı bireylerden oluşan grupların periferik kan örneklerinde EBV DNA varlığını araştırmışlardır. RA'lı hastalarda EBV DNA yükünü kontrol gruplarına göre 10 kat yüksek bulmuşlardır (112). Zhang ve ark. EBV DNA yükü açısından RA ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulamamışlardır. Sinoviyal sıvıda; 37 RA hastasının 7'sinde (%19), 15 reaktif artrit hastasının 5'inde (%33) EBV DNA'yı pozitif tespit etmişlerdir. Periferik kan lenfositlerinde ise RA'da %39, reaktif artritte %39, diğer artropatilerde %27 ve sağlıklı kontrol grubunda %31 oranında EBV DNA saptamışlardır (107). Awadhi ve ark. RA ve kontrol grubunda EBV DNA yükü açısından anlamlı fark bulamamışlardır (113).

Real time PCR çalışmamızda gruplarımızın hiçbirinde EBV DNA'sı saptanmadı. Bunda; benzer çalışmalar için çok değerli olan sinovyal sıvı ve doku gibi örnekleri araştırmamıza dahil etmememiz etkili olabilir. İnvaziv işlem gerektiren bu tür örneklerin alınımında klinisyen hekimlerin zorunlu olmadıkça bu işlemi tercih etmemesi nedeniyle çalışmamızda sinovyal sıvı ve doku örnekleri yer almamıştır. Bizim çalışmamızın hasta ve kontrol grup sayıları bu araştırmalardan daha yüksek olup karşılaştırma için yeterli düzeydedir. Ayrıca kontaminasyon riskinin en az olduğu, CE onaylı, standardize, özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek, tam otomatize Real-Time PCR moleküler yöntemi kullanılmıştır.

HSV'nin primer enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir. En önemli özelliği insanda latent duruma geçme eğilimi ve düzensiz aralıklarla aktive olmasıdır. HSV deri ve mukoza membranından vücuda girer. Genellikle lokalize enfeksiyon yapar ve skar bırakmadan lezyon iyileşir. HSV-1 ve HSV-2, primer enfeksiyondan sonra geri

aksonal akım ile dorsal kök ganglionlarına ulaşır. Burada ikinci bir üreme ve daha sonra latent enfeksiyon gerçekleşir. Stres, lokal travma, ateş, güneş ışığı, hormonlar, menstruasyon gibi çeşitli uyaranların etkisi ile virüse karşı antikorların bulunduğu kişilerde HSV aktive olur ve tekrarlayan enfeksiyonlar meydana gelir. HSV-1 trigeminal ganglionda latent kalır ve deri, mukoza ve korneal epitel gibi ektoderm kökenli dokuların genellikle trigeminal sinir ile innerve olduğu bölgelerinde enfeksiyon oluşturur. HSV-2 ise daha çok genital mukozada enfeksiyona neden olup sakral gangliyonda latent kalır (70,71).

HSV; patolojik rolü kesin olarak belirlenememiş ama RA'da rolü olduğu düşünülen virüsler arasındadır. Klinik seyirlerinde artrit meydana getirebilmeleri, artritli eklemlerde bulunabilmeleri, viral genom içeren veya diğer enflamatuvar hücrelerin migrasyonu ile RA etyolojisinde rol alabilecekleri sanılmaktadır (6,22,24,49,55). HSV'nin RA etyolojisindeki yerini araştıran daha az sayıda çalışma mevcuttur. Ersöz ve ark. SLE ve RA'lı hasta serumlarını HSV-1 antikor titreleri yönünden inceleyip sağlıklı kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırdıklarında anlamlı sonuç bulamamışlardır (115). Egorova ve ark. RA, SLE ve diğer romatolojik hastalık tanılı 3 grupta herpesvirus ailesinden EBV, CMV ve HSV virus ilişkisini araştırmışlardır. EBV ve CMV için yüksek titrede antikor düzeyi saptanan hastalarda ilişki bulmuşlardır. Ancak HSV için hiçbir ilişki tespit edememişlerdir (116). Mousavi ve ark. RA etyolojisinde EBV, CMV, HSV-1, HSV-2, HSV-6 ve VZV'nin rolünü araştırmışlardır. Antikor titreleri yönünden EBV VCA IgG dışında diğerleri için anlamlı fark bulamamışlardır (117).

Biz çalışmamızda RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında HSV-1 IgM, HSV-1 IgG, HSV-2 IgM ve HSV-2 IgG özgül antikor düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadık. Sonuçlarımız ile diğer çalışmalar arasında uyumlu sonuçlar mevcuttu.

