

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI
ROMATOLOJİ BİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**T.C. YÜKSEKÖĐRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

İNFLAMATUVAR ARTRİTLERDE SİNOVYAL SIVIDAKİ

MATRİKS METALLOPROTEİNAZ – 1

VE

DOKU METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRÜ– 1

DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

T 91794

UZMANLIK TEZİ

Hv. Tbp. Kd. Yzb. Hakan ERDEM

ANKARA –2000

ÖNSÖZ

Bu tez konusu, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalı Başkanlığı tarafından 1999 yılında verilmiş ve 1999-2000 yılları arasında çalışılmıştır.

Artiritle kemik ve kıkırdakta gözlenen yıkıma yol açan başlıca olay, değişik hücrelerden salınarak kollajen ve proteoglikanları parçalayan aktif proteazların düzeylerinde ortaya çıkan artıştır. Kondrositler tarafından üretilen proteazlar osteoartritte gözlenen eklem yıkımının başlıca sorumlusuyken, romatoid artrit gibi inflamatuvar aktivitenin şiddetli olduğu hastalıklarda gözlenen eklem yıkımına sinovyal ve inflamatuvar hücrelerce üretilen proteazlarda etkin şekilde katkıda bulunur. Bu proteazların en önemlisi hücre dışı matrikste etkin olan matriks metalloproteazlarıdır. Bu enzimler temel olarak hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonu, yara iyileşmesi, tümör invazyonu ve metastaz gibi hücrenin bir çok biyolojik işlevinin yerine getirilmesinde görev alırlar. Bunlar hep birlikte aktif oldukları zaman bağ dokusu matriksinin bütün bölümlerini parçalayabilirler. Metalloproteinazların eklem içindeki inhibisyonunu doku metalloproteinaz inhibitörleri denilen bir grup protein sağlar. Bu proteinler metalloproteinazlara oldukça yüksek afinite ile bağlanarak enzimin aktivitesini bloke ederler. Enzim ve inhibitörü arasındaki ilişki ve denge eklemdeki kıkırdak yıkımının şiddetini belirler. Denge metalloproteinazlar lehine bozulursa eklem kıkırdağında yıkım ortaya çıkar.

Bu çalışmanın amacı artitlerin aktif dönemlerinde eklem sıvısında MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerini ölçerek erozyon yapan ve yapmayan artrit tiplerinde MMP-1 ve TIMP-1 profillerini belirlemek ve bu proteinlerin erozyona katkılarının olup olmadığının araştırılmasıdır.

Bu çalışmanın yürütülmesinde katkılarını esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Yrd.Doç.Tbp.Bnb. Salih PAY'a, uzmanlık öğrenciliğim süresince yardımlarını esirgemeyen ve her tür bilimsel katkıda bulunan sayın hocalarım Yrd.Doç.Tbp.Bnb. Ayhan DİNÇ'e, GATA İç Hastalıkları Bilim Dalı Başkanı Prof.Tbp.Kd.Alb. Fikri KOCABALKAN'a, GATA İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı. Prof.Tbp.Tuğg. Atilla YALÇIN'a, Prof.Tbp.Kd.Alb. Nurettin ÖZCAN'a, Prof.Tbp.Kd.Alb. İ. Hakkı KOÇER'e, Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. İ. Çağlayan ÖZDEMİR'e, Prof. Tbp.Kd.Alb Mustafa KUTLU'ya, Prof.Tbp.Alb Selahattin ERİKÇİ'ye, Doç.Tbp.Alb. Tahir ÜNAL'a, Doç.Hv.Tbp.Bnb. Yavuz BAYKAL'a, Doç.Tbp.Kd.Bnb. Kenan SAĞLAM'a, Doç.Tbp.Kd.Bnb. Bayram KOÇ'a, Doç.Tbp.Bnb. M. Refik MAS'a, çalışmamda emeği bulunan Doç.Tbp.Kd.Bnb. Mustafa TURAN'a, Yrd.Doç.Dnz.Tbp.Bnb. Muhittin Abdülkadir SERDAR'a, birlikte çalışmaktan büyük haz duyduğum tüm uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma ve GATA İç Hastalıkları Bilim Dalı personeline teşekkürü bir borç bilirim.

Hv. Tbp. Kd. Yzb. Hakan ERDEM

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
A. EKLEM KIKIRDAĞININ YAPISI VE ÖZELLİKLERİ.....	3
B. EKLEM KIKIRDAĞININ YIKIMI VE TAMİRİ	10
C. ROMATOİD ARTRİT VE METALLOPROTEİNAZLAR	26
D. OSTEOARTRİT VE METALLOPROTEİNAZLAR.....	31
E. AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ	33
F. BEHÇET HASTALIĞI	35
G. SPONDİLARTROPATİLER.....	36
III. GEREÇ VE YÖNTEM	38
IV. BULGULAR.....	41
V. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
VI. ÖZET	55
VII. İNGİLİZCE ÖZET	57
VIII. KAYNAKLAR	59

GİRİŞ

Artiritleerde kemik ve kıkırdaktaki yıkımın temel nedeni kollajen ve proteoglikanları yıkan ve çeşitli hücrelerden salınan aktif proteaz düzeylerindeki artıştır. Bu proteazların kökeni hastalığın tipine bağlıdır. Örneğin osteoartritte (OA) proteazların başlıca kaynağı kondrositlerken, romatoid artritte (RA) kondrositlerin yanı sıra sinovyal ve inflamatuvar hücrelerden önemli miktarda proteaz salınmaktadır. Bu proteazların en önemlisi hücre dışı matrikste etkin olan matriks metalloproteazlarıdır (4).

Matriks metalloproteinazları (MMP) nötral pH'de hücre dışı matriks makromoleküllerini yıkan çinko bağımlı enzimlerdir. Bu enzimler temel olarak hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu, yara iyileşmesi, tümör invazyonu ve metastaz gibi hücrenin bir çok biyolojik fonksiyonun yerine getirilmesinde görev alırlar Bunlar hep birlikte aktif oldukları zaman bağ dokusu matriksinin bütün bölümlerini parçalayabilirler (4).

Matriks metalloproteinazlarının OA ve RA sinovyal sıvılarındaki düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiştir. Bu çalışmalarda kıkırdak harabiyeti ile matriks metalloproteinazları arasında ilişki olduğu gösterilmiştir.

Eklemdeki metalloproteinazların başlıca inhibitörlerinden biri doku metalloproteinaz inhibitörleridir (TIMP). TIMP metalloproteinaz ailesinin TIMP 1, 2, 3 ve 4 olarak adlandırılan, en az dört üyesi bulunmaktadır. Bu proteinler metalloproteinazlara oldukça yüksek afinite ile bağlanarak enzim aktivitesini bloke ederler. Latent MMP'lere de bağlanabilmelerine karşın, genellikle aktif MMP'lere bağlanırlar (3).

Sinovyal dokunun donmuş kesitlerinin in situ hibridizasyon çalışmalarıyla RA'lı hastaların sinovyal hücre dizilimlerinde büyük miktarlarda TIMP-1 mRNA gösterilmiştir. OA ve RA hastalarında MMP-1 gen ekspresyonunun farklılık göstermesine karşın TIMP-1 gen ekspresyonu benzerdir (4).

Bu çalışmada erozyon yapan ve yapmayan artritlerdeki MMP-1 ve TIMP-1 düzeylerinin belirlenerek, eklem kıkırdagında oluşan erozyonda MMP-1 ve TIMP-1'in etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

A-EKLEM KIKIRDAĞININ YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Eklem kıkırdağı diartrodial eklemlerin işlevini yerine getirebilmesini sağlayan temel yapıdır. Eklemdeki kemik yüzeyleri kıkırdak ile kaplanmıştır. Kıkırdak kalınlığı eklemlerin bazı bölgelerinde 5 mm ye kadar ulaşabilir. Sinovyal sıvı ve kıkırdak diartroidal eklemlerde sürtünmesiz hareketten sorumludur. Yüksek miktarda su içermesine rağmen yarı serttir. Kıkırdağın eklem bakan yüzeyi düz değildir ve birçok girinti çıkıntı içerir. Bu da yağlama fonksiyonunun etkinliğini artırır. Eklem kıkırdağı sinir, kan ve lenf damarı içermez. Beslenmesi sinovyal sıvıdan difüzyon sistemi ile olur. Kıkırdak esas olarak kollajen ve proteoglikandan oluşan bir hücre dışı matriks ile bunun içinde seyrek olarak dağılmış olan kondrositlerden oluşmaktadır. Kıkırdağın histolojik incelemesi eklem yüzeyinden kemiğe doğru dört bölgenin ayırt edilmesini sağlar: **1.Tanjansiyel veya süzülme bölgesi:** (%5-10) Kollajen lifler yüzeye doğru tanjansiyel olarak, kondrositler ise uzun eksenini yüzeye paralel olacak şekilde dizilmişlerdir. **2.Geçiş veya ara bölge:** (%40-45) Kollajen lifler ve seyrek kondrositler rastgele dizilmiştir. Kondrositlerin içinde bulunduğu lakünalar kolaylıkla ayırt edilebilir. **3.Radiyal bölge:** (%40-45) Kollajen lifler yüzeye perpendiküler (dikey) olarak, kondrositler ise kısa sütunlar oluşturan sıralar şeklinde dizilmiştir. **4.Kalsifiye bölge:** (%5-10) Yüzeye bakan tarafta hemotoksileneozin boyası ile mavimsi boyanan bir bölge (tidemark) ile başlar ve kemik tarafında kemiğin "end-plate"i ile devam eder (10, 28).

Eklem kıkırdağının biyokimyasal yapısı eklemdeki diğer bağ dokusu yapılardan daha farklıdır. Kıkırdağın %80'i sudur. Bu su sinovyal sıvıyla kıkırdak arasında serbestçe yer değiştirir ve kıkırdağın proteoglikan-kollajen jel formunda tutulmasını sağlar. Organik yapının önemli bir kısmını kollajen oluşturur. Bu kollajen yapı olarak cilt ve diğer dokulardaki kollajenlerden (tip I) farklıdır. Heliks şeklinde üç alfa zincirinden oluşur (tip II).

Tip II kollajen kıkırdağın kuru ağırlığının %50-60'ını oluşturur. Minör kollajenler, tip VI, IX, X ve XI kollajenler de kıkırdağın yapısında önemli rol oynarlar. Tip IX kollajen proteoglikan moleküllerinin kollajen liflerine bağlanmasında rol alır. Eklem kıkırdağında bulunan diğer protein bileşikleri fibronektin, ankorin, kondronektindir (10, 28).

Kıkırdağın katı yapısının geri kalan bölümü proteoglikandır. Proteoglikanlar, büyük supramoleküler agregatlardır. Proteoglikan agregatı, merkezinde hyalüronik asit (HA) filamentleri ve buna nonkovalent olarak bağlanan çok sayıda proteoglikan monomerler (çoğunlukla keratan sülfat ve kondritin sülfat) ve bunları sabitleştiren "link" proteinlerinden oluşur. Yapının tamamı büyük bir şişe fırçasına benzer. Proteoglikanların negatif yüklü olmaları, onlara kurulu yay gibi genişleyebilme özelliği verir. Bu elektrostatik kuvvetler nedeniyle eklem kıkırdağı sert ve esnektir. Bir takım eklem hastalıklarında olduğu gibi proteoglikanlar kaybolduğu zaman, kıkırdak yumuşar ve esnekliğini kaybeder. Proteoglikanlar ve kollajen kondrositler tarafından sentez edilir. Kıkırdakta çok az oranda inorganik tuzlar, lizozimler vb. bulunur (28).

Kıkırdak yüklenme ile şekil değiştirebilen bir yapıdır ve stres altında kalınlığı %40 kadar azalabilir. Bunu sağlayan en önemli faktör su içeriğinin basınç altında yer değiştirmesidir. Ayrıca kollajende basınç altında yassılaşarak şekil değiştirebilir. Basınç kalktığında kıkırdak ilk şeklini alır (10).

1-KONDROSİTLER: Erişkin kıkırdağındaki kondrositler, farklılaşmasını tamamlamış hücrelerdir. Kondrosit lakünalarında birbirinden ayrı ve hücre dışı matrikse serpiştirilmiş şekilde bulunurlar. Kondrosit ve onu çevreleyen yoğun hücre dışı matrikten oluşan fonksiyonel kısma kondron adı verilir. Büyüyen hayvanlarda kondrositler kollajen sentez yeteneği bakımından aktif iken, erişkin kıkırdağında kaybolan kollajenin yerini doldurma kapasitesi sınırlıdır. Sadece proteoglikan agregatlarının yapımı yaştan bağımsız aynı şekilde sürdürülür. Kondrositler, biyokimyasal, yapısal ve fiziksel uyarılara yanıt verme

ve matriks yapılarının yanı sıra çeşitli enzim, enzim inhibitörleri, büyüme faktörleri ve sitokinleri sentez etme yeteneğine sahiptir. Erişkin kıkırdağı sınırlı bir onarım kapasitesine sahiptir. Hasarlanma ve yaşlanmaya bağlı durumlarda onarım kollajen I içeren fibrotik doku ile yapılır (10).

2-KIKIRDAĞIN HÜCRE DIŞI MATRİKSİNİ OLUŞTURAN YAPILAR

a) Kollajenler: Kıkırdağın hücre dışı matriksinin en önemli yapısal elamanları kollajenlerdir. İnsan vücudunun tüm proteininin yaklaşık %30'unu oluşturan kollajen; deri, tendon gibi dokularda kuru ağırlığın %70'ini oluşturur. Kollajen, Glisin-Xaa-Yaa şeklinde tekrarlayan aminoasit dizilerinin oluşturduğu üç polipeptidin birbiri üzerine sarılmasından oluşan bir proteindir. X ve Y herhangi bir aminoasit olabilir, sıklıkla X prolin, Y ise hidroksiprolindir (28).

Günümüzde bilinen 19 farklı yapıda kollajen bulunmaktadır. Kollajenlerin farklı polipeptit zincirini kodlayan 30 gen saptanmıştır. Kollajen ailesi fonksiyonel özelliğine göre 4 ana gruba ayrılmaktadır.

Fibriler kollajenler: Fibriler bantlar oluşturan bu kollajenlerin, çap ve boyları değişkenlikler gösterir. Ancak, fibril yüzeylerinde bulunan moleküllerin sonları arasındaki açıklıkları yansıtan karakteristik enine çizgili bir görünümü vardır. Başlıca fibriler kollajenler tip I, II, III ve V/IX'dur.

Bazal membran kollajenleri: Bazal membranın kollajenini oluşturan tip IV kollajen, her iki ucunda bulunan yumaksı yapılardan bir tel örgü gibi birleşen protein monomerlerden oluşur. Bu ağ şeklindeki yapı, hem filtrasyon için bariyer sağlar, hem de laminin, heparan sülfat proteoglikanların bağlanması için zemin hazırlar.

Fibril bantlar şeklinde olan kollajenler: Üçlü sarmal yapılarla kesintiye uğrayan fibril yapısındaki kollajenlerdir. tip I ve tip II kollajen fibrillerinin yüzeyinde bulunurlar. tip IX, XII, XIV, XVI, XIX kollajen bu gruba girmektedir.

Kısa zincir kollajenler: Tip VIII ve tip X kollajenler bu gruptadır. Sekizgen bir yapıya sahiptir. Tip VIII kollajen, korneal endotelin descement membranında, tip X kollajen özellikle hipertrofiye kıkırdakta bulunur.

Tip II kollajen eklem kıkırdağında bulunan kollajenlerin yaklaşık %90'nı oluşturur. Tip II kollajen molekülü üç özdeş α_1 polipeptit zincirinden oluşmuştur. Kondrositlerden prokollajen prekürsörleri olarak yapılır ve salınırlar. Tip II prokollajen prekürsörü üçlü sarmal yapısına dahil olmayan amino ve karboksi terminal propeptitleri içerir. Hücre dışı matrikse salınmadan önce özgül prokollajen peptidaz enzimleri tarafından bu terminal propeptitler koparılır. Koparılan karboksi peptit ucu geçici bir süre kıkırdak matriksinde kalır. Kondrokalsin olarak adlandırılan bu molekül kalsiyum bağlayıcı bir proteindir ve mineralizasyonda rol oynar. Kollajen molekülleri hücre dışına salınır salınmaz hücre dışı matrikte fibriler şekil alırlar. Son zamanlarda tip II prokollajen geninin ekzon 2 olarak adlandırılan yeni bulunan bir ekzonu tarafından kodlanan ve aminoterminal propeptiti sisteinden zengin bölge içeren bir tip II kollajen bulunmuştur. Bu kollajene tip II b adı verilmiştir. Kondrojenезisin erken dönemlerinde bol miktarda bulunan tip II b kollajen, olgun kıkırdakta bulunmaz. (8,18, 28).

Eklem kıkırdağında bulunan kollajenin kalan %10'luk kısmını minör kollajenler olarak adlandırılan tip IX, X, XI ve VI kollajenler oluşturur (10). Eklem kıkırdağında az miktarda bulunan tip VI kollajen kısa üçlü sarmal bölge ile büyük globular bölge içerir. Bu kollajen bağımsız mikrofibriller oluşturur. Osteoartritte arttığı gösterilmiştir (10). Tip IX kollajen, tip II kollajenin telopeptitleridir. Komşu kollajen fiberleri arasında bağlayıcı bir molekül olarak fonksiyon görür. Bağımsız üç alfa zincirinden oluşur. Eklem kıkırdağındaki

heterotipik fibrillerde tip II kollajenle birlikte bulunurlar (10). Tip X kollajen hipertrofik kondrosit bölgesinde bulunur. Tip II kollajenden daha az helikal bölge içerir. Sadece kalsifiye kıkırdığın metabolik olarak aktif bölgesinde bulunan hipertrofik kondrositler tarafından yapılır (28).

b) Proteoglikanlar: Tip B sinovyal hücreler tarafından sentez edilen, önemli matriks proteinleri olan proteoglikanlar, bir veya daha fazla glukozaminoglikan yan zinciri taşıyan proteinlerdir.

Proteoglikanlara yüklendikleri fonksiyonlara bağlı olarak çok amaçlı yapıştırıcı denmektedir. Proteoglikanlar hücre dışı matriks yapılarını bir arada tutması ve hücreleri matrikse bağlamasının yanı sıra matrikse ve hücre yüzeylerine solubl moleküllerin tutunmasını sağlar. Kıkırdaktaki proteoglikan yapı kıkırdığın esnekliğini sağlar (8,18).

Proteoglikanlar kıkırdakta bol miktarda bulunur. Kıkırdakta bulunan proteoglikanın önemli bir kısmını (%90) 230 kDa'luk bir çekirdek proteine kovalent olarak bağlanan GAG yan zincirlerinden oluşan aggrecan oluşturur. Çekirdek proteini G_1 , G_2 ve G_3 olmak üzere üç globular ve iki interglobular (E_1 , E_2) bölgeden oluşur. Amino-terminal bölgeyi G_1 ve G_2 bölgesi ve bunları ayıran 21 nm'lik E_1 bölümü oluşturur. Karboksi-terminal bölgede ise G_3 bulunur. G_2 ve G_3 arasında ise E_2 bölgesi bulunur. E bölgesi 100 kondroidin sülfat, 30 keratan sülfat zinciri ve O-linked oligosakkarit taşır. N-linked oligosakkaritler ise G_1 - E_2 - G_2 bölgelerinde ve G_3 bölgesinin yanında bulunur. GAG'lar kondroidin sülfattan zengin bölge ve keratan sülfattan zengin bölge olmak üzere iki bölgede lokalizedir. Aggrecan hyaluronik asite bağlanır. Hyaluronik asit ve aggrecan arasındaki kovalent olmayan bağ, küçük bir glikoprotein olan bağlayıcı proteinle sabitlenir. Hyaluronik asit molekülüne yaklaşık 100 aggrecan monomeri bağlanarak proteoglikan agregatını oluşturur. Aggrecanlar hyaluronik asit molekülüne G_1 bölgesiyle bağlanırlar. G_1 bölgesi ve bağlayıcı protein immunglobulin süper ailesi ile benzer dizilime sahiptir. Bunlar ile hyalüronik asit arasındaki ilişki hücre adezyonu

ve immün tanımda rol oynayabilir. G_2 bölgesinin görevi tam olarak bilinmemektedir. G_3 bölgesi epidermal growth faktör, lectin ve kompleman düzenleyici protein ile benzer dizilim içerir. Özellikle büyümenin düzenlenmesi, hücre tanıma, hücreler arasındaki ilişkiler ve hücre dışı matriksin tanıma, montaj ve sabitleştirilmesine katılırlar (8,18, 28).

