

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OTOİMMUN KOLESTATİK KARACİĞER HASTALIKLARININ
PATOGENEZİNDE OTOİNFLAMATUAR VE OTOİMMÜN
MEKANİZMALARIN ROLÜNÜN, SERUM SİTOKİN SALINIMI VE
TLR 4-6 DÜZEYLERİ ÜZERİNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Amin RADGOHAR

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2024

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OTOİMMUN KOLESTATİK KARACİĞER HASTALIKLARININ
PATOGENEZİNDE OTOİNFLAMATUAR VE OTOİMMÜN
MEKANİZMALARIN ROLÜNÜN, SERUM SİTOKİN SALINIMI VE
TLR 4-6 DÜZEYLERİ ÜZERİNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Amin RADGOHAR

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Başak ÇELTİKÇİ

ANKARA

2024

TEŞEKKÜR

Benim için tezimin en heyecan verici ve en önemli bölümü bu bölümdür, çünkü hayatımda ilk defa beni her zaman destekleyen kişilere yazılı olarak teşekkür etme fırsatım oldu. Öncelikle, bana her türlü desteği veren, hayatı bana öğreten ve anlamlandıran Ayşe Sabeti ve Nourli Radgohar’a sonsuz teşekkür ederim. Sizin gibi bir anne ve babaya sahip olduğum için kendimi dünyanın en şanslı insanı olarak hissediyorum. Ablalarım Ayli, Ayjamal, Aynaz ve abim Arman, her zaman yanımda olduğunuz ve bana hiç yalnızlık hissettirmedığınız için teşekkür ederim. Bir değil, bin defa dünyaya gelme şansım olsaydı, yine de hiç tereddütsüz sizleri ailem olarak seçerdim, çünkü bana eksiksiz bir hayat ve sınırsız sevgi sundunuz. Size sonsuz teşekkür ederim. Sevgili yol arkadaşım Hosna Adib, her zaman yanımda olduğun, hem arkadaşım, hem eşim, hem de en büyük destekçim olduğun için sana teşekkür ederim. Her sabah üniversiteye kadar bana eşlik ettiğin günleri daima özlemle hatırlayacağım. Tez danışmanım Doç. Dr. Başak Çeltikçi’ye, yalnızca akademik rehberliğiniz için değil, aynı zamanda bana olan güveniniz ve desteğiniz için de içten teşekkür ederim. Tez sürecimi hem akademik hem de kişisel açıdan unutulmaz bir deneyime dönüştürdünüz. Hacettepe Biyokimya Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma, bana kazandırdıkları değerli bilgiler, nazik destekleri ve birlikte geçirdiğimiz güzel günler için gönülden teşekkür ederim.

ÖZET

Otoimmün kolestatik karaciğer hastalıklarından sıklığı en fazla ve AMA otoantikoru açısından pozitif olan primer biliyer kolanjit (PBK), NK hücreleri direkt veya ürettiği sitokinler ile indirekt olarak intraepitelyal safra epital hücrelerine hasar vermektedir. Ancak bu hastalıklardaki otoantikorlar tanısal olmadığı gibi prognoz ile ilişkileri de gösterilememiştir. Ayrıca PBK, otoimmün hastalık olarak tanımlanmasına rağmen, tedavisinde, diğer otoimmün hastalıklardaki gibi immunsupresif ilaçlar kullanılamamaktadır. Dolayısıyla PBK patogenezinin, otoimmün patogeneze farklı olduğu düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında, kolestatik karaciğer hastalıklarının sitokin ve TLR düzeyleri açısından, Çölyak hastalığındaki (ÇH) otoinflamatuvar ve Otoimmün hepatitlerdeki (OİH) otoimmün patogeneze karşılaştırılması amaçlandı. Bu kapsamda tipik otoinflamatuvar patogeneze örnek olarak ÇH hastaları ve otoimmün patogeneze örnek olarak da OİH hastaları kullanıldı. Tüm hasta gruplarının serum IL 1, 2, 4, 6, 10, 12, 13, 17, 23, TNF α , IFN γ , TGF β ve TLR 4-6 düzeyleri, ELISA ve flow sitometri yöntemi ile analiz edildi ve gruplar arasında benzerlik ve farklılıklar ortaya koyularak değerlendirildi. Verilerin, Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testiyle istatistiksel analizleri yapıldı. Kategorik verilerin analizi için, uygun Ki kare testleri veya Fisher's exact testi kullanıldı. PBK ve ÇH hastalarına göre, OİH hastalarında TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17a, IL-23 ve TLR 4 düzeyleri yüksek bulundu. Bu parametreler, PBK hastalarında en düşük olmakla beraber, ÇH hastalarında orta düzey düşüklük gösterdi. ÇH ve OİH hastalarına göre, PBK hastalarında IL-2 en düşük ve IL-13 en yüksek düzeyde gözlendi. PBK ve OİH hastalarına göre, ÇH hastalarında ise IL-4 en yüksek düzeyde gözlendi. Kontrol grubuna göre, TLR 6 düzeyleri, hasta grupları arasında istatistiksel farklılık gösterdi. Bu tez çalışmasında, PBK patogenezi araştırılarak, bu sitokinlerin tanı ve tedavide marker ve/veya yeni tedavi ajanı olarak kullanılabileceği gösterildi.

Destekleyen kuruluşlar: H.Ü. B.A.P. Proje No : 20385

Anahtar Kelimeler: Kolestatik Hastalıklar, Primer Biliyer Kolanjit, Otoimmünite, Otoinflamasyon, Otoimmün Hepatit, Çölyak Hastalığı

ABSTRACT

Primary biliary cholangitis (PBC) is the most frequent autoimmune cholestatic liver disease. Patients have mostly positivity for AMA autoantibodies. NK cells damage the intraepithelial biliary epithelial cells directly or indirectly through cytokines. However, autoantibodies are not diagnostic, nor has their association with prognosis been demonstrated. Although PBC is defined as an autoimmune disease, immunosuppressive drugs used in other autoimmune diseases cannot be used in its treatment. Therefore, it is thought that the pathogenesis of PBC is different from autoimmune pathogenesis.

In our study, we aimed to compare the cytokine and TLR levels of PBC with autoinflammatory pathogenesis (Celiac disease: CD) and autoimmune pathogenesis (autoimmune hepatitis: AIH). The serum levels of IL 1, 2, 4, 6, 10, 12, 13, 17, 23, TNF α , IFN γ , TGF β and TLR 4-6 of all patient groups were analyzed by ELISA and flow cytometry method, similarities and differences between groups were evaluated. Statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test. For analysis of categorical data, appropriate Chi-square tests or Fisher's exact test were used. Compared to patients with PBC and CD, TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17a, IL-23, and TLR 4 levels were found to be elevated in AIH patients. These parameters were the lowest in PBC patients and showed moderate decreases in CD patients. Compared to CD and AIH patients, IL-2 levels were the lowest and IL-13 levels were the highest in PBC patients. Compared to PBC and AIH patients, IL-4 levels were observed to be the highest in CD patients. Compared to the control group, TLR 6 levels showed statistically significant differences among all patient groups. Our study sheds light on future research on the pathogenesis of PBC to discover novel diagnostic and therapeutic markers, and potential therapy strategies.

Supporting organization: H.U. Scientific Research and projects coordination unit,
Project no: 20385

Keywords: Cholestatic Diseases, Primary Biliary Cholangitis, Autoimmunity, Autoinflammation, Autoimmune Hepatitis, Celiac Disease.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜRLER	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİL LİSTESİ	xiv
TABLO LİSTESİ	xvi
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	4
2.1. Bağışıklık	4
2.1.1. Doğal Bağışıklık	5
2.1.2. Kazanılmış Bağışıklık	5
2.2. Sitokinler	10
2.2.1. İnterlökin 1	12
2.2.2. İnterlökin 2	14
2.2.3. İnterlökin 4	14
2.2.4. İnterlökin 6	15
2.2.5. İnterlökin 8	15
2.2.6. İnterlökin 10	16
2.2.7. İnterlökin 12	17
2.2.8. İnterlökin 13	17

2.2.9. İnterlökin 17	18
2.2.10. İnterlökin 23	19
2.2.11. Tümör Nekrozis Faktör-A	20
2.2.12. İnterferon-gama	21
2.2.13. Transforming Growth Factor Beta	22
2.2.14. Toll Like Reseptörler	23
2.3. Otoinflamatuvar ve Otoimmün Hastalıklar	27
2.3.1 Otoinflamatuvar Hastalıklar	28
2.3.2 Otoimmün Hastalıklar	28
2.3.3 Otoinflamatuvar Ve Otoimmün Hastalıklar Arasındaki Farklılıkları	29
2.4. Çölyak Hastalığı	31
2.4.1. Tarihçesi	31
2.4.2. Tanım ve Epidemiyoloji	32
2.4.3. Etiyoloji ve Patogenez	32
2.4.4. Tedavi	37
2.5. Primer Biliyer Kolanjit (PBK)	38
2.5.1.Tarihçesi	38
2.5.2. Tanım ve Epidemiyoloji	38
2.5.3.Etiyoloji ve Patogenez	39
2.5.4. Genetik Faktörler	39
2.5.5. Çevresel Faktörler	40
2.5.6. Patofizyoloji	40
2.5.7. Semptomlar	41

2.5.8. Fizik Muayene	41
2.5.9. Tanı	42
2.5.10. Laboratuvar Testler	42
2.5.11. Görüntüleme Yöntemleri	43
2.5.12. Histopatoloji İncelemesi	43
2.5.13. Ayırıcı Tanı	45
2.5.14. Overlap / Örtüşme Sendromu	45
2.5.15. Tedavi	46
2.5.15.1. Medikal Tedavi	46
2.5.15.2. Karaciğer Nakli	47
2.5.16. Prognoz	47
2.5.16.1. Globe Skorlaması	47
2.5.16.2. Uk-Pbc Skorlaması	48
2.5.17. Takip ve İzlem	48
2.6. Otoimmün Hepatit (OİH)	48
2.6.1. Tarihçesi	48
2.6.2. Tanımı	49
2.6.3. Epidemiyoloji	49
2.6.4. Patogenez	49
2.6.5. Genetik Faktörler	49
2.6.6. İmmünolojik Yanıtın Gelişmesi	50
2.6.7. Çevresel Faktörler	51
2.6.8. Otoanikorlar	52

2.6.8.1. Anti Nükleer Antikor (Ana)	52
2.6.8.2. Anti Düz Kas Antikoru (Sma)	52
2.6.8.3. Anti-Karaciğer Böbrek Mikrozomal 1 Antikoru (Lkm-1)	52
2.6.8.4. Anti Karaciğer Sitozol Tip 1 Antikor (Anti-Lc 1)	52
2.6.8.5. Anti-Çözünür Karaciğer Antijeni (Anti-Sla)	
/ Pankreas Karaciğer Antikoru (Anti-Lp)	53
2.6.8.6. Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikor (Anca)	53
2.6.7. Oih Tipler	54
2.6.7.1. Tip-1 Oih	54
2.6.7.2. Tip-2 Oih	54
2.6.8. Semptomlar ve Fizik Muayene	55
2.6.9. Laboratuvar Bulguları	56
2.6.10. Histopatolojik Bulguları	56
2.6.11. Oih Radyolojik Bulguları	56
2.6.12. Tanı	56
2.6.13. Tedavi	58
3. Gereç ve Yöntemler	59
3.1. Örneklem Seçimi	59
3.1.1. Çalışmaya Dâhil Edilme Kriterleri	59
3.1.2. Çalışmadan Hariç Tutulma Kriterleri	60
3.2. Gereçler	60
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	60
3.2.2. Ticari Kitler	61

3.2.3. Kullanılan Sarf Malzemeler	61
3.3. Yöntemler	62
3.3.1. Enzim-Bağlı İmmünosorbent Ölçüm Yöntemi	62
3.3.2. Flow Sitometri	65
3.3.3 Tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin ölçümü	68
4. İstatistiksel Analiz	69
5. Bulgular	71
6. Tartışma	83
7. Sonuç ve Öneriler	93
8. KAYNAKLAR	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

ÇH	: Çölyak hastalığı
FMF	: Ailevi Akdeniz Ateşi
OİH	: Otoimmün hepatit
ANA	: anti-nükleer antikorlar
İL	: İnterlökinler
İL-1RA	: İL-1 reseptör antagonisti
TNF- α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
IFN- γ	: İnterferon- γ
TGF- β	: Transforming growth factor beta
TLR	: Toll Like Reseptörler
TTG	: Doku Transglutaminaz
HLA	: İnsan lökosit antijeni - Human leukocyte Antigen
IgA	: immünoglobulin A
RA	: Romatoid artrit
PBK	: Primer biliyer kolanjit
SS	: Sjögren sendromu
CD	: Crohn hastalığı

NK : doğal öldürücü
DC : dendritik hücreler
KC : keratinosit



ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
1	Bağışıklık tepkisinin humoral ve hücresele dalları	7
2	Humoral (sol) ve hücresele aracılı (sağ) yanıtların dallarını gösteren edinsel bağışıklık yanıtın genel görünümü	8
3	Doğal ve adaptif bağışıklığın bileşenleri	9
4	Bağışıklık sistemin, doğal ve edinsel bağışıklığın özellikleri ve hücreleri	9
5	Doğal ve edinsel bağışıklık mekanizmalarının şematik bir temsili ve temel geçiş noktaları	10
6	Doğal ve edinsel bağışıklığı birbirine bağlayan sitokin ağı	26
7	Doğal ve edinilmiş bağışıklığı birbirine bağlayan sitokin ağı Dendritik, makrofaj, nötrofil ve doğal öldürücü hücrelerin salgıladığı sitokinler gösterilmektedir	26
8	Çölyak hastalığında glütenin tetiklediği immün mekanizmalar	34
9	Çölyak hastalığında inflamasyonun olduğu ve olmadığı dönemlerdeki immün mekanizmalar	34
10	ÇH tanı algoritması	36
11	PBK hastalığında genetik yatkınlıkla beraber çevresel etkilerin tetiklediği immün mekanizmalar	41
12	OİH gelişiminde immün yollar	51
13	standartların seri dilüsyon şekli	64

14	Flow sitometrinin çalışma şeması	67
15	PBK (1) , OİH (2) , çölyak (3) hastalarında tüm parametrelerin, her grup için temel bileşenler analizi yapılarak gösterilmesi	79
16	kontrol (0), PBK (1), OİH (2), çölyak (3) hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, her grup için temel bileşenler analizi yapılarak gösterilmesi.	80
17	PBK (1), OİH (2), çölyak (3) hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, her grup için temel bileşenler analizi yapılarak gösterilmesi	81
18	kontrol, PBK, OİH, çölyak hastalarında, her grup için tüm sitokin parametrelerinin gösterilmesi	82

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
1 Sitokinlerin Özellikleri	24
2 Otoinflamatuvar ve Otoimmün Hastalıklar Arasındaki Farklar	30
3 Çölyak Hastalığında test edilmesi gereken belirtiler veya semptomlar	35
4 Scheuer ve Ludwig Evreleme sistemleri	44
5 Yeni Önerilen Evreleme Sistemi	44
6 Overlap sendrom tanı kriterleri	46
7 OİH tanısında rol oynayan otoantikörler	53
8 Tip 1 ve Tip 2 OİH hastalarının karakteristik özellikleri	54
9 OİH Semptom ve bulgular ve görülme sıklıkları	55
10 IAIHG 2008 basitleştirilmiş kriterler	57
11 kontrol, PBK, OİH, çölyak hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırması	72
12 PBK ve OİH hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama $\pm$ sem)	74
13 PBK ve Çölyak hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama $\pm$ sem)	76

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğal bağışıklık sistemi, patojenlere karşı ilk savunma hattını oluşturan daha hızlı ancak daha sınırlı ve özgün olmayan bir tepkidir. Edinsel bağışıklık sistemi ise, spesifik antijenlere karşı gelişen ve hafıza oluşturduğu için daha uzun süreli koruma sağlayan spesifik ve güçlü, fakat daha yavaş bir bağışıklık tepkisidir (1, 2).

Sitokinler, hem doğal hem de edinsel bağışıklık sisteminin hücreleri arasında iletişimi sağlayan küçük proteinlerdir, bu hücrelerinin büyümesini, farklılaşmasını ve fonksiyonlarını düzenleyerek, hem doğal hem de edinsel bağışıklık yanıtını regüle ederler. Sitokinlerin fonksiyonlarının ve etkileşimleri, otoinflamatuar ve otoimmün hastalıkların hem patogenezinin anlaşılmasında hem de tanı ve tedavisi için kritik öneme sahiptir (2-6).

Otoinflamatuar hastalıklar, monogenik ve multifaktöriyel kalıtmalı, doğal bağışıklık sistemini içeren akut inflammatuar ataklar ve heterojen semptomlarla seyreden, disregüle doğal bağışıklık ve inflammatuar yanıt ile ilişki multiprotein sitoplazmik komplekslerin patogenezinde olduğu bir hastalık grubudur. Otoantikorların varlığı tanı, sınıflandırma veya tedavi açısından önemli bir rol oynamaz. Otoinflamatuar tedavisinde, immünosupresif ilaçlar etkili değildir ve bu hastalığın yönetiminde temel tedavi, hastalığın patogenezin ve inflamasyona yöneliktir. Otoinflamatuar hastalıkların en tipik örneği Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF)'dir, gastroenteroloji bölümde en yaygın gözlenen ise Çölyak hastalığı (ÇH)'dir (7, 8).

ÇH, genetik olarak yatkınlığı olan bireylerde glüten alımıyla tetiklenen otoimmün özelliklere sahip kalıcı bir otoinflamatuar enteropatidir. Glüten, buğday-arpa ve çavdarda bulunur ve hastalığın tetikleyicisidir. ÇH, ince bağırsağın mukoza zarında inflamasyon ve villus atrofi ile karakterizedir, bu da besinlerin emiliminde bozulmaya yol açar. ÇH tedavisinde, immünosupresan ilaçlar kullanılmamaktadır, glütensiz diyet verilmektedir (8).

Otoimmün hastalıklar ise multifaktöriyel kalıtmalı, otoreaktif T ve B hücrelerinin aktive olması ve kendi dokularına karşı immün tolerans kaybına neden olan edinsel

bağışıklık sisteminin bozulması olarak tanımlanır. Otoinflamatuar hastalıkların aksine, otoantikörlerin varlığı hem sınıflandırma hem de tedavi planlaması açısından önemlidir (9). Kortikosteroidler ve azatioprin gibi immünosupresif ilaçlar, otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılır ve otoantikörlerin yaptığı hasarı önleyerek, hastalığın ilerlemesini kontrol altına almada etkilidir. Otoimmün hastalıkların en tipik örneği, Otoimmün hepatit (OİH)'dir (10).

Tüm kronik hepatitlerin %1.5-2'si olan OİH, karaciğerin multifaktöriyel kronik hastalığı olup, bağışıklık sisteminin karaciğer hücrelerine saldırması sonucu ortaya çıkar. OİH, hepatosellüler hasar, inflamasyon ve fibrozis ile karakterizedir. Klinik bulgular arasında yorgunluk, karın ağrısı, sarılık ve hepatomegali yer almaktadır. Laboratuvar testlerinde ise yüksek serum transaminaz seviyeleri, hipergamaglobulinemi ve otoantikör pozitifliği sıkça görülür. OİH patogenezinde hem doğal hem de edinsel bağışıklıkta rol oynayan IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IL-21, IL-22, TNF- α ve IFN- γ , hastalığın oluşması ve ilerlemesinde kritik işlevlere sahiptirler. Otoantikörler, tanısal skorlama sistemine göre OİH tanısı ve sınıflandırılmasında önemli role sahiptirler. anti-nükleer (ANA) veya Düz Kas (SMA) antikörlerinin pozitifliği, Karaciğer Böbrek Mikrozomal Tip 1 (LKM-1) ve Çözünebilir Karaciğer Antijeni/Karaciğer Pankreas (SLA/LP) antikörlerinin varlığı, serum IgG veya gama-globulin düzeylerinin yüksekliği, karaciğer biyopsisi bulguları ve viral hepatit markerlarının negatif olması tanıda önemlidir. Bu nedenle, OİH tedavisinin ana amacı, immünosupresif ilaçların kullanılarak, bağışıklık sisteminin karaciğere saldırmasını engellemek ve karaciğerdeki inflamasyonu azaltmaktır (11, 12).

Primer biliyer kolanjit (PBK) ise, kadınlarda daha sık görülen multifaktöriyel, erken evrede asemptomatik, karaciğerin küçük safra kanallarını etkileyen kronik, progresif bir karaciğer hastalığıdır. Hastalık, safra kanallarında yavaş yavaş gelişen inflamasyon ve destrüksiyon ile başlar, fibrozis ve siroza ilerleyerek, karaciğer fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Portal hipertansiyon, ksantomlar, yağda çözünen vitamin malabsorpsiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, malignite gibi bulgularla karakterize PBK tanısı koymak için 3 kriterden en az ikisinin sağlanması gerekmektedir;

Alkalen Fosfataz(ALP)'nin normal üst sınırın 1,5 kat üzerinde olması (yetişkin referans değerler: 30-120 U/L), Antimitokondriyal Antikor (AMA) pozitifliğinin 1/40 ya da daha yüksek titrelerde olması, histopatolojik olarak PBK ile uyumlu görünüm olmasıdır. PBK hastalarının %5-10'u AMA negatif oldukları unutulmamalıdır. PBK'nin en etkili tedavisi yalnız Ursodeoksikolik Asit (UDKA) veya Obetolik Asit (OKA) ile kombine edilmektedir (13, 14).

Kolestatik hastalıkların patogenezinin, otoimmün patogeneze farklı olduğu düşünülmektedir ve bu hastalıklarda NK hücreleri direkt veya ürettiği sitokinler aracılığıyla indirekt yolla intraepitelyal safra epital hücrelerine hasar vermektedir (9).

PBK ve OİH arasındaki önemli farklılıklar, otoantikörlerin tanı ve tedavi süreçlerindeki rolünde ve immünosupresif ilaçların etkinliğinde belirginleşir. PBK'de ÇH gibi diğer otoinflamatuvar hastalıklarda olduğu gibi, otoantikörlerin varlığı tanı, sınıflandırma veya tedavi açısından önemli bir rol oynamaz ve otoantikör negatifliği durumunda bile PBK tanısı konulabilir. Buna karşın, OİH'de otoantikörlerin varlığı hem sınıflandırma hem de tedavi planlaması açısından kritiktir. PBK tedavisinde, immünosupresif ilaçlar etkili değildir ve bu hastalığın yönetiminde temel tedavi, UDCA ve OKA gibi safra asidi düzenleyici ilaçlardır. Buna karşın, OİH tedavisi immünosupresif ilaçlara dayanır; bu ilaçlar, bağışıklık sisteminin karaciğere saldırmasını engelleyerek inflamasyonu azaltır. Kortikosteroidler ve azatioprin gibi immünosupresif ilaçlar, OİH tedavisinde yaygın olarak kullanılır ve hastalığın ilerlemesini kontrol altına almada etkilidir(15).

PBK tedavisindeki bu hastalığın otoimmün hastalıktan ziyade otoinflamatuvar hastalığa daha uygun olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmasında amacımız, otoimmün patogeneze örnek olarak OİH hastalarını ve otoinflamatuvar patogeneze örnek olarak ÇH hastalarını değerlendirerek, ELISA ve flow sitometri gibi yöntemlerle doğal ve edinsel bağışıklıkla ilişkili sitokinlerin ölçülerek, PBK hastalarının patogenezinin aydınlatılması ve bu patogeneze sitokinlerin tanı ve tedavide potansiyel marker ve/veya tedavi ajanı olarak kullanılabileceğinin gösterilmesidir.

Bu tez çalışmasındaki amacımız, immünsüpresif ilaçların etkisizliği ve otoantikörlerin tanı ve tedavi sürecinde belirleyici bir öneme sahip olmaması, otoantikör negatifliğinde bile tanının koyulabilmesi, ek olarak otoantikör varlığının tedavi sürecini değiştirmemesi nedeniyle, kolestatik hastalıklardan olan PBK patogenezinin literatürdeki gibi otoimmün değil de otoinflamatuvar olduğu öngörülerek, tipik otoinflamatuvar patogeneze örnek olarak ÇH hastaları ve tipik otoimmün patogeneze örnek olarak OİH hastaları kullanılarak, PBK hastalığının patogenezinin aydınlatılmasıdır. PBK, ÇH ve OİH hastalarında, serum IL 1, 2, 4, 6, 10, 12, 13, 17, 23, TNF α , IFN γ , TGF β ve TLR 4-6 düzeyleri, ELISA ve flow sitometri gibi yöntemleriyle ölçülerek, PBK patogenezi araştırılarak, bu sitokinlerin tanı ve tedavide marker ve/veya tedavi ajanı olarak kullanılabileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bağışıklık (immünite)

Bağışıklık, enfeksiyon ve patojenlere karşı savunma hattı olarak tanımlanabilir ve bu savunmayı sağlayan hücreler ve moleküllerin toplamına Bağışıklık sistemi adı verilir (2).