HSV-1 ve HSV-2'nin RA etyolojisindeki yerini araştırmak amacıyla yapılmış moleküler düzeyde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Mousavi ve ark. hastaların sinoviyal membranlarında HSV-1, HSV-2, HSV-6 ve VZV DNA'sını tespit edememişlerdir (117). Zhang ve ark. romatoid artrit hastalarının sinovyal sıvı ve kan örneklerinde HSV-1 ve HSV-2 DNA'sını gösterememişlerdir (107).

Real-Time PCR ile yapılan moleküler araştırmada grupların hiçbirisinde, HSV-1 ve HSV-2 DNA'sını gösterilememiştir. Bulunan sonuç literatürle uyumludur.

Klamidyalar hareketsiz, zorunlu hücre içi mikroorganizmalardır. *C. trachomatis* son yıllarda özellikle gelişmiş ölkelerde cinsel yolla bulaşan hastalıklar arasında ilk sırayı almıştır. *C. trachomatis*'in A, B, Ba ve C serotipleri özellikle üst göz kapağında bulunan, bulaşıcı ve kornea lezyonları yüzünden körlükle sonuçlanabilen trahom enfeksiyonuna neden olur. *C.trachomatis*'in D-K serotipleri genital sistem enfeksiyonları ile ilgilidir. Nongonokoksik üretrit en sık nedenidir. Enfekte annenin doğum kanalından yenidoğan bebeklere bulaşır. *C.trachomatis*'in L1, L2, L2a, L2b ve L3 serotipleri LGV enfeksiyonuna yol açar (74,75).

C. trachomatis RA etyolojisinde rolü olduğu düşünölen etkenlerden biridir. *C. trachomatis*'in süperantijenler yolu ile sitokin üretimini arttırarak artriti tetiklediği veya şiddetlendirdiği sanılmaktadır. Özellikle kliniğinde reaktif artritin önemli yer alması daha çok dikkati çekmesini sağlamıştır. Bu nedenlerle RA etyolojisinde etken olduğu düşünölmektedir Ancak rolü kesin olarak saptanamamıştır (6,22,24,49,55). Savolainen ve ark. 11RA, 28 spondiloartropati ve 83 tanımlanmamış diğer artritle hasta gruplarında *C. trachomatis* IgG ve IgA antikor düzeylerini incelemişlerdir. Tanımlanmamış gruptaki antikor yüksekliğini diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulmuşlardır (118). Ford ve ark. bakteriyel antijen stimölasyonu ile RA hastalarının sinovyal lenfositlerinde meydana gelen cevabı incelemişlerdir. En yüksek yanıt klamidya ve salmonella bakterilerinde elde etmişler ve bunun anlamlı olduğu sonucuna varmışlardır. Klamidyanın etyolojide rol alabileceğini belirtmişlerdir (119). Lapadula ve ark. *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter intestinalis* ve *C. trachomatis* 'e karşı gelişen özgül antikorları sağlıklı ve romatolojik hastalığı olan 2 grupta karşılaştırmışlardır. RA ile sağlıklı kontrol grubu arasında yalnızca *C. trachomatis* antikorları açısından anlamlı fark bulmuşlardır (120).

Biz alışmamızda RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında *C.trachomatis* IgM antikor düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadık. RA grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında *C.trachomatis* IgG antikor düzeylerine göre anlamlı fark yoktu. SLE grubu ile sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamakla birlikte SLE grubunun *C.trachomatis*

IgG pozitifliğinin sağlıklı kontrol grubundan yüksek olması dikkat çekiciydi. SLE grubunda *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliğinin RA grubuna göre ise anlamlı yüksek olduğunu gösterdik. Cinsiyet açısından anlamlı fark olmayan iki otoimmün hastalık arasında SLE yönünde aldığımız bu sonuç, SLE etyolojisinde *C.trachomatis*'in özellikle araştırılması gerektiğini göstermektedir. Diğer çalışma sonuçlarına göre *C.trachomatis*'in RA etyolojisinde kesin rol oynadığını söylemek mümkün değildir. Bizim çalışmamız da bu sonuçları direkt rol almadığı yönünde destekler niteliktedir.

RA etyolojisinde *C. trachomatis*' in rolünü araştıran literatürde ulaşabildiğimiz tek yayın Jolly ve arkadaşlarının yaptığı olgu çalışmasıdır. *C. trachomatis* genellikle steril, inflamatuvar oligoartrite neden olur. Jolly ve ark. monoartrit bulgusu ile başvuran 34 yaşında kadın hasta ile ilgili olgu çalışmalarında şaşırtıcı sonuçlar elde etmişlerdir. Kan kültürü, idrar kültürü, ARB boyama, gram boyama ve serolojisi negatif olan hastanın rutin sinoviyal sıvı kültürü ve sinoviyal sıvı PCR sonucunu da negatif bulmuşlardır. Sinovyal sıvı örneklerinde yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında ise *C. trachomatis* izole etmişlerdir. Aynı hastaya 4 ay sonraki sinovyal biyopsi sonuçları ve kliniği ile RA tanısı konması, RA etyolojisinde yeri olabileceğini düşündürmüştür (121). Real-Time PCR ile yapılan moleküler araştırmada grupların hiçbirisinde *C. trachomatis* DNA'sı bulunmamıştır.