Diğer küçük proteoglikanlar kıkırdağa özgül olmamakla birlikte kıkırdakta yaygın olarak bulunurlar. Bunlar kıkırdak matriks yapısında önemli roller oynar. Lösinden zengin bu proteoglikanlar biglycan, decorin ve fibromodulindir. Hem biglycan hem de decorin kollajen fibrillerine bağlanır ve fibrillogenезisi etkiler. Ayrıca bunlar fibronektine bağlanarak pıhtılaşma oluşumunun yanı sıra hücre adezyonu ve migrasyonunu engeller. Fibromodulin kollajen fiberlerinin bakımı ve montajını düzenler (8,18).

Glukozaminoglikanlar (GAG) tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşmuş, uzun dallanma göstermeyen polisakkarit zincirlerdir. Yineleyen disakkaritteki iki şekerden biri, her zaman amino şekerdir (N-asetilglukozamin veya N-asetilgalaktozamin). GAG'lar çok sayıda disakkarit ünitelerinde sulfat ve karboksil gruplarının bulunmasına bağlı olarak, yüksek negatif yüklüdür. GAG zincirlerinin tipleri; hyalüronik asit, kondroidin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat ve keratan sülfattır. Monomer yapısı, sülfat grupları ve glukozidik bağlantıları GAG'lar arasındaki farklılığı oluşturur (8,18).

Hyaluronik asit proteinlere kovalent bağlanmayan ve sülfatlanmayan GAG'dır. Yineleyen glukuronik asit ve N-asetilglukozamin disakkaritlerinden oluşur. Kıkırdağın esnek yapısını oluşturan aggrecan ve bağlayıcı proteinleri ile birlikte bulunur. Normal ve anormal durumlarda sinovyal boşluk ve plazmada bulunan hyaluronik asit, hücre yüzeylerinde bir reseptör ve zarın bir yapısı olarak bulunabilir. Hyaluronik asit reseptörü bulunan tek matriks yapısı olup, bir çok hücrede reseptöre sahiptir.

Kondroitin sülfat vücutta en yaygın bulunan GAG' dır. Olgunlaşmamış kıkırdakta 4-sülfat, olgunlaşmış kıkırdakta ise kollajen ve diğer proteinlere afinitesi daha yüksek olan 6-sülfat izomeri bulunur (28).

Keratan sülfat diğer GAG'larda bulunan karboksi grupları ve uronik asit ya da idorunik asit içermez. Serum keratan sülfat düzeylerinin eklem dokusundan proteoglikan kaybını yansıttığı ve kıkırdak hasarının bir göstergesi olduğu ileri sürülmüştür.

GAG'larda bulunan sülfat ve karboksi grupları negatif yüklüdür ve çok sayıda katyon bağlayabilir. Küçük iyonlarla çevrili büyük GAG'ların elektrik ve osmotik özellikleri iyon geçişine direnç oluşturabilmelerini ve H^+ bağlayarak basınç altında aynı molekül ağırlığında bir proteine göre daha fazla yer kaplayarak esnek yapı oluşturabilmelerini sağlar (8,18, 28).

c) Diğer Hücre Dışı Matriks Proteinleri: Diğer kollajen olmayan matriks proteinleri kıkırdak matriksinin bütünlüğünün sağlanmasında önemli rol oynar. Ancorin II 34kDa'luk kondrosit zar proteinidir. Kollajen II'yi bağlar ve kalsiyum bağlayıcı proteinler calpactin ve lipocortin ile belirgin bir benzerliği vardır. Diğer zar proteinleri sindecan ve CD44'dür. Her ikisi de hyaluronik asiti bağlar (28).

Kıkırdakta çeşitli adezyon proteinleri vardır. Bunlar fibronectin, tenascin ve trombospondin'dir. Bunlar diğer dokularda hücre-matriks ilişkilerinde hücre yüzeyindeki integrin ve sindecan'ı bağlanma yoluyla aracı olurlar. Kıkırdaktaki özel rolleri bilinmemektedir. Bununla birlikte fibronectin ve tenascin mRNA'larının eklenmesi kondrositlerin farklı gelişim süreçlerinde farklı ürünler yapılmasına neden olur. Bunlar kıkırdaktaki gelişme ve tamirdeki özel fonksiyonlara yardım eder. Trombospondin, kıkırdağın küçük bir unsurudur. İlk kez trombositlerde saptanmıştır. 420kDa'luk üç kısımlı kalsiyum bağlayıcı bir moleküldür. Kıkırdak oligomerik matriks proteini (COMP) trombospondin ailesinin bir üyesidir. Disülfid bağları ile bağlanan pentamerik 550kDa'luk kalsiyum bağlayıcı proteindir ve sadece kıkırdakta bulunur. Kıkırdaktaki kollajen ve proteoglikan olmayan

proteinlerin %10'unu oluşturur. Bu proteinler ve parçalarının sentezi ve salınımı tamir olan kıkırdakta sıklıkla artar (8,18).

B-EKLEM KIKIRDAĞININ YIKIMI VE TAMİRİ

Artiritteki kemik ve kıkırdağın bozulması eklemin normal fonksiyonunu engeller. Bazı durumlarda kıkırdak ve altındaki kemik yıkılır. Matriks yıkım ve yapımının eşit olduğu normal erişkin kıkırdağında kondrositler "steady state" durumundadır. Bu "steady state" durumunda herhangi bir değişiklik kıkırdağın fonksiyonel bütünlüğünü hızlı bir şekilde bozacaktır. Gelişme ve büyüme sırasında matriks yapılarının sentezi yıkım hızını aşacak ve doku kitlesinde bir artış olacaktır. Bunun tersi durum ise bazı patolojilerde olduğu gibi net matriks kaybı ile sonuçlanır (4).

Artiriterde kemik ve kıkırdaktaki yıkımın temel nedeni kollajen ve proteoglikanları yıkan ve çeşitli hücrelerden salınan aktif proteaz düzeylerindeki artıştır. Bu proteazların kökeni hastalığın tipine bağlıdır. Osteoartiritte (OA) kondrositler tarafından yapılan proteazlar majör rol oynarken, yüksek derecede inflame romatoid eklemden kondrositler tarafından üretilen proteazlar, sinovyal hücreler ve inflamatuvar hücreler buradaki yıkımda rol alır.

Eklemdaki dokular tamir yapabilme yeteneğindedir. Proteoglikanlar doku yıkımından sonra tekrar sentezlenebilirken kollajen replasmanı nadirdir.

1-EKLEM KIKIRDAĞININ YIKIMININ PROTEOLİTİK YOLLARI: Hücre dışı matriks proteinleri farklı proteolitik yollar ile yıkılır. Peptit bağlarının hidrolizinde olaya katılan enzimin aktif merkezindeki aminoasit ve kimyasal grüblara göre proteazlar dört ana gruba ayrılırlar. Sistein ve aspartat proteaz başlıca asit pH' da aktiftir ve bu nedenle hücre içinde etkindir. Serin ve metalloproteinazlar nötral pH'da etkindir ve hücre dışı sindirimden sorumludur. Matriks proteinlerini parçalayan enzimler tablo 1'de gösterilmiştir. Elastaz gibi enzimler nötrofiller içinde sentez edilir ve belirli durumlarda derhal salınır. Bazı enzimler

matriks proteinlerin parçalanmasına katılmaz, fakat diğer proteinazları aktive eder. Membrana bağlı olan proteazlar hücre-hücre veya hücre-matriks interaksyonları ilişkili olan proteinlerin uzaklaştırılması, reseptörlerin dökülmesi ve sitokinlerin ortaya çıkması gibi çeşitli olaylarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bütün proteazlar bağ dokusunun turnoverında rol oynarlar. Hakim olan yol, farklı yıkım durumlarında değişebilir (4).

2-HÜCRE DIŞI PROTEOLİZ-NÖTRAL PROTEAZLAR

a) Matriks Metalloproteinazları: Matriks metalloproteinazları (MMP) nötral pH'da hücre dışı matriks makromoleküllerini yıkan çinko bağımlı enzimlerdir. Bu enzimler temel olarak hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu, yara iyileşmesi, tümör invazyonu ve metastaz gibi hücrenin bir çok biyolojik fonksiyonundan sorumludur. Bunlar hep beraber aktif oldukları zaman bağ dokusu matriksinin bütün bölümlerini parçalayabilirler. Bu enzimler aminoasit zincirlerinden oluşmakta ve aktif merkezinde çinko bulunmaktadır. İnsanlarda tespit edilen 18 MMP varken bu hayvanlarda 25'den fazladır. Üçlü helikal kollajeni parçalayan kollajenaz matriks metalloproteinaz ailesinin bulunan ilk üyesidir.

İnsanlardaki MMP'ler stromelisinler, kollajenazlar, jelatinazlar, membran metalloproteinazları ve diğerleri olarak isimlendirilen beş ana gruba ayrılmaktadır (4):

Kollajenazlar: Doku kollajenazı (MMP-1), nötrofil kollajenaz (MMP-8) ve kollajenaz-3 (MMP-13)

Jelatinazlar: Jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9)

Stromelisin: Stromelisin-1 (MMP-3), stromelisin-2 (MMP10)

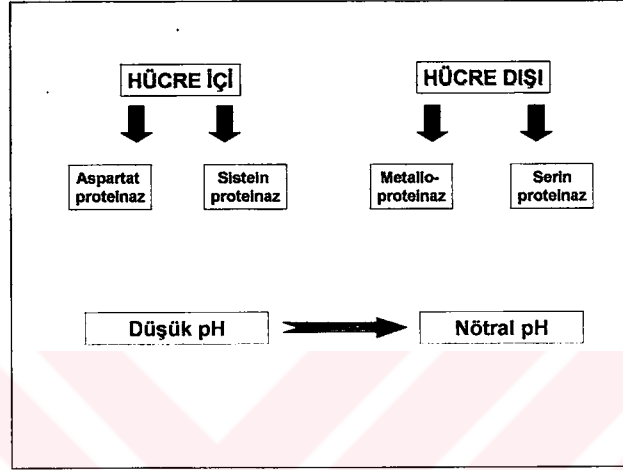
Membran Matriks Metalloproteinazları: MT1-MMP (MMP-14), MT2-MMP (MMP-15), MT3-MMP (MMP-16), MT4-MMP (MMP-17) ve MT5-MMP (MMP-24)

Diğer Matriks Metalloproteinazları: Matrilisin (MMP-7), Stromelisin-3 (MMP-11), metaloelastaz (MMP-12), MMP-19, enamelin (MMP-20) ve MMP-23

Bu gruptaki MMP-7, MMP-11 ve MMP-12 bazı araştırmacılar tarafından stromelisinler grubunda kabul edilir. Aşağıda MMP'ler anlatılırken bu enzimler stromelisinler içinde incelenecektir (29, 30).

Tablo-1: Konnektif doku matriksinde etkili olan proteazlar

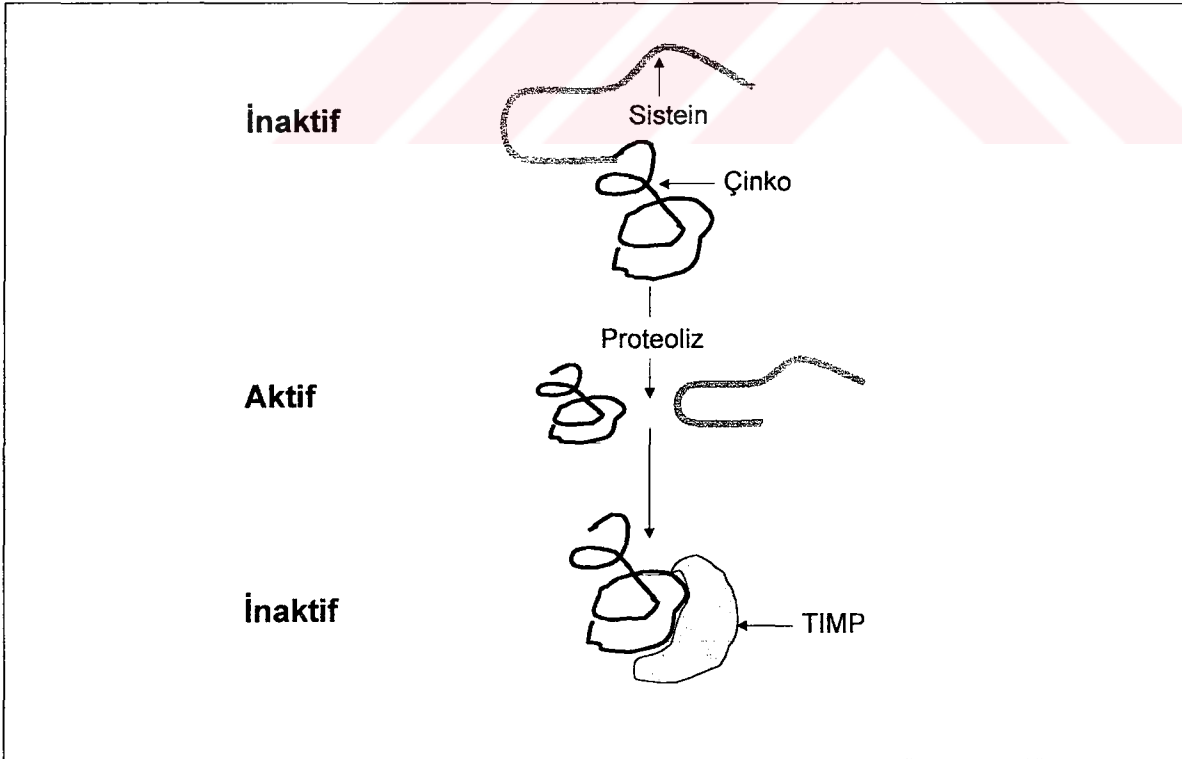
KIKIRDAK MATRİKSİNİ YIKAN PROTEAZLAR



Proteinaz	Sınıfı	İnhibitörleri	Substratları
Kollajenazlar MMP-1, -8, -13	Metallo	TIMP'ler, α_2 -m	Fibriler kollajen 1,2,3,7,10
Stromelisinler MMP-3, -10, -11	Metallo	TIMP'ler, α_2 -m	Jelatinler Proteoglikanlar, fibronectin, laminin, bazı jelatin ve kollajenler, link protein, vitronektin, vb.
Jelatinazlar MMP-2, -9	Metallo	TIMP'ler, α_2 -m	Denature kollajenler, kollajen 4,5,7,10 elastin, fibronectin ve vitronektin
Katepsin B	Sistein	Sistatinler, α_2 -m	Proteoglikan, link protein, prokollajen 2, kollajen 2
Katepsin L	Sistein	Sistatinler, α_2 -m	Proteoglikan, elastin, link protein, kollajen 2
Katepsin S	Sistein	Sistatinler, α_2 -m	Proteoglikan, link protein, prokollajen 2, kollajen 2
Katepsin H	Sistein	Sistatinler, α_2 -m	Proteoglikan
Katepsin D	Aspartat	α_2 -m	Proteoglikan, jelatin
Plazmin	Serin	α_1 -PI, α_1 -AC, α_2 -m, α_2 -antiplazmin	Aktif MMP'ler
Plazminojen aktivatör (doku)	Serin	Proteaz neksin 1, PAI-1, α_2 -m	Aktif plazminojen
Plazminojen aktivatör (ürokinaz)	Serin	Proteaz neksin 1, PAI-1, α_2 -m	Aktif plazminojen

MMP: Matriks metalloproteinaz, TIMP: Metalloproteinazın doku inhibitörleri, α_2 -m: α_2 -makroglobulin, α_1 -PI: α_1 -antiproteinaz inhibitör, α_1 -AC: α_1 -kemotripsin, PAI-1: Plazminojen aktivatör-1

MMP'ler matriksi parçalamadan önce bir polipeptitini kaybederek aktive olabilen proenzimden üretilmektedir. MMP'ler genellikle aktivasyon için proteolitik bölünmeye ihtiyaç duyan inaktif proenzimler olarak sekrete edilirler. MMP'lerin proteolitik aktivitesi için çinko katyonunun bulunması gerekmektedir. Latent formlarında, çinko iyonu ile sistein rezidüleri şelasyon yapmıştır. Proteolitik aktivitenin ortaya çıkması için bu bağlantının kırılması gerekmektedir.(Şekil-1) Latent enzimin aktivasyonu genellikle sınırlı bir proteolizis ile başlatılır. Bu olay tripsin, plazmin, triptaz ve diğer proteazların bulunduğu bir çok enzim tarafından yapılır. Genelde sistein bağlantısı koptuktan sonra parçalar ayrılır ve çinko tek başına görevini yapar. Plazminle olan ayrılımda olduğu gibi bazı durumlarda, enzimin aktivasyonundan sonra aktif enzimde hala sistein kalmıştır. Fakat bu kalan parça katyonun etkisini baskılayacak büyüklükte değildir. Metalloproteinazların diğer yapıları katalitik alan ve bazılarında da fibronektine benzeyen matriks benzeri bölgedir (7, 29, 30).



Şekil-1: Metalloproteinazın yapısı. Metalloproteinazın proteoliz ile aktivasyonu. Sistein ve çinkonun ayrılışı. Metalloproteinazın TIMP'le inaktivasyonu

Aktivasyon diğer enzimleri içine alabilir ve bazı matriks metalloproteinazları diğerlerini aktive edebilir. Aynı zamanda membrana bağlı metalloproteinazları aktivasyonda önemli bir rol oynamaktadır. Stromelisin-3 propeptit ve furin olarak adlandırılan N-terminal bölgesi arasında ilave edilmiş kısa bir peptide sahiptir. Serin proteazı golgi kompleksinde lokalizedir ve bu enzimlerin aktif formda salgılanabilmeleri için membrana bağlı metalloproteinazları ve stromelisin-3'ü tarafından aktive edilmelidir. MMP-8 ve MMP-9 nötrofillerin özel granüllerinde depolanmış olarak bulunurken diğerleri sitokinler tarafından uyarıldıktan sonra bağ dokusunun çeşitli hücreleri tarafından üretilir.

Kollajenaz-1 (MMP-1), kollajenaz-3 (MMP-13) ve nötrofil kollajenaz (MMP-8) olmak üzere üç kollajenaz vardır. Bu enzimler fibriler kollajenin üçlü helikal iskeletini parçalar. İntertisyel kollajenaz (MMP-1) α zincirinin 775 ve 776 rezidüleri arasındaki hassas bölgeden üçlü helikal yapının üç zincirini de parçalar. Parçalanan u bağ tip I, II, III kollajenlerin glisin ve izolösin rezidüleri arasındadır. MMP-1 ayrıca tip VII, VIII ve X kollajenleride parçalar. Ancak bazal membran kollajenleri olan tip IV, V, IV kollajenleri parçalamaz. MMP-1 makrofajlar, fibroblastlar, sinovyal hücreler, kondrositler ve endotelial hücrelerde yapılır (4, 20, 30).