1980'lerde edinsel immün yetmezlik sendromu ortaya çıkınca, immün sistemin enfeksiyonlara karşı koruyucu niteliği ve önemi açık şekilde anlaşıldı. Günümüzde immün sistemin işlevinin sadece enfeksiyonlara karşı olmadığı, tümör hücrelerinin çoğalma ve büyümesinin önlenmesi, ölü hücrelerin arındırılması, doku onarımı ve naklinde uyumluluk gibi birçok işlevde rol aldığı bilinmektedir (1, 2).

Sınırsız toksik kimyasallar ve mikroorganizmalarla dolu bir ortamda, konağın hayatta kalması için son derece etkili ve dinamik bir bağışıklık sistemi gereklidir. Geniş anlamda, iki ayrı ancak birbirine bağlı bağışıklık sistemi, doğal ve edinsel (adaptif-kazanılmış) bağışıklık, bir arada bulunur. Doğal bağışıklık, evrensel, hızlı, yüksek oranda korunmuş ve doğuştan var olan yanıtları kapsar ve genellikle ilk savunma hattını

oluştururken, adaptif bağışıklık yanıtları spesifik ve toksinlere veya patojenlere maruz kalma sonrasında daha yavaş gelişir (2, 16).

İmmün sistemi, doğal ve edinsel immün yanıt olarak iki ana gruba sınıflandırabiliriz.

2.1.1. Doğal Bağışıklık

Hayatın erken dönemlerinde bakteriler, insanlar tarafından ifade edilmeyen moleküllerdi ve organizmalar, belirli bir hücrenin "kendine ait mi yoksa yabancı mı" ve "dost mu düşman mı" olduğunu sorgulamak için mekanizmalar geliştirdiler. Doğuştan gelen bağışıklık, belirli bir bireyin keşfiyle ilişkilendirilmemiştir. Günümüzde doğal bağışıklık çalışmaları, edinsel bağışıklık alanındaki çalışmaların gölgesinde kalmıştır; ancak 1908'de Élie Metchnikoff'un fagositik hücreler üzerindeki çalışması, Nobel ödülü kazanarak doğal bağışıklığın önemini vurgulamıştır (17).

Sağlıklı bireylerde doğal bağışıklık yanıtı, enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattıdır. Epitelyal bariyerler, nötrofiller, DC, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler (Natural Killer Cells, NK), mast hücreleri ve eozinofiller doğal bağışıklığın elemanlarıdır. Doğal bağışıklık yanıtı, edinsel bağışıklık yanıtına göre daha hızlı (saatler içinde) ancak daha sınırlı ve özgün olmayan bir tepkidir (2, 17).

2.1.2. Kazanılmış Bağışıklık

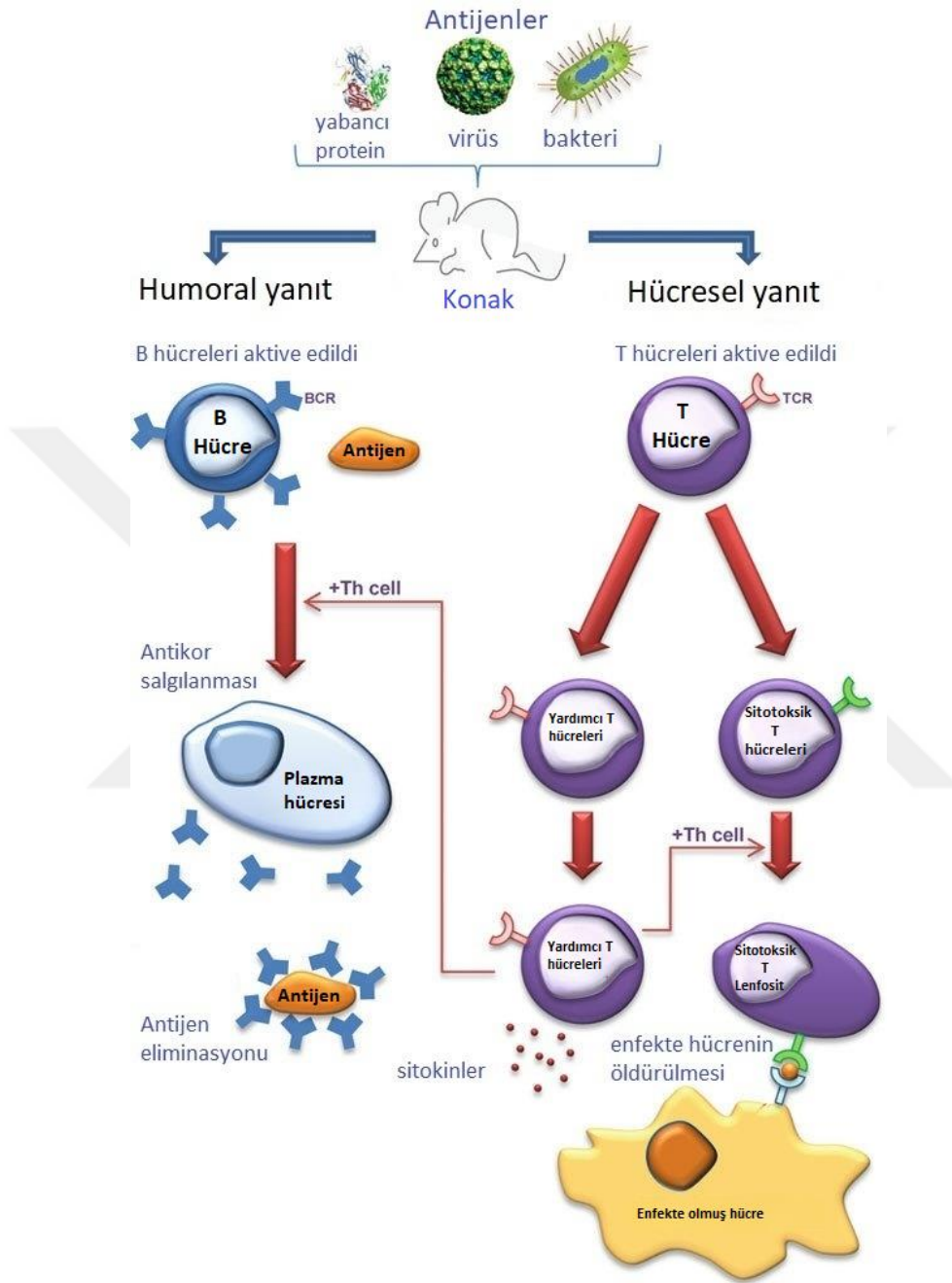
Kazanılmış bağışıklık sistemi, işlevlerini yerine getirebilmek için doğal bağışıklık sistemi ile birlikte çalışır. Dokulara invaze olan (epitelyal bariyerleri aşarak lenfoid organlara ulaşan) mikroorganizmalara özgü moleküller ve diğer yabancı antijenlere karşı geç (günler içinde) ve yavaş başlayan, ancak spesifik ve güçlü bir bağışık yanıtı ortaya çıkaran mekanizmaları tanımlar. Bu mekanizmaların ortaya çıkmasından sorumlu hücreler T ve B lenfositlerdir. B lenfositler ve onların ürettiği antikolar hücre dışı (ekstraselüler) patojenleri yok ederken, efektör T lenfositler hücre içi (intraselüler)

patojenleri hedef alır. Edinsel bağışıklık sistemi, tekrar eden karşılaşmalarda daha da hızlı ve etkili bir bağışık yanıt üretme kapasitesine sahiptir.

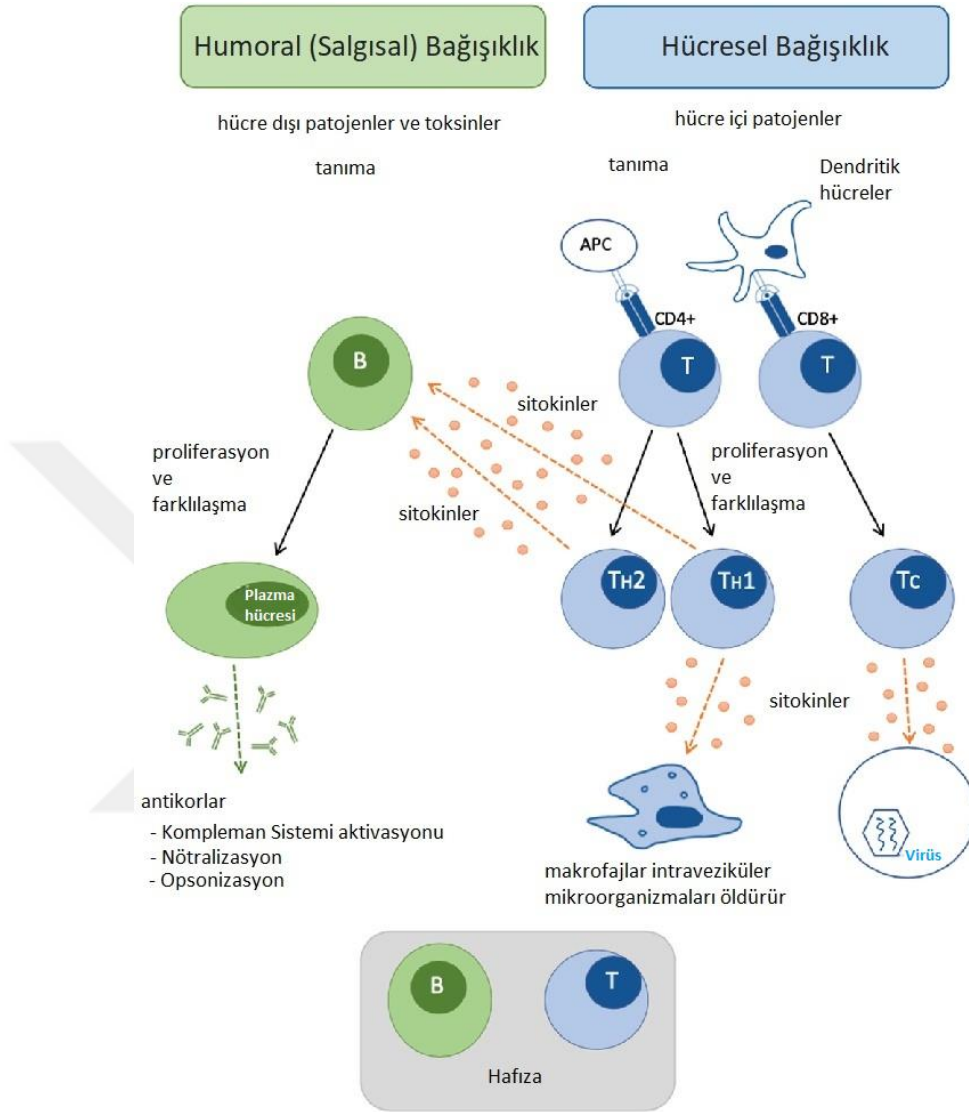
İki tip edinsel bağışıklık yanıtı mekanizması mevcuttur:

a. Humoral (Salgısal) Bağışıklık Yanıtı: B-lenfositler tarafından üretilen antikor adı verilen proteinlerle gerçekleşir. Bu antikorlar, hücre dışı patojenlerle savaşmada etkilidir. Antikorlar, serbest olarak dolaşımda bulunur ve gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve genitoüriner sistem mukozal sekresyonlarında yer alır. Dolaşımda ve bu organların lümeninde bulunan mikroorganizmalarla ve bunların ürünleriyle (toksinler vb.) savaşarak bunların kolonizasyonunu ve dokulara invazyonunu engeller. Hücre içine giremeyen antikorlar, hücre içi mikroorganizmaları ortadan kaldıramazlar. Tanıdığı antijenler arasında proteinler, karbonhidratlar, lipidler, nükleik asitler vb. moleküller bulunur.

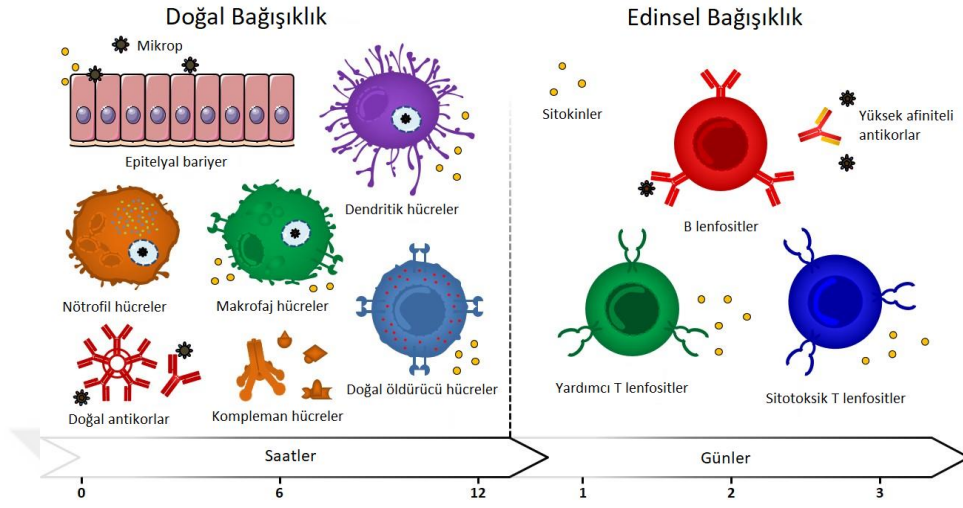
b. Hücresel Bağışıklık Yanıtı: T-lenfositler tarafından gerçekleştirilir. Yardımcı T-lenfositler (T-helper, Th), bir yandan fagositleri aktive ederek doğal bağışıklık yanıt mekanizmalarını (fagositoz) güçlendirirken, diğer yandan B-lenfositleri aktive ederek humoral bağışıklık yanıt mekanizmalarının çalışmasını sağlar. Sitotoksik/sitolitik T-lenfositler, yabancı protein barındıran hücreleri öldürür. T-lenfositler, antijenlere yanıt vererek onlara karşı cevap oluşturur (2-6).



Şekil 1: Bağışıklık tepkisinin humoral ve hücresel dalları (18).



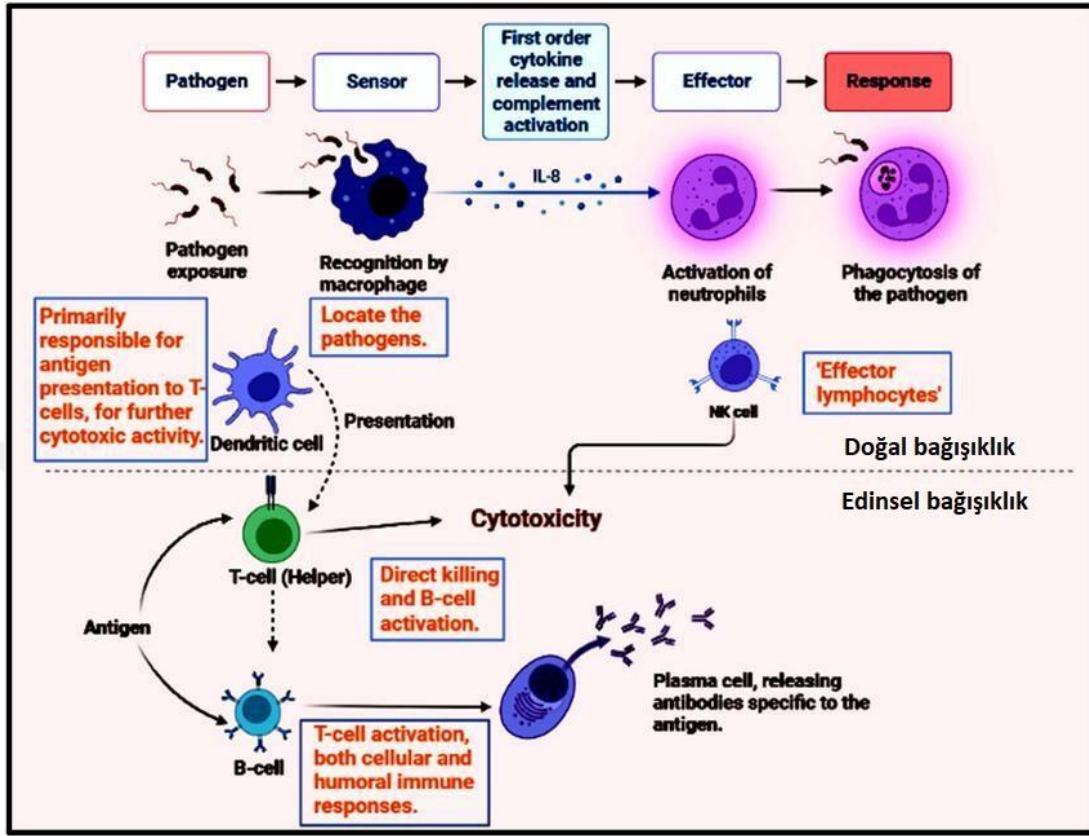
Şekil 2: Humoral (sol) ve hücrel aracılı (sağ) yanıtların dallarını gösteren edinsel bağışıklık yanıtın genel görünümü (19).



Şekil 3: Doğal ve adaptif bağışıklığın bileşenleri (20).



Şekil 4: Bağışıklık sistemin, doğal ve edinsel bağışıklığın özellikleri ve hücreleri (21).



Şekil 5: Doğal ve edinsel bağışıklık mekanizmalarının şematik bir temsili ve temel geçiş noktaları (22).

2.2. Sitokinler

Sitokinler, belirli hücelere özgü ama antijene özgü olmayan bir şekilde hareket eder ve kemotaksiden spesifik hücelerin aktivasyonuna ve geniş fizyolojik değişikliklerin indüksiyonuna kadar çok çeşitli biyolojik aktivitelerde yer alır (23).

Sitokinler, belirli sinyal mekanizmalarını indükleyerek hormonlara benzemekle birlikte, polipeptit yapıdadırlar. Esas olarak lökositler tarafından salgılanır, ancak bir sitokin birden fazla hücre türü tarafından üretilir. Yaklaşık 5-30 kDa ağırlığında olmalarına rağmen, $10^{10} - 10^{15}$ molar konsantrasyonlarında bile aktif ve çözünür formda etkili olurlar (24).

Başlarda sadece lenfositler tarafından üretildikleri düşünöldüğü için "lenfokin" adı verilmişti ancak günümüzde monosit, makrofaj ve bazı somatik hücreler tarafından da sentezlendiğı görölmüş olup genel olarak "sitokin" ismi kullanılmaktadır(16)

Belirli türde sitokinleri karakterize etmek için sıkça kullanılan diğör terimler de literatürde mevcuttur:

Monokinler: Tek çekirdekli fagositik hücreler örneğın, monositler, makrofajlar ve DC tarafından sentezlenen ve enfeksiyon, yaralanma veya inflamasyon gibi durumlarda artan sitokinleri içerir (3).

Lenfokinler: Genellikle T hücreleri tarafından üretilir ve enfeksiyonların kontrol altına alınmasında, hücresele ve humoral immün yanıtların düzenlenmesinde, T ve B hücrelerinin aktivasyonu ve proliferasyonu gibi birçok biyolojik sürecin düzenlenmesinde kritik rol oynarlar. Interferonlar (IFN), tümör nekroz faktörleri (TNF) ve büyüme faktörleri gibi örnek sitokinler bu gruba dahildir (3).

İnterlökinler (IL); Hücreler arasında sinyal iletiminde kullanılır ve mediatör olarak hareket edebilme kabiliyetine sahiptirler. Hem pro-inflamatuar hem de anti- inflamatuvar yanıtları düzenleyebilmektedirler, dolayısıyla birçok patolojide önemli rolle sahipler. Örnekle olarak, IL-1 inflamasyonun başlatılmasında görev alırken, IL-10 inflamasyonu baskılamaya yardımcı oluyor. Her bir IL farklı bir rolü ve işlevi vardır ve immün sistemin düzenlenmesinde önemli role sahipler, bu yüzden immünolojik tedavilerin hedef molekülleridirler (3).

Kemokinler: Lökositlerin hasarlı dokuya veya enfeksiyonun olduğı bölgeye göç etmesinden sorumludurlar. Örneğın, IL-8 nötrofillerin göç etmesine neden olur ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olur (3).

Sitokinler depolanmaz ve sentez edildikten sonra hızla salgılanırlar. Etkilerini gösterebilmeleri için reseptörlere ihtiyaç duyarlar. Sitokin reseptörleri genellikle hücre yüzeyinde transmembran şeklinde bulunur, hücre dışı kısımları sitokin bağlanmasından

sorumludur, sitoplazmik kısımları ise hücre içi sinyal yollarının başlatılmasından sorumludur.

Tip 1 Sitokin Reseptörü: IL-2R olarak da bilinir ve sitokin reseptörlerin en büyük ailesidir. IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 ve IL-21 gibi sitokinlerin reseptörlerini içerir.

Tip 2 Sitokin Reseptörü: Interferon ailesi (IFNR) olarak da bilinir. IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-10, IL-20 ve IL-22 gibi sitokinlerin reseptörlerini içerir (2) .

İlk olarak, 1983 yılında William Coley, malign tümörlerde sitokinlerin önemli rol oynadığını göstermiştir; ancak sitokinler normal dokular tarafından da üretilbildiği için tümör marker olarak kullanılamazlar. Ancak sitokin düzeylerini ölçerek tümörlü dokuların tedaviye yanıtı ve prognozu hakkında bilgi elde edebiliriz (25). Örneğin, myeloma hastalığında ve lenfomalarda, IL-6 düzeylerinin hastalık aktivitesi ve yaşam süresi ile belirgin bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (26). Melanoma ve kolorektal kanser çalışmalarında, IL-2 tedavi olarak kullanılmış, inflamatuvar belirteçlerden C-reaktif protein (CRP) ve IL-6 düzeylerinde tedavi sonrasında büyük düşüş gözlemlenmiştir (27). ABD'de, anakinra (IL-1 reseptör antagonisti) orta ila şiddetli RA tedavisinde metotreksat ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır (28).

Bu nedenle, hastalıkların hem sebebini hem de tedavisini aydınlatmak için sitokinler üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

2.2.1. İnterlökin-1 (IL-1)

İnterlökin-1 (IL-1), immunolojik ve inflamasyon reaksiyonlarında önemli bir mediatördür. 17.5 kDa ağırlığında olup monositler, makrofajlar, DC, B lenfositler ve endotel hücreleri tarafından salgılanır (29). IL-1, B ve T hücrelerin aktivasyonunu sağlar, ayrıca IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 gibi mediatörlerin salgılanmasını da tetikler. Akut faz proteinlerinin salgılanmasını, ateşin yükselmesini, anoreksi, adezyon moleküllerinin üretimini arttırmasını, kemik yıkımı ve katabolik etkilerini indükler; bu nedenle güçlü bir proinflamatuvar sitokindir (5, 6, 29).

IL-1'in etkileri IL-1 reseptör antagonisti (IL-1RA) tarafından kontrol edilir. İnflamasyon, enfeksiyon gibi durumlarda IL-1RA düzeyleri yükselir ve bu şekilde IL-1'in hedef hücreler üzerindeki etkisi bloke edilir. IL-1 ve IL-1RA arasında fizyolojik bir denge mevcuttur ve bu denge, normal fizyolojinin devamının sağlanmasında hayati önem taşır (30).

IL-1 β 'nin otoinflamatuvar hastalıklardaki rolüne dair önemli bir kanıt, IL-1 β blokajının etkinliğidir. İnflamatuvar hastalıkların tedavisinde, anti-IL-1 β ajanları geniş çapta incelenmiştir. CAPS (Cryopyrin-associated periodic syndrome-Kriyopirin ilişkili Periyodik Sendrom)'li hastalarda anti-IL-1 β tedavileri ile semptomların dramatik şekilde düzeldiği gözlemlenmiştir. Çeşitli çalışmalar, FMF (Familial Mediterranean Fever-Ailevi Akdeniz Ateşi), PAPA sendromu (Piyojenik Artrit, Piyoderma gangrenozum ve Akne), TRAPS (Tümör nekroz edici faktör reseptörü 1 ile ilişkili periodik ateş sendromları) veya HIDS (Hiperimmünglobülin D sendromu) gibi otoinflamatuvar hastalıklarda, anti-IL-1 β ajanı olan anakinra'ya verilen olumlu yanıtlar rapor etmiştir. Örneğin, FMF, pyrin proteini kodlayan MEFV genindeki mutasyonlarla ilişkilidir ve bu da IL-1 β 'nin aşırı üretimine yol açmaktadır. IL-1Ra'yı kodlayan gende mutasyonlar veya delesyonlar sonucu oluşan otoinflamatuvar bir sendrom olan IL-1Ra eksikliği olan hastalarda da anakinra'ya verilen yanıtlar gözlemlenmiştir (31-34).