RA etyopatogenezinde günümüze kadar birçok etken suçlanmış ve araştırılmıştır. Bu çalışmada enfeksiyon etkenlerinden Parvovirus B19, EBV, HSV-1 ve HSV-2, *C. trachomatis*'in RA etyopatogenezindeki yeri araştırılmıştır. Serolojik yanıt ve DNA yük miktarının incelendiği çalışmamızda bu patojenlerin RA etyolojisinde direkt rol almadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte Parvovirus B19, EBV ve *C. trachomatis* ile SLE etyopatogenezi arasında bir ilişki olabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarının diğer çalışmalara yakın olduğu görülmektedir. RA etyopatogenezinde etken olabileceği düşünülen birçok enfeksiyon ajanının rollerini araştırmak için, sinovyal doku ve sıvı örneklerinin dahil edildiği, çok merkezli, birimlerarası işbirliği ile sistematik bir şekilde yürütülen daha geniş kapsamlı araştırmaların yapılması uygun olacaktır.

6. SONUÇLAR

- Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı' da tedavisi süren kesin tanılı 87 RA hastası, 50 SLE hastası ve Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi kan bankasına başvuran sağlıklı donörlerden 50 kişilik kontrol grubu çalışmaya alındı. Tüm grupların serumlarında Parvovirus B19, EBV, HSV, *C. trachomatis* seropozitifliğini ELISA yöntemi ile, Parvovirus B19, EBV, HSV, *C.trachomatis* genom varlığı ve yükü real-time PCR yöntemi ile araştırıldı.

- Hastaların yaş ortalaması RA'da $53,32 \pm 12,68$, SLE'de $35,54 \pm 10,93$ ve sağlıklı kontrol grubunda $32,16 \pm 9,03$ idi. RA grubundaki hastaların yaş ortalaması SLE grubuna göre istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

- RA hastalarının 73'ü kadın, 14'ü erkekti. SLE hastalarının 46'sı kadın, 4'ü erkekti. Sağlıklı kontrol grubunun 7'si kadın, 43'ü erkekti. RA ve SLE grupları arasında cinsiyet yönünden anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$).

- RA ve SLE grupları arasında hastalık süreleri, sigara, alkol, oral kontraseptif kullanımı, ailede RA, SLE ve diğer otoimmün hastalık görülmesi yönünden anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

- RA grubunun RF ve CRP pozitifliği hem SLE hem de sağlıklı kontrol grubundan ileri düzeyde anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). SLE grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre CRP pozitifliği istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksek ($p < 0,001$), RF pozitifliği anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). RA ve SLE grubunda ESR pozitifliği sağlıklı kontrol grubuna göre ileri düzeyde yüksekken ($p < 0,001$), RA ve SLE grupları arasında fark olmadığı gösterilmiştir.

- RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında Parvovirus B19 IgM antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). RA grubu Parvovirus B19 IgG pozitifliği ile diğer gruplar arasında anlamlı fark tespit edilememiştir ($p > 0,05$). SLE grubu serumlarında Parvovirus B19 IgG antikor pozitifliğinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir ($p < 0,05$).

- RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarının tüm olgularında EBV VCA IgM antikorları negatif bulunmuştur. Gruplar arasında EBV VCA IgG ve EBV EBNA

IgG antikor pozitifliğine göre anlamlı fark gösterilememiştir ($p>0,05$). SLE grubunda EBV EA-D IgG antikor pozitifliği RA grubuna göre ileri düzeyde ($p<0,001$), sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). RA grubu ile sağlıklı kontrol grupları arasında EBV EA-D IgG antikor pozitifliğine göre anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

- RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında HSV-1 IgM, HSV-1 IgG, HSV-2 IgM ve HSV-2 IgG özgül antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

- RA, SLE ve sağlıklı kontrol grupları arasında *C.trachomatis* IgM antikor pozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$). SLE grubunda *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliği RA grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). SLE ve RA grupları *C.trachomatis* IgG antikor pozitifliği ile sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilememiştir ($p>0,05$).

- RA, SLE ve sağlıklı kontrol gruplarında Parvovirus B19, EBV, HSV, *C.trachomatis* genom varlığı negatif bulunmuştur.