Polimorfonükleer lökosit (PMN) kollajenaz (MMP-8 ve kollajenaz-2) 75kDa'luk ve PMN'in üçüncül granüllerinde depolanan kemotaktik ve diğer uyarılara yanıt olarak hemen salınan bir proteinazdır. Kollajenaz-2 tip III kollajenden daha çok tip-I kollajeni parçalar. Ayrıca elastaz ve katepsin G'den daha az miktarda hücre içinde bulunur (20).

Kollajenaz-3 (MMP-13) ratlar, fareler ve insanlardaki osteoblast ve osteosarkoma hücrelerinde eksprese olan bir enzimdir. Bu enzim stromelisinler gibi PMN ve intertisyel kollajenazdan farklı dizilime sahip olmasına rağmen üçlü helikal kollajenleri yıkar. Ancak hala kollajen turnover'ındaki rolü bulunamamıştır. Kollajenazlar kültür ve dokularda inaktif proenzim formunda bulunurlar. 55kDa'luk prokollajenazlar enzim kaskadı ve sistein ile

45'kDa'luk aktif formuna döner. Kollajenazlar için plazma ve romatoid sıvıda bir çok inhibitör mekanizma α_2 -makroglobuline bağlıdır. MMP2nin plazma konsatrasyonu α_2 -makroglobulin tarafından kontrol ediliyor görünmesine rağmen, esas inhibitör matriks proteinazlarının doku inhibitörü-1 (TIMP-1)'dir (14, 30).

İnsanlarda stromelisin tipinde fonksiyonu olan faklı çeşitli genler tespit edilmiştir. Stromelisin-1 proteoglycanase, MMP-3, transin veya nötral proteaz olarak da adlandırılır. Kollajenazdan sonraki primer MMP'dir. 51kDa'luk bir proenzim olarak yapılır ve aktif formu 41kDa'dur. Stromelisin-1 proteoglikanlar, tip IV, V, VII ve IX kollajenler, denatüre tip I kollajen, laminin, fibronektin, elastin, α_1 -proteinaz inhibitörü, immunglobulinler ve substance-P'nin bulunduğu geniş substrat grubuna sahiptir. Buna ek olarak prokollajenazın aktivasyonundaki enzim kaskatında önemli fonksiyonu vardır. Stromelisin-1 α_2 -makroglobulin ve TIMP-1 tarafından inhibe edilir. Stromelisin-1 kollajenaz-1'i sentez eden hücreler tarafından sentez edilir (20, 30).

Stromelisinler grubundaki diğer enzim stromelisin-2'dir. Bu enzime MMP-10 veya transin-2'de denir. Substratları büyük ölçüde aynıdır. Ancak esas olarak epitelyal hücrelerde eksprese olur. Sklerodermalı hastaların dermal fibroblastlarında izole edilmiştir. Hücre dışı matriksin arttığı bu hastalıkta normal dermal fibroblastlardan yapılandan daha az stromelisin-2 saptanmıştır. Matriks enzimindeki bu anormallik sklerodermanın patogenezinde rol oynar (20, 30).

Matrilisin pump-1, noktalanmış metalloprotenaz, küçük uterin metalloproteinaz veya MMP-7 olarak da adlandırılır. Stromelisin gibi fibronektin, protoglikanlar ve jelatinleri yıkar. Aynı zamanda kollajenazın kofaktörüdür. Matrilisin involusyona uğrayan uterus ve belirli tümörlerde eksprese olur.

Stromelisinlerin dördüncü üyesi metalloelastaz (MM-12)'dir. Proenzim formu 50kDa olup, uyarılmış makrofajdan 21kDa olarak salınır. Metalloelastaz elastin, proteoglikan, tip IV kollajen, fibronektin ve α_1 -proteinaz inhibitörünü parçalar. Bu enzim sinovyal lining'deki makrofaj benzeri hücrelerde yapılır. Bu enzim geninde null mutasyon yapılan farelerde makrofaj aracılı hücre dışı matriks yıkımı baskılanmış ve inflamatuvar uyarıya yanıt olarak makrofajın peritoneal boşluğa girmesinde yetersizlik olmuştur (4, 14)

Diğer bir üye ise stromelisin-3'dür. İnsan meme kanserinde stromal geni uyarır. Yapı olarak kollajenaz ve stromelisine benzer ve her ikisi ile uzaktan ilişkilidir. Substratı olarak sadece α_1 -proteinaz saptanmıştır. Apoptoz ile ilişkilidir ve growth faktörlerle tedaviden sonra insan embriyogenik fibroblastlarında eksprese olur. Stromelisin-3 inflamatuvar olaylarda önemlidir (20, 30).

Stromelisin genellikle normal şartlarda eksprese edilmez. Fakat growth faktörler ve interlökin-1 gibi sitokinler tarafından uyarılabilir. Bu enzimlerin ekspresyon modelleri sıklıkla ayrıdır.

Jelatinazlar farklı büyüklükte iki üyeden oluşurlar. 72kDa'luk jelatin parçalayıcı proteinaz fibroblastları içeren kültürdeki bir çok hücre tarafından salınır ve tip IV kollajenaz parçalar. Bu enzim jelatinaz-A, MMP-2 veya tip IV kollajenaz olarak da adlandırılır. 72kDa'luk jelatinaz stromelisin ve kollajenaz ile benzer dizilim gösterir. Aktivasyon için proteolitik bir ayrılmaya gereksinim duyar ve TIMP-1 ve TIMP-2 tarafından inhibe edilir. Ayrıca tip V, VII ve X kollajenlerin ve fibronektinin proteolitik aktivitesinde önemlidir ve plazminojeni de parçaladığı gösterilmiştir (29, 30).

92kDa'luk jelatinaz uyarılan PMN, makrofaj ve osteoklastların majör salgısıdır. Bu enzim jelatinaz-B, tip V kollajenaz veya MMP-9 olarak da adlandırılır. PMN'deki jelatinaz-B tesiyer granüllerde bulunur ve kemotaktik uyarıya yanıt olarak salınır. 92kDa'luk jelatinaz

diğer MMP'lerde olduğu gibi aktivasyon için sınırlı bir proteolitik parçalanmaya gereksinim duyan bir proenzimdir. Bu enzimin aktif formu denature kollajenazları, fibronektin, elastin ve tip IV, V, VII ve XI kollajenleri parçalar. TIMP-1 tarafından inhibe edilir (4, 14, 29).

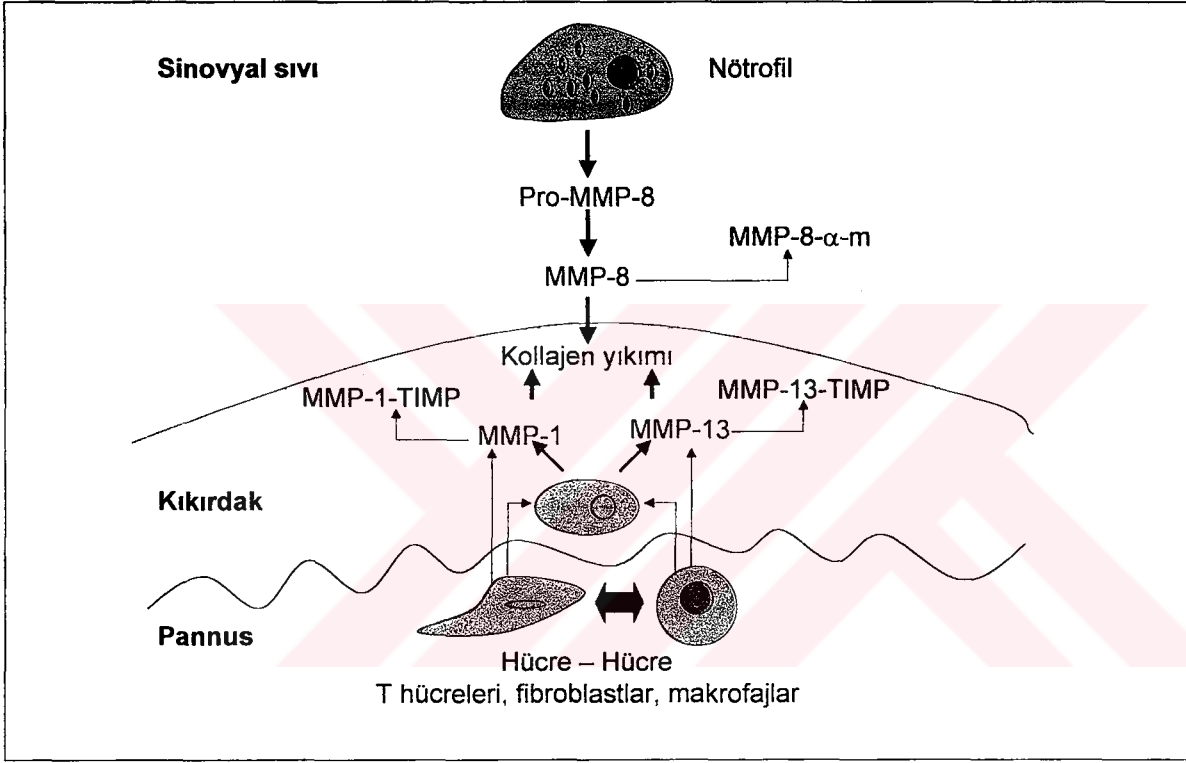
Membran tipindeki matriks metalloproteinazlarının ilk saptanan üyesi MT-MMP-1 (MMP-14)'dür. Bu enzim bir C-terminal transmembran bölgesi ile metalloproteinaz zara bağlıdır. MT-MMP-1 primer olarak stromal projelatinaz A'nın aktif olduğu invazif akciğer tümörünün yüzeyinde eksprese olur. MT-MMP-1 invazif tümör hücrelerinin hemen yanındaki hücre dışı matriksin yıkımından sorumludur. Bu enzim TIMP-2 tarafından inhibe edilir. Son zamanlarda bu grubun bir çok üyesi bulunmuştur (20, 29).

Bu proteazlar gelişme ve büyümenin olduğu konnektif doku matriksinin normal turnoverında ve eklem dokusunun patolojik destruksiyonunda görev alırlar. Ayrıca romatoid sinovyal sıvısında, romatoid sinovyal dokuda ve hücreden elde edilmiş kültürlerde, romatoid eklemlerin pannus kıkırdak birleşme yerlerindeki sinovyal dokuda ve artrit hayvan modellerinde farklı matriks metalloproteaz artış saptanmıştır.

Matriks metalloproteazları sentez ve sekresyon, proenzimlerin aktivasyonu ve aktif enzimlerin inhibisyonu olmak üzere üç noktada kontrol edilir (4).

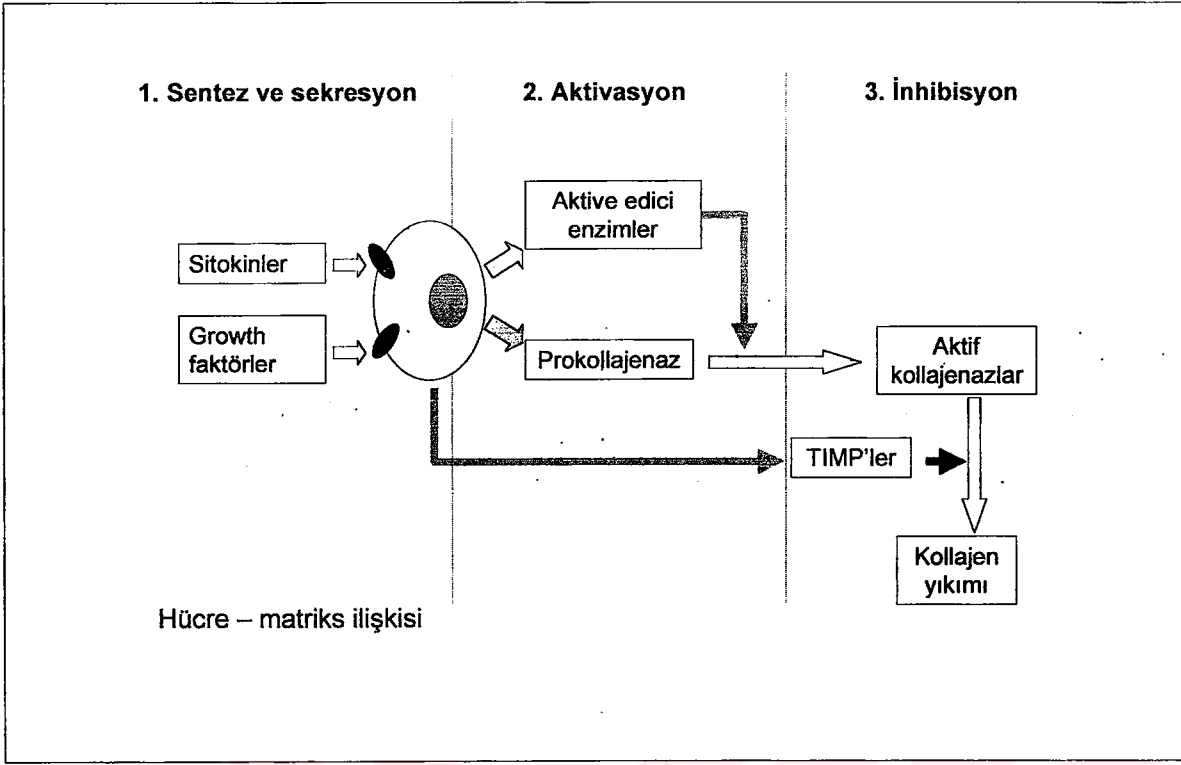
1. Sentez ve Sekresyon: Hem interlökin-1 hemde tümör nekrozis faktör benzer özelliklere sahiptir ve proinflamatuvar ve yıkıcı etkilerini yapmak için bir çok hücre tipini etkilerler. Kollajenaz-1 ve stromelisin-1'in sentez ve sekresyonu IL-1 ve TNF tarafından uyarılır. Artrit gelişmiş eklemden çok çeşitli hücre tipleri mevcuttur. Özel sitokinler ve growth faktörlerin her hücre tipine etkileri farklıdır. Bir hücre tipinde enzim salınımını artırırken diğerinde baskılayabilir. Bundan dolayı kıkırdak yıkımını önlemek için her sitokinin etkisini bloke etmenin sonucunda olan durumu göstermek zordur. Bu ilişkiler şekil 2 de gösterilmiştir (39).

2. Proenzimlerin Aktivasyonu: MMP'lerin aktivasyonu bağ dokusunun yıkımında önemli bir kontrol noktasıdır. Bütün MMP'ler proenzim formunda üretilir. Propeptitler hidrolize peptit bağlarından proteolitik olarak kesilir. Aktif stromelisin prokollajenazı aktive eder ve böylece in vivo olarak bir kaskat mekanizması olduğu iddia edilir. Plazminojen aktivatörleri plazmini oluşturabilir. Bu enzim ve membran MMP'ler bazı MMP'leri aktive eder (39)



Şekil-2: Kollajenaz ve eklem yıkımı

3. Aktif Enzimlerin İnhibisyonu: Bütün aktif MMP'ler doku metalloproteaz inhibitörleri (TIMP) tarafından inhibe edilirler. TIMP'ler dokudaki major Bunlar aktif MMP'lere 1:1 oranında bağlanan stabil proteinlerdir. Sekresyondan sonra TIMP-3 hücre dışı matriksle bağlanır. TIMP-4'de esas olarak kalp dokusunda lokalizedir. Bu TIMP'ler aktif MMP'leri bloke ederek ve aktivasyonlarını önleyerek bağ dokusu yıkımında önemli bir rol oynarlar. Eğer TIMP düzeyleri aktif enzim düzeylerini aşarsa o zaman bağ dokusu turnoveri önlenir. MMP'lerin hücre dışı aktivitesini kontrol mekanizma şekil-3'de gösterilmiştir.



Şekil-3: Kollajen yıkımının kontrolü

b) Endojen Serin Proteazlar: Kıkırdakta serin proteazlar düşük seviyede bulunur ve muhtemelelen nötrofillerden elde edilir. Kıkırdak, plazminojen aktivatörleri, plazmin aktivitesi ve metalloproteazları da aktive edebilen diğer serin proteazları içerir. Kondrositlerin serin prorteazları sentez ve sekrete edip etmediği bilinmemektedir. Ancak bu enzim kıkırdak dokusundan pürifiye edilmemiştir (4, 39).

Plazminojene bağlı yollar, bağ dokusu matriksinin remodele edildiği çok fazla durumlarda etkilidir. Hem doku plazminojen aktivatör hem de ürokinaz plazminojen aktivatör kıkırdakta bulunur ve plazminojeni plazmine parçalar. İnhibitörler ve proteaz neksinler salınan enzimleri bağlayabilir ve inaktive edebilir. Plazminojenin ve aktive olan enzimlerin etkisi fibrin veya hücre yüzeyine bağlandığında en üst seviyededir. Bu yıkımı sınırlar ve inhibitörlerden proteazları korur. Doku ve hücrelerle invitro olarak yapılan pek çok deney matriks turnoverının bazı durumlarında pro-MMP'lerin aktivasyonunda plazminojen plazmin sisteminin bir role sahip olduğunu gösterir. Eklem hastalıklarında sıklıkla polimorfonükleer

lökositlerin büyük bir akını vardır. Nötrofiller hem serin (elastaz ve katepsin) ve metalloproteinazları (MMP-2 ve MMP-9) içerir. Enzim içeren granüllerin boşalması, elastazın kıkırdak yüzeyine bağlanmasına ve kıkırdakta hasar oluşmasına neden olur. Sinovyal sıvıya salınan enzimler α -2 makroglobulin, α -1 antiproteinaz inhibitör, TIMP-1 ve TIMP-2 gibi ortamda bulunan inhibitörlerden kaçamaz. Hemen enzimlerle kompleks oluştururlar ve onları eklemden temizlerler. Çoğu sinovyal sıvıda aşırı bir inhibitör aktivitesi bulunur ve bu yüzden nötrofil proteazların sıvı fazda matrikste hasara neden olabilmeleri mümkün değildir. Septik artritte sinovyal sıvının normal inhibitör aktivitesi aşılar ve nötrofil proteazları hızlı bir şekilde sıvı fazdan kıkırdağa degrade olurlar. Proteaz inhibitör kompleksinin büyük bir miktarı bu sıvılarda bulunur (4).

Nötrofil serin proteazlar eklem içindeki matriks turnoverında kıkırdak matriksinde sınırlı bir role sahiptir. Degrade olmuş matriks komponentlerinin salınımı nötrofil granüllerinin markerları ile korale değildir. Katepsin G ve elastazın yokluğuna rağmen ve bej farelerdeki antijene bağlı artritte şiddetli kıkırdak kaybı olur. Aynı kayıp nötrofilleri deplase edilmiş hayvanlarda da gözlenir. Bununla beraber bu enzimlerin kıkırdak matriksini degrade etme yeteneği vardır. İnflamatuar hücrelerdeki nötrofiller kıkırdak yüzeyine infiltre olurlar ve bu yerde inhibitör kapasite aşılar sonrada nötrofil serin proteazlar matriks yıkımında rol oynar (4, 39).

3-) HÜCRE İÇİ PROTEOLİZ-ASİT PROTEAZLAR

a) Lizozomal Proteazlar: Katepsin D (aspartat proteaz) ve osteoartrit dokusunda artmış olarak bulunan katepsin B nin kıkırdak yıkımının hücre içi yolu ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir. Katepsin B, L ve H'nin antijene bağlı rat artritindeki kıkırdakta seviyelerinde artış bulunmuştur. Hücre membranı geçişini düzenleyen spesifik katepsin B inhibitörleri ile rezorbe olan kıkırdakın inkübasyonu proteoglikanların salınımını bloke eder (4).

Lizozomal enzimler bölünmüş matriks parçalarının yutulduğu ve sindirildiği bağ dokusu turnoverında muhtemelen rol oynarlar. Hücre içi yolun varlığını gösteren bulguların çoğu ultrastrüktürel çalışmalardan elde edilmiştir. Kollajen turnoverının normal mekanizmaları hakkında hem hücre içi yol hem de hücre dışı yol ile ilgili olarak önemli tartışmalar vardır.