Ek olarak, IL-1 β 'nin aşırı üretimi, genellikle inflamatuvar hastalıklar olarak düşünülmeyen ancak inflamatuvar bir bileşen içerebilecek hastalıkların patogenezinde katkıda bulunabilir. Örneğin, tip 2 diyabetin ilerlemesi, IL-1 β indüksiyonuyla, adacık beta hücreleri yıkımıyla gerçekleşir. Bu nedenle, IL-1 β , tip 2 diyabet tedavisi için bir terapötik hedef olabilir. Bu yaklaşımın değeri, tip 2 diyabetli hastalarda anti-IL-1 β ajanı olan anakinra ile yapılan 13 haftalık plasebo kontrollü bir çalışmada ve başka bir anti-IL-1 β tedavisi olan XOMA-052 (anti-IL-1 β monoklonal antikor) ile yapılan bir pilot çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, IL-1 β blokajının tip 2 diyabetin ilerlemesini yavaşlatmak veya önlemek için değerli bir yaklaşım olabileceğini önermektedir. Ayrıca, IL-1 blokajının yavaş ilerleyen miyelomda proliferatif hızı azaltabileceği ve faydalı bir adjuvan tedavi olabileceği de önerilmektedir (35-38) .

2.2.2. İnterlökkin-2 (IL-2)

IL-2, çoğunlukla aktive edilmiş CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri tarafından üretilen, 15 kDa'lık dört α -heliksli bir sitokindir. Aktive edilmiş DC'ler ve NK hücreler de IL-2 üretir, ancak bu hücrelerden gelen IL-2'nin biyolojik önemi henüz net değildir (25-29).

IL-2'nin başlıca işlevleri şunlardır: T ve B hücrelerinin proliferasyonunu sağlar, antikor yapımını indükler, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 gibi mediatörlerin salgılanmasını tetikler, nötrofillerin ve NK hücrelerinin sitotoksitesini artırır ve ayrıca otokrin etki ile kendi sentezini uyarabilir (6).

IL-2'nin T hücreleri üzerinde güçlü proliferatif etkileri vardır ve ilk olarak invaziv kanser ve ileri HIV hastalığı olan hastalarda bağışıklık yanıtlarını artırmak için bir tedavi yaklaşımı olarak kullanılmıştır. Ayrıca, çalışmamızda otoimmün hepatit (OİH) hastalığının etyopatogenezinde önemli bir yer almaktadır (39).

2.2.3. İnterlökkin-4 (IL-4)

Eskiden B hücresi büyüme faktörü olarak da isimlendirilen IL-4, 20 kDa ağırlığında olup T helper 2 (Th2) lenfositler, sitotoksik T lenfositler, NK ve mast hücreleri tarafından salınır. IL-4 ve IL-13 birçok nitelikleri benzerdir ve temel etkileri alerjik olayları düzenlemek olup işlevleri şunlardır: Makrofajlarda MHC klas II üretimini aktive eder, Mast hücrelerinin diferansiasyonunda rolü vardır, Aktive B hücrelerinin proliferasyonunu ve IgE salınımını sağlar, T helper 1 (Th1) oluşumunu IL-12 üretimini azaltarak baskılar, Th2 oluşumunu uyarır. Makrofajların fagositozunu artırır, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve nitrik oksit sentezini baskılar, IL-1RA salınımını uyarır ve bu şekilde IL-1 dengesinde rol alır (5, 6).

Crohn hastalığında, IFN- γ ve TNF- α gibi Th1 sitokinlerinin artan üretimi varken, UC hastalığında ise, Th2 yanıt sitokini olan IL-4'ün artan seviyeleri gözlenir. Ayrıca IL-9 ve IL-37, özellikle UC hastalığının patogenezinde rol oynar (40).

2.2.4. İnterlökkin-6 (IL-6)

1986 yılında keşfedilen IL-6, sadece bağışıklık yanıtlarında değil, aynı zamanda inflamasyon, hematopoiesis, kemik metabolizması, embriyonik gelişim ve diğer temel süreçlerde de yer alan bir pleiotropik sitokindir (41). IL-6, ayrıca inflamasyon, otoimmünite, sitokin fırtınasında ve kanser dahil olmak üzere inflamatuvar hastalıklarda önemli bir faktördür ve etkisi genellikle IL-6–sinyal ileten Janus kinase (JAK) ve Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) 3 yolu aracılığıyla gerçekleşir (42).

26 kDa moleküler ağırlığında olan IL-6, endotel hücreleri, fibroblastlar ve mononükleer fagositik hücreler tarafından salgılanır. IL-6 özellikle hepatositler ve B lenfositler üzerine etkilidir (43). Başlıca işlevleri şunlardır: immünglobulin yapımını tetikler, IL-2 salınımını artırır, kemik iliğinde hematopoietik koloni stimülasyonu için kofaktördür, hepatositleri aktive ederek akut faz proteinlerinin sentezlenmesine sebep olur, hipofiz ön lobundan prolaktin, büyüme hormonu ve luteinizan hormon salınımını uyarır, glukokortikoid sentezini artırır, osteoklastların aktivitelerini artırır ve IL-1 ile TNF ile sinerjistik etki gösterir (5, 6).

2.2.5. İnterlökkin-8 (IL-8)

IL-8, iki disülfid köprüsü içerir ve homodimer yapısına sahiptir. Molekül ağırlığı 16 kDa'dır. Monositler ve makrofajlar, nötrofiller, lenfositler ve endotelyal ve epitelyal hücreler gibi çeşitli hücreler tarafından üretilir (44). IL-8'in temel fonksiyonu, nötrofillerin enfeksiyon veya yaralanma bölgesine yönlendirilmesi ve aktivasyonu ile ilgilidir. Aynı zamanda, NK hücreleri, T hücreleri, bazofiller ve eozinofilleri de enfeksiyon veya yaralanma bölgesine yönlendirir (45, 46).

IL-8, farklı kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde yer almaktadır. Psöriazis hastalarının IL-8 ile pozitif boyanan nötrofilleri saptanmıştır. Romatoid artrit (RA) hastalarında, IL-8'in sağlıklı kontrollere kıyasla sinovyum hücreleri ve kondrositler tarafından yüksek konsantrasyonlarda salındığı gözlemlenmiştir. H. pylori enfeksiyonu sırasında, IL-8'in ekspresyonu mide mukozasında artar ve bakteri yükü, kronik

inflamasyon ve hastalık aktivitesi ile ilişkilidir (47). Behçet hastalığında, IL-8 düzeyinin yüksek olması, hastalık aktivitesi ve vasküler tutulumu yani klinik seyriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (48, 49). Granülomatozis polianjitis, nadir görülen bir otoimmün hastalıktır ve IL-8 belirgin şekilde yüksek bulunmuştur (50).

2.2.6. İnterlökin-10 (IL-10)

18 kDa'luk bir sitokin olan IL-10, aktive B ve Th1 hücreleri, makrofajlar ve non-lenfositik hücre tipleri (keratinositler) tarafından üretilmiş olabilmelerine rağmen başlıca CD4+ yardımcı hücrelerinin Th2 alt grubu tarafından üretilir. IL-10'un temel etkisi T hücrelerin sitokin yapımını baskılamak olduğu için "sitokin sentez inhibitörü" olarak adlandırılmaktadır (6, 51).

IL-10'un bazı fonksiyonları bu şekildedir: antijen ile uyarılmış T hücre proliferasyonunu hem doğrudan hem de dolaylı olarak inhibe eder, B hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu artırır, Makrofaj ve NK hücrelerinin aktivasyonunu engeller, TGF- β ile sinerjistik etki gösterir. Enfeksiyonlar sırasında IFN- γ ile beraber IL-10 yapımı da artar, bu şekilde doku harabiyetinin minimize edilmesini sağlar. Nitrik oksit sentaz indüksiyonunu, makrofajların toksik oksijen radikalleri üretimini ve monosit prostaglandin H sentaz-2'yi downregüle ederek inflamasyonu azaltır. IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını engelleyerek, lökosit aktivasyonu ve inflamasyon bölgesine göçünü engeller. Ayrıca, nötrofil ve monosit/makrofaj aktivasyonuna neden olan granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) üretimini de inhibe eder (5, 6, 24, 52-59).

Myastenia gravis, sistemik lupus eritematozus (SLE), RA, OİH, Polimiyozit ve Dermatomiyozit, Sjögren sendromu (SS) , Psöriasis, Pemfigus vulgaris gibi birçok otoimmün hastalığında IL-10 ekspresyon seviyelerinin arttığına dair kanıtlar bulunmaktadır (60-67).

2.2.7. İnterlökkin-12 (IL-12)

İnterlökkin 12 (IL-12), ilk olarak 1989 yılında tanımlanmış olup, p35 ve p40 alt birimlerinden oluşan 70 kDa'lık heterodimerik bir proinflamatuvar sitokindir. Biyolojik olarak aktif IL-12p70 heterodimerinin oluşabilmesi için her iki alt birimin de aynı hücrede birlikte eksprese edilmesi gerekmektedir. IL-12, immün hücrelerinin yüzeylerinde bulunan IL-12 reseptörlerine (IL-12R) bağlanarak etkilerini gösterir. IL-12, başlıca T ve B lenfositler, NK hücreleri ve DC tarafından üretilmektedir (68, 69).

IL-12'nin başlıca önemli etkileri şunlardır: Th1 hücrelerinin aktivasyonu için kritik bir sitokin olarak hücrel yanıtın önemli bir düzenleyicisidir. IFN- γ üretimi ve T lenfositlerine etkisi ile hücre içi bakterilere karşı erken immün yanıtın ana mediatörü olarak görev yapar ve hücrel cevabın önemli bir indükleyicisidir. Ayrıca, NK hücrelerinin en güçlü stimülatörü olup, onların sitotoksik aktivitelerini artırır. IL-8 ve IFN- γ transkripsiyonunu tetikler, sitotoksik T hücre yanıtını indükler ve IL-2 ile birlikte kuvvetli sinerjistik etkiye sahiptir (5, 6, 16).

IL-12, IL-4'ün etkilerini baskılayarak, IFN- γ 'nın üretimini teşvik eder, IFN- γ üretimi IL-4 tarafından baskılanabilmektedir. Ek olarak, IL-12, IL-2R ekspresyonunu artırmaktadır. Bu nedenle, IL-12, anti-kanser bağışıklığının ana düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir (70-73).

Son dönemde, Crohn hastalığı (CD) ve psöriazis gibi hastalıkların tedavisinde, IL-12 inhibitörleri kullanılmaktadır (74).

2.2.8. İnterlökkin-13 (IL-13)

Th2 hücreleri, doğal öldürücü T hücreleri ve doğal bağışıklık hücreleri tarafından üretilir ve kronik idiopatik barsak inflamasyonunu tetiklemeye ve sürdürmeye katkıda bulunur. IL-13, IL-4, IL-5 ve IL-10, Th2 hücrelerinden salgılanan sitokinlerdendir (75).

ÇH'da, lamina propria lenfositlerinde IL-13'ün özellikle refrakter fazda artmış olduğu görülmektedir. Ayrıca, refrakter fazda IL-6 ve TNF- α ve tedavi edilmemiş fazda

da IFN- γ ve IL-21 artışı gözlenmektedir. NK hücreleri, ÇH'da %30 azalmasına rağmen, IL-13+ NK hücrelerinde %41 artış görülmektedir. ÇH olan tedavi edilmemiş hastalarda, duodenal biyopsilerden elde edilen IL-13 gibi diğer Th2 sitokinleri olan IL-4, IL-5 ve IL-10'un üretimi benzer şekilde tedavi edilmiş hastalarla ve kontrol grubunda düşüktür, fakat bu benzerlik, çocuklarda kontrole göre çölyaklılarda artmış olarak farklılık göstermektedir (40). UC ve CD'da ise inflamasyon ve fibroz üzerinde, IL-13'ün patogeneze rolü gözlemlenmiştir. UC hastalarında, inflamatuvar mukozada IL-13'ün protein konsantrasyonlarının azaldığı ve hastalığın aktivitesinin, IL-13 ekspresyonu ile negatif ilişkili olduğu görülmüştür. UC hastalarının lamina propria T hücrelerinde ise, Crohn hastalarına ve sağlıklı bireylere göre artmış IL-13 protein seviyeleri üretimi gösterildi. Bu nedenle, bu hastalarının bağırsaklarında ektramukozal IL-13 ekspresyonu, bu sitokinin fibrosis gelişiminde rol oynadığı için terapötik açıdan ilgi kazanmıştır (40).

Newcomb ve arkadaşları, insanlarda ve farelerde, Th17 hücrelerinde, işlevsel IL-13 reseptörlerinin ifade edildiğini bulmuşlar ve IL-13'ün aynı zamanda IL-17 sitokinlerinin üretimini azalttığını göstermişlerdir (76, 77).

IL-13'ün RA ve SLE gibi otoimmün hastalıklarda anormal bir şekilde ifade edilmesinin, bu hastalıkların gelişiminde rol oynamış olabileceği ortaya koyulmuştur (78, 79).

2.2.9. İnterlökin-17 (IL-17)

IL-17, özellikle aktive T hücreleri tarafından salgılanır ve 15 kDa moleküler ağırlığa sahip 150 amino asitlik bir pro-inflamatuvar sitokindir (80, 81).

IL-17A ve Th17 hücreleri, RA, OİH, astım ve MS'un patogenezinde de dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar bozukluklarda rol oynar ve bu nedenle dokuların homeostazında ve hastalığın ilerlemesinde önemli bir rol oynar (79, 82).

2.2.10. İnterlökin-23 (IL-23)

IL-23, IL-12 ailesine ait bir heterodimer proinflamatuvar sitokindir. IL-23, IL-12 ile paylaşılan p40 alt birimi ve benzersiz p19 alt biriminden oluşur. Her iki alt birim disülfid bağı ile birbirine bağlanır ve yalnızca aynı hücrede sentezlendiklerinde birleşirler (83).

Biyolojik olarak aktif IL-23'ün oluşumu, p40 ve p19 alt birimlerinin aynı hücre içinde sentezlenmesini gerektirir. IL-23 ve IL-12, ortak bir alt birimi olan p40 alt birimi nedeniyle reseptör komplekslerinde ortak bir alt birimi paylaşırlar.

IL-23 esas olarak aktive makrofajlar ve DC'ler tarafından salgılanır. Ayrıca, keratinositler (KC'ler) ve sinoviyositler gibi bağışıklık sistemi dışı hücreler tarafından da salgılanabilirler (84).

RA, IL-23'ün, inflamasyonu teşvik ederek ve kemik erozyonuna katkıda bulunarak, RA patogeneğinde rol oynadığı bulunmuştur (85).

IL-23, serum seviyelerinin UC şiddeti ve hastalık süresi ile ilişkili olduğunu ve bunun olası bir hastalık tanı markeri olabileceğini gösterilmiştir (86).

IL-23'ün etkisi, başlıca IL-17 ve IL-22 üreten hücrelerin farklılaşması ve uyarılması ile özetlenir. IL-17 ve IL-22, psöriaziste KC hiperplazisi, parakeratoz ve akantozisi; RA'da osteoklast oluşumlarını ve kemik erozyonunu; ve geniş çapta inflamatuvar sitokinlerin salınımını, nötrofil toplanmasını sağlayan kemokinlerin üretimini indükleyerek doku hasarına yol açar. Bu durum, IL-23-IL-17/IL-22 pozitif feedback döngüleri ile daha da kötüleşir ve sürekli inflamasyon yaratır. Bu verilere dayanarak, IL-23, inflamatuvar yanıtın anahtar faktörü olduğu için bir hastalık başlatıcısı olarak kabul edilebilir (86, 87).

Birçok sitokin, IL-23'ün düzenlenmesinde karmaşık roller oynar. IL-1 β , IL-23 p19 alt biriminin fibroblast benzeri sinoviyositlerde (FLS) artan regülasyonuna neden olur. TNF- α , KC'ler ve FLS'de IL-23 ekspresyonunu artırırken, makrofajlar ve DC'ler üzerinde ters bir etki göstererek, IL-23 ekspresyonunu azaltır. Benzer şekilde, IFN- γ farklı

hücrelerde p19 mRNA stabilitesini olumsuz etkileyerek IL-23 ekspresyonunu düşürür. Ayrıca, ana anti-inflamatuar sitokin olan IL-10, IL-23 ekspresyonunu azalan regüle etme yeteneğine sahiptir (84, 88-93).

IL-23, bağışıklık yanıtının doğal ve edinsel kollarını birleştirmede önemli bir sitokindir (94). Patojenik/antijenik bir karşılaşmanın erken yanıtında üretilir ve erken lokal bağışıklık tepkilerini yönlendirmek için esastır (95). Ayrıca, NK hücrelerinin aktivasyonunda, T hücrelerinin proliferasyonunun artırılmasında ve antikör üretiminin düzenlenmesindeki önemi de gösterilmiştir (96). IL-23 ayrıca, örneğin Th1 yanıtlarında ve hücre aracılığıyla bağışıklıkta intrasellüler patojenlere karşı önemli olan pro-inflamatuar sitokinlerin, örneğin IFN- γ 'nın düzenlenmesini sağlar (94). IL-23, B hücrelerinin proliferasyonunu veya izotip sınıf değişimini indüklememektedir (96). Bu nedenle, bu durum, IL-23'ün T hücre bağımlı humoral bağışıklık yanıtlarını mediatör etmedeki önemini gösterebilir (97).

2.2.11. Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α)

TNF- α , çeşitli hücre tipleri üzerinde pleiotropik etkileri olan bir sitokindir. İnflamatuar yanıtların ana düzenleyicisi olarak tanımlanmış olup, bazı inflammatuar ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde yer aldığı bilinmektedir (98). Yapısal olarak, TNF- α , esas olarak aktive edilmiş makrofajlar, T-lenfositler ve NK hücreler tarafından üretilen, 157 amino asitten oluşan bir homotrimer proteindir (99). İşlevsel olarak, diğer sitokinler ve kemokinler de dahil olmak üzere çeşitli inflammatuar molekülleri tetiklediği bilinmektedir. Fizyolojik olarak, TNF- α , normal bir bağışıklık yanıtı için kritik bir bileşendir. TNF- α , bağışıklık sistemini düzenlemek için aktive edebilir; ancak, uygunsuz veya aşırı TNF- α üretimi zararlı olabilir ve hastalığa yol açabilir. RA (100), inflammatuar bağırsak hastalığı (101), psöriatik artrit (PSA), psoriasis (PS)(102) ve enfeksiyöz olmayan üveit (NIU), TNF- α 'nın anormal salgılanmasıyla tetiklenir; dolayısıyla, TNF- α patolojik gelişimde anahtar bir faktör olarak sınıflandırılabilir. TNF- α inhibitörleri başarıyla geliştirilmiş ve CD ve RA gibi otoimmün hastalıkların klinik tedavisinde uygulanmıştır (103, 104). Fakat, Otoimmün hastalığı olan hastalarda kalp yetmezliğinin kötüleşmesi ve

tüberküloz gelişme riskinin artması ile lenfoma riski, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde gözlemlenmektedir (105, 106). Bu nedenle, tedaviye başlamadan önce tüm bireylerin bu durumlar için taranması ve uygun olan kişilere tedavi verilmesi gerekmektedir.

TNF- α 'nin başlıca etkileri şu şekilde olmaktadır: T ve B lenfositlerin, fibroblastların ve mezenşimal hücrelerin çoğalmasına sebep olur. Nötrofil infiltrasyonu ve makrofajların aktivasyonuna sebep olur. IL-1, IL-6, IL-8 ve akut faz proteinlerinin sentezini artırır. Sitotoksik etkiye sahiptir ve apoptozu tetikler. IL-1 ile beraber ateş cevabına sebep olur ve septik ve endotoksik şokta önemli role sahiptir. Sepsis durumunda çok yüksek miktarda TNF- α üretilir ve dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) meydana gelmesine sebep olur (6, 25).

2.2.12. İnterferon- γ (IFN- γ)

İnterferonları α , β ve γ olarak 3 gruba sınıflandırabiliriz. IFN- γ , 21-24 kDa ağırlığında olan bir glikoproteindir ve α , β 'ye göre immün modülatör etkisi daha fazladır ancak antiviral etkisi daha azdır (5, 29, 51)

IFN- γ , ağırlıklı olarak T hücreleri ve NK hücreler tarafından salgılanır (107). Doğal bağışıklık yanıtları sırasında, IFN- γ , NK hücreleri yanı sıra makrofajlar ve DC tarafından üretilir. Edinsel bağışıklıkta ise özellikle CD4⁺ Th1 alt grubu tarafından üretilir (108-110).

IFN- γ 'nin sistemik otoimmüniteye nasıl yol açtığı mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak, otoimmün hastalıkların gelişimi ve şiddetinde önemli bir rol oynadığına dair çok sayıda çalışma mevcuttur. SLE, SS, polimiyozit (PM), dermatomiyozit (DM), sistemik skleroz (Ssc), RA, MS ve OİH hastaların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı savunulmaktadır (98, 111-113) .

IFN- γ , organ hasarına da önemli bir katkıda bulunur; bu, IFN- γ salgılayan T hücrelerinin infiltrasyonu sonucu makrofaj aktivasyonu, inflamasyon ve doku hasarına yol açar (114).

IFN- γ 'nın başlıca etkileri bu şekildedir: Th1 ve NK hücrelerini aktive eder, ama Th2 hücrelerini inhibe eder. MHC I ve II ekspresyonunu artırır. Damar endotel hücrelerini ve mononükleer fagositlerin aktivatörüdür. IL-4'ü kısmen antagonize eder. Antiviral ve kaşektik etkiye sahiptir (4, 5).

2.2.13. Transforming growth factor beta (TGF- β)

TGF- β 1, ailenin prototip üyesidir ve proliferasyonu, diferansiyasyonu, migrasyonu ve apoptozu düzenler. TGF- β 1 genellikle dokuların makrofaj aktivasyonunu inhibe etme eğilimindedir, özellikle de indüklenmiş nitrik oksit sentazın (iNOS) ekspresyonunu kısmen engeller. Bunun yanı sıra, TGF- β 1 dendritik hücre olgunlaşmasını ve MHC sınıf II'nin artışını engeller. Bağışıklık yanıtının erken aşamasında hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırmada ve proinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu ile inflamasyonu teşvik eder. Diğer yandan, inflamatuvar süreci baskılama ve yara iyileşmesi için esansiyel olan ekstraselüler matriks üretimini teşvik etme açısından eşit derecede önemlidir; yani etkisi hedef hücrenin durumu ve diğer sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin varlığı tarafından şekillenir (115) .

TGF- β 1 knock-out farelerin incelenmesi, TGF- β 1'in immün hücre homeostazı ve otoimmün hastalıkların gelişimi üzerindeki merkezi rolünün anlaşılmasına önemli katkılarda bulunmuştur. TGF- β 1 geninin null mutasyonları, hızla ölümcül olan ciddi bir çoklu organ disfonksiyonuna yol açar, bu da sitokinin kritik anti-inflamatuvar rolünü vurgular. Ayrıca, TGF- β 1, embriyonik gelişim, tümör oluşumu, fibrozis, yara iyileşmesi, hematopoiezi ve immün düzenleme gibi çeşitli biyolojik süreçlerde yer alan çok işlevli bir büyüme faktörüdür (115, 116).

2.2.14. Toll Like Reseptörler (TLR)

TLR'ler, özellikle hücre dışı matriksin patojenleri tanımasında ve immün yanıtların düzenlenmesinde kritik bir role sahip olan, evrimsel olarak korunmuş patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) ailesine aittir. TLR'ler, patojenlerin korunmuş yapısal özelliklerini veya konakçı içinde patojenlerin neden olduğu hasarı tanıyan korunmuş patojenle ilişkili moleküler kalıpları (PAMP'ler) algılama yetenekleri sayesinde, patojenlere karşı ilk savunma hattında, doğuştan gelen bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynar.

TLR'lerin doğuştan gelen bağışıklık yanıtını aktive etmedeki temel rolünün yanı sıra, antijen sunan hücrelerin (APC) olgunlaşmasında da hayati bir rol oynarlar, bu da edinsel bağışıklığın aktivasyonuna katkıda bulunabilir.

Enfeksiyöz bir organizmaya bağlanarak tetiklendiğinde, TLR'ler savunma tepkilerinin oluşturulmasını aracılık ederler. Bu tepkiler transkripsiyonel aktivasyonu, sitokinlerin sentezini ve salgılanmasını, inflamasyonu teşvik etmek için makrofajların, nötrofillerin, NK hücrelerin ve DC'lerin enfeksiyon bölgesine göç etmelerine sebep olur.

TLR'lerin, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), alkolik karaciğer hastalığı (ALD), viral hepatit, OİH, hepatik fibroz ve hepatosellüler kanser de dahil olmak üzere birçok karaciğer hastalığının patogeneğinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığına dair artan kanıtlar bulunmaktadır (117-119).

Karaciğer hastalıklarının siroza ilerlemesi uzun yıllar sürdüğü için, karaciğer hastalığının ilerlemesini hafifçe dahi olsa engelleyen müdahaleler, karaciğer hastalığından kaynaklanan morbidite ve mortalite üzerinde büyük bir etkiye sahip olabilir. TLR sinyalinin inhibisyonu, karaciğer hastalığının ilerlemesi üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olabilir (ref).