Sonuç olarak, çalışmamızda Parvovirus B19, EBV, HSV-1, HSV-2 ve *C. trachomatis* RA etyopatogenezi ile ilişkilendirilemedi. Bununla birlikte Parvovirus B19, EBV ve *C. trachomatis* ile SLE etyopatogenezi arasında bir ilişki olabileceği gösterildi. Bulgularımız diğer yayınların birçoğu ile uyumludur. Yine de RA ve SLE etyolojisinde çalışmaya alınan etkenlerin rolü vardır ya da yoktur gibi kesin ifadelerin kullanılması doğru görünmemektedir. Çalışmaya dahil edilenler ve yayınlarda adı geçen diğer birçok enfeksiyon etkeninin RA etyopatolojisindeki rollerinin daha iyi anlaşılması için, daha da geniş kapsamlı, hastaların sinovyal doku ve sıvı örneklerinin dahil edildiği, sistemik yürütülen, birimler arasında işbirliği olan, çok merkezli araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Hochberg MC, Chang RW, Dwosh I, Lindsey S, Pincus T, Wolfe F. American College of Rheumatology 1991 revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 498-502.
2. Sangha O. Epidemiology of rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39 (2): 3-12.
3. Van Doornum S, Mc Coll G, Wicks IP. Accelerated atherosclerosis: An extraarticular feature of rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum* 2002; 46: 862-873.
4. Symmons DP. Epidemiology of rheumatoid arthritis: determinants of onset, persistence and outcome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002; 16: 707-722.
5. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2002; 4: 265-272.
6. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (eds), *Rheumatology*, New York: Mosby; 2003; 753-937.
7. Storey GO, Comer M, Scott DL. Chronic arthritis before 1876: early British cases suggesting rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53(9): 557-560.
8. Pincus T, Callahan If. How many types of patients meet classification criteria for rheumatoid arthritis? *J Rheumatol* 2004; 1385-1389.
9. Kaipiainen-Seppanen O, Aho K, Isomaki H, Laakso M. Incidence of rheumatoid arthritis in Finland during 1980-1990. *Ann rheum Dis* 1996; 55: 608-611.
10. Doran MF, Pond GR, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in incidence and mortality in rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, over a forty-year period. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 625-631.
11. Shichikawa K, Inoue K, Hirota S, Maeda A, Ota H, Kimura M, et al. Changes in the incidence and prevalence of rheumatoid arthritis in Kamitonda, Wakayama, Japan, 1965-1996. *An Rheum Dis* 1999; 58: 751-756.
12. Symmons DP, Barrett EM, Bankhead CR, Scott DG, Silman AJ. The incidence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: results from the Norfolk Arthritis Register. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 735-739.

13. Silman AJ. The changing face of rheumatoid arthritis: why the decline in incidence? *Arthritis Rheum* 2002; 46: 576-581.
14. Simonsson M, Bergman S, Jacopsson LT, Petersson IF, Svensson B. The prevalence of rheumatoid arthritis in Sweden. *Scand J Rheumatol* 1999; 28: 340-343.
15. Carmona L, Villaverde V, Hernandez-Garcia C, Ballina J, Gabriel R, Laffon A. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. *Rheumatology (Oxford)*. 2002; 41: 88-95.
16. Del Puente A, Knowler WC, Pettitt PH. High incidence and prevalence of rheumatoid arthritis in Pima Indians. *Am J Epidemiol* 1989; 129: 1170-1178.
17. Harvey J, Lotze M, Stevens MB, Lambert G, Jacopson D. Rheumatoid arthritis in a Chippewa Band. I. Pilot screening study of disease prevalence. *Arthritis Rheum* 1981; 24: 717-721.
18. Symmons D, Turner G, Web R, Asten P, Barrett E, Lunt M, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: new estimates for a new century. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 793-800.
19. Akar S, Birlik M, Gürler O, Sarı I, Önen F, Manisalı M, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in an urban population of İzmir-Turkey. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: 416-420.
20. Gümüşiş G: Bağ dokusu hastalıkları: Romatoid Artrit. Gümüşiş G, Doğanavşargil E (eds). *Klinik Romatoloji El Kitabı*, Güven Matbaası, İzmir, 2003: 209-227.
21. Bresnihan B. Preventing joint damage as the best measure of biologic drug therapy. *J Rheumatol* 2002; 29: 39-43.
22. Firestein GS, Edward D, Harris JR. Rheumatoid Arthritis. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, eds. *Kelley's Textbook of Rheumatology*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2005: 996-1073.
23. Muller-Ladner U, Kriegsmann J, Gay RE, et al. Progressive joint destruction in a human immunodeficiency virus-infected patient with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38(9): 1328-1332.