Everts ve arkadaşlarının yaptığı büyük bir çalışmada kollajen içeren vakuollerin bağ dokusu fibroblastlarının içinde bulunduğu gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar bu vakuollerin içeriğinin önce salınan edilen sonrada fagosite edilen kollajenden çok, son zamanda sentez edilen kollajen olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bununla beraber bağ dokusunun hızlı bir rezorpsiyonun olduğu veya rezorpsiyonun uyarıldığı dokularda kollajen içeren vakuollerin sayısında hızlı bir artış olduğu görülmüştür. Bu da vakuollerin rezorpsiyonla ilişkili olduğunu gösterir. Kollajen turnoverının çok yüksek olduğu periodontal ligament gibi dokularda esas olarak hücre dışı yolla kollajenin rezorbe edilmesi olasıdır. Everts ve arkadaşları bu yolun bağ dokusunda esas normal yol olduğunu ve hücre dışı yolun sadece patolojik durumlarda hakim yol olduğunu ileri sürmüşlerdir (3).

Kıkırdığı ilgilendirdiği kadarıyla, hücre içine giren katepsin B inhibitörleri IL-1 tarafından uyarılan rezorpsiyonu bloke edebilir, fakat retinoik asit tarafından olan rezorpsiyonu bloke edemez. MMP inhibitörlerinin her iki yol tarafından uyarılan kıkırdak yıkımını tam olarak bloke edebilir. Bazı araştırmacılar erişkin kıkırdağında kollajenin fibriler şebekesinin normal turnoverının çok fazla olduğunu düşünmemektedirler. Everts ve arkadaşları olayları şu şekilde sıralamışlardır:

- Hücre ve kollajen fibrili arasında ilişkilerin oluşumu
 - Hücresel olaylar tarafından fibrillerin ayrılması
 - Membrana bağlı MMP'lerin ve muhtemelen jelatinaz tarafından fibrillerin parsiyel sindirimi
 - Katepsin B veya L tarafından lizozomal sistem içinde hücre içi sindirim
- Hücre içi olaylar ile hücre dışı olaylar arasında sıkı bir ilişki vardır (4, 39).

4-KIKIRDAK YIKIM MODELLERİ: Kıkırdak yıkım modellerinin başlangıcı ya IL-1 ya da retinoik asit ile indüklenmedir. Bazı durumlarda bunu proteoglikanların salınımı takip eder. MMP'lerin yüksek derecede spesifik inhibitörleri kıkırdak rezorpsiyonunu tam olarak bloke eder. Bu tür inhibitörlerin artritlerde görülen kıkırdak yıkımını önlemede terapötik yararlarının olabileceği umulmaktadır.

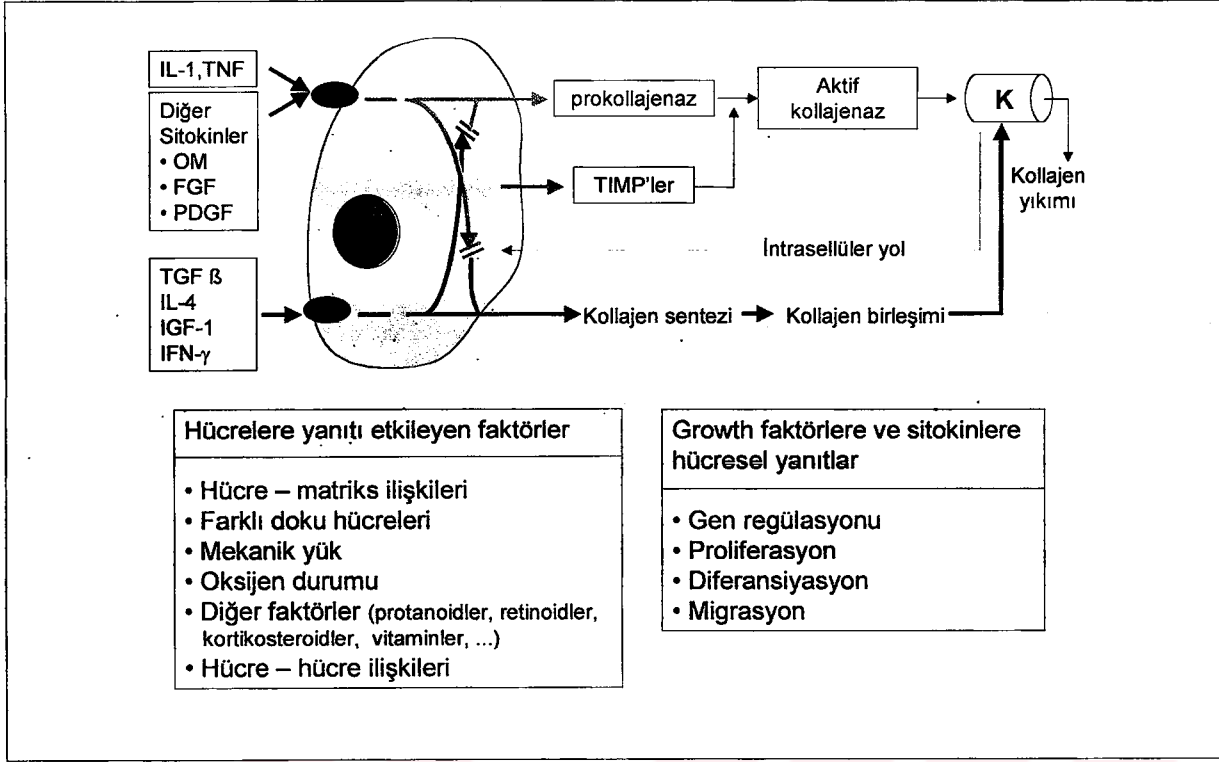
Proteoglikanların turnoverı kollajenin aksine hızlı ve geri dönüşümlüdür. Rezorbe olan kıkırdaktan salınan proteoglikan parçalarının stromelinin tarafından parçalanmadığı gösterilene kadar stromelinin kıkırdaktan salınan proteoglikandan sorumlu olduğu düşünülmekteydi. Bu nedenle MMP inhibitörlerinin bloke etmesine rağmen çok yüksek seviyeleri hariç TIMP'ler parçalanmayı bloke edemezler. Bu sonuçlar olaydan bir matriks metalloproteinaz olmayan bir metalloproteinazın sorumlu olduğunu gösterir. Bu da kıkırdak yüzeyindeki membrana bağlı proteinaz olabilir. Çalışmalar hem metalloproteinaz hem de serin proteaz inhibitörlerinin kıkırdaktan salınan proteoglikanları bloke edebildiklerinden dolayı, kıkırdak rezorpsiyonunu uyaran farklı ajanların ve farklı aktivasyon mekanizmalarının olduğu ve bunları bir çok yolla etkilediğini gösterdi (39).

Herhangi bir onarım teşebbüsü normal kıkırdağın restorasyonuna neden olmadığı için kıkırdaktan kollajenin kaybı geri dönüşümsüzdür. MMP'lerin sentetik inhibitörleri, TIMP-1 ve TIMP-2 kıkırdaktan kollajen parçalarının salınımını önleyebilir. Bu da kollajenolitik MMP'lerin varlığını gösterir. Hem kollajenaz-1 hem de kollajenaz-3'ün kondrositler tarafından yapıldığı bilinmektedir. İlginç olarak retinoik asitin MMP-1'i downregüle ettiği ancak kollajenaz-3 ve TIMP'in yapımını artırdığı bilinmektedir. Retinoik asite bağlı kıkırdak yıkımı kollajenaz-1 düzeylerinde azalma olsa bile lokal TIMP konsantrasyonunun aşırı artıma ve artmış kollajenaz-3 düzeyi ile sonuçlanabilir (39).

Sentetik proteaz inhibitörlerini kullanarak bağ dokusu yıkımının önlenmesi çok ümit vericidir. MMP'leri inhibe eden bileşikler bu konuda çok avantajlı görünmektedir (4).

5-KIKIRDAĞIN HÜCRE DIŞI MATRİKSİNİN ONARIMI: Artrit gelişmiş dokularda yeni matriks sentezinin olduğu kıkırdak alanları ve hücre dışı net matriks kaybının olduğu alanlar vardır. Kondrositlerin bu iki olayla yakın bir ilişkisi vardır. Polipeptit growth faktörler kondrositlerde güçlü bir etkiye sahiptir. Bu faktörlerin hastalıklı kıkırdağın destrüksiyonu ile ilgili olayların yanı sıra normal matriks sentezinin düzenlenmesinde de önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu ajanlar hücre yüzey reseptörlerinin hücre içi sinyal yollara bağlanması yoluyla kondrositleri etkilerler. Hormonlar, kortikosteroidler, prostoglandinler, peptitler veya retinoidler gibi diğer faktörler bu growth faktörlere herhangi bir hücrenin yanıtını da etkileyebilir. Kıkırdak metabolizması hücresel proliferasyon, migrasyon veya differensiyasyondan veya özel genlerin kontrolünden etkilenebilir. Herhangi bir growth faktörün etkisi hücrenin differasyon durumuna da bağlıdır. Dokulardaki çeşitli hücre tipleri özel sitokinler ve growth faktörlere farklı yanıt verebilir. Ayrıca mekanik yük, oksijen gerilimi ve diğer faktörlerin bulunması gibi diğer lokal durumlar dokunun yanıtını etkileyecektir (Şekil-4).

Transforming growth faktör (TGF)- β ve insülin growth faktör (IGF)-1'in kondrositler tarafından matriks elemanlarının sentezinde güçlü bir etkiye sahip olduğu kabul edilmiştir. TGF- β matriks degrade edici proteazların yapımını downregüle ve TIMP veya plazminojen aktivatör inhibitör gibi proteaz inhibitörlerini upregüle de eder. TGF- β 'nın hem sentezi uyararak hem de yıkım yollarını bloke ederek kıkırdak yıkımını önleyebildiği bildirilmiştir. TGF- β kondrositler tarafından lokalize olarak sentez edilmesine rağmen IGF-1 TGF- β 'nın mitojenik özelliklerinin dışında onun etkilerini taklit eder (39).



Şekil-4: Kollajen sentezi ve yıkımının kontrolü. TGF-β: Tranforming growth faktör-β, IGF-1: İnsülin-like growth-1, IFN-γ: İnterferon-γ, TNF: Tümör nekrozis faktör, OM: Oncostatin, FGF: Fibroblast growth faktör, PDGF: Platelet-derived-growth faktör, TIMP: Metalloproteinaz'ın doku inhibitörü, K: Kollajen

Bu growth faktörlerin matriks rezorpsiyonunu uyarak ve proinflamatuvar sitokinlerin etkilerini bloke ederek kırıkta genel bir protektif etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Diğer faktörler de bazı durumlarda benzer protektif etkiler gösterir. İnterferon (IFN) γ kırıktan prostoglandin salınımını uyaran IL-1'i azaltmasının yanı sıra kemik rezorpsiyonunu uyaran sitokini ve kondrositler tarafından kollajenaz yapımını uyaran IL-1 veya TNF ve kemik rezorpsiyonunu uyaran sitokinleri inhibe eder. IL-4, 13 ve 10'nun son zamanlarda proteaz salınımını bloke ederek proinflamatuvar sitokinlerin etkilerine aynı şekilde engel olduğu gösterilmiştir. Bunlar aynı zamanda inhibitör yapımını ve matriks sentezini artırırlar. Ayrıca IL-4 ve 13, IL-1 tarafından uyarılan matriks rezorpsiyonunu bloke ederek kırıkta korur (39).

Diğer growth faktörler hücrelerde migrasyon, differansiyasyon veya proliferasyonu uyarak kırıldak homeostazını etkileyebilirler. Platelet-derived growth faktör (PDGF) kondrositlerde mitojenik bir etkiye sahiptir ve bazı bağ dokusu fibroblastlarında kollajenaz yapımını uyarır. Fibroblast growth faktör (bFGF) kültürdeki kondrositlerdeki DNA sentezini ve aynı zamanda plazminojen aktivatör inhibitörlerini ve fibroblast, endotel hücrelerdeki TIMP'i uyarır (39).

Tüm bu faktörler kırıldaktaki onarımı muhtemelen uyarırlar. Bununla birlikte growth faktörler tek başına etkili değildir ve pek çoğunun matriks sentezinde sinerjistik olarak etkili olduğu bilinmektedir. TGF- β ve IGF kondrositler tarafından sentez edilir ve matriks içinde farklı matriks bileşiklerine bağlanarak önemli miktarda depolanır. Bu growth faktörlerin kaynağı çeşitlidir. Kırıldak dışındaki hücrelerde diffüz olarak veya kondrositler tarafından lokal olarak yapılabilir veya degrade olan matriksten salınabilir. Kontrol mekanizması komplekstir ve growth faktörler sıklıkla latent formda bulunurlar (4).

6-MATRIKS ONARIM MODELLERİ: Yeni matriks sentezi içi kondrositleri uyaran ajanların salınımından sonra hastalık ve kırıldak hasarında bulunan defektlerin tamir olabilme ihtimali oldukça ilginçtir. Bunun için farklı uygulamalar vardır:

- Kondrositlerin izolasyonu, kültürde yetiştirilmesi ve hasarlı bölgeye yüksek yoğunlukta implantasyonu
- Büyük defektlere kırıldak greftlerinin konması
- Çeşitli sentetik ve doğal polimerler ile defektlerin doldurulması
- Defekt içinemigrasyonu teşvik etmek için growth faktörlerin eklenmesi ve sonuç olarak matriks bileşiklerinin sentezi (11, 36).

Son çalışmalarda kırıldaktaki defektin bir kemotaktikin düşük konsantrasyonlarını veya yavaş salınan TGF- β 'nın yüksek konsantrasyonuna sahip mitojenik faktör içeren

bakterilerle ayrışabilen bir matriksle doldurulmuştur. İçlerinde bFGF, PDGF, epidermal growth faktör, growth hormon, TGF- β ve IGF-1'in bulunduğu pek çok growth faktörün etkili olduğu gösterilmiştir. Kıkırdığın başarılı indüksiyonları deneysel modellerde başarıldıktan sonra klinik kullanıma girmiştir. Ancak büyük eklemlerde kullanılabilmektedir (4).

A-ROMATOİD ARTRİT VE METALLOPROTEİNAZLAR

Romatoid artriteki eklem destrüksiyonu, eklem kıkırdağı, ligament, tendon ve kemikteki olayları içerir. Destruktif olaylarda bir çok mekanizma rol oynar. Burada proliferatif sinovyal membranın yanı sıra enzimler ve inflamatuvar mediatörlerde etkindir. Kıkırdak ve kemik,doku yıkım olayının sadece hedefi değildir. Aynı zamanda kondrosit ve osteoklastlar hücre dışı matriks kaybında aktif olarak katılırlar.

Romatoid artrit eklem kıkırdağının destrüksiyonu ve hücre dışı matriksin yıkımı ile karakterizedir. Çalışmalar MMP'lerin RA'daki matriks yıkımında önemli rol oynadığını göstermiştir. İntertisyel kollajenaz (MMP-1) tip I, II ve III kollajeni sindirirken 72kDa'luk jelatinaz (MMP-2) ise jelatinler, tip IV, V, VII, IX kollajenleri, fibronektin ve proteoglikanları parçalar. Stromelisin-1 (MMP-3) proteoglikanları, tip IV, V, VII ve XI kollajenleri ve fibronektini sindirir. Stromelisin diğer MMP'leri aktive eder ve böylece matriks yıkımında önemli bir rol oynadığı düşünülür. Ayrıca 92kDa'lık jelatinaz (MMP-9) tip I, III, IV ve V kollajenleri, jelatin, proteoglikanlar ve elastin gibi çeşitli substratlara sahiptir. MMP-8'in ve MMP-13'ün RA eklemlerindeki kıkırdak matriks yıkımında önemli rol oynar. Bütün bunlar MMP'lerin RA'da kıkırdak yıkımından sorumlu olduğunu gösterir (20).

1-METALLOPROTEİNAZLAR ve İNHİBİTÖRLERİ:

a) Romatoid Artrit ve Stromelisin : Stromelisin geni orjinal olarak, ratların transforme olmuş fibroblastlarında tespit edilmiş ve klonlanmıştır. Artritlerde stromelisinin rolü ile ilgili çalışmalar Lewis ratlarındaki streptokokal hücre duvarı artritinde (SCW)

yapılmıştır. Bu artrit önemli matriks yıkımını yapan destrüktif bir artrittir. Stromelisin mRNA artritli olan hayvanlardan izole edilen sinovyal dokularda bulunmuştur. Kronik SCW artritindeki sinovyanın immunohistokimyasal boyanması lining hücreleri, lining altındaki stroma, kondrositler ve subkondral osteoklastlarda stromelisin proteini olduğunu gösterir. MMP'lerin büyük bölümünde C-Myc onkojen yapımından dolayı yoğun nükleer boyanma görülür. Stromelisin ekspresyonu hastalıklarda en erken bulgudur ve proto-onkogen ekspresyonu ile birlikte sinovisit transformasyonu gösterir. Stromelisinler çok fazla özel substratlara sahiptir. Stromelisin proteoglikan, laminin ve fibronektin parçalar. Ayrıca önce kollajenaz tarafından parçalanan intertisyel kollajenazı sindirir. Bunlara ek olarak matriks destrüksiyonun pozitif feed-back ile latent kollajenazı aktive edebilir.

Stromelisin proteini RA sinoviyumun lining ve sublining bölgelerinde gösterilmiştir ve osteoartrit ile karşılaştırıldığında ise daha fazla bulunmuştur. İn situ stromelisin ile sinovyal dokunun hibridizasyon çalışmaları farklı dağılımlar olduğu gösterdi. Örneğin liningte mRNA fazla miktarda bulunurken subliningte ise yoktur. İn situ hibridizasyon tekniğinin yetersizliği nedeniyle sublining endotelyum ve diğer hücrelerdeki stromelisin mRNA'nın muhtemelen gösterilememesine rağmen gen ekspresyonunun büyük çoğunluğunun liningte meydana geldiği açıktır. Burada yapılan protein sublininge diffüze olmaktadır. Stromelisinden başka stromelisin 2, 3 olarak adlandırılan homolog metalloproteinazlar RA sinovisitlerinde ve diğer hücrelerde klonlanmışlardır.

Stromelisinin az bir miktarı istirahat eden sinovisitler tarafından yapılır. IL-1 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinler salgılandıktan sonra gen hızla uyarılır. Fibronektin gibi matriks proteinleri de MMP ekspresyonunu düzenleyebilir. Örneğin fibroblast benzeri sinovisitlerdeki fibronektin reseptörlerinin (FnR) angajmanı matriks remodeling'i ile ilgili genin ekspresyonu ile sonuçlanır. FnR'nin çapraz bağlanmasına ve anti FnR antikorlarına ihtiyaç duyan bu olay stromelisin ve kollajenaz genlerinin ekspresyonunda belirgin bir artışa neden olur. Jelatinaz

benzeri diğer metalloproteinazlarda artış olmaz. Anti FnR ile uyarıldıktan sonra TIMP yapımı hafif şekilde azalır. Bunların sonucu olarak matriks degradasyonu ortaya çıkar. Fibronektinin peptit parçaları da metalloproteinaz sekresyonunu artırır. Reseptörlere çapraz bağlanmıyan monometrik formlar inaktif iken Arg-Gli-Asp dizilimini içeren multimetrik polipeptitler çok etkilidir (9).

b) Romatoid Artrit ve Kollajenaz: Kollajenaz RA'da destrüksiyon yapan ikinci önemli metalloproteinazdır. Kollajenaz doğal helikal kollajeni sindirir. Kollajenaz doğal helikal kollajenleri (tip I, II, III, X kollajenler) degrade edebilir. Fakat tip IV, V, IX kollajenleri, diğer helikal olmayan kollajenleri veya denature olan kollajenleri degrade edemez. Kollajenaz ve stromelinin kombinasyonları eklem içindeki bütün önemli yapısal proteinleri degrade edebildikleri için, matriks remodeling etkisi çok güçlüdür. Aktif romatoid sinovisitler bol miktarda kollajenaz sekrete ederler. Kollajenaz geni büyük ölçüde lining tarafından sekrete edilir. Kantitatif in situ hibridizasyon çalışmaları OA sinoviyumuyla karşılaştırıldığında RA sinovyal dokusunda kollajenaz mRNA'nın belirgin olarak daha fazla olduğu gösterdi. Ayrıca liningte kopyalanan kollajenaz mRNA'nın miktarı ile subliningteki inflamasyon arasında bir korelasyon vardır.