Patojenler (HBV ve HCV), enfeksiyonun kronikleşmesini kolaylaştırmak için karaciğer TLR sisteminin inhibisyonu için stratejiler geliştirmişlerdir. Farklı hayvan modelleri ve devam eden Faz III klinik denemeler, Lipid A ve TAK-242 gibi küçük

molekül ajanların kullanımını içermekte olup, TLR-4 antagonistlerinin septik hastaların yönetiminde olumlu faydalar göstermiştir. Ayrıca, diğer endikasyonlar için zaten kullanılan simvastatin ve hidoksiklorokin gibi oral ilaçlarla, TLR ekspresyonunu veya aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (120-122).

Tablo 1. Sitokinlerin Özellikleri

Sitokin	Kaynaklandığı Hücre	Hedef Hücre	Başlıca Etkileri
IL-1	Monositler, Makrofajlar, Fibroblastlar, Epitelial hücreler, Endotelial hücreler, Astrositler	T hücreleri, B hücreler, Endotelial hücreler, Hipotalamus, Karaciğer	Kostimulatör molekül, Aktivasyon (inflamasyon), Ateş, Akut faz reaktanları
IL-2	T hücreleri, NK hücreleri	T hücreleri, B hücreler, Monositler	Büyüme, Aktivasyon
IL-4	T hücreleri	Naif T hücreler, T hücreler, B hücreler	TH2 hücrelere dönüşüm, Büyüme, Aktivasyon ve büyüme; Ig E'ye izotip çevrimi
IL-6	T hücreleri, Makrofajlar, Fibroblastlar	T hücreleri, B hücreler, Matür B hücreler, Karaciğer	Kostimulatör molekül, Büyüme (insanda), Akut faz reaktanları
IL-8	Makrofajlar, Epitelial hücreler, Plateletler	Nötrofiller	Aktivasyon ve kemotaksis
IL-10	T hücreleri (TH2)	Makrofajlar, T hücreler	ASH aktivitesinin inhibisyonu, Sitokin üretiminin inhibisyonu
IL-12	Makrofajlar, NK hücreleri	Naif T hücreler	TH1 hücreye dönüşüm
IL-13	Th2 hücreleri, Doğal öldürücü T hücreleri, Doğal bağışıklık hücreleri	B hücreler, Makrofajlar	Kronik barsak inflamasyonu, fibroz, alerjik reaksiyonlar
IL-17	Aktive T hücreleri	Fibroblastlar, Endotelial hücreler, Makrofajlar	İnflamatuvar sitokin üretimi, nötrofil kemotaksisi

IL-23	Aktive makrofajlar, Dendritik hücreler	Th17 hücreleri	Th17 hücre farklılaşması ve proliferasyonu, IL-17 ve IL-22 üretimi
IFN-γ	T hücreleri, NK hücreleri	Monositler, Endotelial hücreler	Aktivasyon, MHC sınıf I ve II artışı
TGF-β	T hücreleri, Makrofajlar	T hücreleri, Makrofajlar	İnhibisyon aktivasyon ve büyüme, Aktivasyon inhibisyonu
GM-CSF	T hücreleri, Makrofajlar, Endotelial hücreler, Fibroblastlar	Kemik iliği öncülleri	Büyüme ve farklılaşma
TNF-alpha	Makrofajlar, T hücreleri	IL-1 ile benzer	IL-1 ile benzer
TLR4	Makrofajlar, Dendritik hücreler, Nötrofiller, Monositler	Doğal bağışıklık hücreleri (Makrofajlar, Dendritik hücreler, Nötrofiller, Monositler)	LPS tanıma, inflamasyon, sitokin üretimi
TLR6	Makrofajlar, Dendritik hücreler, Nötrofiller, Monositler, Mast hücreleri	Doğal bağışıklık hücreleri (Makrofajlar, Dendritik hücreler, Nötrofiller, Monositler, Mast hücreleri)	Diacyl lipopeptid tanıma, inflamasyon

Şekil 7: Doğal ve edinilmiş bağışıklığı birbirine bağlayan sitokin ağı Dendritik, makrofaj, nötrofil ve doğal öldürücü hücrelerin salgıladığı sitokinler gösterilmektedir (124).

2.3. Otoinflamatuvar Ve Otoimmün Hastalıklar

Otoinflamatuvar hastalıklar, self inflamatuvar bozukluklar olarak tanımlanan, yeni ve büyümekte olan bir hastalık grubudur. Otoinflamatuvar hastalıkların en tipik örneği FMF'dir. Bu hastalık grubu sadece epizodik ateş sendromu olarak değil, aynı zamanda doğal bağışıklık sistemini içeren akut inflamasyon dönemleri ile tanımlanır (7). Hastalığa yatkın organlarda, otoreaktif T hücreleri ve otoantikör seviyelerinde artış olmadan gözlenen inflamatuvar ataklarla karakterize edilirler (125).

Otoimmün hastalıklar ise multifaktöriyel etiyolojinin karmaşık bir mekanizması ile otoreaktif T ve B hücrelerinin aktive olması ve kendi dokularına karşı immün tolerans kaybına neden olan edinsel bağışıklık sisteminin bozulması olarak tanımlanır. Bu grup hastalıkların başlangıcından hem genetik hem de çevresel faktörler sorumludur (126).

Otoinflamatuvar ve otoimmün hastalıklar, doğal ve edinsel bağışıklıktaki anormal değişikliklerden kaynaklanır ve organa özgü hasar veren primer inflamatuvar bir durumla sonuçlanabilir. Her iki grup bozukluklar, etkilenen organlar ve klinik fenotipler açısından heterojendir. Diğer yandan, etiyoloji ve fenotipik değişikliklerdeki farklılıklara rağmen genetik temel, klinik görünüm ve tedavi sonuçları açısından benzerlik göstermektedirler. Başlatıcı mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır; ancak otoimmün ve otoinflamatuvar bozukluklar arasındaki benzerliklerin bulunması, aralarında değişken derecelerde etkileşim olduğunu düşündürmektedir (127).

Otoinflamatuvar ve otoimmün bozukluklar iki gruba ayrılır, ancak benzerlikler göz önüne alındığında bu hastalıkların aslında aynı spektrumda olduğu varsayılabilir. Diğer bir deyişle, bir ucunda saf otoimmün hastalıkları ve diğer ucunda saf otoinflamatuvar hastalıkları içeren geniş bir immün patolojik ve klinik spektruma sahip tek bir hastalık grubu olarak düşünülebilir. Otoinflamatuvar hastalıklar, gözlemlenebilir enfeksiyöz

tetikleyici veya travma olmaksızın kendi kendine dokuya yönelik inflamasyon içermesinden dolayı otoimmün hastalıklarla ortak özellikleri paylaşır. Otoinflamatuvar hastalıklarda doğal bağışıklık doğrudan doku inflamasyonuna neden olurken, otoimmün hastalıkta doğal bağışıklık sistemi, edinsel bağışıklık sistemini tetikler ve sonrasında inflamasyon tetiklenir (128).

2.3.1. Otoinflamatuvar Hastalıklar

Otoinflamatuvar hastalıklar, tekrarlayan ateşle ilişkili olan ve sık inflamatuvar ataklarla karakterize heterojen semptomlar içeren monogenik ve multifaktöriyel (poligenik) bir hastalık grubudur. Otoinflamatuvar hastalıklarda ön plandaki patogenetik mekanizma, inflamazomların (doğal bağışıklık ve inflamatuvar yanıt ile ilişki multiprotein sitoplazmik kompleksler) doğrudan veya dolaylı olarak disregülasyonudur. İnflamazomların ana bileşenleri, pattern tanıma reseptörleri sınıfından olan nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptör (NLR) ailesinin üyeleridir. Patojenler veya hasarlı hücreler tarafından iletilen uyaranlar gibi proinflamatuvar tetikleyiciler tarafından aktive edildiğinde, NLR'ler patojenle ilişkili veya hasarla ilişkili moleküler paternleri (DAMP ve PAMP) tespit eder ve inflamazom yapımına başlarlar. İnflamazomlar, kaspazların proteolitik aktivasyonunu ve ardından pro-IL-1'in inflamasyon ve doğal bağışıklığın anahtar molekülü olan aktif IL-1'e dönüşmesini indükler (129-131). Otoinflamatuvar hastalıkların en önemlilerinden ve sık görülenlerinden (prevalansı % 0.3-1) birisi ÇH'dır. Bu hastalığının patogenezinde doğal bağışıklık yanıtının bozulmasının da hastalık patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (132, 133).

2.3.2. Otoimmün Hastalıklar

Otoimmünite terimi, tek başına edinsel bağışıklığın bozulmasıyla ilişkili bir kavram olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Bu nedenle, otoimmün hastalıkların patogenezinde özellikle B ve T hücreleri aracılık etmektedir. T Helper hücrelerinin CD40 aracılığı ile B lenfositlerinin spesifik antijenleri tanıması, otoantijenlere karşı inflamatuvar yanıt başlatılması ve B hücre-aracılı otoantikör üretiminin aktive edilmesi söz

konusudur(134). Otoantikörlerin varlığı, otoimmün hastalıkların ortak bir karakteridir. Çok sayıda serum antikoru, hücrenin fonksiyonel yapılarına (nükleik asitler, nükleer moleküller, reseptörler veya diğer fonksiyonel hücre bileşenleri) karşı yönlendirilir. Otoantikörler, hastalıkların tanı ve sınıflandırmasında kullanılmalarının yanı sıra aynı zamanda doku hasarına da yol açabilirler. Otoantikörlerin en iyi bilinen patojenik etkilerinden biri, hücre yüzeyine bağlanma ve lizis yoluyla hücrelerin sitotoksik hasara uğramasıdır. Bu süreçte kompleman aktivasyonu ve/veya antikora bağımlı hücre-aracılı sitotoksiste, yıkımın en yaygın yollarıdır (135). Otoimmün hastalıklar hala edinsel bağışıklık aracılı bozukluklar olarak kabul edilse de, doğal bağışıklık ve inflamazomların da dahil edildiğine dair artan bulgular vardır (136).

Otoimmün hastalıkların nadir olduğu ifade edilse de epidemiyolojik çalışmalarla, popülasyonun %3-5'ini etkilediği ve bunlar arasında otoimmün tiroid hastalığı ve tip 1 diyabetin en yaygın olduğu gösterilmektedir. Buna rağmen, primer bilier/sklerozan kolanjit (PBK/PSK) gibi organa özgü veya SLE gibi çoklu organları içeren yaklaşık 100 ayrı otoimmün hastalık vardır (137). Otoimmün hastalığı olanların, %25-50 yeni bir otoimmün hastalık geliştirme şansı vardır. Otoimmün hastalıkların en önemlilerinden birisi, OİH'dir (138).

2.3.3. Otoinflamatuvar ve Otoimmün Hastalıklar Arasındaki Farklılıkları

Bazı otoinflamatuvar bozukluklar, otoimmün hastalıklara benzese de ve bazen otoimmünitenin başlangıcı olarak hizmet etse de altta yatan patogeneze çoğunlukla farklıdır. Otoinflamatuvar hastalıklar, ekzojen veya endojen faktörler tarafından tetiklenen doğal bağışıklık bozukluklarıdır ve sistemik inflamasyon ile gözlemlenir. Buna karşılık, otoimmün hastalıklar, hem doğal hem de edinsel bağışıklık hücrelerinin aracılık ettiği kendi dokularına verilen anormal yanıtlardan meydana gelmektedir ve otoreaktif T ve B hücrelerinin aktivasyonu sonucu olarak immün toleransın bozulmasına neden olarak kronik inflamasyona ve lokal doku yıkımına yol açar. Otoinflamatuvar ve otoimmün hastalıklar arasındaki farklar, **Tablo 1**'de gösterilmektedir(9).

Tablo 2. Otoinflamatuvar ve Otoimmün Hastalıklar Arasındaki Farklar

Kategoriler	Otoinflamatuvar Hastalıklar	Otoimmün Hastalıklar
Hastalığın gelişimini belirleyen faktörler	Doğal bağışıklık aktivasyonu, Hastalığa yatkın bölgelerdeki lokal doku faktörleri (doku travması, nekroz, mekanik faktörler, bakteriler)	Edinsel bağışıklık aktivasyonu, Primer lenfoid dokularda (kemik iliği, timus, lenf düğümleri ve dalak) gerçekleşen olaylar
Hastalığın patogeneziyle ilgili temel teori	Hastalık lokalizasyonunu belirleyen doku-spesifik faktörler içeren çeşitli tehlike sinyalleri	İmmünolojik toleransın bozulması ve bozulmuş kendini yabancıdan ayırt etme yeteneği (self-non-self discrimination)
İmmünolojik temel	Genetik olarak; pro-inflamatuvar sitokin sinyalizasyonu, bakteriyel algılama, lokal doku anormalliklerini de içeren doğal bağışıklık fonksiyonunun bozulması ile ilişkili	Edinsel bağışıklığın bozulması hastalık ifadesinin temelindedir. RA sinovyumunun infiltrasyonu, makrofaj benzeri sinoviyositlerin ve fibroblast benzeri sinoviyositlerin proliferasyonu ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu (B ve T lenfositler, dentritik hücreler)
Hücresel temel	Nötrofil, makrofaj gibi doğal bağışıklığın hücreleri veya bağışıklık sistemi ile ilişkili olmayan hücreler tarafından belirlenir.	Antijen bağımsız indüksiyon fazı, başlıca B ve T hücrelerini etkileyen faktörler tarafından belirlenir.
Genetik temel	Sitokin ve bakteriyel yolların TLR aracılığıyla algılanması, doğal immun yanıt disregülasyonu, KIR ve TLR polimorfizmi	MHC II ilişkisi ve edinsel yanıt genleri
Tedavi	Anti-sitokin (IL-1, IL-6, TNF) tedaviler	Klasik immünosüpresifler, steroidler, DMARD

Sınıflandırma	Monogenik; örneğin hereditör periyodik ateş Poligenik; örneğin Crohn hastalığı, spondiloartropatiler	Monogenik; örneğin İPEX Sendromu (İmmün disregülasyon, Poliendokrinopati, Enteropati, X'e bağlı geçen) Poligenik; örneğin RA ve SLE
----------------------	---	--

Özetle, otoimmün hastalıklar, edinsel immün sistemle ilişkili olup, T hücrelerini ve otoantikorları içerirken, otoinflamatuar hastalıklar doğal immün sistem ile ilişkilidir. Ancak, esasında farklı mekanizmalarla tetiklenerek, çeşitli yollar üzerinden gelişse de tüm bu hastalıkların, bağışıklık sisteminin oluşturduğu patolojik bir cevap nedeniyle dokularda öz yıkım gerçekleşir. Diğer bir deyişle, patogeneizde otoinflamatuar ve otoimmün mekanizmalar iç içe geçmiştir. Bu nedenle bağışıklık sistemindeki bozulmalara yatkın bireylerde farklı otoinflamatuar ve otoimmün hastalıklar bir arada veya ardışık olarak gelişebilir.

2.4. Çölyak Hastalığı (ÇH)

2.4.1. Tarihçesi

ÇH, ülkemizde ve dünyada yaygın olarak görülen bir malabsorpsiyon sendromudur (139, 140). Milattan önce 85-138 yılları arasında Kapadokyalı Areteus tarafından ÇH ilk tanımı yapılmış. ÇH, Yunanca "Koelia" (Abdomen) kelimesinden türetilmiş ve "Koilakos" yani "hasta abdomen" olarak isimlendirilmiş olup, 1856'da Francis Adams tarafından "Coeliacs" ya da "Celiacs" şeklinde İngilizceye çevrilmiştir. 1900 yıllarında muz diyeti gibi farklı tedaviler denenmiş ama istenilen sonuç alınmamıştı; ancak 2. Dünya Savaşı'nda Hollanda'da ekmek kıtlığı sırasında hasta çocukların semptomlarının iyileştiğini ve yapılan ekmek yardımı sonrası semptomların arttığını fark eden Alman pediatrist Wim Dicke, ÇH'nın buğday ile ilişkili olduğunu tanımlayan ilk isim oldu (141).

2.4.2. Tanım ve epidemiyoloji

1957 yıllarında erişkin çölyak hastalarında alınan ince barsak biyopsilerinde, mukozalarda hasarlar tespit edildi ve “düzleşmiş mukoza” olarak tanımlandı. Düzleşmiş mukoza, çölyak tanısını teyit etmede çığır açan bir gelişme oldu(142).

1970 ve 2000 yılları arasında, buğday proteinlerinin glütenin ve gliadin alt tipleri, HLA genlerin keşfi ile hem klinik hem de tanısal yaklaşımda önemli bir gelişmeydi. 1997 yılında doku transglutaminaz (TTG) keşfedildi ve artık ÇH bir besin alerjisi veya hipersensitivitesinden kaynaklı bir otoinflamatuvar hastalık olarak kabul edilmeye başladı (141).

Günümüzde ÇH, arpa, buğday ve çavdardaki glütene karşı kalıcı immün aracılı multisistemik tutulum gösteren bir yanıt olarak tanımlanmaktadır ve küresel prevalansı %1 olmasına rağmen, teşhis edilenden daha fazla teşhis edilmemiş ÇH olduğuna inanılmaktadır. En son 2023'te güncellenen ABD kılavuzları bunun değiştiğini belirtse de, ülkemizde konuyla ilgili herhangi bir çalışma yoktur ve ÇH olan birçok kişiye hala teşhis konulamamaktadır (140).

2.4.3. Etiyoloji ve Patogenez

ÇH olan kişilerin birinci derece akrabalarında %10 ila %20, tek yumurta ikizlerinin %70'inde ve benzer insan lökosit antijeni (Human leukocyte Antigen - HLA) histolojisine sahip kardeşlerin %30'unda görülür (143).

HLA sınıf II D grubu ile ÇH arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir. HLA DQ2 popülasyonda, % 20-30 sıklıkta saptanırken, çölyak hastalarında % 86-100 sıklığa ulaşmaktadır. ÇH olan hastaların yaklaşık % 95'inde DQ2 ve %5'inde DQ8 pozitifliği vardır. Bununla birlikte, HLA uyumlu ÇH olan kardeşlerin %30-50'sinde HLA dışı faktörlerin de KIR ve TLR polimorfizmi gibi genetik yatkınlığa katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (144).

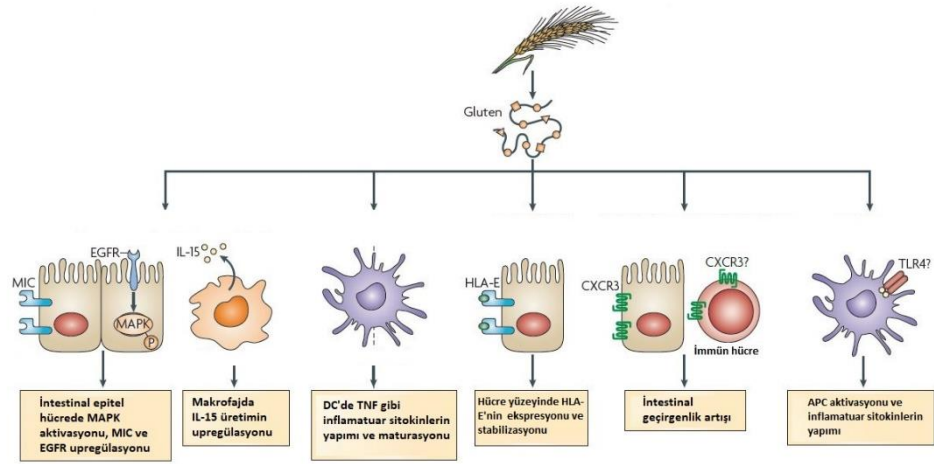
ÇH'nda HLA bağımlı ve HLA bağımsız immünolojik yanıt oluşmaktadır. HLA sınıf II molekülleri CD4 hücrelerine peptid sunmaktadır. HLA bağımsız ise doğuştan gelen intraepitelyal CD8 hücreler rol almaktadır. Glüten alınımından sonra, intestinal epitelde IL-15'in aşırı üretilmesi üzere immün yanıt indüklenir ve CD8 hücreler epitel hücrelerine saldırarak hasar oluşturur. Epitel hücrelerde hücresel stres ve hasar oluşur ve bunun sonucunda intraepitelyal lenfositler pro-inflamatuvar T hücreler ile beraber villöz atrofiye sebep olurlar (145, 146).

Literatürde, ELISA yöntemi kullanılarak IL-2, IL-18, IFN- γ ve TNF- α serum sitokin seviyelerinin ÇH hastalarında arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) kullanılarak, aktif ÇH'li hastalarda IFN- γ , IL-2, IL-4 ve IL-10'un yüksek ekspresyonu bildirilmiştir (147).

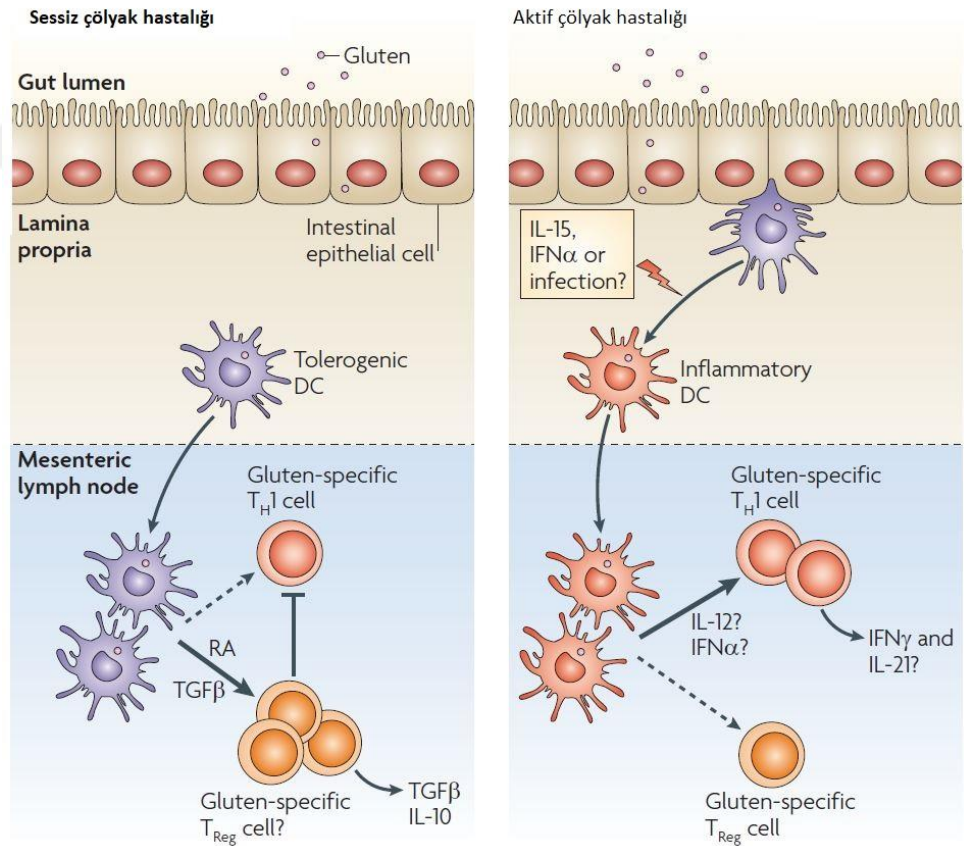
Glüten, sindirim sistemine alınmasıyla, CD4+ T hücrelerinde Th1/Th0 tipi bir inflamatuvar cevap başlatır. Endotelial ve plazma hücrelerinden TTG salgılanır. Glutamin artıkları, glutamine deamide olur ve deamidasyon sonucu negatif yük oluşturur. HLA DQ2 ve DQ8'e bağlanmalarını arttırarak, T hücrelerinin uyarıcı kapasitesini arttırmış olur. Bu immün yanıt, villöz atrofiye, kript hipertrofisine ve özellikle ince bağırsağın proksimal yüzey epitelinde hasara neden olur (148).

Bağırsak biyopsisi yaklaşık 70 yıldır ÇH'nı teşhis etmek için kullanılmaktadır. 1950'lerin sonlarından bu yana, ince bağırsak biyopsisi, ÇH teşhisini doğrulamak için kullanılan birincil test olmuştur (149, 150).

Pozitif bir serolojik test tanıyı destekler, ancak hiçbir test ÇH'na %100 özgül değildir ve tanısal doğruluk laboratuvarlar arasında büyük farklılıklar gösterir. Laboratuvar duyarlılığı %63 ile %93 arasında, özgüllüğü ise %96 ile %100 arasında değişmektedir ve bu sebeple yetişkinler için serolojik ve histolojik veriler ile tanısal yaklaşım yapılmalıdır (151).



Şekil 8: Çölyak hastalığında glutenin tetiklediği immün mekanizmalar (152).



Şekil 9: Çölyak hastalığında inflamasyonun olduğu ve olmadığı dönemlerdeki immün mekanizmalar (152).