- 24.** Ergin S. Romatoid Artrit ve Sjögren Sendromu. Beyazova M, Gökçe- Kutsal Y (eds). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Cilt 2. Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2000; 1549-1576.
- 25.** Firestein GS, Zvaifler NJ. Peripheral blood and synovial fluid monocyte activation in inflammatory arthritis. II. Low levels of synovial fluid and synovial tissue interferon suggest that gama-interferon is not the primary macrophage activating factor. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 864-871.
- 26.** Jorgensen C, Djoud F, Fritz V, Apparailly F, Plence P, Noel D. Mesenchymal stem cells and rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2003; 70: 483-485.
- 27.** Budh M, Emery P. The Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Hospital Pharmacist* 2002; 9: 5-10.
- 28.** Dayer JM. The process of identifying and understanding cytokines: from basic studies to treating rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheum* 2004; 18(1): 31-45.
- 29.** Burmester GR, Stuhlmuller B, Keyszer G, Kinne RW. Mononuclear phagocytes and rheumatoid arthritis. Mastermind or workhorse in arthritis? *Arthritis Rheum* 1997; 40: 5-18.
- 30.** Pettit AR, Walsh NC, Manning C, Goldring SR, Gravalles EM. RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 45: 1068-1076.
- 31.** Goldring SR. Bone and joint destruction in rheumatoid arthritis: what is really happening? *J Rheumatol* 2002; 29 (65): 44-48.
- 32.** Lee MD, Rheumatoid Arthritis. *Lancet* 2001; 358: 903–911.
- 33.** Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R, Cylwik JP, Cylwik B, Skowronski J, Chwiecko J. Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with distinct variants of rheumatoid synovitis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2002; 61: 804-809.
- 34.** Vergunst CE, Van de Sande MG, Lebre MC, Tak PP. The role of chemokines in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Scand J Rheumatol* 2005; 34: 415-425.

35. Murphy G, Lee MH. What are the roles of metalloproteinases in cartilage and bone damage? *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 44-47.
36. Maruotti N, Cantatore FP, Crivellato E, Vacca A, Ribatti D, Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Histol Histopathol* 2006; 21: 557-566.
37. Walker D, Jason J, Wallace K, Slaughter J, Whatney V, Han A, Nwnyanwu OC, et al. Spontaneous cytokine production and its effects on induced production. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002; 9(5): 1049-1056.
38. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology* 2005; 239-261, 376-393.
39. O'Shea JJ, Averil MA, Lipsky P. Cytokines and autoimmunity. *Nature Rev Immunol* 2002; 1-9.
40. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996; 383: 787-793.
41. Bulut V. İnfeksiyon hastalıklarında Th1 ve Th2 yanıtı. Deniz G, Direskeneli GS, eds. *İmmünolojide Gelişmeler*, İstanbul. 2003; 157-168.
42. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self tolerance. *Cell* 2000; 101: 455-458.
43. Andreakos ET, Foxwell BM, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. Cytokines and anti-cytokine biologicals in autoimmunity: present and future. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 299-313.
44. Cope AP, Aderka D, Doherty M, Engelmann H, Gibbons D, Jones AC, Brennan FM, Maini RN, Wallach D, Feldmann M. Increased levels of soluble tumor necrosis factor receptors in the sera and synovial fluid of patients with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 1160-1169.
45. Firestein GS, Boyle DL, Yu C, et al. Synovial interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 balance in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994 ; 37(5): 644-652.

46. Unemori EN, Bair MJ, Bauer EA, Amento EP. Stromelysin expression regulates collagenase activation in human fibroblasts. Dissociable control of two metalloproteinases by interferon-gamma. *J Biol Chem.* 1991; 266(34): 23477-23482.
47. Chabaud M, Fossiez F, Taupin JL, Miossec P. Enhancing effect of IL-17 on IL-1-induced IL-6 and leukemia inhibitory factor production by rheumatoid arthritis synoviocytes and its regulation by Th2 cytokines. *J Immunol.* 1998; 161(1): 409-14.
48. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G. Temel İç Hastalıkları, Romatoid Artrit. 2003; 2702-2713.
49. Ertenli İ. Romatoid Artrit. Romatizmal Hastalıklara Giriş 2000; 97-101.
50. Fresko İ: Romatoid Artritin Eklem Dışı Bulguları. Hamuryudan V. (ed). Romatoid Artrit, MD Yayıncılık, Ankara, 2002; 20-24.
51. Lipsky PE. Rheumatoid Arthritis. İn Braunwald E et al. *Harrisons 15th Principles of Internal Medicine*, New York, Mc Graw Hill 2001:1928-1937.
52. Shmerling RH. Diagnostic tests for rheumatic disease: clinical utility revisited. *South Med J* 2005; 704-711.
53. Tighe H, Carson DA. Romatoid Factor. Haris ED (Ed.), *Kelley Romatoloji*. Çev.Ed: Arasıl T . Güneş Kitabevi, 2006; 301-307.
54. Mimori T. Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Intern Med.* 2005; 44: 1122-1126.
55. Öncel S, Peker Ö, Gögüş F. Romatoid Artritte Etiyopatogenez, Klinik ve Laboratuvar Bulgular. Göksoy T (ed). *Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi* Yüce reklam a.ş. İstanbul, 2002; 422-449.
56. Symmons DP. Environmental factors and the ourcome of rheumatoid arthritis. . *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2003; 27: 630-637.
57. Düzgün N. Sistemik Lupus Eritematozus Etiyopatogenezi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 8(1): 8-11.
58. Ebringer A. Rheumatoid arthritis and proteus. *Clin Med* 2005; 5: 420-1.
59. Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19, *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(3): 485-505.