Kronik RA'lı hastalarda stromelinin ve kollajenazın sinovyal lining hücrelerinde yapılmasına rağmen erken dönemdeki regülasyonu hakkında çok az şey bilinmektedir. Kollajene bağlı artrit oluşan hayvanların sinovyal dokuları hastalığın başlangıcından sonraki bir kaç gün içinde hem sinoviyum hem de kıkırdak hücreleri immün reaktif stromelinin içerir. Kollajenaz ise sinoviyumda bulunurken, kıkırdakta ise bulunmaz. Her iki enzim için boyanma pannus kıkırdak bileşkede yoğundur. Bu çalışmalar MMP'ler inflamatuvar artritte çok erken dönemde yapılmakta ve kondrositler bu olaya iştirak etmekte olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda erken RA'lı (1-3 ay) hastaların sinovyal biyopsi çalışmaları,

bunlarda belirgin metalloproteinaz gen ekspresyonu olduğunu gösterdi. Bu sonuçlar, eklem yıkımını önlemek için erken RA'lı hastalarda agresif tedavi uygulamalarını haklı gösterebilir.

Diğer efektörlerle birlikte olduğu gibi, kollajenaz sekresyonunun kontrolünde sitokinler aracılık etmektedir. Kollajenaz yapımı ve gen ekspresyonu yaygın olarak IL-1 ve TNF- α 'nın çok güçlü uyarıcı olduğu kültüre edilmiş fibroblast benzeri sinovisitlerde çalışılmıştır. Sitokin uyarısının bir kaç saati içinde kollajenaz mRNA toplanır ve bir kaç günde artar. IF- γ sinovisitleri uyaran IL-1 ve TNF- α 'nın su yüzündeki kollajenaz aktivitesini azaltır. IL-1 ve IF- γ arasındaki ilişkinin mekanizmasının kollajenaz gen ekspresyonunda bir azalış veya TIMP yapımında artış olmadığı düşünülmektedir. Buna karşılık IF- γ stromelisin yapımının IL-1 aracılı indüksiyonunu inhibe eder. Stromelisin latent kollajenazın güçlü bir aktivatörü olmasından dolayı su yüzündeki stromelisinin azalmış miktarları kollajenaz aktivasyonunu bozmaktadır. IF- γ kollajenazın TNF- α aracılı aktivasyonunu inhibe eder. Kollajenazın gen aktivasyonunun moleküler mekanizmasını onkogenler ve metalloproteinazların kombine çalışması oluşturur. Kollajenaz gen ekspresyonu sitokinler tarafından protein kinaz C ve src-related-trozinkinazın aktivasyonu ile başlatılır. Bu sonradan onkogen yapımını uyarır. C-Jun ve c-Fos genler sitokin uyarımının 30 dakikası içinde eksprese olurlar. C-jun protein sonra c-Fos ile bağlanır ve bu kompleks kollajenaz genindeki AP-1 ile ilişkiyi girer. Bu da kollajenazın kopyalanması ile sonuçlanır. Bundan dolayı RA sinoviyumunda gözlenen abondan onkogen ekspresyonu matriks yıkımı ile direk ilişkilidir (9).

c) Romatoid Artritte Diğer Proteaz ve Metalloproteazlar: Kollajenaz ve stromelisine ek olarak diğer metalloproteinazlarda eklem yapılarının yıkımında rol alır. Nötrofil kollajenaz (MMP-8) sinovyal sıvı nötrofilleri tarafından salınır ve kırıkta yıkımına aracı olur. Bu enzim etrafındaki nötrofil seviyesinin çok fazla olduğunda etkin olduğu

düşünülmektedir. Yeni saptanan kollajenaz MMP-13 doğal tip II kollajeni sindirebilir. İlk bilgiler bunun geninin temel olarak konositler tarafından eksprese edildiğini gösterir.

Jelatinazlar (72kD ve 92kD formları) da yapılı ve denatüre kollajeni degrade edebilir. 92kD'luk jelatinaz esas olarak erken RA sinovisitlerince eksprese edilir. Fakat OA sinovisitlerince eksprese edilmez. Metalloproteinazlar kemik ve kıkırdak yıkımının büyük bir kısmından sorumludur. Fakat diğer proteinazlar da eklem yıkımında rol oynar. Örneğin sistein proteaz katepsinler gibi hücrelerin hem içini hem de dışını etkileyebilir. Katepsin L ve katepsin D gen ekspresyonu in situ hibridizasyon kullanılarak RA sinoviyumunda gösterilmiştir. Dağılımı hem linig hem de subliningdeki yapımından dolayı farklıdır. Bundan başka katepsin B inhibitörü hayvan modellerindeki artritte hem inflamasyonu hem de kemik yıkımını azaltmıştır. Serin proteazlar (elastaz ve plazmin vb) doku yıkımının direk mediatörlerini ve latent metalloproteinazların aktivatörleridir (9).

d) Romatoid Artritte Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri Ve Proteinaz İnhibitörleri : Eklemdeki metalloproteinazların anahtar inhibitörlerinden biri TIMP'dir. TIMP'ler en az dört üyesi olan (TIMP 1, 2, 3, 4) metalloproteinaz inhibitör ailesi olarak bilinmektedir. Bu proteinler metalloproteinazlara oldukça yüksek afinite ile bağlanarak enzimin aktivitesini bloke ederler. Bazen latent MMP'lere bağlanmasına karşın, genellikle aktif MMP'lere bağlanırlar.

Sinovyal dokunun donmuş kesitlerinin in situ hibridizasyon çalışmalarında RA'lı hastaların sinovyal liningindeki büyük miktarlarda TIMP-1 mRNA'nın gösterilmiştir. Kollajenazın aksine TIMP gen ekspresyonu OA ve RA'da benzerdir. Kollajenaz TIMP oranı inflamatuvar olmayan artritte RA'dan daha fazladır. Bu da RA'daki kıkırdak destrüksiyonunun patogenezinde önemlidir. Muhtemelen RA'da çok fazla yapılan MMP'ler TIMP sistemini aşmaktadır.

Kollajenaz veya TIMP'e karşı spesifik antikorlar ile sinovyal dokunun iki renkli boyanması, intimal lining hücrelerinin her iki proteini sentez ettiğini gösterir. İn situ hibridizasyon kullanılarak stromelin ve TIMP'in düzensiz ekspresyonu da gösterilmiştir. TIMP ve metalloproteinaz genler kültüre edilmiş fibroblast benzeri sinovisitlerde tek transkripsiyonel kontrole sahiptir. Sadece az miktarda stromelin ve kollajenaz yapılırken TIMP-1 geni eksprese olur. IL-1 ve TNF- α gibi sitokinler dramatik olarak stromelin yapımını artırır. Ancak TIMP gen ekspresyonunda az bir etkiye sahiptirler. IL-6, TIMP-1'i artırır, fakat stromelinini arttırmaz. Sitokinler MMP'leri ve TIMP'leri çok hassas düzenler ve matriks yıkım hızını kontrol eder. TIMP ailesine ek olarak RA'da diğer proteaz inhibitörleri de bulunur. Serumdaki kollajenaz inhibitör aktivitesinin çoğu α_2 - makroglobulinlere (α_2 M) bağlıdır. Sinovyal sıvıda nötrofiller fazla miktarda bulunduğunda, sonradan inhibitöre bağlanan elastaz ve serin proteinazları salgılayarak α_2 M'in önemli miktarını inaktive eder. SERPIN'ler veya serin proteaz inhibitörleri, plazma ve sinovyal effüzyonda çok miktarda bulunurlar. Bunlar direk olarak serin proteaz fonksiyonunu bloke ederek hücre dışı matriksi korur. Ayrıca metalloproteinazların serin proteaz aracılı aktivasyonunu önleyerek dolaylı yoldan etkilerler. Bir SERPIN olan α_1 antitripsin RA'da sinovyal sıvıda bulunmuştur. Ancak bunlar inflamatuvar effüzyonda reaktif oksijen ürünleriyle oksidasyondan sonra inaktive olurlar (9).

D-OSTEOARTRİT VE METALLOPROTEAZLAR

Osteoartrit primer olarak kıkırdakın bir hastalığıdır. Osteoartritte doku ve hücre seviyesinde aktif olan hastalığın mekanizması bilinmemektedir. Bununla beraber kıkırdak matriksinin moleküler komponentinin yıkımı ve sonunda eklem kıkırdak fonksiyonun kaybı hastalığı oluşturur. Kıkırdakın majör yapıları su, proteoglikanlar ve kollajenlerdir. Proteoglikanlar bir protein çekirdeği ile büyük ölçüde kondrotin sülfat ve keratan sülfatın oluşturduğu glikozaminoglikan yan zincirlerinden oluşur. Bu proteoglikan formlar hyalüronik

asit, diğer glukozaminoglikanlar ve link proteinleri ile birlikte agrege olurlar ve bu da kıkırdakın sağlamlığını ve sertliğini oluşturur. Kollajenler de kıkırdakın yapısal bütünlüğü ve fonksiyonel kapasitelerinde önemlidir. Eklem kıkırdakı olan hyalin kıkırdakı olan en majör kollajen tip II kollajendir. Daha az miktarda tip I, IX, XI kollajenlerde bulunur. Osteoartritteki kıkırdak yıkımını açıklayan pek çok teori vardır. Osteoartriti başlatan olay, kondrosit metabolizmasını değişmesine, MMP'ler gibi proteolitik enzimlerin yapımına ve kıkırdakta çatlamalara yol açan mekanik streslerdir. İlk patolojik çok sayıda mikrofraktürlerin gelişimidir. Bu ise eklem kıkırdakında tedrici kayba ve yıkıma, eklem yapısında değişikliklere ve osteofit formasyona yol açar (5, 8).

Sekonder OA'nın deneysel modellerini kullanılarak yapılan çalışmalar radyolojik veya makroskopik değişiklikler ortaya çıkmadan önce matriksin kimyasal, mekanik ve metabolik özelliklerinde değişiklikler ortaya çıktığını gösterdi. İnsan dizinin menisküs ve ligamentlerindeki hasarlar posttravmatik OA'ın gelişimine yol açar. Posttravmatik OA'lı hastalar primer osteoartritli hastalardan daha gençtir ve posttravmatik osteoartrit primer osteoartritli hastalar için bir model olarak hizmet edebilir (10).

Dizin ligaman ve menisküslerinin akut hasarı eklem sıvısına kıkırdakın proteoglikan moleküllerinin parçalarının salınımında dramatik bir artışa yol açar. Bir çok hastada bu artmış salınım yıllarca sürebilir ve belki de düşük derecede sinovit ve mekanik güçlerde değişiklik ile sonuçlanabilir. Geç dönem osteoartritinde eklemdeki kıkırdak kitlesi azaldığı için, eklem sıvısındaki proteoglikan parçalarının konsantrasyonu azalır.

Eklem hastalığında kıkırdak matriks yıkımındaki temel rol stromelisin-1, kollajenaz ve 72kDa ve 95kDa jelatinaz'dan oluşan MMP ailesinindir. MMP'lerin çeşitli üyeleri ve doku inhibitörleri kondrositler ve sinovyal doku hücreleri tarafından sentez edilirler.

Erken osreoartritte kondrositler geçici bir proliferatif yanıt sergilerler. Kondrositler ayrıca artmış miktarda TNF- α ve IL-1 gibi sitokinleri, matriks yıkıcı MMP'leri ve lizozim ve katepsin gibi enzimleri yapar. TNF- α ve IL-1 kollajeni ve proteoglikanı yıkan enzimleri uyararak ve kıkırdakın matriks sentezini bloke ederek kıkırdak yıkımını artırır (5, 8).

İn situ hibridizasyon tekniği kullanılarak yapılan çalışmalar osteoartrit sinoviyumun stromelisin sentez ettiğini, ancak bunun RA'dakinden daha az olduğunu gösterdi. Stromelisin yapımı insan eklem kıkırdakında da gösterilmiştir. TIMP ile karşılaştırıldığında MMP'lerde bir fazlalık vardır.

MMP'ler normalde TIMP'ler tarafından inhibe edilir. Teorik olarak, MMP'ler ile TIMP'ler arasındaki dengenin MMP'ler lehine bozulması ve buna bağlı olarak da hücre dışı matriksin proteolizisinde artış osteoartritik değişikliklere yol açar. Benzer dengesizlik diğer düzenleyici moleküller ve faktörlerde de vardır (5, 10)

E-AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) tam bir penetrans gösteren otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Genetik bozukluğun 16 kromozomun kısa kolundaki marenostim MEFV genindeki mutasyonlara bağlı olduğu düşünülmektedir. Primer olarak akdeniz bölgesinde yaşayan sefaradik ve Iraklı Yahudilerde, Levantren Araplarda, Türklerde ve Ermenilerde görülmekle birlikte, izole olgular şeklinde diğer gruplarda da bildirilmektedir. Periyodik hastalık, familyal paroksizmal peritonit veya rekürren poliserozit olarak da isimlendirilir. Karakteristik semptomları intermitan ateş ile karın, göğüs veya eklem ağrısıdır. Amiloidoz AAA olan sefaradik Yahudilerin %40'ında görülür. Bazılarında hastalığın tek fenoti ekspresyonu olarak karşımıza çıkar (8, 17).

Hastalık çocukluk çağında veya adölesan dönemde başlar ve ataklar şeklinde yaşam boyu devam eder. Cinsiyet açısından gerçek bir fark saptanamamış olmakla birlikte erkeklerin

kadınlara oranla biraz daha sık olarak hastalığa sık yakalandığı gözlenmektedir. Aile öyküsünde, kardeşlerde veya diğer akrabalarda hastalığa rastlanabilir. Sıklıkla akraba evliliği söz konusudur. AAA'nın en sık görülen belirtiler, tekrarlayıcı febril ataklar, peritonit, artrit, plörit ve erizipel eritemdir (17).

Artralji ve artrit AAA'da sık olarak gözlenir. AAA hastalığı olan Kuzey Afrikalı Yahudilerde artrit sıklığı %75 civarındadır. Türk, Irak Yahudileri, Arap ve Amerikan Ermenilerinde ise bu oran yarı yarıyadır. Artrit özellikle çocuklarda AAA'nın ilk semptomu olabilir. Artrit atakları sıklıkla akutur. Fakat AAA'lı hastaların %5'inde uzamış periyotlar gözlenebilir. Atakların dağılımı genellikle asimetriktr ve büyük eklemler daha sık olarak etkilenir. Tutulan eklemler, azalan sıklık sırasına göre şöyledir: Dizler, ayak bilekleri, kalçalar, omuzlar, ayak ve ayak parmakları, dirsekler, el bilekleri, eller ve diğer sinovyal eklemler. AAA'nın akut artriti genellikle monoartrikülerdir. Diz, ayak bileği ve kalça en çok tutulan eklemlerdir. Sakroileit omurga tutulumlu veya tutulumu olmaksızın ortaya çıkabilir. Sakroileiti olan AAA'lı olgularda HLA-B27 genellikle yoktur. Akut artrit atakları başlangıçta anlamsızdır ve sık olarak ıstırap verici bir ağrı eşlik eder. Genellikle peritoneal ve plevral ataklarla aynı zamanda meydana gelir. Ancak bazı zamanlar bir ay kadar sürebilir. Ateş sadece sinovyal atağın başlangıcında vardır. Effüzyon sıklıkla bulunur, fakat eritem ve sıcaklık belirgin olmayabilir. Sinovyal sıvı incelendiğinde sıklıkla polimorfonükleer lökositlerin fazla sayıda olduğu ve münin presipitasyonun iyi, viskositesinin zayıf ve kültürlerinin steril olduğu görülür. Yumuşak doku şişliği ve bazen görülen hafif osteoporoz ve radyolojik değişiklikler dışında akut atak sırasında başka bir şey bulunmaz (8, 17).

Uzamış artritler akut atak tarzında başlar, fakat belirgin effüzyon kalır. Bu bazen bir kaç ay sürebilir. Uzamış periyotlarda sıklıkla etkilenen eklem kalça ve diz eklemidir. Büyük bir seride bu oran 3/4 olarak bulunmuştur. Uzamış ataklar sırasında ikinci bir eklemden de sinovit gelişebilir. Hareketin eklem ağrısını arttırmasından dolayı uzamış artritlerde sıklıkla

kas atrofisi gelişebilir. Uzamış artritlerin çoğu bir kaç ay içinde geçerken, kalça tutulumu daha uzun sürme eğilimindedir. Radyolojik değişiklikler şiddetli jukstra-artiküler osteoporoz, litik erozyonlar ve femur başında osteonekrozdur. Jukstra-artiküler skleroz ve eklem boşluğunda daralma uzamış artritinin sebat etmesiyle meydana gelir. Bu değişiklikler belirgin semptomların yokluğunda sakroiliak eklemlerde de meydana gelir (8, 17, 26).

F-BEHÇET HASTALIĞI

Behçet hastalığının (BH) eski çağlardan varolduğu sanılmaktadır. Yirminci yüzyıl başında ise BH'ü benzeri semptomları olan hastalarda etken olarak tüberküloz, sifiliz ve stafilokok gibi nedenler düşünülmüştür. Dermatoloji profesörü Hulusi Behçet, 1937 yılında tekrarlayan oral ve genital ülserler ile hipopiyonlu iridosikliti bulunan üç hastayı tanımlayarak bunun ayrı bir hastalık olduğunu ileri sürmüş ve daha sonra hastalık onun adını almıştır. Hastalığın başlangıcı genellikle 15-30 yaş arasındadır. Hastalık seyrek olarak çocukluk çağında ve 50 yaşın üzerinde de görülür. Erkek/kadın oranı eşit olmasına karşın hastalık erkeklerde ve gençlerde daha şiddetli olarak seyrederek. Hastalığın dünya üzerindeki dağılımı farklılık gösterir. Hastalığın prevalansı Kuzey Avrupada yaklaşık olarak 1/300000, Japonyada 1/10000 iken Türkiye de ise 8/10000-37/10000'dir. Hastalığın Akdeniz ülkeleri ve Japonya'da HLA-B51 ile ilişkisi gösterilirken, ABD ve İngiltere'de böyle bir ilişki gösterilememiştir (7).

Behçet hastalığı sistemik bir vaskülitir. Patogeneizde bağışıklık sisteminde Herpes simpleks Tip I ve bazı streptokok türleri gibi infeksiyöz ajanlarla tetiklenen bir bozukluk suçlanmaktadır. Hastalarda, mikobakteri ısı şok proteinlerinden türetilen belli sentetik peptitleri tanıyan lenfositler gösterilmiştir. İnsan dokularındaki ısı şok proteinlerine moleküler açıdan benzerlikleri nedeniyle bir çok ajanın, bağışıklık yanıtı ve organ hastalığını başlatması olasıdır.