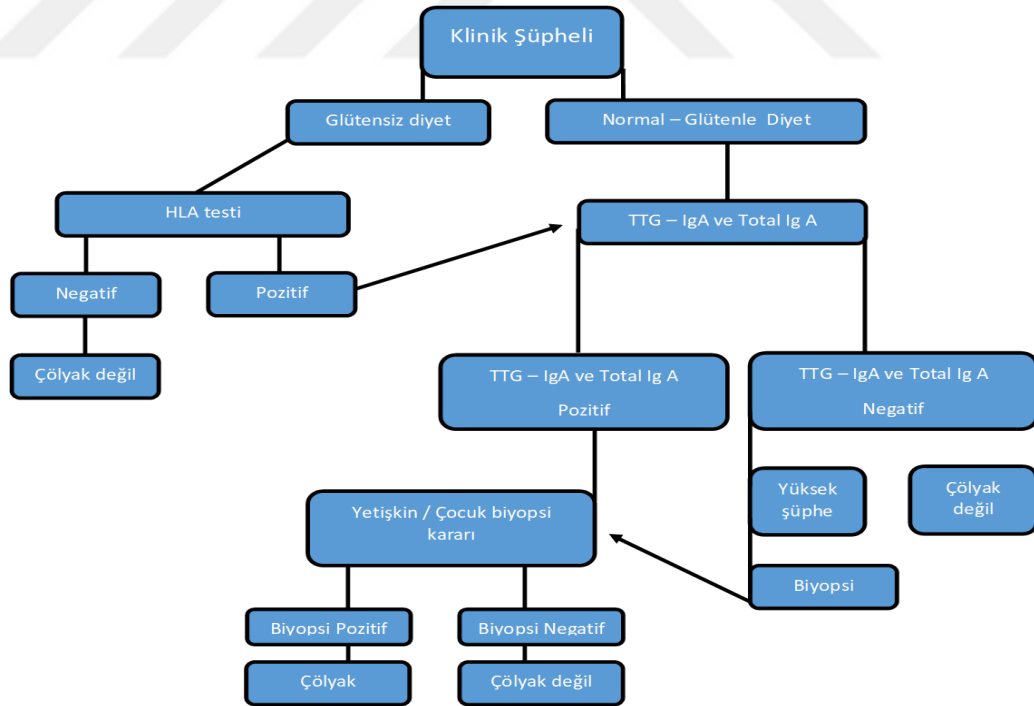
Tablo 3'de gösterilen belirtiler veya semptomlara sahip olan bireylerde ÇH testi yapılması düşünülmelidir.

Tablo 3. Çölyak Hastalığında yaygın ve yaygın olmayan belirtiler veya semptomlar

Yaygın	Yaygın olmayan
Semptomatik malabsorpsiyon	Pulmoner hemosiderozis
Kilo kaybı ile diyare	İnfertilite
Karın ağrılı ya da ağrısız diyare	Dispepsi
Demir eksikliği	Amenore
Metabolik kemik hastalığı	Kronik halsizlik
Erken osteoporoz	Epilepsi ataksi
Açıklanamayan kilo kaybı	Kronik karın ağrısı
Anormal karaciğer enzimleri	Kabızlık
Dermetitis herpetiformis	Troid replasman tedavisi
Endoskopide villus atrofi	Baş ağrısı, migren, Beyin travması
Periferik nöropati	
Aftöz ülserler	
Büyüme geriliği	
İritabl bağırsak sendromu	
Diş renk değişikliği, mine kaybı	

Down veya Turner sendromu	
Tekrarlayan pankreatit	

ÇH için serolojik testler, hasta daha önce immünoglobulin A (IgA) eksikliği için test edilmediyse, normal diyet yani gluten tüketen bireylerde TTG-IgA ölçümünü ve aynı anda toplam IgA ölçümünü içermelidir. TTG-IgA düzeyi yüksek (üst sınırın 10 katı veya üzerinde olduğu durumlarda) olan bireylerde (referans değer 0-20 U/mL) , hastanın yetişkin veya çocuk olduğuna göre duodenal biyopsi kararı verilir. TTG-IgA düzeyi düşük olan bireylerde ÇH dışlanır; ancak ÇH riski %5'ten fazla ise serolojik sonuçlardan bağımsız biyopsi yapılmalıdır. Gluteniz diyet kullananlarda, HLA genetik testi yapılır, negatif ise ÇH dışlanır, pozitif ise gluten yüklemesi yapıp sonuca göre biyopsi yapıp yapılmayacağı karar verilir (Şekil 10) (140, 153).



HLA: İnsan lökosit antijen; TTG: Doku transglutaminaz; IgA: İmmünglobulin A

Şekil 10: ÇH tanı algoritması

ÇH, bağırsakları yamalı tarzda tutabilmektedir ve bu nedenle çoklu biyopsi önerilmektedir (140, 154).

2011 yılında, 132,352 ÇH tanısı olmayan kişiler üzerine yapılan çalışmada, 4'ten az biyopsi ile 4'ten fazla biyopsi alınması karşılaştırıldı ve tanı oranının (%1.8'e karşı %0.7, $P < 0.0001$) önemli şekilde arttırdığı görüldü. Bu verilere rağmen ÇH şüphesi üzerine biyopsi alınan hastaların sadece %39'unda 4'ten fazla biyopsi alındığı belirtilmiştir (137). 2011 ve 2012 yıllarında yapılan çalışmalarda, biyopsi örneklerine bulbus'un eklenmesinin, biyopsinin duyarlılığını %96'ya kadar arttırdığı ve ÇH şüphesi olanlardan en az 4 adet postbulbar duodenum ve 1 veya 2 örnek bulbustan alınması önerilmiştir (155, 156).

2.4.4. Tedavi

ÇH için tek etkili tedavi yöntemi, glütensiz diyetdir. Tanıdan sonra hemen ve mutlaka diyetisyen ile diyet düzenlenmeli ve diyetin takip edilmesi gerekir. 60 gün içinde glütensiz diyet ile hastaların %80'inde semptomlarında önemli ölçüde iyileşme görülmektedir (140).

Bağırsağın mukozal iyileşmesi ve histolojisinin normale dönmesi, hastanın tanı yaşına bağlıdır. Yetişkin dönemde tanı alan hastaların, tam iyileşmesi olmayabilir. Bağırsağın normal histoloji ve mukozal iyileşmenin olmaması, lenfoproliferatif malignite ve ölüm riskinin arttığı gösterilmiştir (157, 158).

2009 yılında, İsveç'te yapılan retrospektif kohort çalışmasında, 46,121 hasta analiz sonucu, histolojisi normal olan hastalarda lenfoma riskinin sıfır olduğu bulunmuştur (159). Yapılan çalışmalara göre, glütensiz diyet başlandıktan sonra yetişkinlerde mukozal iyileşmenin olması için ortalama 3 yıl, çocuklarda ise 2 yıl içinde %95 mukozal iyileşme gözlemlenmiştir (139, 142). Buna karşılık, en az 12 ay boyunca glütensiz diyetle rağmen bağırsak atrofi ve malabsorpsiyon semptomları ile devam eden refrakter ÇH vakaları gözlemlenmiştir, bu vakalar çölyak hastalıklarının <%1'ini oluşturmaktadır (140, 160).

ÇH prevalansı artmasına rağmen halen saptanmamış büyük bir kitlenin olduğu varsayılmaktadır. Toplu tarama için hangi semptomların veya laboratuvar anormalliklerinin değerlendirilmesi konusunda fikir birliğine varılamamaktadır. Birinci derece akrabalarında ÇH olanlar, ÇH için test edilmelidir, özellikle aile bireylerinde birden fazla ÇH tanısı almış kişilerin kapsamlı tarama önerilmektedir (140).

Sonuç olarak, ÇH erken teşhis ve ömür boyu glütensiz diyetle mükemmel prognoza sahip olabilirken, tam tersine, geç tanı ve uygunsuz diyetle kötü prognoz görülebilmektedir (143).

2.5. Primer biliyer kolanjit (PBK)

2.5.1. Tarihçesi

PBK, eski adıyla primer biliyer siroz (PBS) olarak bilinir. 1950’de PBS’nin klinik, laboratuvar ve patolojik özellikleri, Ahrens Jr, Payne ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (161). 1965 yılında Walker ve arkadaşları, PBS’nin otoantikorlar ile ilişkisini göstererek, PBS’nin otoimmün bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur (162). Teknolojinin gelişmesi ile birlikte PBS hastalarının siroz gelişmeden önce, tanı almaya başlanması, hastalığın ismi ile uyum oluşturmamış ve siroz teriminin hastalarda ciddi korku ve moral bozukluğu oluşturduğu fark edilmiştir. 2014 yılında Avrupa Karaciğer Çalışmaları Birliği (European Association for the Study of the Liver), 2015 yılında Amerikan Karaciğer Derneği (the American Association for the Study of Liver Diseases) ve Amerikan Gastroenteroloji Derneği (American Gastroenterological Association) tarafından hastalığın ismi primer biliyer kolanjit olarak değiştirilmiştir (163).

2.5.2. Tanım ve epidemiyoloji

PBK, karaciğerin küçük safra kanallarını etkileyen kronik, progresif bir karaciğer hastalığıdır. Hastalık, safra kanallarında yavaş yavaş gelişen inflamasyon (kolanjit) ve destrüksiyon ile karakterizedir. Zamanla, bu inflamasyon fibrozis ve siroza ilerleyerek

karaciğer fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. AMA pozitifliği vakaların %90'ında eşlik etmektedir. Türkiye'de geniş çaplı bir araştırma bulunmamaktadır, ancak İngiltere, İsveç gibi Kuzey Avrupa, ve Kuzey Amerika ülkelerinde daha sık görüldüğü söylenmektedir (164-166). Yıllar içinde prevelans ve insidansında artış gözlenmiş olmasına rağmen, bu artışın sebebi teknolojinin gelişmesi ile beraber erken asemptomatik dönemde tanınmaya başlanması mı yoksa gerçekten artış olduğu netlik kazanılmamıştır (167, 168). PBK hastalığı kadınlarda daha sık görülmektedir ve kadın/erkek oranı yaklaşık olarak 10/1 ile 6/1 arasında değişmektedir (165, 169, 170). Literatürdeki vakalar, 15 ila 93 yaş arası görülmekte olup, en sık 4. ve 5. dekatlarda görülmekte olduğu söylenmektedir (170-172).

2.5.3. Etiyoloji ve Patogenez

PBK'nin etiyoloji ve patogenezinde çalışmalar devam etmektedir ve aydınlatılmamış noktalar mevcut olmasına rağmen, genetik zemin ve çevresel faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir (173, 174).

2.5.4. Genetik Faktörler

PBK, ailesel geçişi olan bir hastalıktır. Birinci derece akrabada PBK hastalığının varlığı riski, %1-6 düzeyinde arttırmaktadır ve normal popülasyona göre 50-100 kat daha yüksek bulunmuştur, ancak belirgin bir kalıtım paterni gösterilememiştir (153, 156). Epidemiyolojik çalışmalarda, monozigot ikizlerde %63 uyum görülürken, dizigotik ikizlerde diğer kardeşlere göre anlamlı bir farklılık gösterilmemiştir (174, 175).

Genomik çalışmalar devam etmektedir ve PBK ile ilişkisi olabilecek bazı lokuslar saptanmıştır, ancak bunlar klinik uygulamaya daha girmemiştir. Örnek olarak, 2009 yılında Amerika ve Kanada'da 536 PBK ile 1536 kontrol grubunun genomik çalışmasında, HLA sınıf II, IL12A ve IL12RB2 lokuslarındaki nükleotid polimorfizminin PBK ile ilişkili olduğu saptanmıştır ve IL-12'nin patofizyolojide önemli rol oynayabileceğini öne sürülmüştür (176). SLE ve SS gibi otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülen SPIB, MMEL1, IRF5, TNPO3 lokuslarının PBK ile ilişkisinin

olabileceği düşündüren çalışmalar mevcuttur (177, 178). Yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) sonucunda HLA-DR8, HLA-DPB1 ve HLA DRB1*08 gibi HLA genlerinin, PBK gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (179, 180).

2.5.5. Çevresel faktörler

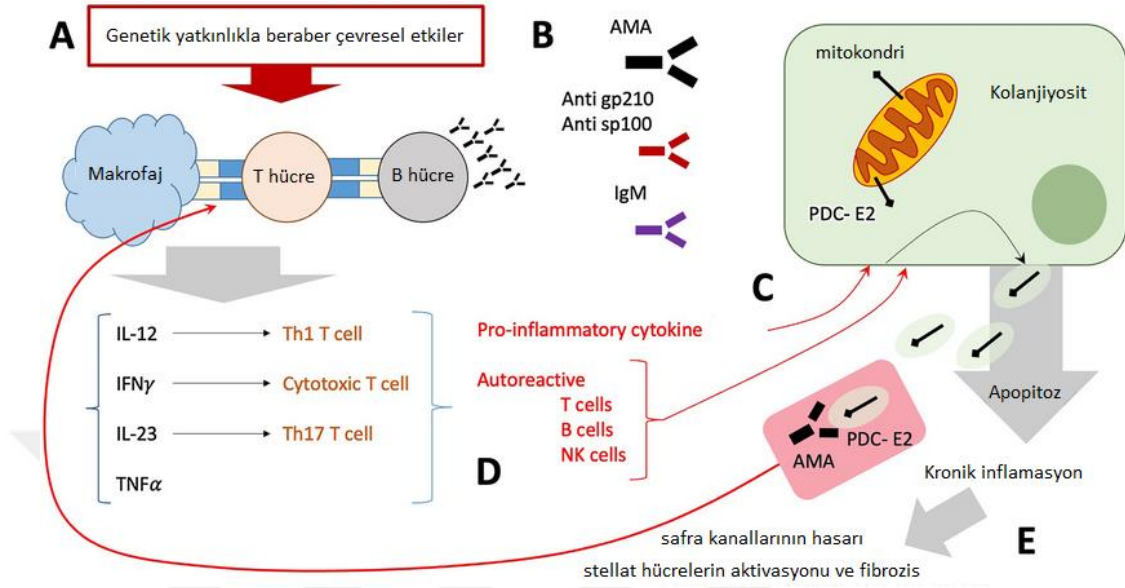
Spesifik bir enfeksiyon ajanı gösterilememiştir, ancak mitokondriyal endojen proteinler ile bazı bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitlerin moleküler benzerlikleri öne sürülerek patogeneizde rol alabilecekleri düşünülmüştür. *Escherichia coli*'nin mitokondriyal piruvat dehidrogenaz ile çapraz reaksiyon gösterdiği öne sürülmüştür (181, 182). Farklı çalışmalarda *Propionibacterium acnes*, *Chlamydia pneumoniae* ve *Novosphingobium aromaticivorans* da etken olabilecek enfeksiyöz ajanlar arasında yer almaktadır (183-185).

Sigara, kimyasal atıklar, radyasyon, saç boyası, ksenobiyotik ve hormon tedavisi gibi çeşitli risk faktörleri gösterilmiştir, ancak bazı etkenlerde görüş farklılıkları mevcuttur (186-188). Örnek olarak, ABD'de yapılan çalışmada PBK ile sigara arası güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmektedir, ancak Hollanda ve Fransa'da yapılan çalışmalarda sigara ile PBK arasında korelasyon saptanmamıştır (189, 190).

2.5.6. Patofizyoloji

Tam olarak anlaşılmamış olup HLA-DR8, HLA-DPB1 ve HLA DRB1*08 gibi HLA genlerinin genetik farklılığı ve enfeksiyon, sigara, kimyasal atıklar, radyasyon, saç boyası, ksenobiyotik ve hormon tedavisi gibi çevresel faktörlerin etkisi ile self-immüntoleransın bozulması sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir (191).

Küçük intralobüler safra yollarında T-lenfosit aracılı immün reaksiyon ile hasar ortaya çıkmaktadır. Bu immün aracılı hasarın devam etmesi sonucunda kronik kolestaz, inflamasyon ve buna bağlı olarak sekonder fibrozis oluşumuna sebep olmaktadır (191).



Şekil 11: PBK hastalığında genetik yatkınlıkla beraber çevresel etkilerin tetiklediği immün mekanizmalar.

2.5.7. Semptomlar

Erken evrede, genellikle asemptomatik seyretmektedir ve tesadüfen başka nedenlerle yapılan testlerde, karaciğer enzim değerlerinde bozukluk görülmesi sonucunda yapılan ileri incelemeler sayesinde tanı alırlar. Semptom tarif eden hastaların, %50'si yorgunluk, %33'ü ise kaşıntıdan bahsetmiştir. Hastalığın evresine göre portal hipertansiyon, ksantomlar, yağda çözünen vitamin malabsorpsiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, malignite gibi bulgular ve semptomlar görülebilmektedir (172, 192, 193).

2.5.8. Fizik Muayene

Hastalığın evresine göre geniş yelpazede değişkenlik gösterebilir. Erken evrede fizik muayene normal olabilirken, sarılık, ksantelazma, hepatosplenomegali, hiperpigmentasyon, palmar ve plantar eritem gibi ileri evre karaciğer hastalığının ekstrahepatik bulguları da gözükabilir (194-196). Kaşıntı en sık semptomlardan birisi

olduğundan bahsedilmiştir, hastaların %40'ının dermatoloji bölümüne başvurdıkları görülmüştür (197).

2.5.9. Tanı

Hastada ekstrahepatik biliyer obstrüksiyon ve karaciğere etki edebilecek diğer hastalıkların dışlanması gerekmektedir. Aşağıda yazılan 3 kriterden en az ikisinin sağlanması gerekmektedir (198) ;

- Alkalen fosfataz (ALP)'nin normal üst sınırın 1,5 kat üzerinde olması (yetişkin referans değerler: 30-120 U/L)
- AMA pozitifliğinin 1/40 ya da daha yüksek titrelerde olması
- Histopatolojik olarak PBK ile uyumlu görünüm olması

Biyopsi şart değildir, ancak evreleme, prognostik gösterge veya ayırıcı tanı için kullanılabilir. PBK hastalarının %5-10'u AMA negatif oldukları unutulmamalıdır (13).

2.5.10. Laboratuvar Testler

ALP'nin enziminin yüksekliği (yetişkin referans değerler: 30-120 U/L, Yeni Doğan Bebeklerin referans değerler: 90-273 U/L, Hamile kadınların referans değerleri: 100-400 U/L) tipiktir. Gama glutamil transferaz (GGT) yüksekliği, ALP ile beraber görülebilir. Aminotransferazlar (ALT ve AST), normal veya hafif yükselmiş olabilir (199, 200). İlerlemiş vakalarda hiperbilirubinemi, trombositopeni, hipoalbuminemi, hiperlipidemi görülebilir, bu durum sirozun geliştiğini ve kötü prognozu gösterir (199).

PBK hastalarının %95'inde AMA pozitifliği vardır, ancak tek başına tanı koymada yeterli değildir (201). Yapılan bir çalışmada sadece AMA pozitifliği olan altı hastadan birinde 5 yıl içinde PBK geliştiği görülmüştür (184). PBK hastalarında anti-nükleer antikor (ANA) %70'inde non-spesifik mevcuttur. PBK hastalarının %5-10'luk kısmı, AMA negatiftir, bu durumda diğer otoimmün antikorlar ANA, Anti-SSA/Ro, Anti-DsDNA, Anti-Sentromer, anti-tiroid otoantikorlarından yararlanılabilir (201-205).

2.5.11. Görüntüleme yöntemleri

Ultrasonografi (USG), günümüzde karaciğer değerlendirmesinde temel yöntemlerden biri haline gelmiştir. Ekstrahepatik tıkanıklık şüphesi durumunda ise başka görüntüleme tekniklerine başvurulması gerekmektedir. Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi (MRKP) safra yollarını görüntülemeye güvenilir ve başarılı bir görüntüleme tekniğidir. Şüphe giderilmediği takdirde, Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi (ERKP) ya da Endoskopik Ultrasonografi (EUS) gibi invazif yöntemlere başvurulabilir (204).

2020 yılında 283 PBK hastasının üzerinde yapılan bir çalışmada, hastaların %78,1'inde lenfadenopati, %36,7'sinde periportal hiperintensite, %27,6'sında ise periportal halo işareti olduğu ve ayrıca fibrozis derecesi ile dalak hacminde önemli bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (206).

2.5.12. Histopatoloji incelemesi

Tanıda her zaman gerekli olmasa da evreleme, prognoz ve ayırıcı tanıda kullanılmaktadır. Karakteristik olarak florid kanal lezyonu yani interlobular ve septal biliyer kanallarda kronik non-süpüratif inflamasyonu gözükmektedir. İnfiltrasyon bölgelerde çoğunlukla T lenfositler, az miktarda B lenfositler, makrofajlar ve eozinofillerden oluşur. İlerleyen vakalarda kollajen birikimi ve fibrozis gözükmektedir. Progresyonu değerlendirmek için Scheuer sistemi ve Ludwig sistemi yaygın şekilde kullanılmaktadır ancak European Association for the Study'nin (EASL) son rehberinde yeni evreleme sistemi önerilmektedir. Yeni sistemde fibrozis, safra kanalı kaybı ve orsein pozitif granüller üzerinden her başlık için 0'dan 3'e kadar skor verilir ve skorların toplamına göre evre 1'den 5'e kadar sınıflandırılma yapılır. Toplam skor sıfır ise Evre I yani minimal progresyon veya yok, bir ile üç arasında ise Evre II yani hafif progresyon, dört ile altı arasında ise Evre III yani orta derecede progresyon, yedi ile dokuz arasında ise Evre IV yani ileri progresyon olarak sınıflandırılmaktadır (207, 208). Yeni önerilen skorlama sistemi 10 yıllık prognozu öngörmeye göre daha üstün bulunmuştur (209). Her 3 sistem tablo şeklinde özetlenmiştir:

Tablo 4. Scheuer ve Ludwig Evreleme sistemleri

Evre	Scheuer Evreleme Sistemi	Ludwig Evreleme Sistemi
1	Florid kanal lezyonları (veya nonsüpüratif kolanjit)	Portal hepatit
2	Duktal proliferasyon	Periportal hepatit
3	Skarlaşma (veya köprüleşme fibrozisi)	Köprüleşme nekrozisi veya septal fibrozis
4	Siroz	Siroz

Tablo 5. Yeni Önerilen Evreleme Sistemi

A.Fibrozis	
Skor 0	Fibrozis yok ya da portal alana sınırlı
Skor 1	Portal, periportal ya da kısmi septal fibrozis
Skor 2	Farklı lobüler düzensizliklerin eşlik ettiği köprüleşme fibrozisi
Skor 3	Rejenerasyon nodülleri, yaygın fibrozis, karaciğer sirozu
B. safra kanalı kaybı	
Skor 0	Kanal kaybı yok
Skor 1	Portal alanların 1/3'ünden azında kanal kaybı
Skor 2	Portal alanların 1/3'ü ile 2/3'ü arasında kanal kaybı
Skor 3	Portal alanların 2/3'ünden fazlasında kanal kaybı
C. Orsein (+) Granül Birikimi	
Skor 0	Granül birikimi yok
Skor 1	Portal alanların 1/3'ünden azında, 1. zonda birkaç hücrede birikim
Skor 2	Portal alanların 1/3'ü ile 2/3'ü arasında, 1. zonda çoklu birikim
Skor 3	Portal alanların 2/3'ünden fazlasında, 1. zon hücrelerin çoğunda birikim

2.5.13. Ayırıcı tanı

Tüm kolestatik sebepler ayırıcı tanıya girmektedir. Bazıları basit bir anamnez ile dışlanabilirken, bazıları için histopatolojik inceleme yapılması gerekebilir. Ekstrahepatik nedenler arasında safra taşları, biliyer maligniteler, primer sklerozan kolanjit (PSK), solid organ tümörlerini örnek verilebilir. İntrahepatik nedenler arasında amiloidoz, sarkoidoz, PSK, viral hepatit, ilaç ile ilişkili kolestazlar, fungal ve bakteriyel enfeskyonlar gibi örnekler verilebilir (210, 211).

Sık olarak kullanılan antibiyotikler (Sülfametoksazol/trimetoprim ve amoksisilin/klavulanat) ve antiepileptik ilaçlar, antitüberküloz ilaçlar, kolestatik hepatite sebep olabilmektedir, bu nedenle hastanın öyküsü önemlidir ve mutlaka sorgulanması gerekmektedir (212, 213).

Non-invazif veya invazif görüntüleme yöntemleri kullanarak bir çok tanı dışlanabilir. Tüm laboratuvar ve radyolojik yöntemlere rağmen, tanıda hala kuşku mevcutsa, histopatolojik inceleme yapılması gerekir.

2.5.14. Overlap (Örtüşme) sendromu

PBK ile OİH'in iç içe geçtiği ve beraber aynı anda görüldüğü duruma örtüşme veya overlap sendromu denilir. Bu durumun prognozu daha kötü olduğu ve klasik PBK tedavisi yeterli olmadığı için ayırt edilmesi önemlidir. Overlap sendromu tanısı koymak için; her iki tanının da 3 kriterden en az 2'sinin karşılanması gerekmektedir. **Kriterler tablo 6'**da gösterilmektedir. (214, 215).