- 60.** Jordan JA. Human Parvoviruses, In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Landry ML. Manual of Clinical Microbiology 9th ed. Vol II. ASM Press, Washington, DC. 2007: 1622-1630.
- 61.** Kerr JR. Pathogenesis of Parvovirus B19 infection: host gene variability, and possible means and effects of virus persistence, *J. Vet. Med.* 2005; 52: 335- 339.
- 62.** Tsay GJ, Zouali M. Unscrambling the role of human parvovirus B19 signaling in systemic autoimmunity, *Biochem. Pharmacol.* 2006; 72(11): 1453-1459.
- 63.** Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *New England Journal of Medicine*, 2000; 343: 481-492.
- 64.** Linde A, Falk KI. Epstein-Barr Virus, In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Landry ML. Manual of Clinical Microbiology 9th ed. Vol II. ASM Press, Washington, DC. 2007: 1564-1573.
- 65.** Shooley RT. Epstein-Barr virus infections (Infectious Mononucleosis) In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practise of Infectious Diseases*. 6th ed. New York: Churcill Livingston; 2005: 1801-1820.
- 66.** Kieff E. Epstein-Barr Virus and its Replication. ed. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, Roizman B, Straus SE. Lippincott – Raven Publishers, Philadelphia, 1996; 2343-2380.
- 67.** Fleisher GR. Epstein-Barr virus. In Belske RB ed. *Textbook of human virology*, second edition, USA. 1991; 862-888.
- 68.** Precopio ML, Sullivan JL, Willard C, Somasundaran M, Luzuriaga K. Differential kinetics and specificity of EBV-specific CD4+ and CD8+ T cells during primary infection. *J Immunol.* 2003; 170: 2590-2598.
- 69.** Toussiroit E, Wendling D, Tiberghien P, Luka J, Roudier J. Decreased T cell precursor frequencies to Epstein-Barr virus glycoprotein gp110 in peripheral blood correlate with disease activity and severity in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 533-538.

70. Roizman B. Herpesviridae, Whitley RJ. Herpes simplex viruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et. Al. (eds), *Fields Virology* (3th ed.) vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1996; pp: 2221-2342.
71. Jerome KR, Morrow RA. Herpes simplex viruses and Herpes B virus. In: Murray PR. (ed), *Manuel of Clinical Microbiology* (9th ed.) vol. 2. Washington DC 2007: 1523-1536.
72. Mabey DCW, Solomon AW, Foster A. Trachoma, *Lancet* 2003; 362: 223-229.
73. Schachter J, *Biology of Chlamydia trachomatis*, Sexually transmitted diseases. Third Edition, Holmes KK, Sparling, PF, Mardh PA, Lemon MS. (eds), McGraw-Hill New York. 1999: 391-405.
74. Essig A. Chlamydia and Chlamydophila. In: Murray PR. (ed), *Manuel of Clinical Microbiology* (9th ed.) vol. 2. Washington DC 2007: 1021-1035.
75. Stamm WE, Jones RB, Batteiger BE. Chlamydia trachomatis (Trachoma, Perinatal Infections, Lymphogranuloma Venereum, and Other Genital Infections). In: *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6th ed. Mandell, GL, Bennett, JE, Dolin, R, (Eds), Churchill Livingstone, Philadelphia, PA 2005; 2239-2256.
76. Andrianakos A, Trontzas P, Christoyannis F, Kaskani E, Nikolia Z, Tavaniotou E, Georgountzos A, Krachtis P. Prevalence and management of rheumatoid arthritis in the general population of Greece, *Rheumatology* 2006; 45: 1549–1554.
77. Gorman JD. Smoking and Rheumatoid Arthritis: Another Reason to Just Say No, *Arthritis Rheum* 2006; 54: 10-13.
78. Symmons DPM, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Barrett EM, Scott DGI, Silman AJ. Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case–control study in Norfolk, England. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1955-1961.
79. Uhlig T, Hagen KB, Kvien TK. Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis, *J Rheumatol.* 1999; 26(1): 47-54.