Behçet hastalığı hafif deri yakınmalarından ağır nörolojik bozukluğa ve büyük damar vaskülitine kadar değişen bir klinik seyir gösterebilir. Hastalığın en sık görülen bulguları: aftöz ülserasyonlar (%97-100), genital ülserler (%80-90), deri lezyonları (%80), göz tutulumu (%50), eklem tutulumu (%50), Tromboflebit (%25), Nörolojik tutulum (%5) ve gastrointestinal tutulum (%0-25)'dur (7).

Artralji diğer hastalık manifestasyonları ile birlikte sıklıkla görülür. Belirgin artrit Behçetli hastaların yarısında görülür. Genellikle epizodik, eroziv olmayan ve ya monoartrit ya da oligoartrit tarzındadır. Oligartiküler tutulum simetrik veya asimetrik olabilir. Dizler, ayak bileği, el bileği ve dirsekler sıklıkla tutulur. Kontrollü çalışmalar göstermiştir ki, daha önce sanıldığı gibi Behçet hastalığında sakroileit sıklığının artmamıştır. Vakaların çoğunda ataklar 2 ay veya daha kısa süredir. %20 olguda ise çok uzamış periyotlar görülür. Artrit atakları sırasında lökositoz, ESHentasyon ve CRP değerlerinde artış görülür. Ancak ESH ve CRP değerlerindeki artış AAA kadar belirgin değildir. Romatoid faktör ve ANA genellikle negatiftir. Sinovyal sıvı polimorfonükleer lökositlerden zengin inflamatuvar karakterdir. Sinovyal biyopsi de ise hiperemi, ödem ve hücre infiltrasyonu görülür. Radyolojik değişiklikler sık değildir (7, 10).

G-SPONDİLARTROPATİLER

Spondilartritler (SpA); ortak genetik, epidemiyolojik, klinik ve radyolojik belirtilere sahip, öncelikle sakroiliak eklemleri ve omurgayı tutan, eklem belirtilerinin yanı sıra, eklem dışı organ tutuluşuna yol açan heterojen bir hastalık grubudur. Bu grup içine giren hastalıklar ankilozan spondilit, reaktif artrit, psoriatik artrit, enteropatik artrit, juvenil spondilartritler, SAPHO sendromu, idiopatik akut anterior üveit ve belirlenemiyen akut anterir üveit'dir. Spondilartritlerin ortak klinik özellikleri, romatoid faktörün negatif olması, sakroileit ve spondilit şeklinde aksiyel iskeletin tutuluşu, öncelikle alt ekstremit eklemleri tutan asimetrik oligoartrit, ligaman ve tendonların kemiğe yapışma yerleri olan entesis yerlerinin

inflamasyonu, genellikle genç yaşta başlaması, aile içinde SpA grubu hastalık veya özellik bulunması, tekrarlayan anterior üveit atakları, deri, mukoza, göz ürogenital sistem ve bağırsak gibieklem dışı sistemlerin tutuluşları, aortit bulunması ve HLA B27 pozitifliği (2, 12, 19).

İlk yakınma genellikle kronik, sinsi başlangıçlı ve inflamatuvar özelliklere sahip bel ağrısı ve tutukluluğudur. Hastalığın başlangıç aşamasında, bel hareketlerindeki ağrı ve kısıtlılık, radyolojik olarak saptanabilen yapısal bozukluklara değil, paravertebral kas spazmına bağlıdır. Entesitis, popuklar, tibial tüberküller, kostosternal bileşkeler, spinal çıkıntılar, iliak krest, büyük trokanter ve iskiotuberostial bölgelerde ağrı oluşturur. Torakal omurların tutulumu ve kosta vertebral kostasternal ve manibroasternal eklemlerdeki inflamasyon göğüs ağrısına yol açar (2, 19).

Bazen ilk semptomlar omuz ve kalça gibi kök eklemlerin tutulumu olabilir. Hastaların yaklaşık üçte birinde hastalığın çeşitli dönemlerinde bu eklemler tutulur. Ancak juvenil spondilartitte bu oran daha fazladır. Bu eklemlerin tutulumu eklem hareketlerinde bozukluk ve kısıtlılık yapabilir. Kalça tutulumu genellikle bilateral ve sinsidir. Diğer eklem tutulumlarından daha çok kısıtlılık yapar. Kalça eklemine çeşitli derecelerde fleksiyon kontraktürü geç dönem ankilozan spondilitli hastalarda görülür. Omuz (glenohumeral, acromioclavicular veya sternoclavicular eklemler) daha az tutulur ve sadece az bir hareket bozukluğuna yol açar (2, 12).

Kalça ve omuz eklemi dışındaki periferik eklem tutulumları ankilozan spondilitte sık değildir. Ancak reaktif artrit, psöriatik artrit, juvenil spondilartitte daha sık olarak periferik eklem tutulumu görülür. Eklem tutulumları genellikle asimetric, hafif, geçici ve hastaların çoğunda kalıcı eklem deformitesi yapmadan geçme eğilimindedir. Nadiren kalıcı veya eroziv olur. Periferik eklemler bazen aksiyel tutulum aktivitesini kaybettikten sonra ortaya çıkabilir.

Juvenil başlangıçlı ankilozan spondilit tekrarlayan diz hidroartrozu yapabilir.

Temporomandibular eklem ağrısı ve hassasiyet hastaların %10'unda görülebilir (2, 6, 19).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, 05.10.1999-30.05.2000 tarihleri arasında GATA Romatoloji Bilim Dalı Polikliniğine başvuran hastalar üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmaya RA'lı 26, OA'lı 19, BH'sı 20, AAA'lı 20 ve spondilartropatili 22 hasta alındı. Çalışmaya alınan 119 hastanın tümünde aktif diz artritli bulunmaktaydı. Hastalara ait özellikler Tablo II'de verilmiştir.

Tablo II: Hastaların özellikleri.

Hasta Grubu	Tanı Kriteri	E/K	Yaş Ortalaması (Ortalama $\pm$ SS)
RA	ACR(1987'de düzenlenen) (3)	2/24	52.77 $\pm$ 14.84
OA	ACR (1)	0/19	60.84 $\pm$ 7.24
BH	ISGBH (13)	16/4	29.60 $\pm$ 11.52
AAA	Livneh et all (26)	20/0	21.29 $\pm$ 1.35
SPA	ESSG (6)	22/2	24.25 $\pm$ 5.31

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH: Behçet Hastalığı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA: Spondilartropati, ACR: Amerikan Romatoloji Derneği, ISGBD: Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu, ESSG: Avrupa Spondilartropati Çalışma Grubu, E. Erkek, K: Kadın

Çalışmaya alınan bütün hastalar, çalışma hakkında bilgilendirildi ve onayları alındı. Hastaların tanıları anamnez, fizik muayene, biyokimyasal, immunolojik, serolojik ve radyolojik tetkiklerle konuldu. Radyolojik incelemeler iki radyoloji uzmanı tarafından yapıldı. Çalışmaya alınan tüm hastalara ve kontrol grubuna tam kan, tam idrar, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), böbrek fonksiyonları (üre, kreatinin), karaciğer fonksiyonları (SGOT, SGPT), alkalen fosfataz ve ürik asit incelemeleri ile radyolojik olarak her iki diz, el, elbileği ve ayak, ayak bileği grafisi, diz grafisi, özel sakroiliak grafi, lumbosakral grafi ve temporamandibüler eklem grafisi incelemeleri yapıldı. Behçet hastalığı tanısı konan hastalarda ek olarak paterji testi ve bir göz uzmanınca Behçet hastalığının göz tutulumu yönünden göz muayenesi yapıldı. Ailevi Akdeniz Ateşi olan hastalarda ek olarak, fibrinojen, 24 saatlik idrarda protein, splenomegali yönünden üst abdominal ultrasonografi

incelemeleri yapıldı. Romatoid artrit ve osteoartriti olan hastalarda ek olarak, romatoid faktör (RF) testi yapıldı. Spondilartriti olan hastalarda ise ek olarak RF ölçümü yapıldı.

İnflamatuvar artritli olan hastaların tümü steroid olmayan anti inflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanmaktaydı. Ek ilaç olarak Behçet hastalığı olan hastaların tümü kolşisin, 4 hasta da 2gram/gün sülfasalazin, AAA'lı hastaların tümü kolşisin ve 2 hasta da 2gram/gün sülfasalazin, RA'lı hastaların 12'si 2-10mg/gün dozunda prednizolon, 11'i 7.5-15mg/hafta dozunda metotraksat, 7'si hasta 2gram/gün sülfasalazin, 10'u 200mg/gün hidroksiklorokin, SPA'lı hastaların 4'ü 2-10mg/gün dozunda prednizolon, 11'i 7.5-15 mg/hafta dozunda metotraksat, 12'si 2gram/gün sülfasalazin almaktaydı. OA'lı hastaların tümü parasetamol ve 7'si NSAİİ almaktaydı.

Biyokimyasal testler, tam kan, ESH, CRP ve RF tahlilleri kanın alındığı gün yapıldı. CRP ve RF tahlilleri GATA Mikrobiyoloji AD'de ilk olarak lateks agglutinasyon ile çalışıldı ve pozitif çıkan sonuçlar turbidimetri cihazı ile kantitatif olarak ölçüldü. Biyokimyasal analizler otoanalizör (RA 1000, Technicon, USA), tam kan değerleri otomatik sayıcı (H1 Technicon, USA) ve ESH Westergren yöntemiyle GATA Biyokimya AD'de çalışıldı.

Toplam 119 hastanın diz aspirasyonları steril şartlarda ve tecrübeli tek bir doktor tarafından yapıldı. Alınan örnekler 3000 devirde 20 dakika santirfuj edildi. Hücrelerden ayrıştırılan süpernatantlar çalışılncaya kadar -70 °C'de saklandı.

MMP-1 ölçümü: sinovyal sıvı örnekleri önce 1/50 sonra da 1/100 oranında sulandırılarak ve Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) human ELISA system (BIOTRAK, Amersham Pharmacia, Biotech, Germany) kiti kullanılarak yapıldı. Ölçüm tekniği iki basamaklı ELISA sandwich yöntemiydi. Bu yöntemde MMP-1'e karşı iki ayrı antikor ve ikinci antikorun bağlanmasını belirlemek için anti-rabbit horseradish peroksidaz kullanıldı. Daha sonra komplekse bağlanan peroksidaz miktarının tespiti için hazır TMB substratı kullanıldı. Bir asit solüsyonun ilavesi ile reaksiyona son verildi. Çıkan renkler bir mikrotitre

plate spectfotometrede 450 nm’de okundu. Örneklerdeki MMP-1 konsantrasyonu standart eğri ile kıyaslanarak belirlendi.

TIMP-1 ölçümü: tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) human ELISA system (BIOTRAK, Amersham Pharmacia, Biotech, Germany) kiti kullanılarak yapıldı. Burada diğer testten farklı olarak tek antikor kullanıldı.

İstatiksel Analiz

Derlenen verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogorov-Smirnov (Lilliefors) testi ile araştırıldı. Verilerin normal dağılıma uymadıkları saptandığı için nonparametrik yöntemlerin kullanılması kararlaştırıldı. ESH, C-reaktif protein, MMP-1, TIMP-1, yaş ve hastalık süresi veriler için gruplar arasındaki farkın önemi Kruskal Wallis testi ile araştırıldı. Saptanan farklılığının hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için (post-hoc) ikili gruplar Mann-Whitney U ve Kolmogorov-Smirnov Z testleri ile araştırıldı. İki grubun varyanslarının denk olduğu durumlarda Mann-Whitney U, denk olmadığı durumlarda Kolmogorov-Smirnov Z testlerinin sonucu geçerli kabul edildi. Değişkenler arasında ilişki olup olmadığı Spearman korelasyon testi ile araştırıldı. Bütün istatistiksel işlemler bilgisayar ortamında hazır istatistik paket programı (SPSS 4,5 , SPSS Inc. USA) kullanılarak yapıldı. Hesaplamalarda alfa serbestlik derecesi 0.05 olarak kabul edildi. Yazı içindeki tüm değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi.

BULGULAR

Hasta gruplarının karşılaştırılması sonucunda MMP-1 ve TIMP-1 değerlerinin grupları arası farklılık gösterdiği saptandı. Gözlenen farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını saptamak için grupların ikili karşılaştırmaları yapıldı (Tablo III, IV, V, VI, VII, VIII).

Tablo III: Hastaların demografik özellikleri

	BH	AAA	RA	OA	SPA	χ^2	P
Sayı (n)	20	21	26	19	24	-	-
Yaş(yıl)	29.60±11.52	21.29±1.35	52.77±14.84	60.84±7.24	24.25±5.31	73.520	<0.001
Cins (E/K)	16/4	20/0	2/24	0/19	24/2	-	-
H. Süre (yıl)	5.85±5.21	10.05±3.74	6.56±6.24	8.32±3.64	2.58±0.78	30.500	<0.001

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH: Behçet Hastalığı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA: Spondilartrit, E/K: Erkek/Kadın, H. Süre: Hastalık Süresi, Cins: Cinsiyet

Tablo IV: Hastaların laboratuvar verileri

	BH	AAA	RA	OA	SPA	χ^2	P*
ESH mm/saat	37.70±10.71	79.90±18.20	48.90±26.43	22.68±19.77	77.20±36.82	5.743	<0.001
CRP mg/l	9.85±2.96	24.81±11.44	14.92±11.74	6.84±2.24	32.83±20.96	53.762	<0.001
MMP-1 mcg/ml	0.305±0.217	0.237±0.253	0.244±0.230	0.126±0.113	0.190±0.224	11.787	0.019
TIMP-1 mcg/ml	6.040±2.490	5.784±3.378	5.660±2.931	8.574±2.702	6.080±3.960	12.01	0.017

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH: Behçet Hastalığı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA: Spondilartrit, ESH: Eritrosit Sedimentasyon Hızı, CRP: C-Reaktif Protein, MMP-1: Matriks metalloproteinaz-1, TIMP-1: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1.

*Kruskal- Wallis Testi

Tablo V: Behçet hastalarının diğer hasta grupları ile karşılaştırılması.

	BH ve RA		BH ve OA		BH ve AAA		BH ve SPA	
	Z	P	Z	P	Z	P	Z	P
MMP	-1.319**	0.187	1.856*	0.002	-1.513**	0.130	-2.251**	0.024
TIMP	-0.709**	0.478	1.479*	0.025	-0.156**	0.876	-0.754**	0.451

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH: Behçet Hastalığı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA: Spondilartrit MMP: Matriks metalloproteinaz-1, TIMP: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1. * Kolmogrov –Simirnov Z testi, ** Mann-Whitney U testi.

Tablo VI: AAA'lı hastalarının diğer hasta grupları ile karşılaştırılması

	AAA ve RA		AAA ve OA		AAA ve BH		AAA ve SPA	
	Z	P	Z	P	Z	P	Z	P
MMP	-0.942**	0.346	-1.968*	0.050	-1.513**	0.130	-1.012**	0.311
TIMP	-0.064**	0.949	1.496*	0.023	-0.156**	0.876	0.000**	1.000

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH: Behçet Hastalığı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA: Spondilartrit, MMP: Matriks metalloproteinaz-1, TIMP: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1. * Kolmogrov –Simirnov Z testi, ** Mann-Whitney U testi.

Tablo VII: SPA'lı hastalarının diğer hasta grupları ile karşılaştırılması

	SPA ve RA		SPA ve OA		SPA ve BH		SPA ve AAA	
	Z	P	Z	P	Z	P	Z	P
MMP	1.472*	0.026	-0.086**	0.932	-2.251**	0.024	-1.012**	0.311
TIMP	-0.010**	0.992	1.628*	0.010	-0.754**	0.451	0.000**	1.000

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH:Behçet Hastalığı, AAA:Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA:Spondilartrit, MMP: Matriks metalloproteinaz-1, TIMP: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1. * Kolmogrov –Simirnov Z testi, ** Mann-Whitney U testi.

Tablo VIII: RA'lı hastalarının diğer hasta grupları ile karşılaştırılması

	RA ve OA		RA ve BH		RA ve AAA		RA ve SPA	
	Z	P	Z	P	Z	P	Z	P
MMP	-2.425**	0.015	-1.319**	0.187	-0.942**	0.346	1.472	0.026
TIMP	1.529*	0.019	-0.709**	0.478	-0.064**	0.949	-0.010**	0.992

RA: Romatoid Artrit, OA: Osteoartrit, BH: Behçet Hastalığı, AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi, SPA: Spondilartirit, MMP: Matriks metalloproteinaz-1, TIMP: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1. * Kolmogorov –Simirnov Z testi, ** Mann-Whitney U testi.

Bu karşılaştırmalar sonucunda BH bulunan hastaların MMP-1 değerlerinin OA'lı ve SPA'lı hastalardan daha yüksek; AAA'lı hastaların MMP-1 değerlerinin OA'lı hastalardan daha yüksek; SPA'lı hastaların MMP-1 düzeylerinin BH ve RA olan hastalardan daha düşük; RA'lı hastalarda MMP-1 düzeylerinin OA'lı ve SPA'lı hastalardan daha yüksek ve OA'lı hastaların TIMP-1 düzeyleri tüm inflamatuvar artritlerden daha yüksek olduğu ve gözlenen bu farklılıkların istatistiksel yönden anlamlı olduğu saptandı.

MMP-1 ile TIMP-1 arasında korelasyon ilişkisi sadece OA'lı ve RA'lı hasta gruplarında saptandı. Korelasyon katsayıları OA'lı hastalarda $r_s = -0.488$ ($p = 0.034$), RA'lı hastalarda $r_s = -0.403$ ($p = 0.041$) bulundu. Her iki grupta da korelasyon negatif yöndeydi ve hafif bir ilişki söz konusu idi.

MMP-1 ile ESH arasında sadece OA'lı hastalarda pozitif korelasyon saptandı ($r_s = 0.638$, $p = 0.003$). Diğer hasta gruplarında bu ilişki saptanamadı. İlişkinin gücü orta dereceli olarak değerlendirildi.

TIMP-1 ile ESH arasında RA, SPA ve BH hastalarında pozitif korelasyon saptandı. Korelasyon katsayıları RA'lı hastalarda $r_s = 0.551$, ($p = 0.004$), SPA'lı hastalarda $r_s = 0.478$, ($p = 0.018$) ve BH hastalarında $r_s = 0.521$, ($p = 0.018$) idi ve zayıf bir ilişkiye işaret etmekteydi.

TARTIŞMA

MMP-1 RA'da ve OA'da yıkıma neden olan MMP-3'den sonra ikinci önemli metalloproteinazdır. MMP-1 doğal helikal kollajenleri (tip I, II, III, X kollajenler) yıkabilir, fakat tip IV, V, IX kollajenleri, diğer helikal olmayan veya denature kollajenleri yıkamaz. MMP-1 geni büyük ölçüde sinovyal hücre diziliminde yer alan hücreler tarafından salınır. Kantitatif in situ hibridizasyon çalışmaları OA ile karşılaştırıldığında RA'lı hastaların sinovyal dokusunda MMP-1 mRNA'sının belirgin olarak daha fazla eksprese edildiğini göstermiştir (20).

Walakovits ve arkadaşlarının bir çalışmasında, 14 RA'lı hastanın dizinden alınan 18 sinovyal sıvı ve 19 travmatik artritli hasta dizinden alınan sinovyal sıvı örneklerinde MMP-1 düzeyleri sandwich ELISA yöntemiyle ölçülmüş RA'lı hastalarda ortalama MMP-1 düzeylerinin travmatik diz artritli olan hastalardan daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ancak aradaki farklılık istatistiksel yönden anlamlı bulunmamıştır (37).