Tablo 6. Overlap sendrom tanı kriterleri:

Tanı	Kriter
PBK	• Normalin üst sınırının en az 1,5 katı olan alkalen fosfataz (ALP) • AMA veya diğer antikorların pozitif olması • Florid kanal lezyonlarını gösteren karaciğer biyopsisi
OİH	• ALT'nin normalin üst değerinin 5 katından fazla olması • IgG'nin normalin üst değerinin 2 katından fazla olması • Karaciğer biyopsisinde orta/ciddi arayüz (interface) hepatit bulgularının olması

2.5.15. Tedavi

2.5.15.1. Medikal tedavi

Geleneksel Çin tıbbından beri kullanılan Ursodeoksikolik Asit (UDKA) tedavinin ilk basamağıdır (216). UDKA'nın yaşam süresini iyileştirdiği, histolojik progresyonu yavaşlattığı ve sirotik komplikasyonları geciktirdiği ve pozitif etkisi olduğu gösterilmiş araştırmalar mevcuttur (217-219). Tek veya bölünmüş dozda 13-15 mg/kg/gün şeklinde ve ömür boyu kullanılması önerilmektedir (169, 208). Bir yıllık UDKA tedavisinin değerlendirmesi açısından, Rochester I ve II, Barcelona ve Ehime kriterleri gibi farklı değerlendirme metodlar geliştirilmiş. Güncel rehberde ve kapsamlı metod paris II kriterleridir. ALP normal üst seviyesinden ≥ 1.5 katı (normal aralık: 30-120 U/L) olması veya AST normal üst seviyesinden ≥ 1.5 katı (normal aralık: 5-35 IU/L) veya bilirubin >1 mg/dl (normal aralık: 0.2 - 1.2 mg/dL) olması kriterleri dikkate alınmaktadır (220, 221).

UDKA tedaviye yanıtızsız hastalara, 2016 yılında hem FDA hem Avrupa komisyonu tarafından onay almış, Farnesoid X reseptör (FXR) agonisti olan Obetikolik Asit (OKA) tedaviye kombine edilmektedir. OKA, safra asit sentezi, emilimi, taşınımı,

sekresyonu ve metabolizmasını düzenleyerek etki ettiği bilinmektedir. OKA'nın başlangıç dozu 5 mg/gün olarak önerilmektedir (14, 208, 222) .

Metotreksat, Kolşisin, Mikofenolat Mofetil, Siklosporin, Klorambusil gibi bir çok farklı ilaç üzerine çalışmalar yapılmış ancak istenilen sonuç elde edilmemiştir (198) .

2.5.15.2. Karaciğer Nakli

İleri karaciğer hasarı için mevcut tek tedavi seçeneği, karaciğer naklidir, ancak erken tanı ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte nakil sayıları %20 oranında azaldığı görülmüştür. 2002-2019 yılların arasında ABD'de yapılan bir çalışmada, karaciğer nakillerin %3-4'lük kısmı, PBK'ya ait olduğu gösterilmiştir (198, 223). Nakil sonra vakaların %20'sinde PBK tekrarlanabilir (224).

2.5.16. Prognoz

PBK'nın semptomları ortaya çıktıktan sonra nakilsiz sağkalım ortalaması, 7-10 yıldır. UDCA tedavisi alan ve 1 yıllık tedaviden sonra Paris II kriterlerini karşılayan hastaların yaşam beklentisi normal popülasyona benzer gözükmektedir (164, 225-227). 1983-1985 yıllarında Roll ve arkadaşları, Christensen ve arkadaşları tarafından PBK hastalara yönelik prognostik modeller geliştirilmiştir, her iki model de histolojik değerlendirme olduğundan dolayı günümüzde kullanımları sınırlı kalmıştır (225, 228). 2014 yılında yapılan bir çalışmada tedavi öncesi ve sonrası AST/trombosit oranını değerlendirerek PBK hastalığının prognoz ve tedaviye yanıt konusunda fikir verebileceği öne sürmüştür (229). Son yıllarda invaziv olmayan yöntemler ile çok merkezli ve yüksek hasta sayısı ile gerçekleşen, GLOBE ve UK-PBC skorlama sistemleri ön plana çıkmaktadır.

2.5.16.1. GLOBE skorlaması

2015 yılında, PBK hastaların nakilsiz sağkalım sürelerini tahmin etmek için 2488 hasta üzerinde yapılan bir çalışmanın verilerine göre GLOBE skorlaması oluşturulmuştur.

Skorlamada, 1 yıllık UDCA tedavisinden sonra albümin, ALP, total bilirubin ve trombosit sayıları göz önünde alınmıştır (230).

2.5.16.2. UK-PBC skorlaması

3165 hasta üzerinde yapılmış bu çalışmada; 1 yıllık UDKA tedavisi alan hastaların ALP, total bilirubin ve amiotransferazlar değerleri ile tedavi öncesi albümin ve trombosit sayıları skorlamanın değişkenleri olarak ele alınmıştır. Hastaların ölüm ve nakil riskini öngörmesi hedeflenmiştir (231).

2.5.17. Takip ve İzlem

PBK, kronik bir hastalıktır ve bu sebeple periyodik kontrol edilmesi gerekmektedir. 2019 yılında American Association for the Study of Liver Diseases tarafından yayınlanan klavuza göre, her 3-6 ayda bir karaciğer enzimleri, her yılda TSH, 2 yılda bir kemik mineral ölçümü gerekmektedir. Hepatoselüler karsinoma yönelik 6 ayda bir USG ve alfa fetoprotein (AFP) takibi, özofagus varislerine yönelik ise 1-3 yılda bir endoskopi önerilmektedir (198).

2.6. Otoimmün hepatit (OİH)

2.6.1. Tarihçesi

OİH, 1950 yıllarında İsveçli doktor Jan Gosta Waldenström tarafından tanımlanmıştır. SLE'ye benzerliğinden dolayı "lupoid hepatit" olarak isimlendirilmiş ancak SLE gibi organ tutulmasının olmadığı anlaşılmış ve bu tanım terkedilmiştir (232, 233) 1993 yılında uluslararası OİH grubu (İnternational Autoimmune Hepatitis Groupe - IAHG) en uygun terimin otoimmün hepatit olarak belirlemiş ve hastalık tanısı için skorlama sistemi geliştirmiştir. Bu skorlama sistemi 1999 yılında revize edilmiştir (234, 235).

2.6.2. Tanımı

OİH etiyojisi tam olarak bilinmeyen, alanin aminotransferaz (ALT, normal aralık: 7-56 IU/L), aspartat aminotransferaz (AST, normal aralık: 5-35 IU/L) ve immunoglobulin G seviyeleri (normal aralık: 0.5-2.0 g/L) yüksek, otoantikor ve kendine özgü histolojik bulgulara (interface hepatit ve lenfosit infiltrasyonu) sahip olan kronik karaciğer hastalığıdır. Asemptomatik transaminaz yüksekliğinden karaciğer yetmezliğe varan geniş ve farklı klinik tablolarla kendini gösterebilir (11, 221, 236) .

OİH sahip oldukları otoantikörlara göre iki tipe ayrılır. ANA (anti nükleer antikor) ve/veya ASMA (anti düz kas antikor) pozitifliği ile karakterize olan tip 1 iken, anti-LKM-1 (anti karaciğer böbrek mikrozomal tip 1 antikor) veya anti-LC-1 (anti karaciğer sitozol tip 1) pozitifliği ile karakterize olan tip 2 denilmektedir (237).

2.6.3. Epidemiyoloji

Tip 1 OİH'te kadın/erkek oranı 4/1 iken tip 2'de 10:1'dir. Her yaşta ve tüm etnik gruplarda görülebilmesine rağmen, kadınlarda daha fazla görülmektedir. Prevalansı avrupa genelinde 100.000/17, İsrail'de 100.000/0.7, Yeni Zelanda'da 100.000/25, Singapur'da 100.000/4 olduğundan dolayı nispeten nadir bir hastalık olarak kabul edilebilir (238-241). Ülkemizde kesin bir değer bilinmemekle birlikte, tüm kronik hepatitlerin %1.5-2'sini OİH'lerin oluşturulduğu tahmin edilmektedir (138) .

2.6.4. Patogenez

OİH'nin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte yapılan araştırmalar sonucunda genç ve yetişkin bireylerde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı gösterilmiştir (242).

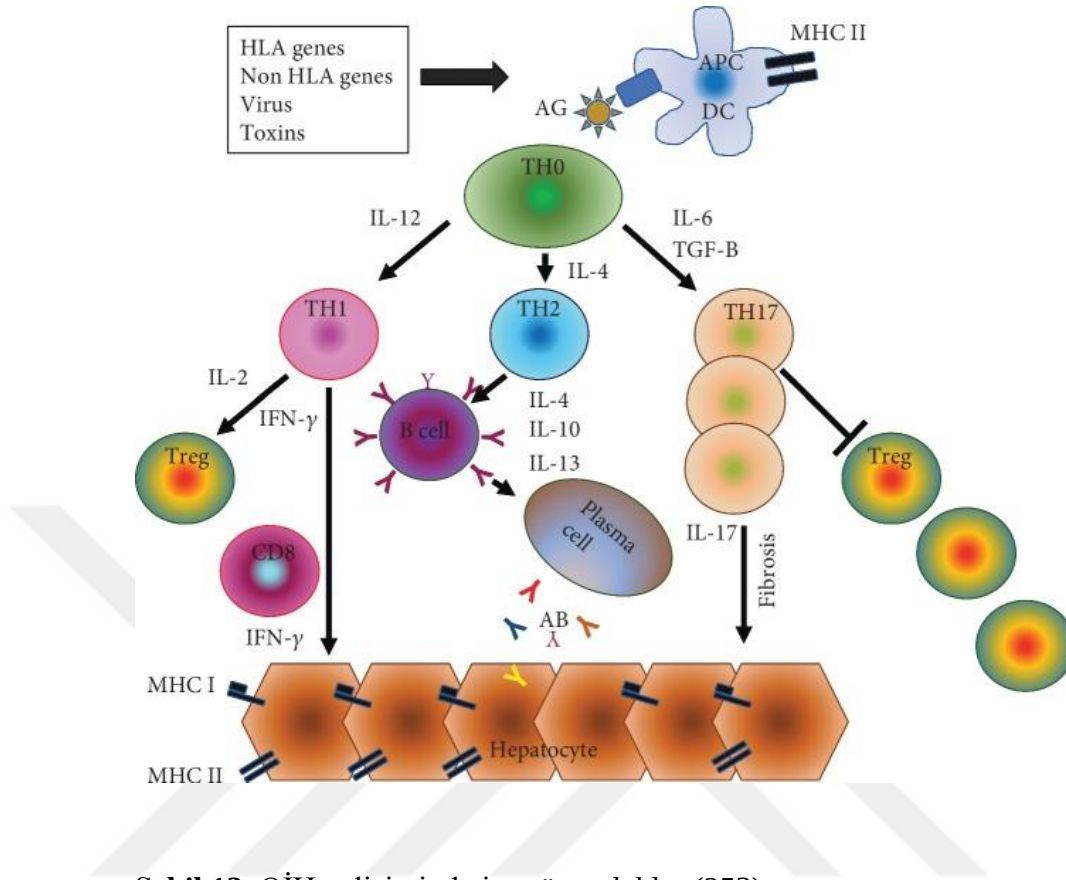
2.6.5. Genetik faktörler

OİH patogenezinde, Major Histocompatibility Complex (MHC), HLA, T hücre reseptörleri(TCR), otoimmün poliendokrinopati candidiyazis ektodermal distrofi

(APECED), TNF- α ve β , vitamin D reseptör genlerindeki varyantların etkili olabileceği araştırmalar yapılmıştır (243). En güçlü ilişki, özellikle HLA sınıf II DRB1 alellerini kodlayan genlerde gösterilmiştir (242, 244). DRB alelleri ile OİH hastalığının şiddeti, hastalığın seyri ve tedaviye yanıt arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Örnek olarak HLA DRB1*03 varlığında OİH tip 1, HLA DRB1*07 varlığında ise OİH tip 2'ye karşı duyarlılık kazanılır. HLA DR β 1*0301 gen sahibi olanlar hastalar, HLA DR β 1*0401 sahip olan hastalara göre, hastalıkları daha kötü prognozla seyretmektedir (245-247).

2.6.6. İmmünolojik yanıtın gelişmesi

Self antijenik peptidler, APC tarafından yani makrofajlar, B lenfositler ve DC tarafından işlenip, etkinleşmemiş Th0 reseptörlerine sunulur. Sunum gerçekleşikten sonra, Th0 hücreler aktifleşir ve sitokin çeşidine bağlı olarak farklı T helper hücrelere farklılaşır. IL-12 ile Th1'e, IL-4 etkisi ile Th2'ye, IL-1 β ve IL-6 etkisi ile Th17'ye dönüşür. Th1 hücresi; IL-2 ve IFN üretimine yol açar. IL-2 sitotoksik T (CD8⁺ - Tc) hücrelerini, IFN ise makrofajları aktive eder, dolayısıyla sitotoksik ve fagositik hasarın gelişmesine sebep olur. Th2 hücresi; IL4, IL-10, IL-13, IL-21 üretimine yol açarak B hücrelerin aktive olmasına sebep olur. Aktive olan B hücreler, plazma hücrelerini oluşturur ve hücrel sitotoksikite ve kompleman aktivasyonu başlatılır. Th17 hücresi; IL-17, IL-21 ve IL-22 gibi pro-inflamatuvar sitokinler üretmemine sebep olur ve otoimmüniteye katkı sağlar. Th17 lenfositlerinin aşırı aktivitesi psoriasis, RA ve CD gibi otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol oynar (248-252). OİH'te, otoimmün reaksiyonları **şekil 12**'de gösterilmiştir.



Şekil 12: OİH gelişiminde immün yollar (253)

2.6.7. Çevresel Faktörler

Patogenezdeki rolleri tam olarak bilinmemekte olup etkinliği henüz tartışmalı olan bazı ilaçlar, virüsler ve ajanlar otoimmüniteyi tetiklediği düşünülmektedir ve üzerinde çalışmalar yapılmaktadır.

Üriner enfeksiyon tedavisinde sık kullanılan Nitrofurantoin ve minosiklin gibi ilaçlar, OİH'i tetiklediği gösterilmiştir. Epstein-Barr virüsü (EBV), Hepatit A virüsü (HAV), insan herpes tip 6 virüsü (HHV 6) gibi viral enfeksiyonlardan sonra OİH tespit edilmiştir (238).

D vitaminin düzeyi, OİH patogenezinde etkin olduğu düşünülmektedir. OİH tanısı alan kişilerde D vitamin düzeyleri sağlıklı kişilere göre, daha az olduğu gözlenmiştir, ayrıca D vitamin düzeyinin fibrosis ve inflamasyon artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (254-257).

2.6.8. Otoantikorlar

Otoantikorlar, tanısal skorlama sistemine göre OİH tanısı ve sınıflandırılmasında önemli role sahipler, ancak ANA ve anti-düz kas antikorlar (SMA) gibi organa özgü olmayan otoantikorların rolü tam olarak bilinmemektedir (258).

2.6.8.1. Anti-nükleer antikör (ANA)

ANA, 1954 yılında ilk kez tanımlanmış. OİH ile ilişkilendirilmiş ilk otoantikordur ancak spesifik değildir. İlaça bağlı karaciğer hastalıklarında, viral hepatitlerde, non-alkolik karaciğer hastalığı gibi hastalıklarda da görülebilir. OİH hastalarının %50 ile %75'inde saptanabilir (259, 260).

2.6.8.2. Anti-Düz Kas antikoru (SMA)

İlk kez 1960 yılında bulunmuş ve ANA gibi OİH ile ilişkilendirilmişti ancak zaman içinde OİH'e özgü olmadığı anlaşılmıştır. Tip 1 OİH'de %50 bulunur ancak bazen tespit edilebilen tek otoantikör olabilir. SMA'nın vasküler patern (V), vasküler/glomerüler patern (VG) ve vasküler/glomerüler/tubuler (VGT) paternlere sahiptir. VGT ve VG OİH için daha spesifiktir. ANA gibi bir çok karaciğer hastalığında saptanabilir (260).

2.6.8.3. Anti-Karaciğer Böbrek Mikrozomal 1 Antikoru (LKM-1)

Genellikle sıklığı daha az ancak prognozu daha kötü olan OİH 2'de görülür. Hepatit C (HCV) hastalarında da görülebilir. Tip 2 OİH'i hastaların %10'unda tek başına görülür, dolayısıyla karaciğer hastalığı olan bir hastada hepatit C ekarte edilme şartıyla LKM-1 tespit edilmesi, OİH 2 tanısı açısından önemli otoantikordur (259) .

2.6.8.4. Anti-Karaciğer Sitozol Tip 1 Antikör (Anti-LC 1)

İlk kez 1988 yılında tanımlanmıştır. Tip 2 OİH hastaların %30'unda tek başına veya anti LKM-1 ile görülmektedir. Spesifik değildir ancak tek başına saptandığı zaman OİH tip 2 tanısı açısından önem kazanır. Anti LKM-1 gibi hepatit Cde pozitif görülebilir (259, 260) .

2.6.8.5. Anti-Çözünür Karaciğer Antijeni (Anti-SLA) / Pankreas Karaciğer Antikoru (Anti-LP)

İlk kez 1981 yılında saptanmıştır. 2013 yılında yapılan bir çalışmada, ele alınmış 986 hastanın sadece 30'unda anti-SLA pozitifliği bulunmuştur. Bunların 27'si (%90) OİH iken, 3'ü (%10) PBK idi. Bu çalışmada, Anti-SLA'nın %99.5 özgüllüğü olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda sağlıklı gönüllüler ve farklı karaciğer hastalıklarına sahip bireylerde SLA/LP tespit edilmemiştir, ancak HCV pozitif bireylerde %10 saptanmıştır dolayısıyla OİH için kısmen spesifiktir. Anti-SLA ve Anti-LP saptanması, kötü prognozu işaret eder (259-262).

2.6.8.6. Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikor (ANCA)

ANCA, bağışıklık sistemi tarafından üretilen otoantikorlardır ve sistemik vasküler inflamasyona sebep olmaktadır. Tip 1 OİH'de %50-96 bulunmasına rağmen Tip 2 OİH'de nadir bulunur. ANCA, kronik viral hepatitte, CD, UC, PSK, mikroskobik polianjitte gibi hastalıklarda da saptanabilir (260, 263).

OİH tanısında rol oynayan otoantikorlar, Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırma Derneği'nin 2019 Uygulama Rehberi ve Yönergeleri göre tabloda özetlenmiştir (264).

Tablo 7. OİH tanısında rol oynayan otoantikorlar (264).

Otoantikor	Hedef Antijen	Tanı Değeri
ANA	Kromatin, Ribonükleoproteinler	Tip 1 OİH
Anti – SMA	F-actin, vimentin, desmin	Tip 1 OİH
Anti – LKM 1	Sitokrom p450 2D6(CYP2D6)	Tip 2 OİH
Anti – SLA	Ayırıcı (O-fosfoserin) transfer RNA: Sec (selenosistein) transfer RNA sentaz	Tip 1 OİH Ciddi OİH

		Tedaviden sonra nüksü öngörür. Kötü sonuçla ilişkili
Anti – LC 1	Formiminotransferaz siklodeaminaz	Tip 2 OİH
p-ANCA (atipik)	B-tubulin izotip 5 Nükleer lamina proteinleri	Tip 1 OİH PSK,Otoimmün Sklerozan Kolanjit

2.6.7. OİH tipler

2.6.7.1. Tip-1 OİH

Tip 1 en sık görülen tiptir ve vakaların %90'ını oluşturur. ANA, SMA veya anti-SLA/LP otoantikorlar pozitif olabilir. HLA DR3, DR4 ve DR13 genleri ile ilişkilidir. Tedaviye yanıtları iyidir, ancak tedavi kesildikten sonra nüks oranı değişkendir, dolayısıyla uzun süreli idame tedavisi gerekmektedir (10).

2.6.7.2. Tip-2 OİH

OİH vakaların %10'unu oluşturmaktadır. Anti-LKM1, anti-LC1 ve seyrek olarak anti-LKM3 antikorları belirlenebilir. HLA DR3 ve DR7 genleri ile ilişkilidir. Tedaviye yanıtı kötüdür ve ilaç kesildikten sonra sık nüks eder ve uzun süreli idame tedavisi gerekmektedir (10).

Tablo 8. Tip 1 ve Tip 2 OİH hastalarının karakteristik özellikleri (265)

Özellik	Tip 1 OİH	Tip 2 OİH
Otoantikor	ANA, SMA, anti F aktin, SLA/LP	LKM-1, Anti-LC1, Nadiren LKM-3
Görüldüğü Yaş	Herhangi bir yaş	Sıklıkla çocuk ve genç erişkinlerde

Genetik İlişkisi	HLA DR3, DR4 ve DR13	HLA DR3, DR7
Klinik Seyir	Değişken	Genellikle Akut Ciddi
Histopatolojik Özellikler	Hafif hastalıktan siroza kadar değişken	Genellikle İlerlemiş
Tedaviye Yanıt	İyi	Kötü
İlaç Kesildikten Sonra Nüks	Değişken	Sık
Uzun süreli idame tedavisi İhtiyacı	Değişken	Çok Sık

2.6.8. Semptomlar ve Fizik Muayene

OİH kliniği, asemptomatik karaciğer enzim yüksekliğinden akut karaciğer yetmezliği kadar geniş bir yelpazeye sahiptir. OİH hastaların başvuru anındaki şikayetleri, %61 halsizlik ve yorgunluk , %42 sarılık ,%30 karın ağrısıdır. Aşağıdaki tabloda, OİH hastaların ilk başvurudaki semptom ve sıklıkları özetlenmiştir (266-268).

Tablo 9. OİH Semptom ve bulgular ve görülme sıklıkları (266-268).

Semptom ve Bulgular	Görülme Sıklığı
Halsizlik, yorgunluk	%61
Sarılık	%42
Karın ağrısı	%30
Hepatomegali	%19
Splenomegali	%14
Kaşıntı	%11
Ateş	%10
Asit	%7
Özefagus varisi	%2
Ensefalopati	%1

2.6.9. Laboratuvar Bulguları

Bilirubin (normal aralık: 0.2 - 1.2 mg/dL) ve transaminazların düzeyleri referans aralığının (AST normal aralığı: 5-35 IU/L, ALT normal aralığı: 7-56 IU/L) 50 katına kadar yükselebilir veya düşük seviyelerde de olabilir. ALP, AST'ye (veya ALT) oranı genellikle <1:5 ve bazı durumlarda ise <1:10'dir. Laboratuvar bulguları, OİH'in şiddeti ile ilişkisinin olmadığı karaciğer biyopsilerde gözlemlenmiştir. En yaygın saptanan otoantikör ANA'dır. Anti-SMA ANA'dan daha spesifiktir. Anti-SLA ve anti-LP, OİH tip 1'de %10-30 arasında saptanabilmektedir. Gamaglobülinlerde, İmmünoglobulin G'nin yükselmesi karakteristiktir (221, 269, 270).

2.6.10. Histopatolojik Bulguları

OİH skoru için gerekli değildir, ancak bütün kılavuzlar ilk tanı anında karaciğer biyopsisini önermektedir, çünkü inflamasyon ve fibrozisin derecesi, hastalığın evresi ve tedavi takibini değerlendirme imkanı sunar. Ancak, yetmezlik veya koagülasyon bozukluğu mevcut olduğunda, kanama riski nedeniyle biyopsi önerilmemektedir (253).

Interface hepatit (güve yeniği/piecemeal nekrozu), Hepatosit rozet formasyonu, Portal alanda lenfoplazmositer infiltrasyon ve Emperipolesis, OİH'in spesifik ancak tipik histolojik bulgularıdır. Dört bulgudan üçünün olması histolojik açıdan anlamlıdır. En iyi ayırt edici bulgu interface hepatit bulgusudur, Ondan sonra %66 plazma hücresi infiltrasyonu ve % 47 lobüler hepatit bulgular gelmektedir (253, 265, 271).

2.6.11. OİH Radyolojik Bulguları

Karakteristik görüntüleme bulgusu yoktur, ancak ayırıcı tanı nedenlerini dışlanma ve komplikasyonların tespitinde önemli rol oynar (265, 272).

2.6.12. Tanı

Tipik klinik ve serolojik bulguların yanı sıra hepatit ve siroza neden olan diğer hastalıkların dışlanması gerekmektedir. Erken tanı ve erken tedavi hayat kurtarıcıdır. 1999

yılında revize edilmiş kriterleri, 2008 yılında Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu (International Autoimmune Hepatitis Group - IAIHG) basitleştirerek yayınlamıştır. Basitleştirilmiş kriterler **tablo 10**'da özetlenmiştir (10, 265, 273, 274).