- 80.** Hazes JMV, Dijkmans BAC, Vandenbroucke JP. Lifestyle and the risk of rheumatoid arthritis: cigarette smoking and alcohol consumption, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1990; 49: 980-982.
- 81.** Cerhan J, Saag K, Criswell L, Merlino L. Blood transfusion, alcohol use, and anthropometric risk factors for rheumatoid arthritis in older women, *The Journal of Rheumatology* 2002; 29: 246-254.
- 82.** Brennan P, Bankhead C, Silman A, Symmons D. Oral contraceptives and rheumatoid arthritis: results from primary carebased incident case-control study, *Semin Arthritis Rheum*. 1997; 26: 817-823.
- 83.** Drossaers-Bakker KW, Zwinderman AH, van Zeben D, Breedveld FC, Hazes JM. Pregnancy and oral contraceptive use do not significantly influence outcome in long term rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002, 61(5): 405-408.
- 84.** Bellamy N, Duffy D, Martin N, Mathews J. Rheumatoid arthritis in twins: a study of aetiopathogenesis based on the Australian Twin Registry, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1992; 51: 588-593.
- 85.** Kınıklı G, Ateş A, Turgay M, Akay G, Kinikli S, Tokgöz G. HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis in Turkey, *Scand J Rheumatol*. 2003; 32(5): 277-280.
- 86.** Şentürk T. Sistemik Lupus Eritematosus'da laboratuvar bulgular, *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 8(1): 67-72.
- 87.** Maraş Y, Kiraz S. Akut faz proteinleri, *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2(43):16-19.
- 88.** Newkirk MM, Goldbach-Mansky R, Senior BW, Klippel J, Schumacher HR Jr, El-Gabalawy HS. Elevated levels of IgM and IgA antibodies to *Proteus mirabilis* and IgM antibodies to *Escherichia coli* are associated with early rheumatoid factor (RF)-positive rheumatoid arthritis, *Rheumatology* 2005;44:1433-1441.
- 89.** Chandrashekara S, Ramesh MN, Shobha A, Saravanan Y, Vadiraja HS, Navaneeth BV, Sandhya Belwadi MR. *Proteus mirabilis* and rheumatoid arthritis: no association with the disease, *Clin Rheumatol*. 2003; 22(3): 218-220.

- 90.** Cole BC, Griffiths MM. Triggering and exacerbation of autoimmune arthritis by the mycoplasma arthritis superantigen mam, *Arthritis Rheum* 1993; 36: 994-1002.
- 91.** Ramirez AS, Rosas A, Hernandez-Beriain JA, Relationship between rheumatoid arthritis and *Mycoplasma pneumoniae*: a case-control study, *Rheumatology* 2005; 44(7): 912-14.
- 92.** Hoffman RW, O'Sullivan FX, et al. *Mycoplasma* infection and rheumatoid arthritis. Analysis of their relationship using immunoblotting and an ultrasensitive polymerase chain reaction detection method, *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1219-1228.
- 93.** Kempell KE, Cox CJ, Mc Colm AA. et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Group Organisms in Human and Mouse Joint Tissue by Reverse Transcriptase PCR: Prevalence in Diseased Synovial Tissue Suggests Lack of Specific Association with Rheumatoid Arthritis, *Infection and immunity*, 2001; 69: 1821-1831.
- 94.** Öğrendik M, Kokino S, Özdemir F, et al. Serum antibodies to oral anaerobic bacteria in patients with rheumatoid arthritis. *MedGenMed*. 2005; 7(2): 2.
- 95.** Yoshitomi H, Sakaguchi N, Kobayashi K, et al. A role for fungal β -glucans and their receptor Dectin-1 in the induction of autoimmune arthritis in genetically susceptible mice, *J Exp Med*. 2005; 201(6): 949-960.
- 96.** Pope JE, Stevens A, Howson W, Bell DA. The development of rheumatoid arthritis after recombinant hepatitis B vaccination, *J Rheumatol*.1998; 25(9): 1687-1693.
- 97.** Çalışkan R, Masatlıoğlu S, Aslan M, Altun S, et al. The relationship between arthritis and human parvovirus B19 infection. *Rheumatol Int*. 2005; 26(1): 7-11.
- 98.** Lefrere JJ, Meyer O, Merkes CJ, et al. Human parvovirus and rheumatoid arthritis. *Lancet* 1985; 1: 982.
- 99.** Nikkari S, Luukkainen R, Mottonen T, Meurman O, et al. Does parvovirus B 19 have a role in rheumatoid arthritis? *Annals of the Rheumatic Diseases* 1994; 53: 106-111.