Lohmander ve arkadaşlarının bir çalışmasında, sağlıklı (Grup 1), diz ağrısı bulunan ancak artroskopi ile patoloji saptanmayan (Grup 2), artroskopi sırasında ön çapraz bağ ile menisküs veya kollateral bağ hasarı saptanan (Grup 3), artroskopi sırasında sadece menisküs hasarı saptanan (Grup 4), daha önce diz travması veya akut inflamatuvar atak tanımlamayan primer OA'lı (Grup 5) ve pirofosfat artropatisi ile OA'lı bulunan (Grup 6) 6 grup hastayı MMP-1 yönünden karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre sağlıklı gruba kıyasla diğer tüm gruplarda sinovyal sıvıdaki MMP-1 düzeylerinde artış saptanmış olup, en belirgin artışın pirofosfat artropatisi ile OA bulunan grupta olduğu gözlenmiştir. Daha önce travma veya inflamatuvar atak tanımlamayan primer OA grubundaki MMP-1 artışı, travmatik artritteki artışın gerisinde kalmıştır (27).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda MMP-1 dikkate alındığında travmatik artrit grubu ile RA ve OA grupları arasında istatistiksel fark bulunamamıştır. RA grubu ile yapılan çalışmada travmatik artrit grubu ile arasında bir fark bulunamaması travmatik artrit grubunun fazla heterojen bir grup olmasına bağlanmıştır. OA grubu ile karşılaştırma yapılan çalışmada ise OA grubundaki denek sayının az olması nedeniyle travmatik gruptaki MMP-1 düzeylerinin relatif olarak yüksek bulunduğu öne sürülmüştür. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu iki çalışmaya göre farklı sonuçlar bulunmuştur.

Ishiguro ve arkadaşlarının bir çalışmasında, OA'sı olan 54 hastanın sinovyal sıvılarında MMP-1 düzeyleri incelenmiştir. Çalışma grubundaki 34 hastada OA'e bağlı eklem yıkımı Mink ve arkadaşlarının tarifine göre radyolojik olarak hafif, orta ve ağır olmak üzere 3 sınıfa ayrılmışlar ve bu 3 grup arasında MMP-1 düzeylerinin farklı olmadığı bulunmuştur. Bu çalışma, OA'da MMP-1 düzeyi ile hastalığın derecesi arasında tam bir ilişki olmadığını göstermektedir (15).

Kontinen ve arkadaşlarının bir çalışmasında, RA'lı olan 10 hastanın sinoviektomi veya artroskopi sonrası elde edilen sinovyal doku materyalleri ile kontrol grubu olarak travma veya inflamatuvar olmayan diz ağrısı olan 9 hastanın sinovyal doku materyallerindeki MMP-1 düzeyleri reverse transkriptase polimerase chain reaction (RT-PCR) yöntemiyle araştırılmıştır. Bu çalışmada RA'lı hastaların hepsinde MMP-1 ekspresyonu gösterilmiş, kontrol grubunda ise 9 hastadan 6'sının doku örneğinde MMP-1 RNA ekspresyonu olduğu bulunmuştur (22). Walakovits'in çalışmasının aksine bu çalışmadaki RA'lı hasta grubunda MMP-1 yapımı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Kikuchi ve arkadaşlarının bir çalışmasında, OA ve RA'nın terminal artritli olan hastaların ve kontrol grubu olarak dolaşım bozukluğu ve tümör nedeniyle opere edilen hastaların kıkırdak dokularındaki MMP-1 düzeyleri Northern blot yöntemiyle araştırılmıştır. Bu dokularda MMP-1 mRNA ekspresyonuna bakıldığında, kontrol grubundan alınan üç

materyalden birinde ekspresyon varken, osteofit formasyonu olan bölgeden alınan yedi hastanın materyalinin üçünde ve ağırlık taşıyan kısmından alınan sekiz hastanın materyalinin üçünde ekspresyon gözlenmiştir. RA'lı hastaların beşinde de MMP-1 mRNA ekspresyonu gözlenmiştir (21). Bu çalışmada, RA grubunun hepsinde MMP-1 ekspresyonu varken OA'nın her iki grubunda da üçer MMP-1 ekspresyonu vardır. Bu çalışmanın sonuçları MMP-1'in RA'da daha belirgin olarak eksprese olduğunu göstermektedir. Bu hipotezi destekleyen diğer bir çalışmada, total kalça replasmanı yapılan RA'lı 10 hasta ve OA'lı 10 hastanın sinovyal doku materyallerinde MMP-1 yapımını uyaran hücre dışı matriks uyarıcısının ekspresyonu RT-PCR yöntemi kullanılarak ölçülmüş ve RA'lı hastaların sinoviyumda OA'lı hastaların sinoviyumuna göre hücre dışı matriks uyarıcısının daha yaygın ve yoğun ekspresyonu gösterilmiştir (17).

Yoshihara ve arkadaşlarının bir çalışmasında, diz OA olan 103 hasta ve dizde artrit olan 87 RA'lı hastada sinovyal sıvıdaki MMP-1 düzeyleri karşılaştırılmış ve RA'lı hastaların ortalama MMP-1 düzeylerinin OA'lı hastalardan daha yüksek olduğu bulunmuştur. RA'lı hastalar Larsen ve arkadaşlarının metoduna göre erken, orta ve ileri dönem şeklinde gruplandırıldıklarında ortalama MMP-1 düzeylerinin grup içinde en yüksek orta dönem, en düşük ileri dönem hastalarda olduğu gözlenmiştir. OA'lı hastaların sinovyal sıvı MMP-1 düzeyleri gerek RA'lı grubunun tamamıyla, gerekse RA hastalarının alt grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşüktür. (41).

Adı geçen çalışmaların tümünde RA'lı hastalarda MMP-1 yapımının OA'lı hastalara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

MMP-1 düzeyleri eklem sıvısı dışında serumda da çalışılmıştır. Serumda MMP-1 düzeylerinin ölçüldüğü çalışmalardan biri olan Keyszer ve arkadaşlarının çalışması iki yönüyle dikkat çekicidir. Bu araştırmacılar hem erozyona neden olan diğer artritlerde (psöriatik artrit) hem de erozyona neden olmayan (sistemik lupus eritematozis, miks konnektif

doku hastalığı) artritlerde MMP-1 düzeylerini araştırmışlardır. 115 RA'lı 20 OA'lı, 26 sistemik lupus eritematozis'li (SLE) 28 psöriatik artritli (PsA), 24 ankilozan spondilitli (AS), 10 miks konnektif doku hastalığı (MCTD) olan ve 6 sistemik sklerozu (PSS) olan hastanın ve 30 sağlıklı kontrolün yer aldığı çalışmada ELISA yöntemiyle serumda MMP-1 düzeyleri araştırılmıştır. Bu çalışmada MMP-1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre SLE, RA, OA, MCTD ve PsA'da belirgin yüksek bulunurken, AS ve PSS' de anlamlı bir yükseklik bulunamamıştır. SLE ve MCTD gibi erozyon yapmayan artrite neden olan hastalıklarda MMP-1 düzeyinin yüksek olması eklem dışı olaylara bağlanmaktadır (18).

Bizim çalışmamızda, MMP-1 düzeylerini RA'lı hastalarda OA'lı hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulduk (0.244 ± 0.230 mcg/ml'e karşı 0.126 ± 0.113 mcg/ml; $z = -2.425$, $p = 0.015$). Çalışmamızda ortaya çıkan bu sonuç yayınlanmış çalışmalarla uyumludur.

Ancak bizim çalışmamızda gruplardan birini oluşturan ve erozyon yapmayan artrite neden olabilen BH hastalarında MMP-1 düzeyleri OA'lı hastalara göre belirgin yüksek bulunurken (0.305 ± 0.217 mcg/ml'e karşı 0.126 ± 0.113 mcg/ml; $z = 1.856$, $p = 0.002$), istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte RA'lı hastalardan yüksek olarak bulundu (0.305 ± 0.217 mcg/ml'e karşı 0.244 ± 0.230 mcg/ml; $z = -1.319$, $p = 0.187$). BH hastalarında sinovyal sıvı veya serumda MMP-1 değerlerini araştıran daha önce yayınlanmış bir çalışma bulunamadı.

Eklem tutulumlu BH'nın erozyonla seyreden bir hastalık olan RA düzeyinde MMP-1 değerlerine sahip olmasına rağmen artritinde eklemden erozyon oluşmamaktadır. Büyük olasılıkla bunun nedenlerinden biri; BH artritinin genellikle periyodik ve kısa süreli olmasından dolayı, BH artritinin RA'daki MMP-1 değerlerine aralıklı ve kısa süreli olarak sahip olmasıdır. Nedenlerden bir diğeri ise; Aktif BH hastalarında MMP-1 düzeylerindeki artışın eklem dışındaki kollajenolitik aktiviteye bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu görüşü destekleyen çeşitli çalışmalar vardır. İlk çalışma, Yamada ve arkadaşlarının atak geçiren aktif

BH hastalarında kollajenolitik aktivitenin remisyonadaki BH hastalarından, diğer nedenlere bağlı üveit geçiren hastalardan ve normal kontrol grubundan daha yüksek olduğunu gösteren çalışmasıdır (40). İkinci çalışma, Keyszer ve arkadaşlarının çalışmasıdır (18). Bu çalışmada; Erozyon yapmayan artritli seyreden SLE hastalarının serumlarında MMP-1 düzeyi RA'dan istatistiksel olarak anlamlı olmasada daha yüksek bulunmuş ve bu yükseklik de eklem dışı olaylara bağlanmıştır. Diğer bir çalışma ise, Kotajima ve arkadaşlarının çalışmasıdır. Bu çalışmada; Serum MMP-3 düzeyleri RA'in yanı sıra SLE'de de kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Daha sonra SLE'li hastalar aktif böbrek tutulumu olanlar ve olmayanlar diye iki gruba ayrıldığında böbrek tutulumu olan hastalarda MMP-3 düzeyinin daha yüksek olduğunu gözlenmiş, bu iki durumda SLE'deki TNF- α düzeyinde gözlenen artış sonucu olabileceği ileri sürülmüştür (24).

Bu çalışmaların da gösterdiği gibi, BH'daki MMP-1 düzeyindeki artış tek başına eklem tutulumuna bağlı olmayabilir. SLE'de olduğu gibi BH'da da MMP-1 yapımını arttıran sitokinlerin özellikle TNF- α 'nın yüksek olması, MMP-1 düzeyindeki artışın nedeni olarak düşünülebilir (34).

Bizim çalışmamızda AAA'lı hastalardaki MMP-1 düzeyleri OA'lı hastalara göre belirgin yüksek bulunurken (0.237 ± 0.253 mcg/ml'e karşı 0.126 ± 0.113 mcg/ml; $z = -1.968$, $p = 0.050$), RA'lı hastalarla aralarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (0.237 ± 0.253 mcg/ml'e karşı 0.244 ± 0.230 mcg/ml; $z = -0.942$, $p = 0.346$). Yapılan literatür taramalarında AAA'da MMP düzeyleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda AAA'lı hastalardaki MMP-1 yüksekliğine rağmen erozyon gözlenmemesi AAA artritinin de BH'da olduğu gibi kısa süreli ve periyodik olması ile açıklanabilir. Bu hipotezimizi destekleyen en önemli bulgu, uzamış AAA'a bağlı artrit ataklarında kıkırdak hasarının belirtileri olarak eklemde litik erozyonlar, periartiküler osteoporoz ve perartiküler sklerozun görülmesidir. Bu bulgulardan da anlaşılacağı gibi,

uzamış AAA artrit atakları kıkırdak hasarına neden olmakta ve muhtemelen bu kıkırdak hasarında MMP-1'de etkin bir görev almaktadır. Gene, AAA'lı hastalarda MMP-1 düzeylerinin yüksek olmasının nedenlerinden biri de, atak döneminin başlangıcında MMP-1 yapımını arttıran TNF- α 'nın aşırı yapımı olabilir (33, 35).

SPA'lı hastalarımızda MMP-1 düzeyi RA'lı hastalara göre istatistiksel olarak düşük (0.190 ± 0.224 mcg/ml'e karşı 0.244 ± 0.230 mcg/ml; $z=1.472$, $p=0.026$), OA'lı hastalara göre ise istatistiksel olarak farksız bulunmuştur (0.190 ± 0.224 mcg/ml'e karşı 0.126 ± 0.113 mcg/ml; $z=-0.086$, $p=0.932$). Bu sonuçlar Keyszer ve arkadaşlarının verileri ile uyumludur (18). RA'daki kıkırdak hasarından kısmen sorumlu tutulan MMP-1 düzeyinin SPA'lı hastalarda düşük olmasının periferik eklem tutulumlu SPA'da kıkırdak hasarının oluşmamasının bir nedeni olabileceğini düşünmekteyiz.

Eklemdeki metalloproteinazların başlıca inhibitörlerinden biri metalloproteinaz inhibitör ailesinin üyesi TIMP-1'dir

Sinovyal dokunun donmuş kesitlerinin in situ hibridizasyon çalışmalarında RA'lı hastaların sinovyal hücre dizilimlerinde büyük miktarlarda TIMP-1 mRNA'sı bulunduğu gösterilmiştir. MMP-1'in aksine TIMP-1 gen ekspresyonu OA ve RA'da benzerdir (K).

Lohmander ve arkadaşlarının bir çalışmasında, sağlıklı (Grup 1), diz ağrısı bulunan ancak artroskopi ile patoloji saptanmayan (Grup 2), artroskopi sırasında ön çapraz bağ ile menisküs veya kollateral bağ hasarı saptanan (Grup 3), artroskopi sırasında sadece menisküs hasarı saptanan (Grup 4), daha önce diz travması veya akut inflamatuvar atak tanımlamayan primer OA'lı (Grup 5) ve pirofosfat artropatisi ile OA'I bulunan (Grup 6) 6 grup hastayı TIMP-1 yönünden karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre sağlıklı gruba kıyasla diğer tüm gruplarda sinovyal sıvıdaki TIMP-1 düzeylerinde artış saptanmış olup, en belirgin artışın artroskopi sırasında ön çapraz bağ ile menisküs veya kollateral bağ hasarı saptanan

grupta olduğu gözlenmiştir. Daha önce travma veya inflamatuvar atak tanımlamayan primer OA ve pirofosfat artropatisi ile OA bulunan gruplardaki TIMP-1 artışı, travmatik artritteki artışla aynı düzeyde bulunmuştur (27). Bu çalışma kıkırdak hasarının olduğu patolojilerde TIMP-1 düzeyinin arttığını göstermektedir.

Naito ve arkadaşlarının çalışmasında, 46'sı diz, 37'si yaygın OA'i olan toplam 83 hastanın ve 19 sağlıklı kontrolün plazmalarında TIMP-1 düzeyleri ölçülmüş ve OA'lı hastaların plazma TIMP-1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (31). Bu çalışmada OA'da TIMP-1 düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

Nawrocki ve arkadaşlarının çalışmasında, agresif RA nedeniyle sinovektomi yapılan 12 hasta ile travma sonucu opere olan 5 ve özelliği olmayan kronik sinovitli 5 hastanın sinovyal örneklerinde immunhistokimyasal yöntemle TIMP-1 ekspresyonu incelenmiş. RA'lı hastaların hepsinde TIMP-1 ekspresyonu görülürken, kronik sinovitli hastaların ikisinde travmatik hastaların ise hiç birinde TIMP-1 ekspresyon gözlenmemiştir (32). Bu çalışmada, travmatik ve kronik sinovitli hastalara göre RA'lı hastalarda TIMP-1 yapımının arttığı gösterilmiştir.

Kageyama ve arkadaşlarının çalışmasında, RA'lı, pyojenik artritli ve travmatik artritli hastaların sinovyal sıvılarında TIMP-1 düzeyleri araştırılmıştır. RA'lı hastaların sinovyal sıvılarında TIMP-1 seviyesi pyojenik ve travmatik artritli hastalardan farklı bulunmamıştır (16). Bu çalışmada gerek travmatik gerekse enfeksiyöz nedenlerle oluşan artritler ile RA'lı hastalarındaki TIMP-1 düzeyinin benzer olduğu gösterilmiştir.

Ishiguro ve arkadaşlarının çalışmasında 52 RA'lı hastanın sinovyal sıvı ortalama TIMP-1 düzeyi OA'lı hastalardan belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada TIMP-1 düzeylerinin kalan kıkırdak miktarından etkilenmediği vurgulanmıştır (15).

Yoshihara ve arkadaşlarının çalışmasında, diz osteoartriti olan 103 hasta ve dizlerinde artrit olan 87 RA'lı hastada sinovyal sıvıdaki MMP-1 ve TIMP-1 düzeyleri karşılaştırılmış ve RA'lı hastalarda TIMP-1 düzeyleri OA'lı hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. RA'lı hastalar Larsen ve arkadaşlarının yöntemine göre sınıflandırıldığında TIMP-1 düzeyleri ileri dönem hastalarda en yüksek, erken dönem hastalarda en düşük olduğu gözlenmiştir. Hem tüm RA'lı hastalarla OA'lı hastalar karşılaştırıldığında, hem de RA'lı hastalar alt gruplara ayrıldıktan sonra OA'lı hastalarla karşılaştırıldığında sinovyal sıvıdaki TIMP-1 düzeyleri RA'lı hastalarda OA'lı hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (41).

Yukarıda bahsedilen son iki çalışmada, RA'lı hastaların sinoviyal sıvılarında TIMP-1 düzeyinin OA'lı hastalara göre yüksek olduğu gösterilmiştir.

Keyszer ve arkadaşlarının çalışmasında, 61 RA'lı, 20 OA'lı, 26 SLE'li, 28 PsA'lı, 24 AS'li, 10 MCTD'li ve 6 PSS'li hastanın ve 30 sağlıklı kontrolün serumlarında ELISA yöntemiyle TIMP-1 düzeylerini araştırmıştır ve TIMP-1 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (18). Bu çalışma RA ve OA grubundaki hastaların yanısıra AS ve SLE gibi erozyon yapmayan artrite neden olan hastalıklarda da TIMP-1 düzeyinin benzer olduğunu gösteren bir çalışmadır.

Bizim çalışmamızda ise OA'daki TIMP-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde RA'daki TIMP-1 düzeyinden yüksektir (8.574 ± 2.931 mcg/ml'e karşı 5.660 ± 2.931 mcg/ml; $z=1.529$, $p=0.019$). Bu veriler Ishiguro ve Yoshihara ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumsuzdur.

OA'de TIMP-1 düzeyleri BH ve AAA'lı hastalardaki TIMP-1 düzeylerine göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (8.574 ± 2.931 mcg/ml'e karşı 6.040 ± 2.487 mcg/ml; $z=1.479$, $p=0.025$ ve 8.574 ± 2.931 mcg/ml'e karşı 5.784 ± 3.378 mcg/ml; $z=1.496$, $p=0.023$). OA'daki TIMP-1 düzeylerini BH ve AAA hastalarının TIMP-1 düzeyleri ile karşılaştıran daha önce yayınlanmış bir çalışma bulunamamıştır.

OA'de TIMP-1 düzeyleri SPA'daki TIMP-1 düzeylerine göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (8.574 ± 2.931 mcg/ml'e karşı 6.080 ± 3.955 mcg/ml; $z=1.628$, $p=0.010$). Bu sonuç Keyszer ve arkadaşlarının verileri ile uyumsuzdur.

Ancak sinoviyal sıvıdaki çalışmaların aksine, serum TIMP-1 düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda OA ile inflamatuvar artritler arasında fark gözlenmemiştir. Tüm inflamatuvar artritlerde TIMP-1 düzeylerinin OA'ya göre daha düşük olması ortamdaki TIMP-1'in aşırı salınan MMP-1'i nötralize etmek için kullanılmasına bağlı olabileceğini düşündürse de, SPA'da MMP-1 düzeyinin düşük olmasına rağmen, TIMP-1 düzeyinin de düşük bulunması bu görüşü kuşkulu kılmaktadır.