Tablo 10. IAIHG 2008 basitleştirilmiş kriterler

Parametre	Sınır	Puan
ANA veya SMA +	$\geq 1:40$	+1
ANA veya SMA +	$\geq 1:80$	+2
LKM -1 +	$\geq 1:40$	+2
SLA/LP +	pozitif	+2
IgG veya Gama-globulin düzeyi	>normal üst limit	+1
	>1.10 kat normal üst limit	+2
Karaciğer biyopsisi(hepatitin histolojik kanıtının olması şart)	OİH ile uyumlu ***	+1
	OİH için tipik ****	+2
	atipik bulgular *****	0
viral hepatit olmaması **	Evet	+2

Kesin OİH: ≥ 7 , Olası OİH: ≥ 6

* Bu bulgulardan her biri en fazla 2 puan olarak hesaplanmaktadır

**Viral hepatit olarak Hepatit B ve Hepatit C dikkate alınmıştır

***Uyumlu histolojik bulgular: Tipik bulgular olmadan lenfositik infiltrasyon.

****Tipik histolojik bulgular: Bu bulgulardan her biri; İnterface hepatiti, Portal alanda lenfoplazmositer infiltrasyon, Emperipolesis ve Hepatik rozet oluşumu

*****Atipik histolojik bulgular: Steatohepatit gibi başka hastalık bulgusu

2.6.13. Tedavi

Tedavi almayan hastalarda, beş yıllık sağkalım oranı %32 iken, kortikosteroid tedavisi gören hastalarda bu oran %82 olarak belirlenmiştir. 2010 yılında yayınlanan AASLD kılavuzuna göre tedavisiz almayan hastaların, 6 aylık sağkalım %60 olarak bildirilmiştir. Tüm hastaların tedavi edilmesini önermektedir, sadece yaşlı hastalarda veya yan etki gelişmesi yüksek olan hastaların yakın takip önerilmiştir (248, 275-277).

Tedavinin hedefi remisyon sağlamaktır, transaminaz ve Ig G seviyelerini normal seviyeleri ve klinik semptomların düzeltilmesidir. AASLD kılavuzuna göre tedavi, steroid tek başına 60 mg/gün veya steroid 30 mg/gün ve azatiyoprin 50 mg/gün kombinasyonudur (278, 279).

Azatiyoprin ve steroidlerden yanıt alamayan veya yan etkisi görülen hastalar için alternatif tedavi rejimleri düşünülmektedir. Mikofenolat mofetil (MMF), Kalsinörin inhibitörleri; Siklosporin A, Takrolimus, M-tor inhibitörleri; Sirolimus, Everolimus, Biyolojik ajanlar; Ritüksimab, İnfliksımab gibi ilaçların üzerine çalışmaktadır (278, 280-283).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Örneklem Seçimi

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 20/09/2022 tarihinde, GO 22/830 numaralı onay alındı.

Hacettepe Üniversitesi Gastroenteroloji polikliniğe başvuran, tanılı ve takipli olan 120 hasta ve 20 kontrol çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan gönüllülere çalışma hakkında bilgi verildikten sonra, gönüllülerden yazılı onamları alınmıştır. Gönüllülere, çalışmadan diledikleri an çekilme veya sebep göstermeksizin çalışmaya katılmayı reddetme haklarının olduğu, hakları, sağlık ve mahremiyetlerinin korunduğu ifade edilmiştir.

3.1.1. Çalışmaya Dâhil Edilme Kriterleri

Hastalar için:

- 18 yaşın üzerinde olmak
- Çalışmaya katılmayı kabul etmek
- Klinik ve laboratuvar bulgularla, çalışmadaki hastalık gruplarından birisinin tanısının konulmuş olması

Sağlıklı kontrol grubu için:

- 18 yaş üstü
- Otoantikör negatif
- Karaciğer fonksiyonları normal
- Semptomatik enfeksiyonu ve kronik dahili hastalığı olmayan bireyler

3.1.2. Çalışmadan Hariç Tutulma Kriterleri

Her iki grup için :

- Overlap sendrom (PBK veya PSK’ya eşlik eden OİH) olması
- Eşlik eden hepatosteatoz haricinde diğer bir karaciğer hastalığının olması
- Dekompanse sirozunun olması
- Geçmişte veya devam eden malign hastalık olması
- İnflamatuvar barsak hastalığının olması
- Aktif enfeksiyöz hastalığının olması (pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, vb)
- Son 6 ay içinde ilaç tedavisinde değişiklik yapılmış olması
- Son 6 ay içinde cerrahi geçirmiş olması
- Gebelik

3.2. GEREÇLER

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

Spectramax2 Multimode Microplate Reader

Biyokimya analizörü (beckman coulter AU5800, Beckman Coulter Immage800)

Siemens analizörü (BNII)

BD- facs canto 2 Clinical Flow Cytometry System

Vorteks karıştırıcı (IKA Vortex3)

Santrifüj cihazı (NF800 Nüve)

Etüv (LAB-Line)

Distile Su cihazı (MES mp mini püre)

-20 °C derin dondurucu (Vestel, RT345)

-80 °C derin dondurucu (Sanyo, Labor ildam)

3.2.2. Ticari Kitler

NEPENTHE Human ELISA kit :

IL-13 kit bilgileri : standart range : 31.25 - 2000 pg/ml , hassasiyet : 13.8 pg/ml ,
(catalog no : NE06S468501)

IL-23 kit bilgileri : standart range : 7.82 - 500 pg/ml , hassasiyet : 2.8 pg/ml ,
(catalog no : NE06S157001)

TRL-4 kit bilgileri : standart range : 0.32 - 20 ng/ml , hassasiyet : 0.118 ng/ml ,
(catalog no : NE06S177701)

TRL-6 kit bilgileri : standart range : 0.32 - 20 ng/ml , hassasiyet : 0.114 ng/ml ,
(catalog no : NE06S327801)

LEGENDPLEX kit :

Multi-Analyte Flow Assay Kit , Human Essential Immune Response Mix and
Match Subpanel (catalog No. 740930, Human Essential Immune Response Panel (13-
plex) with V-Bottom Plate)

3.2.3. Kullanılan Sarf Malzemeler

Cam malzemeler (interlab)

Otomatik pipet (10-100 μ L , 100-1000 μ L)

Pipet ucu (10 μ L–1000 μ L)

Mikroplak 96 kuyucuklu, steril kapaklı

Ependorf tüp (polipropilen, 1,5-2 mL)

Falkon tüpü (50 mL)

3.3. YÖNTEMLER

3.3.1. Enzim-Bağlı İmmünosorbent Ölçüm Yöntemi (ELİSA)

Jelli (sarı kapaklı tüp) serum tüpüne alınan kanlar, serum elde etmek için, 10 dakika süreyle 2000 g kuvvetinde santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında tüpün üst kısmında oluşan serum dikkatlice pipet yardımıyla alınarak temiz tüplere aktarıldı. Elde edilen serum, analiz yapılana kadar -20°C'de saklandı.

IL-13, IL-23, TLR-4 ve TLR-6 konsantrasyonlarının ölçümünde ELİSA yöntemi kullanılmıştır.

IL-13 konsantrasyonu, Human IL-13 ELISA kit (catalog no : NE06S468501) ile ölçülmüştür.

IL-23 konsantrasyonu , Human IL-13 ELISA kit (catalog no : NE06S157001) ile ölçülmüştür.

TLR-4 konsantrasyonu , Human IL-13 ELISA kit (catalog no : NE06S177701) ile ölçülmüştür.

TLR-6 konstantrasyonu , Human IL-13 ELISA kit (catalog no : NE06S327801) ile ölçülmüştür.

Her 4 ELISA testinin de ölçüm içi CV'si < %8, ölçümler arası CV'si < %10'dir. Elisa yöntemiyle ölçtüğümüz sitokinlerin standart aralığı ve sensitivitesi aşağıdaki gibidir:

IL 13'un standart range: 31.25 - 2000 pg/ml, sensitivitesi: 13.8 pg/ml

IL 23: standart range: 7.82 - 500 pg/ml, sensitivitesi: 2.8 pg/ml

TLR 4: standart range: 0.32-20 ng/ml, sensitivitesi: 0.118 ng/ml

TLR 6: standart range: 0.32-20 ng/ml, sensitivitesi: 0.114 ng/ml

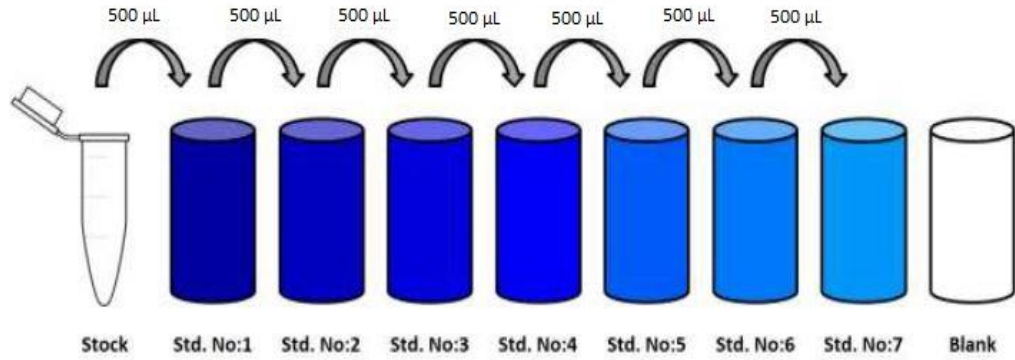
ELISA yöntemi, antijen-antikor eşleşmesine dayanır. Ölçülecek analite özgü yakalayıcı antikor ve sinyal antikoru kullanılır. Yakalayıcı antikor, ELISA mikropiğının kuyucuklarının tabanına immobilize edilmiştir. Kuyucuklara serum eklendiğinde, analit bu yakalayıcı antikorlara bağlanır ve yıkama işlemleri sırasında kuyucuklarda tutulur. Biotine bağlı sinyal antikoru kuyucuklara ilave edilip inkübe edilir. İnkübasyon süresi sonunda, analit molekülleri hem yakalayıcı antikora hem de sinyal antikoruna bağlanmış olur ve bu oluşan komplekse "sandviç kompleksi" denir. Ortama streptavidin konjugatlı peroksidaz (Horseradish Peroxidase: HRP) enzimi eklenir. Streptavidin, sandviç kompleksindeki biyotine bağlı sinyal antikoruna bağlanır ve yıkama işlemleri sonrasında bağlanmamış olan streptavidin-HRP molekülleri uzaklaştırılır. HRP'nin substratı olan 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) kuyucuklara eklenir. TMB, oksidasyona uğrayarak TMB radikali (TMB^+) ve mavi renkli bir yük transfer kompleksine dönüşür. Ortama asit eklendiğinde, TMB tekrar elektron alarak sarı renkli TMB_{2+} formuna dönüşür. TMB_{2+} 'nın 450 nm dalga boyundaki ışıktaki absorpsansı ölçülür. Absorpsans, son ürün miktarı ile son ürün miktarı enzim aktivitesi ile enzim aktivitesi enzim miktarı ile ve enzim miktarı da sandviç kompleksi miktarı ile doğru orantılıdır. Sandviç kompleksi de analit konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğundan, absorpsans ile analit konsantrasyonu arasında doğru bir orantı vardır. Standart çözeltiler kullanılarak

hazırlanan absorbans-konsantrasyon grafiğinin denklemi aracılığıyla, bilinmeyen bir örneğin absorbansı ölçülerek analit konsantrasyonu hesaplanabilir.

IL-13, IL-23, TLR-4 ve TLR-6 ölçümlerinin prosedürleri aynıdır. Ölçüm öncesinde, hasta serumları 2000-3000 RPM'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant tortusuz bir şekilde ayrılmış ve -80°C'de saklanmıştır. Deney gününde, numuneler ve tüm reaktifler deney başlamadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir.

Test başlamadan önce, standart, yıkama tamponu, streptavidin ve biyotinlenmiş konjugat kılavuza uygun şekilde hazırlandı.

Şekil 13'de sunulan örnekte olduğu gibi, seri dilüsyon standartları elde etmek için standart dilüent kullanıldı ve bu standartlar yarı yarıya sulandırıldı. Bu süreç sonucunda, 7 farklı konsantrasyonda standartlar elde edildi. Standart dilüent ayrıca blank solüsyonu olarak da kullanıldı. Elde edilen 7 standart solüsyonu ile blank solüsyonu ve numunelerden alınan 100 µL'lik hacim, analit özgü antikorlarla kaplanmış mikrotitre plaklarının kuyularına aktarıldı.



Şekil 13: Standartların seri dilüsyonunun yapılışı

Plağın üstü, şeffaf yapışkan kâğıt (seal) ile kapatıldı ve 37°C sıcaklıkta 80 dakika boyunca inkübasyona alındı. Inkübasyonun ardından yıkama solüsyonu (wash buffer) ile kuyucuklar 3 kez yıkanarak temizlendi. Yıkama işleminden sonra kuyucuklar kâğıt havlu

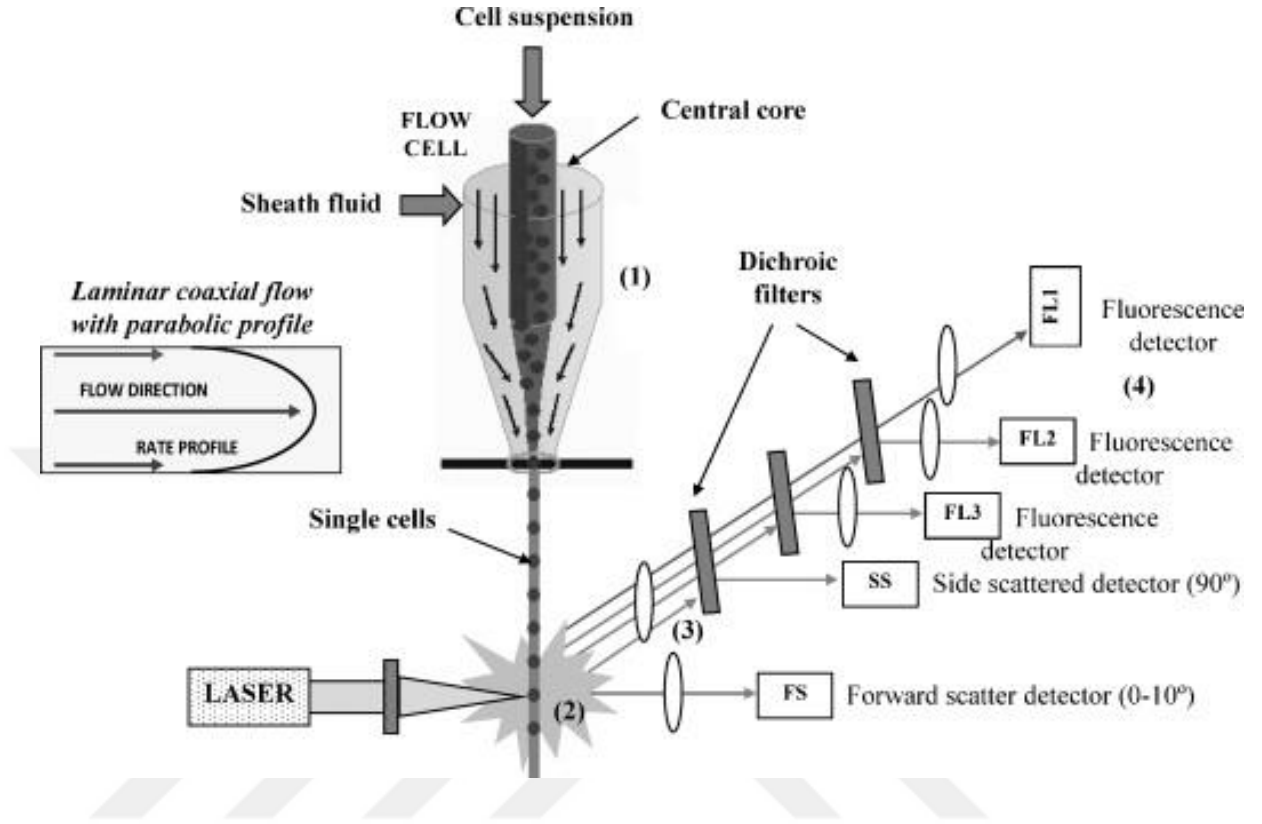
yardımıyla kurutuldu ve içlerinde solüsyon kalmadığı kontrol edildi. Daha sonra, 100 µl biyotinlenmiş konjugat ilave edilerek 37°C sıcaklıkta 50 dakika inkübasyon yapıldı. Inkübasyon sonrasında tekrar 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi ve kuyucuklardaki solüsyonun tamamen temizlendiğinden emin olundu. 100 µl streptavidin-HRP ilave edilerek 37°C sıcaklıkta 50 dakika inkübasyon yapıldı. Inkübasyon sonrasında 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi ve kuyucuklardaki solüsyonun tamamen temizlendiği kontrol edildi. Her kuyuya 90 µL substrat solüsyonu eklenerek 20 dakika boyunca 37°C sıcaklıkta mavi renk oluşumu tamamlanana kadar inkübe edildi. Renk oluşumu gözlemlendikten sonra, 50 µL durdurma solüsyonu (Stop Solution) eklenerek sarı renk oluşumu gözlemlendi. Mikroplakta 450 nm dalga boyunda ışık kullanılarak absorbans ölçüldü. Standart konsantrasyonlarının ve absorbanslarının kullanılmasıyla standart eğri oluşturuldu ve numune konsantrasyonları bu eğrinin denklemi kullanılarak hesaplandı.

3.3.2. Flow Sitometri

Moldoven tarafından 1934 yılında geliştirilen bu teknik, aerosoller içindeki bakterileri ve sporları tespit etmek amacıyla II. Dünya Savaşı'nın sonunda 1940'lı yıllarda kullanılmıştır. Dilla ve diğerleri, 1967 yılında oluşturdukları akış kanalını kullanarak DNA kantitatif floresan yoğunluğu ve ploidi arasındaki ilişkiyi histogramlarla göstermişlerdir. 1974 yılında ise, enzim substratları tarafından yayılan ışık saçılımını ve farklı dalga boylarını tanımlayabilen ilk akış sitometri cihazı ticari olarak piyasaya sürülmüştür (284, 285).

EDTA'lı tüp (mor kapaklı tüp), antikoagülan olarak etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içerir ve kanın pıhtılaşmasını engeller. EDTA'lı tüp, flow sitometri analizi için kullanıldı. Deney için kullanılan olan kan örnekleri, flow sitometri basamaklarına uygun olarak flow sitometri tüpüne aktarılacak şekilde sisteme yüklendi. TNFa, IFN γ , freeTGF β 1, IL1b, IL2, IL6, IL10, IL12p70, IL13, IL17a sitokinleri flow sitometrisi ile ölçüldü.

Sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir. Flow sitometri ise, akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir. Flow sitometrinin temel yaklaşımı; hücrelerin boyut, şekil, DNA ve RNA içeriği, sitoplazmik granüler açısında değerlendirilmesidir. Tipik bir flow sitometri dört ana bölümden oluşmaktadır, bunlar: akışkan sistem, sinyal algılama sistemi, optik sistem ve algılama, işleme sistemidir. Tek hücre analizi için, hücre süspansiyonu basınçlı hava hatları aracılığıyla akış kanalına itilir ve hücreler, kanal boyunca tek tek hizalanır. Bu hizalanma sayesinde her bir hücre eşit şekilde analiz edilebilir. Hücrelerin akış hızı, analiz amacına göre kullanıcı tarafından ayarlanabilir. Örneğin, yüksek akış hızları tümör hücrelerinin immünofenotiplemesi için kullanılabilirken, yavaş akış hızları DNA içerik analizi için daha uygundur. Analizde hata olmaması için kullanıcının, akış sisteminde hava kabarcığı ve birikinti olmadığından emin olması gerekmektedir. Eğer hücrelerde otofloresan oluşturma yeteneği varsa veya floresan boyalarla etiketlenmişse, oluşan ışık akış kanalından geçerken belirli bir dalga boyuna odaklanmış olan optik sistem tarafından okunur. Saçılan ışık, floresan optik sistem tarafından okunduktan sonra gelen sinyaller fotodedektörler tarafından algılanır ve işleme sistemine gönderilir. Buna göre, üretilen elektrik sinyalleri dijital olarak, ileri saçılım (FSC), yana saçılım (SSC), yeşil floresan (FL1), turuncu floresan (FL2), kırmızı floresan (FL3) gibi parametreleri özel bir yazılıma sahip olan cihazın bağlı olduğu bilgisayara dijital olarak yansıtır. FSC dedektörü, lazer ışığı ile aynı doğrultuda 0-10° açıyla etrafa saçılan ışınları toplar ve hücrenin büyüklüğü hakkında bilgi verir. SSC dedektörü ise, hücrenin yüzeyinden 90° açıyla yayılan ışınları toplar ve hücrenin granülitesi hakkında bilgi sağlar (286-288).



Akışkan sistem (1), sinyal algılama sistemi (2), optik sistem (3), algılama ve işleme sistemi (4)

Şekil 14: Flow sitometrinin çalışma şeması (289).

Flow sitometri incilemesi için LEGENDplex kiti ve BD- facs canto 2 cihazı kullanılmıştır.

LEGENDplex Boncuk tabanlı bir multipleks test panelidir ve sandviç immünoassayler ile aynı temel prensibe sahiptir. Yakalama boncukları dediğimiz spesifik bir antikor ile konjuge edilmiştir. Numunede her analit kendi spesifik yakalama boncuklarına bağlanacaktır. Yıkama yaptıktan sonra biyotinlenmiş bir saptama antikorunu eklenir. Her bir saptama antikorunu, yakalama boncuklarına bağlı spesifik analite bağlanır, böylece yakalama boncuğu-analit-saptama antikorunu sandviçleri oluşur. Sonra streptavidin-fikoeritrin (sa-pe) eklenir, bu da biyotinlenmiş saptama antikorlarına

bağlanarak bağlı analitlerin miktarıyla orantılı olarak floresan sinyal yoğunlukları sağlar. Boncuklar bir akış sitometresinde boyut ve iç floresan yoğunluğuna göre ayırt edilir.

Kuyucukları 100 µl yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyucuğa 25 µl deney tamponu eklendi. Daha sonra her bir kuyucuğa 25 µl standart ve örnekleri eklendi ve son olarak 25 µl boncuk ekleyerek toplam hacmi 100 µl'ye tamamlandı. Bu karışımı 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından kuyucukları iki kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her kuyucuğa 25 µl biotin ile konjuge edilmiş saptama antikoru eklendi ve boncuk-analit-saptama antikoru sandviçini oluşturuldu. Bu karışımı 1 saat inkübasyona bırakıldı. Ardından, her kuyucuğa 25 µl streptavidin-fikoeritrin eklendi ve 30 dakika inkübe edildi. Son yıkama işlemini gerçekleştirdikten sonra, cihaz ile 575-660 nm arasında okuma yapıldı.

3.3.3. Tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin ölçümü:

Beyaz Kan Hücreleri (WBC) sayısal değeri (normal aralık 4.0-11 $\times 10^3/\mu\text{L}$), nötrofil sayısal değeri (normal aralık 1.8-7.5 $\times 10^3/\mu\text{L}$), lenfosit sayısal değeri (normal aralık 1.0-4.0 $\times 10^3/\mu\text{L}$), trombosit sayısal değeri (normal aralık 150-400 $\times 10^3/\mu\text{L}$), kreatinin değeri (normal aralık 0.5-1.2 mg/dL), CRP değeri (normal aralık <5 mg/L), ALT değeri (normal aralık 7-56 IU/L) ve AST değeri (normal aralık 5-35 IU/L), GGT değeri (erkek: 6-55 U/L, female: 5-38 U/L), LDH (normal aralık 135-225 U/L), Direkt Bilirubin değeri (normal aralık 0-5 $\mu\text{mol/L}$, Hacettepe merkez laboratuvar normal değerleri: 0-0,2 mg/dL), İndirekt Bilirubin değeri (normal aralık 3.4-13.7 $\mu\text{mol/L}$, Hacettepe merkez laboratuvar normal aralığı: 0-1,2 mg/dL), Albümin değeri (normal aralık 35-50 g/L, Hacettepe merkez laboratuvar normal aralığı: 3,5-5,2 g/dL), ALP değeri (normal aralık 30-120 U/L), LDL değeri (Optimal: <2.6 mmol/L, Çok yüksek: ≥ 4.1 mmol/L, Hacettepe merkez laboratuvar normal aralığı: <130 mg/Dl), TG değeri (İdeal: <5.2 mmol/L, Yüksek: ≥ 6.2 mmol/L, Hacettepe merkez laboratuvar normal aralığı: <150 mg/Dl), HDL değeri (Erkekler için: ≥ 1.03 mmol/L, Kadınlar için: ≥ 1.29 mmol/L, Hacettepe merkez laboratuvar referans değerleri: Kadın: >50 mg/dL, Erkek: >40 mg/dL), 25(OH)D değeri

(Eksik: <50 nmol/L, Yeterli: ≥ 75 nmol/L, Hacettepe merkez laboratuvar normal aralığı: Ciddi eksiklik: <10 $\mu\text{g/L}$, Orta derece eksiklik: $10 - 24$ $\mu\text{g/L}$, Optimum düzey: $25 - 80$ $\mu\text{g/L}$, Olası toksik düzey: >80 $\mu\text{g/L}$), IgM değeri (normal değer $0.5-2.0$ g/L), IgA değeri (normal değer $0.7-4.0$ g/L), IgG değeri (normal değer $7.0-16.0$ g/L) (221).