- 100.** Kamanlı A, Çalaşyer İ, Kaya A. Romatoid artritli hastalarda Human Parvovirus B19 IgG ve IgM antikor düzeyleri, *Romatizma* 2001; 16(3): 138-142.
- 101.** Takahashi Y, Murai C, Shibata S, Munakata Y, Ishii T, Ishii K, Saitoh T, Sawai T, Sugamura K, Sasaki T. Human parvovirus B19 as a causative agent for rheumatoid arthritis. *PNAS* 1998; 95(14): 8227-8232.
- 102.** Yueh-Sheng Chen, Pei-Hsi Chou, Shui-Nin Li, et al. Parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis in Taiwan. *J Rheumatol* 2006; 33(5): 887-891.
- 103.** Costenbader KH, Karlson EW. Epstein–Barr virus and rheumatoid arthritis: is there a link? *Arthritis Res Ther.* 2006; 8(1): 204-211.
- 104.** Saal JG, Krimmel M, Steidle M, Gerneth F, et al. Synovial Epstein-Barr virus infection increases the risk of rheumatoid arthritis in individuals with the shared HLA-DR4 epitope. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1485-1496.
- 105.** Ferrell PB, Aitchison CT, Pearson GR, Tan EM. Seroepidemiological study of relationships between Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 1981; 67(3): 681–687.
- 106.** Ersoy Y, Otlu B, Karatutlu İ, et al. İnflamatuvar romatizmal hastalıklarda Epstein-Barr ve Cytomegalovirus antikor pozitifliği, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 2000; 7(2): 141-143.
- 107.** Zhang L, Nikkari S, Skurnik M, Ziegler T, Luukkainen R, Möttönen T, Toivanen P. Detection of herpesviruses by polymerase chain reaction in lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1993; 36(8): 1080-1086.
- 108.** Gear AJ, Venables PJ, Edwards JM, Maini RN, Ansell BM. Rheumatoid arthritis, juvenile arthritis, iridocyclitis and the Epstein-Barr virus. *Ann Rheum Dis.* 1986; 45(1): 6-8.
- 109.** Sculley TB, Pope JH, Hazelton RA. Correlation between the presence of antibodies to the Epstein-Barr virus nuclear antigen type 2 and antibodies to the rheumatoid arthritis nuclear antigen in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1986; 29(8): 964-970.

- 110.** Marchini B, Dolcher MP, Sabbatini A, Klein G, Migliorini P. J Autoimmun. Immune response to different sequences of the EBNA I molecule in Epstein-Barr virus-related disorders and in autoimmune diseases. 1994; 7(2): 179-191.
- 111.** Slovin SF, Kuberski TT, Carson DA, Catalano MA, Reitz EM, Vaughan JH. Epstein-Barr virus associated antigens in Pima Indians with and without rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 1983; 3(2): 65-68.
- 112.** Balandraud N, Meynard JB, Auger I, Sovran H, et al. Epstein-Barr virus load in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis: accurate quantification using real-time polymerase chain reaction. *Arthritis Rheum* 2003, 48: 1223-1228.
- 113.** Al-Awadhi A, Voevodin A. Epstein-Barr Virus DNA is Not Detectable by Polymerase Chain Reaction in the Synovial Fluid of the Vast Majority of Rheumatoid Arthritis Patients Residing in Kuwait, *Med Principles Pract* 1997;6:9-13.
- 114.** Esen BA, İnanç M. Sistemik lupus eritematozus etyopatogenezinde virusların rolü, *J Ist Faculty Med* 2005; 68: 85-91.
- 115.** Ersöz D, Ustaçelebi Ş. Sistemik Lupus Eritematozus ve Romatoid Artritde Virus Antikor Düzeyleri, *Türkiye Klinikleri Tıp Bil Araştırma Der.* 1985; 3(4): 349-352.
- 116.** Egorova ON, Balabanova RM, Chuvirov GN. The significance of determining antibodies to viruses of the Herpesviridae family in rheumatic diseases, *Ter Arkh.* 1999; 71(5): 57-61.
- 117.** Mousavi-Jazi M, Boström L, Lövmärk C, et al. Infrequent detection of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus DNA in synovial membrane of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1998; 25(4): 623-628.
- 118.** Savolainen E, Kettunen A, Narvanen A, Kautiainen H, et al. Prevalence of antibodies against *Chlamydia trachomatis* and incidence of *C. trachomatis*-induced reactive arthritis in an early arthritis series in Finland in 2000, *Scand J Rheumatol.* 2009; 18: 1-4.
- 119.** Ford DK, Schulzer M. Synovial lymphocytes indicate "bacterial" agents may cause some cases of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1994; 21(8): 1447-1449.

120. Lapadula G, Covelli M, Numo R. Antibacterial antibody pattern in seronegative spondyloarthropathies (SNSA). *Clin Exp Rheumatol*. 1988; 6(4): 385-390.

121. Jolly M, Curran J J. Chlamydial infection preceding the development of rheumatoid arthritis: a brief report. *Clin Rheumatol* 2004; 23(5): 453-455.