Çalışmada BH ve AAA hastalarında MMP-1 düzeyleri RA'da olduğu gibi yüksek bulunmuştur. BH ve AAA hastalarında TIMP-1 düzeyleri bu çalışma grubunda OA hastalarına kıyasla belirgin şekilde düşük, ancak RA'lı hastalara göre, anlamlı olmasada daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, BH ve AAA hastalarında RA'ya göre daha yüksek TIMP-1 düzeylerinin erozyondan korumada rolü olabileceğini akla getirmesinin yanısıra, BH ve AAA'nın akut dönemlerinde artan IL-6'nın TIMP-1 ekspresyonunu artırması ile açıklanabilir (7, 8).

SPA'da yine anlamlı olmasada RA'ya göre TIMP-1 düzeyinde bir yükseklik söz konusudur (6.080 ± 3.960 mcg/ml'e karşı 5.660 ± 2.931 mcg/ml; $z=-0.010$, $p= 0.992$). Bu sonuç da Keyszer ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur.

Yoshihara ve arkadaşların RA'lı ve OA'lı hastalarda gerçekleştirdiği ve yukarıda büyük ölçüde bahsedilen çalışmada; sinovyal sıvıdaki TIMP-1 ve MMP-1 düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmış, RA'lı hastalarda anlamlı bir ilişki kurulamazken OA'lı hastalarda TIMP-1 ve MMP-1 düzeyleri arasında korelasyon olduğu bulunmuştur (41).

Çalışmamızda; hem RA'lı hem de OA'lı hastalarda TIMP-1 ile MMP-1 arasında bir korelasyon vardı ($r_s=-0.403$, $p=0.041$, $r_s=-0.488$, $p=0.034$). Bu durum OA yönünden literatür ile uyumluyken, RA yönünden uyumsuzdur. Ancak çalışmamızdaki RA grubundaki korelasyon oldukça güçsüzdür ve hasta grubunun %16'sı için geçerlidir. OA'da gözlenen korelasyon da oldukça güçsüzdür. Literatürde OA'da gözlenen korelasyon kendi hasta gruplarının %30'u için doğrudurken bu oran bizim çalışmamızda %23'tür.

Behçet hastaları, AAA'lı hastalar ve SPA'lı hastalarda TIMP-1 ve MMP-1 arasında korelasyon gözlenmedi. Bu gruplardaki hastalarda TIMP-1 ile MMP-1 arasındaki ilişkiyi araştıran başka bir çalışmaya literatür taraması ile ulaşamadı.

Bizim çalışmamızda OA dışındaki tüm hasta gruplarındaki sinovyal sıvı MMP-1 düzeyi ile ESH arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Keyszer ve arkadaşlarının çalışmasında da RA'lı hastalarda ESH ile serum MMP-1 düzeyi arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Çalışmamızdaki RA'lı hastalardaki sonuç Keyszer ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur. OA'lı hastalarda MMP-1 ile ESH arasında gücü orta dereceli bir korelasyon vardı ($r_s=0.638$ $p=0.003$). Bu sonuç OA'lı hasta grubumuzdaki ESH değerlerinin genellikle düşük olmasından kaynaklanmış olabilir. OA, SPA, BH ve AAA'lı hastalarda ESH ile MMP-1 arasında korelasyon araştıran bir çalışma bulunamamıştır.

BH, RA'lı ve SPA'lı hastalarda TIMP-1 ile ESH arasında bir korelasyon vardı ($r_s=0.521$, $p=0.018$, $r_s=-0.551$, $p=0.004$, $r_s=0.478$, $p=0.018$). Bu ilişkilerin gücüne baktığımızda BH hastalarında $r_s^2=0.270$, RA'lı hastalarda $r_s^2=0.300$, ve SPA'lı hastalarda $r^2=0.400$ olarak bulundu. Bunun sonucu olarak BH ve RA'da hafif, SPA'da ise orta derecede güçlü bir ilişkiden bahsedilebilir. RA grubundaki bu ilişki Keyszer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçları ile uyumludur. BH ve SPA'lı hastalarda TIMP-1 ile ESH arasında korelasyonu araştıran bir çalışma bulunamamıştır.

OA'lı ve AAA'lı hastalarda ise TIMP-1 ile ESH arasında bir korelasyon bulunmamıştır. OA'lı ve AAA'lı hastalarda TIMP-1 düzeyi ile ESH arasında korelasyonun incelendiği bir çalışma bulunamamıştır.

Sonuç olarak, ülkemizde sık olarak görülen AAA ve BH artritlerindeki sinovyal sıvıdaki MMP-1 düzeylerinin RA'daki MMP-1 düzeylerine benzer seyretse de, olasılıkla bu hastalıklarda artrit ataklarının periyodik ve kısa süreli olmaları nedeniyle eklemlerde erozyon görülmemektedir. Ayrıca MMP-1 ve TIMP-1 düzeyindeki artışın eklem dışı nedenlere bağlı olabileceği de ileri sürülebilir. Buna karşın RA'daki kıkırdak hasarından kısmen sorumlu tutulan MMP-1 düzeyinin SPA'lı hastalarda RA'lı hastalardan daha düşük ve kıkırdak hasarını önleyici etkisi olan TIMP-1 düzeyinin ise eşit olmasının periferik eklem tutulumlu SPA'da kıkırdak hasarının oluşmamasının bir nedeni olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bu konuda daha kesin sonuçlara varabilmek için diğer metalloproteinazların, inhibitörlerinin ve bunları etkileyen diğer mediatörlerin araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Artiritle kemik ve kıkırdaktaki yıkımın temel nedeni kollajen ve proteoglikanları yıkan ve çeşitli hücrelerden salınan aktif proteaz düzeylerindeki artıştır. Bu proteazların en önemlisi hücre dışı matrikste etkin olan matriks metalloproteazlarıdır.

Matriks metalloproteinazları (MMP) nötral pH'da hücre dışı matriks makromoleküllerini yıkan çinko bağımlı enzimlerdir. Bunlar hep beraber aktif oldukları zaman bağ dokusu matriksinin bütün bölümlerini parçalayabilirler.

Eklemdeki metalloproteinazların anahtar inhibitörlerinden biri TIMP'dir. TIMP'ler en az üç üyesi olan (TIMP 1, 2, 3 ve 4) metalloproteinaz inhibitör ailesi olarak bilinmektedir. Bu proteinler metalloproteinazlara oldukça yüksek afinite ile bağlanarak enzimin aktivitesini bloke ederler. Bazen latent MMP'lere bağlanmasına karşın, genellikle aktif MMP'lere bağlanırlar.

Romatoid artrit tanısı konmuş 26 romatoid artrit hastası, 19 diz osteoartritli hasta, eklem tutulumlu 20 Behçet hastası, dizinde atriti olan 20 Ailevi Akdeniz Ateşi'li hasta ve 24spondilartritli hastadan oluşan toplam 119 hastada TIMP-1 ve MMP-1 düzeyleri iki basamaklı sandwich ELISA yöntemiyle çalışıldı.

BH ve AAA'lı hastalarda MMP-1 düzeyi RA'lı hastalarla farksız, ancak OA'lı hastalara göre anlamlı bir yükseklik vardı. SPA'lı hastalarda ise RA'lı hastalara göre MMP-1 düzeyi anlamlı olarak düşük, ancak OA'lı hastalardan farksız bulundu.

TIMP-1 düzeyleri incelendiğinde, inflamatuvar artritlere göre, OA'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik vardı.

BH ve AAA'lı hastalardaki MMP-1 düzeylerinin RA'lı istatistiksel olarak farklı olmaması ve buna rağmen bu hastalıkların eroziv artrit yapmaması, muhtemelen bu

hastalıklarda oluşan artritin kısa süreli ve periyodik olmasına bağlıdır. Ayrıca MMP-1 ve TIMP-1 düzeyindeki artışın eklem dışı nedenlere bağlı olabileceği de ileri sürülebilir.

SPA'da ise beklenildiėi gibi MMP-1 düzeyi RA'ya göre daha düşük ve TIMP-1 değerleri ise eşit düzeydedir. Bu bulgular periferik eklem tutulumlu SPA'da erozyonun görülmemesinin bir nedeni olabilir.



SUMMARY

The major cause of bone and cartilage destruction in arthritis is the increased levels of active proteases. The most important proteases are matrix metalloproteinases (MMPs), which are functioning on the extracellular matrix.

MMPs are zinc dependent enzymes that break down the macromolecules, existing in extracellular matrix, at neutral pH. Activation of all MMPs together, may destruct whole connective tissue matrix.

The key inhibitor of MMPs within the joint is “tissue inhibitor of metalloproeinase” (TIMP). TIMPs known as a family of metalloproteinase inhibitors and consists at least four different proteins (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, and TIMP-4). These proteins are bound to MMPs with high affinity and inhibit their activities.

In this study levels of TIMP-1 and MMP-1 were measured in 119 patients using two-step sandwich ELISA method. Twenty-six patients with rheumatoid arthritis (RA), 19 patients with knee osteoarthritis (OA), 20 patients with Behcet’s disease (BD) with joint involvement, 20 patients with Familial Mediterranean Fever (FMF) with knee arthritis, and 24 patients with spondylarthritis (SPA) were included in the study.

Significantly higher MMP-1 levels were found in patients with BD and FMF with respect to the patients with OA and RA. In patients with SPA, MMP-1 levels were significantly lower than patients with RA, while higher than patients with OA. In addition, a significant difference was found in MMP-1 levels between patients with RA and OA.

The difference of TIMP-1 levels between patients with inflammatory arthritis and patients with OA was statistically significant.

Despite higher levels of MMPs, arthritis of BD and FMF is nondestructive. This may be due to presence of short term and periodic arthritis, and may due to higher TIMP-1 levels in BD and FMF. Extraarticular events may cause to observed increase in MMP-1 and TIMP-1 levels in these patients.

MMP-1 levels were lower and TIMP-1 levels were same in patients with SPA than patients with RA, as expected. These findings may explain the absence of erosive changes in joints in patients with peripheral arthritis of SPA.



KAYNAKLAR

1. Altman, R.D., Criteria for Classification of clinical osteoarthritis. J.Rheumatol, 18 (suppl. 27): 10-12,1991.
2. Arnett, F. C.: Anklylosing Spondylitis. Arthritis and Allied Conditions, (Ed) Koopman, W. J., Baltimore, William and Wilkins, 1997, 1197-1208.
3. Calabrese, L.H., Michel, B.A., Bloch, D.A.:The American Rheumatism Assosiation 1987 revised criteria for the classification of Rhematoid Arthritis. Arthritis and Rheumatism, 33: 1108-1113,1990.
4. Cawston, T: Tissue Destruction and Repair. Rheumatology, (Eds) Klippel, J. H., Dieppe, P. A, London, Mosby, 1998, 1, 8.1-1, 8.6.
5. Clark, I.M., Powell, L.K., Ramsey, S., Hazleman, B.L.; Cawston, T.E.: The Measurement of collagenase, Tissue İnhibitor of Metalloproteinases (TIMP), and Collagenase-TIMP Complex in Synovial Fluids from Patients with Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 36: 372-379, 1993.
6. Daugados, M., Van Der Linden, S., Juhlin, R.:The European Spondylarthropathy Study Group preliminary for the Classification of Spondylartropathy. Arthritis and Rheumatism, 34: 1218-1227,1991
7. Doğanavşargil, E., Keser G.: Behçet Hastalığı. Klinik Romatoloji, (Derleyenler) Gümüşdiş, G., Doğanavşargil, E., İstanbul, Deniz Matbası, 1999, 423-439.
8. Doğanavşargil, E., Keser G.: Ailevi Akdeniz Ateşi. Klimik Romatoloji, (Derleyenler) Gümüşdiş, G., Doğanavşargil, E., İstanbul, Deniz Matbası, 1999, 467-474.
9. Firestein, G.S.: Rheumatoid Synovitis and Pannus. Rheumatology, (Eds) Klippel, J. H., Dieppe, P. A, London, Mosby, 1998, 5, 13.14-5, 13.16.

10. Goldring, M.B. Articular Cartilage. Primer on the Rheumatic Disease, (Ed) Klippel, J.H., Atlanta, Arthritis Foundation, 1997, 14-17.
11. Gordon, J.L., Drummond, A.H., Galloway, W.H.: Metalloproteinases as Therapeutics. Clin Exp Rheumatol. 11 (Suppl 8): 91-94, 1993.
12. Gran, J.T., Husby, G.: Seronegative Polyarthritis. Arthritis and Allied Conditions, (Ed) Koopman, W. J., Baltimore, William and Wilkins, 1997, 1145-1153.
13. International Study Group For Behcet Disease: Criteria for Diagnosis of Behcet's Disease. Lancet, 335:1078-1080, 1990.
14. Ishiguro, N., Ito, T., Ito, H., Iwata, H., Jugessur, H., Ionescu, M., Poole, A.R.: Relationship of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors to Cartilage Proteoglycan and Collagen Turnover. Arthritis And Rheumatism, 42: 129-136, 1999.
15. Ishiguro, N., Ito, T., Miyazaki, K., Iwata, H.: Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, and Glycosaminoglycans in Synovial Fluid from Patients with Rheumatoid Arthritis. The Journal of Rheumatology, 26: 34-40, 1999.
16. Kageyama, Y., Miyamoto, S., Ozeki, T., Hiyoshi, M., Suzuki, M., Nagano, A.: Levels of Rheumatoid Factor Isotypes, Metalloproteinase-3 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in Synovial Fluid From Various Arthritides. Clin Rheumatol, 19: 14-20. 2000.
17. Kastner, L.D.: Intermittent and Periodic Arthritic Syndromes. Arthritis and Allied Conditions, (Ed) Koopman, W. J., Baltimore, William and Wilkins, 1997, 1297-1306
18. Keyszer, G., Lambiri, I., Nagel, R., Keyszer, C., Keyszer, M., Gromnica-Ihle, E., Franz, J., Burmester, G.R., Jung, K.: Circulating Level of Matrix Metalloproteinases MMP-3 and MMP-1, Tissue Inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1), and MMP-1/TIMP-1 complex in Rheumatic Disease. Correlation with Clinical Activity of

- Rheumatoid Arthritis versus Other Surrogate Markers. The journal of Rheumatology, 26: 251-258, 1998.
19. Khan, M. A.: Ankylosing Spondylitis Clinical Features. Rheumatology, (Eds) Klippel, J. H., Dieppe, P. A, London, Mosby, 1998, 6, 16.1-6, 16.10.
 20. Kheradmand, F. Werb, Z.: Proteinase and Their Inhibitors. Primer on the Rheumatic Disease, (Ed) Klippel, J.H., Atlanta, Arthritis Foundation, 1997, 52-57
 21. Kikuchi, H., Shimada W., Nonaka, T., Ueshima, S., Tanaka, S.: Significance Of Serine Proteinase and Matrix Metallproteinase Systems in The Destruction Of Human Articular Cartilage. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 23: 885-889, 1996.
 22. Konttinen, Y.T., Ainola, M., Valleala, H., Ma, J., Ida, H., Mandelin, J., Kinne, R.W., Santavirta, S., Sorsa, T., Lopez-Otin, C., Takagi, M.: Analysis of 16 Different Matrix Metalloproteinases (MMP-1 To MMP-20) in The Synovial Membrane: Different Profiles in Trauma and Rheumatoid Arthritis. Ann Rheum Dis, 58: 691-697, 1999.
 23. Konttinen, Y.T., Li, T-F., Mandelin, J., Liljeström, M., Sorsa, T., Santavirta, S., Virtanen, I.: Increased Expression of Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer in Rheumatoid Synovium. Arthritis and Rheumatism, 43: 275-280, 2000.
 24. Kotajima, L., Aotsuka, S., Fujimani, M., Okawa-Takatjusi, M., Kinoshita, M., Sumiya, M., Obata, K.: Increased Levels of Matrix Metalloproteinase-3 in Sera from Patients with Active Lupus Nephritis. Clinical and Experimental Rheumatology, 16: 409-415, 1998.
 25. Kuettner, K. E., Thonar, E. J-MA: Cartilage Integrity and Homeostasis. Rheumatology, (Eds) Klippel, J. H., Dieppe, P. A, London, Mosby, 1998, 8, 6.1-8, 6.13.

26. Livneh, A., Langevitz, P., Zemer, D.: Criteria for the Diagnosis of Familial Mediterranean Fever. *Arthritis and Rheumatism*, 40: 1879-1185,1997.
27. Lohmander, L.S, Hoerner, L.A., Lark, M.W.: Metalloproteinases, Tissue Inhibitor, and Proteoglycan Fragments in Knee Synovial Fluid in Human Osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 36: 181-189, 1993.
28. Mainardi, C. L.:Collagen and Elastin. *Primer on the Rheumatic Disease*, (Ed) Klippel, J.H., Atlanta, Arthritis Foundation, 1997, 28-32.
29. Massova, I., Kotra, L.P., Fridman, R., Mobashery, S.: Matrix Metalloproteinases: Structures, Evolution,, and Diversification. *FASEB J*.12:1075-1095,1998.
30. Nagase, H. and Woessner, J.F Jr.: Matrix Metalloproteinases. *J Biol Chem*, 274: 21491-21494, 1999.
31. Naito, K., Takahashi, M., Kushida, K., Suzuki, M., Ohishi, T., Miura, M., Inoue, T., Nagano, A.: Measurement of Matrix Metalloproteinases (Mmps) and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 (TIMP-1) in Patients with Knee Osteoarthritis: Comprasion with Generalized Osteoarthritis. *Rheumatology*, 38: 510-515, 1999.
32. Nawrocki, B., Polette, M., Clavel, C., Morrone, A., Eschard, J.P., Etienne, J.C., Birembaut, P.: Expression F Stromelysin 3 and Tissue Inhibitors of Matrix Metallo-Proteinases, TIMP-1 and TIMP-2, İn Rheumatoid Arthritis. *Path. Res. Pract.*, 190: 690-696, 1994.
33. Özyılkan, E., Şimşek, H., Telatar, H.: Tumor Necrosis Factor in FMF. *Am. J. Medicine*, 92: 579, 1992.
34. Raziuddin, S., Al-Dallaan, A., Buhabri, S., Siraj, A.K., Al-Sedairy, S.:Diverjent Cytokine Production Profile in Behcet's Disease. Altered Th1/Th2 CellCytokine Pattern. *J. Rheumatology*, 25: 329-333, 1998.

35. Schattner, A., Lachmi, M., Hahn, T., Edlan, K., Zemer, D., Livney, A., Pras, M.: Tumor necrosis Factor in FMF. Amer Journal of Medical Genetics, 44: 179-182, 1992.
36. Vincenti M.P., Clark, I.M., Brinkerhoff, C.E.: Using Inhibitors of Metallproteinase to Treat Arthritis. Easier Said Than Done? Arthritis Rheum. 37: 1115-1126, 1994.
37. Walakovits, L.A., Moore, V.L, Bhardwaj, N., Gallick, G.S, Lark, M.W.: Detection Of Stromelysin and Collagenase in Synovial Fluid From Patients with Rheumatoid Arthritis and Posttravmatic Knee Injury. Arthritis and Rheumatism, 35: 35-42, 1992
38. Woessner, J.F. and Gunja-Smith, Z.: Role of Metalloproteinases in Human Osteoarthritis. Journal of Rheumatology. 18, Supplement, 27: 99-101, 1991.
39. Woessner, J.F.: Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Connective Tissue Remodelling. FASEB. 5: 2145-2154, 1992.
40. Yamada, M., Kishida, K., Yuasa, T., Mimura, Y., Manabe, R.: Neutrophil Collagenolytic Activity in Patients with Behcet Disease. Curr Eye Res 3: 779-782, 1984
41. Yoshihara, Y., Nakamura, H., Obata, K., Yamada, H., Hayakawa, T.; Fujikawa, K.; Okada, Y.: Matrix Metalloproteinase and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases In Sinovyal Fluids From Patients with Rheumatoid Arthritis or Osteoarthritis. Ann Rheum Dis, 59:455-461, 2000.