WBC, nötrofil ve lenfosit sayıları floresan adkım sitometri yöntemiyle ölçüldü. Trombosit sayıları elektriksel empedans yöntemiyle (Beckman) ölçüldü. Serum CRP, IgA, IgM, IgG seviyeleri nefelometrik yöntem ile (Siemens) ölçüldü. Serum ALT, AST, LDH düzeyleri enzimatik reaksiyon sonucu açığa çıkan NADH'ın ölçümü ile, kreatinin düzeyi alkalik piktat bazlı test ile, total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleri modifiye diazonyum tuzlarının kullanıldığı reaksiyonlarla, indirekt bilirubin düzeyi total bilirubin ve direkt bilirubinin farkının alınması sonucu manuel hesaplama ile, albümin düzeyi bromkrezol yeşiliyle, GGT, ALP, LDL, TG, HDL düzeyleri enzimatik kolorimetrik olarak, 25-OH D vitamini düzeyi LC-MS/MS'de ölçülmüştür.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma sürecinde toplanan bütün veriler bir SPSS database dosyasına (.sav) uygun şekillerde kaydedildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumluluğunu test etmek amacıyla temel olarak Shapiro-Wilk testi kullanıldı, gerektiği durumlarda Q-Q plot'lar, histogramlar ve skewness / kurtosis değerleri (<0.5 veya <1) kontrol edildi. Parametrik varsayımları karşılayan sürekli değişkenlerin gruplar arasında kıyaslanması için bağımsız örneklem t-testi (iki grup kıyaslandığında) ve ANOVA (ikiden fazla grup kıyaslandığında) kullanıldı ve bu değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma, yani mean $\pm$ SD, değerleriyle sunuldu. Parametrik varsayımlar karşılanmadığında belirtilen parametrik testlere karşılık gelen non-parametrik testler kullanıldı (sırasıyla, Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri) ve bu değişkenler ortanca (min-max veya %25-%75 çeyreklik) değerleriyle, yani median (min-max) veya median (25%-75% quartile), olarak sunuldu. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkilerin gücünü ve yönünü incelemek gerektiğinde, Pearson veya Spearman korelasyon katsayıları (Pearson's r, Spearman's rho) hesaplandı. Tanısal nitelik gösterdiği düşünülen değişkenlerin tanısal gücünü tespit etmek amacıyla

receiver operating characteristic (ROC) eğrileri oluşturuldu ve Youden J metodu ile kesim noktası tespit edildi. Kesim noktasına göre sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) ve overall accuracy yüzdeleri hesaplandı.

Kategorik değişkenler mutlak ve rölatif sıklık (n ve %) olarak raporlandı. Nominal veya ordinal değişkenlerin gruplar içindeki dağılımlarını kıyaslamak için, uygun ki-kare testleri (Pearson, Yate's continuity correction, Fisher's Exact, Fisher-Freeman-Halton) kullanıldı. Ordinal değişkenler arasında veya bir ordinal değişkenle bir sürekli değişken arasındaki ilişkinin gücünü ve yönünü tespit etmek gerektiğinde, Kendal's Tau-b veya Stuart-Kendal Tau-c katsayıları hesaplandı.

Çalışmada izlenen outcome parametrelerinin diğer değişkenlerle bağımsız (independent) ilişkilerini açığa çıkarmak gerektiğinde multivariable lojistik regresyon analizleri uygulandı. Çoklu modellere eklenecek değişkenler ikili veya üçlü grup analizleri (univariate) sonucunda anlamlı fark gösteren değişkenler olabilir; ancak, bunların yanı sıra literatürde gösterilmiş olan risk faktörlerinin eklenmesi de -gerekli görülürse- mümkündür. Lojistik regresyon çıktıları odds ratio (OR) ve %95 güven aralığı (95% CI) değerleri ile raporlandı.

İstatistik analizler için temel olarak SPSS 25.0 programı kullanıldı; ancak ihtiyaç halinde veya görselleştirmeler için GraphPad Prism 9 ve Rstudio 4.2 yazılımlarından (ggplot2 paketi) da faydalanıldı. Bütün istatistiksel testlerde anlamlılık eşiği $p \leq 0.05$ olarak kabul edildi. Çalışmanın örneklem genişliği, literatürdeki sitokin çalışmaları temel alınarak, G*Power 3.2 yazılımı ile %80-%90 güç için %5 tip 1 hata payı ile grup başına 26-36 hasta olarak hesaplandı (toplam 78-108 hasta).

5. BULGULAR

Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Erişkin Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran, PBK, OİH ve ÇH tanısı konmuş 131 hastaya ait ölçümlerde elde edilen veriler özetlenmiştir.

PBK tanısı konmuş hastaların 33'si (%73.3) kadın ve 12'ü (%26.7) erkektir. OİH tanısı konmuş hastaların 31'i (%70.5) kadın ve 13'ü (%29.5) erkektir. ÇH tanısı konmuş hastaların 27'si (%64.3) kadın ve 15'i (%35.7) erkektir. Hastaların yaş dağılımı 24 ile 77 arasındadır. İstatiksel olarak kadınlar, her hasta grubunda daha fazla görülmüştür. Literatürde belirtildiği gibi, bu hastalıklardaki kadın hasta çoğunluğu ile uyumludur (**Tablo 11**).

PBK tanısı konmuş hastaların ortalama yaşı 52.1 ± 12.6 , OİH tanısı konmuş hastaların 36.2 ± 18.3 , ÇH tanısı konmuş hastaların ise 40.9 ± 13.1 'dir. İstatiksel olarak hasta grupları arasında fark gözlenmektedir (**Tablo 11**).

PBK ve çölyak hastalarına göre OİH hastalarında TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 ($p=0.034$), IL-17a, IL-23 ($p=0.006$) ve TLR 4 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu parametreler PBK hastalarında en düşük olmakla beraber, çölyak hastalarında orta düzey düşüklük göstermektedir (**Tablo 11**).

Çölyak ve OİH hastalarına göre, PBK hastalarında IL-2 en düşük ve IL-13 en yüksek düzeyde gözlenmektedir (**Tablo 11**).

PBK ve OİH hastalarına göre, çölyak hastalarında ise IL-4 en yüksek düzeyde gözlenmektedir (**Tablo 11**).

Kontrol grubuna göre, TLR 6 düzeyleri hasta grupları arasında istatistiksel farklılık göstermektedir ($p<0.001$) (**Tablo 11**).

PBK ve OİH hastaları karşılaştırıldığında, OİH hastalarında TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70 ($p=0.005$), IL-17a, IL-23 ($p=0.001$) ve TLR

4 düzeyleri yüksek bulunmuştur. PBK hastarında ise IL-13 yüksekliği gözlenmiştir (**Tablo 12**).

PBK ve Çölyak hastaları karşılaştırıldığında, Çölyak hastalarında TNF- α ($p=0.017$), IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-2 ($p=0.007$), IL-4 ($p=0.021$), IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17a ($p=0.02$), IL-23 ve TLR 4 düzeyleri yüksek bulunmuştur. PBK hastarında ise IL-13 yüksekliği gözlenmiştir (**Tablo 13**).

Hb, nötrofil, lökosit, lenfosit, sedimentasyon, CRP, albümin, INR, AST, ALT, GGT, direk bilirubin, ALP, HDL, vitamin D, immünglobulin M, A ve G düzeyleri istatistiksel olarak gruplar arasında farklılık göstermektedir ($p<0.005$) (**Tablo 11**).

Histolojik aktivite indeksi (HAI), PBK hastalarında istatistiksel olarak anlamlı yükseklik göstermektedir ($p<0.001$) (**Tablo 11**).

AMA negatifliği, OİH hastalarında istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek, ANA negatifliği, PBK hastalarında istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek gözlemlenmektedir (**Tablo 11**).

Tablo 11. kontrol, PBK, OİH, çölyak hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama $\pm$ sem).

		Kontrol (n=20)	PBK (n=45)	OİH (n=44)	Çölyak (n=42)	P değeri
Yaş		25 $\pm$ 1.1	52.1 $\pm$ 1.9	36.2 $\pm$ 2.8	40.9 $\pm$ 2	<0.001
Cinsiyet	Kadın	12 (63.2%)	33 (73.3%)	31 (70.5%)	15 (35.7%)	0.001
	Erkek	7 (36.8%)	12 (26.7%)	13 (29.5%)	27 (64.3%)	
TNFA (pg/mL)		3.5 $\pm$ 3	1.3 $\pm$ 0.5	10.4 $\pm$ 3.9	6.8 $\pm$ 2.8	0.104
IFNg (pg/mL)		2.3 $\pm$ 1.7	0.8 $\pm$ 0.4	18.1 $\pm$ 8.1	4.1 $\pm$ 2.2	0.298
freeTGFb1 (pg/mL)		2.9 $\pm$ 1.5	6.7 $\pm$ 3.5	39.7 $\pm$ 18.6	15.7 $\pm$ 8.5	0.077
IL1b (pg/mL)		12.2 $\pm$ 9.3	3.5 $\pm$ 1.1	16 $\pm$ 6.6	6.2 $\pm$ 2.3	0.188
IL2 (pg/mL)		0.4 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.3	3.7 $\pm$ 1.1	3.2 $\pm$ 1.4	0.062
IL4 (pg/mL)		31.4 $\pm$ 29.4	6.3 $\pm$ 2.7	14.1 $\pm$ 5.4	29.1 $\pm$ 12.6	0.123
IL6 (pg/mL)		5.3 $\pm$ 4.1	3.5 $\pm$ 1.6	96.1 $\pm$ 74.8	5.4 $\pm$ 2.5	0.79
IL10 (pg/mL)		2.2 $\pm$ 2.1	2.2 $\pm$ 1.1	9.3 $\pm$ 3.9	2.6 $\pm$ 1.1	0.472

IL12p70 (pg/mL)	1.9 ± 1.4	0.4 ± 0.3	10.4 ± 4.5	3.1 ± 1.4	0.034
IL13 (pg/mL)	310.7 ± 98.6	465.5 ± 57.4	418.8 ± 65.5	375.8 ± 62.5	0.076
IL17a (pg/mL)	0.1 ± 0	0.9 ± 0.5	4.6 ± 1.5	2.1 ± 0.9	0.074
IL23 (pg/mL)	102.4 ± 57.4	81.9 ± 33.9	186.8 ± 42.1	174.8 ± 55.1	0.006
TLR4 (ng/mL)	2.3 ± 0.8	2.6 ± 0.5	3.9 ± 0.7	3.6 ± 0.9	0.232
TLR6 (ng/mL)	0.042 ± 0.029	0.147 ± 0.031	0.098 ± 0.031	0.056 ± 0.026	<0.001
Hb		13.1 ± 0.2	10.9 ± 0.2	12.6 ± 0.2	<0.001
Wbc (x10 ³ /μL)		7.6 ± 0.5	7.9 ± 0.3	7.5 ± 0.3	0.103
Nötrofil (x10 ³ /μL)		4.7 ± 0.5	4.6 ± 0.2	5.8 ± 0.3	0.003
Lenfosit (x10 ³ /μL)		2.1 ± 0.1	3 ± 0.2	1.3 ± 0.1	<0.001
sedim		28.6 ± 3.3	31.1 ± 2.2	3.6 ± 0.4	<0.001
CRP (mg/L)		0.8 ± 0.2	16.9 ± 0.8	8.8 ± 0.8	<0.001
Albümin (mg/dL)		4.2 ± 0	3.8 ± 0.1	3.7 ± 0.1	<0.001
INR		0.9 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0.003
AST (U/L)		50.1 ± 6.8	46.8 ± 4.8	21.8 ± 2.2	<0.001
ALT (U/L)		49 ± 6.2	49.4 ± 4.6	26.3 ± 2.3	<0.001
GGT (U/L)		110.9 ± 16.9	64.6 ± 6.4	43.1 ± 4	<0.001
direkt bilirubin (mg/dL)		0.2 ± 0	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0	<0.001
indirekt bilirubin (mg/dL)		0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.6 ± 0	0.949
LDH (U/L)		197.1 ± 20.3	196 ± 6.7	172.7 ± 12.3	0.069
ALP (U/L)		189.5 ± 16.9	76.2 ± 4.8	177.9 ± 12.2	<0.001
LDL (mg/dL)		139.9 ± 6.4	126.6 ± 2.5	149 ± 9.2	0.461
TG (mg/dL)		129.4 ± 9.2			
Total kolestrol (mg/dL)		222.3 ± 9.3			
HDL (mg/dL)		61.5 ± 2.4	53.7 ± 1.7		0.023
vitD_25OH (μg/L)		22.5 ± 1.7	18.4 ± 1.5	24.3 ± 1.2	0.013
IgM (g/L)		276.9 ± 24.8	1.6 ± 0.1		<0.001
IgA (g/L)		261.3 ± 23	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.2	<0.001
IgG (g/L)		1425.6 ± 49.7	13.1 ± 0.6		<0.001
HAI		4.3 ± 0.5	0.3 ± 0.1		<0.001
fibrosis_score		1.7 ± 0.2			
Comorbid_AD	No		33 (73.3%)		
	Yes		12 (26.7%)		
AMA	negative		15 (33.3%)		
	positive		24 (53.3%)		
	high positive		6 (13.3%)		
ANA	negative		26 (57.8%)		
	positive		12 (26.7%)		

	high positive		7 (15.6%)			
kaşıntı	No		24 (53.3%)	24 (54.5%)		<0.001
	Yes		21 (46.7%)	20 (45.5%)		
halsizlik	No		14 (31.1%)	24 (54.5%)		
	Yes		31 (68.9%)	20 (45.5%)		0.004
sicca	No		35 (77.8%)	0 (0%)		
	Yes		10 (22.2%)	0 (0%)		
UDCA kullanımı	No		4 (8.9%)	0 (0%)		0.909
	Yes		41 (91.1%)	0 (0%)		
ASMA	.00		44 (97.8%)	0 (0%)		0.025
	.10		1 (2.2%)	0 (0%)		
Hst aktivitesi	No		22 (48.9%)			
	Yes		23 (51.1%)			

Parametrik varsayımların karşılanmaması nedeniyle, sürekli verilerin analizleri Kruskal-Wallis testiyle yapılmıştır. Kategorik verilerin analizi için, uygun Ki kare testleri veya Fisher's exact testi (Freeman-Halton extension) kullanılmıştır. Sürekli veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak; kategorik verilerse, mutlak ve rölatif sıklık olarak raporlanmıştır.

Tablo 12. PBK ve OİH hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama $\pm$ sem).

		PBK (n=45)	OİH (n=44)	p değeri
Yaş		52.1 $\pm$ 1.9	36.2 $\pm$ 2.8	<0.001
Cinsiyet	Kadın	33 (73.3%)	31 (70.5%)	0.763
	Erkek	12 (26.7%)	13 (29.5%)	
TNFa (pg/mL)		1.3 $\pm$ 0.5	10.4 $\pm$ 3.9	0.2
IFNg (pg/mL)		0.8 $\pm$ 0.4	18.1 $\pm$ 8.1	0.104
freeTGFb1 (pg/mL)		6.7 $\pm$ 3.5	39.7 $\pm$ 18.6	0.468
IL1b (pg/mL)		3.5 $\pm$ 1.1	16 $\pm$ 6.6	0.134
IL2 (pg/mL)		0.4 $\pm$ 0.3	3.7 $\pm$ 1.1	0.089
IL4 (pg/mL)		6.3 $\pm$ 2.7	14.1 $\pm$ 5.4	0.169

IL6 (pg/mL)	3.5 ± 1.6	96.1 ± 74.8	0.431
IL10 (pg/mL)	2.2 ± 1.1	9.3 ± 3.9	0.212
IL12p70 (pg/mL)	0.4 ± 0.3	10.4 ± 4.5	0.005
IL13 (pg/mL)	465.5 ± 57.4	418.8 ± 65.5	0.228
IL17a (pg/mL)	0.9 ± 0.5	4.6 ± 1.5	0.063
IL23 (pg/mL)	81.9 ± 33.9	186.8 ± 42.1	0.001
TLR4 (ng/mL)	2.6 ± 0.5	3.9 ± 0.7	0.164
TLR6 (ng/mL)	0.147 ± 0.031	0.098 ± 0.031	0.02
Hb	13.1 ± 0.2	10.9 ± 0.2	<0.001
Wbc (x10 ³ /μL)	7.6 ± 0.5	7.9 ± 0.3	0.078
Nötrofil (x10 ³ /μL)	4.7 ± 0.5	4.6 ± 0.2	0.321
Lenfosit (x10 ³ /μL)	2.1 ± 0.1	3 ± 0.2	0.001
sedim	28.6 ± 3.3	31.1 ± 2.2	0.165
CRP (mg/L)	0.8 ± 0.2	16.9 ± 0.8	<0.001
Albümin (mg/dL)	4.2 ± 0	3.8 ± 0.1	0.008
INR	0.9 ± 0	1 ± 0	<0.001
AST (U/L)	50.1 ± 6.8	46.8 ± 4.8	0.485
ALT (U/L)	49 ± 6.2	49.4 ± 4.6	0.303
GGT (U/L)	110.9 ± 16.9	64.6 ± 6.4	0.111
direkt bilirubin (mg/dL)	0.2 ± 0	0.3 ± 0.1	<0.001
indirekt bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.856
LDH (U/L)	197.1 ± 20.3	196 ± 6.7	0.651
ALP (U/L)	189.5 ± 16.9	76.2 ± 4.8	<0.001
LDL (mg/dL)	139.9 ± 6.4	126.6 ± 2.5	0.176
TG (mg/dL)	129.4 ± 9.2		
Total kolesterol (mg/dL)	222.3 ± 9.3		
HDL (mg/dL)	61.5 ± 2.4	53.7 ± 1.7	0.023
vitD_25OH (μg/L)	22.5 ± 1.7	18.4 ± 1.5	0.09
IgM (g/L)	276.9 ± 24.8	1.6 ± 0.1	<0.001
IgA (g/L)	261.3 ± 23	2.7 ± 0.1	<0.001
IgG (g/L)	1425.6 ± 49.7	13.1 ± 0.6	<0.001
HAI	4.3 ± 0.5	0.3 ± 0.1	<0.001
fibrosis_score	1.7 ± 0.2		
Comorbid_AD	No	33 (73.3%)	
	Yes	12 (26.7%)	
AMA	negative	15 (33.3%)	44 (100%)
	positive	24 (53.3%)	0 (0%)
	high positive	6 (13.3%)	0 (0%)
ANA	negative	26 (57.8%)	21 (47.7%)
	positive	12 (26.7%)	23 (52.3%)

	high positive	7 (15.6%)	0 (0%)	
kaşıntı	No	24 (53.3%)	24 (54.5%)	0.909
	Yes	21 (46.7%)	20 (45.5%)	
halsizlik	No	14 (31.1%)	24 (54.5%)	0.025
	Yes	31 (68.9%)	20 (45.5%)	
sicca	No	35 (77.8%)	0 (0%)	
	Yes	10 (22.2%)	0 (0%)	
UDCA kullanımı	No	4 (8.9%)	0 (0%)	
	Yes	41 (91.1%)	0 (0%)	
ASMA	.00	44 (97.8%)	0 (0%)	
	.10	1 (2.2%)	0 (0%)	
Hst aktivitesi	No	22 (48.9%)	0 (0%)	
	Yes	23 (51.1%)	0 (0%)	

Parametrik varsayımların karşılanmaması nedeniyle, sürekli verilerin analizleri, Mann-Whitney U testiyle yapılmıştır. Kategorik verilerin analizi için, uygun Ki kare testleri veya Fisher's exact testi (Freeman-Halton extension) kullanılmıştır. Sürekli veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak; kategorik verilerse, mutlak ve rölatif sıklık olarak raporlanmıştır.

Tablo 13. PBK ve Çölyak hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, tam kan sayımı ve total biyokimya parametrelerinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama $\pm$ sem).

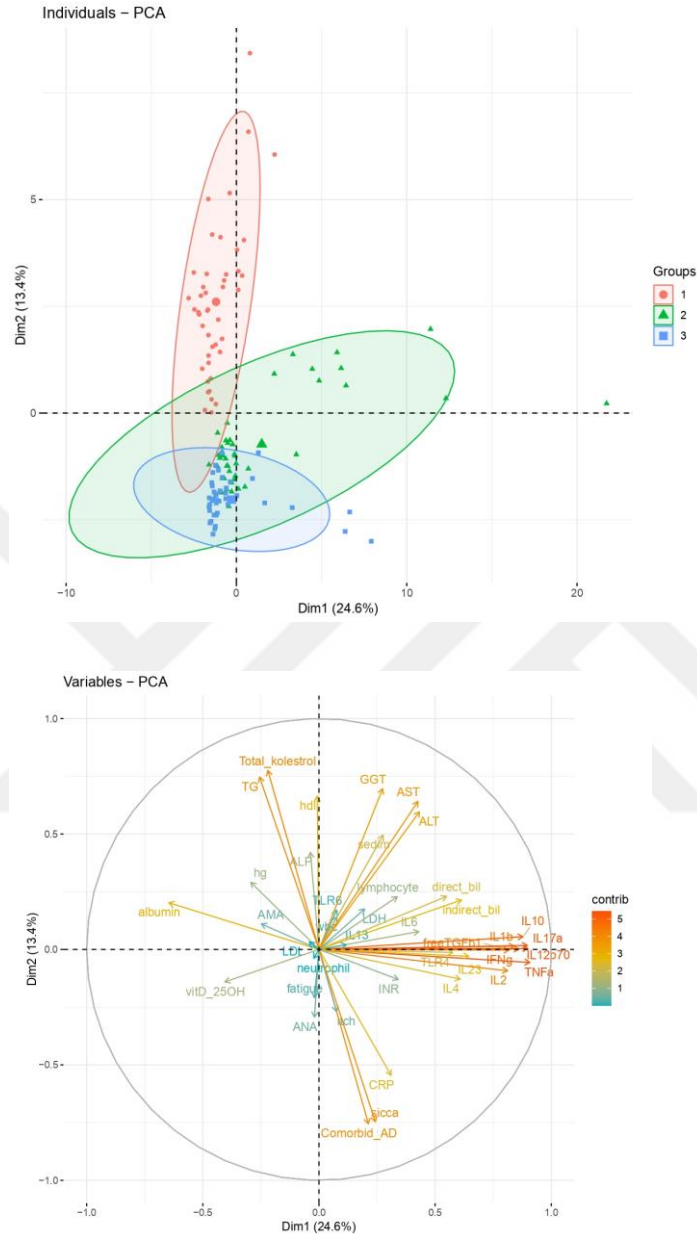
		PBK (n=45)	Colyak (n=42)	p değeri
Yaş		52.1 $\pm$ 1.9	40.9 $\pm$ 2	<0.001
Cinsiyet	Kadın	33 (73.3%)	15 (35.7%)	<0.001
	Erkek	12 (26.7%)	27 (64.3%)	
TNFa (pg/mL)		1.3 $\pm$ 0.5	6.8 $\pm$ 2.8	0.017
IFNg (pg/mL)		0.8 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 2.2	0.493
freeTGFb1 (pg/mL)		6.7 $\pm$ 3.5	15.7 $\pm$ 8.5	0.119
IL1b (pg/mL)		3.5 $\pm$ 1.1	6.2 $\pm$ 2.3	0.067
IL2 (pg/mL)		0.4 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 1.4	0.007
IL4 (pg/mL)		6.3 $\pm$ 2.7	29.1 $\pm$ 12.6	0.021
IL6 (pg/mL)		3.5 $\pm$ 1.6	5.4 $\pm$ 2.5	0.681

IL10 (pg/mL)		2.2 ± 1.1	2.6 ± 1.1	0.737
IL12p70 (pg/mL)		0.4 ± 0.3	3.1 ± 1.4	0.231
IL13 (pg/mL)		465.5 ± 57.4	375.8 ± 62.5	0.065
IL17a (pg/mL)		0.9 ± 0.5	2.1 ± 0.9	0.02
IL23 (pg/mL)		81.9 ± 33.9	174.8 ± 55.1	0.766
TLR4 (ng/mL)		2.6 ± 0.5	3.6 ± 0.9	0.505
TLR6 (ng/mL)		0.147 ± 0.031	0.056 ± 0.026	<0.001
Hb		13.1 ± 0.2	12.6 ± 0.2	0.04
Wbc (x10 ³ /μL)		7.6 ± 0.5	7.5 ± 0.3	0.436
Nötrofil (x10 ³ /μL)		4.7 ± 0.5	5.8 ± 0.3	0.002
Lenfosit (x10 ³ /μL)		2.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	<0.001
sedim		28.6 ± 3.3	3.6 ± 0.4	<0.001
CRP (mg/L)		0.8 ± 0.2	8.8 ± 0.8	<0.001
Albümin (mg/dL)		4.2 ± 0	3.7 ± 0.1	<0.001
INR		0.9 ± 0	1 ± 0	0.272
AST (U/L)		50.1 ± 6.8	21.8 ± 2.2	<0.001
ALT (U/L)		49 ± 6.2	26.3 ± 2.3	0.002
GGT (U/L)		110.9 ± 16.9	43.1 ± 4	<0.001
direkt bilirubin (mg/dL)		0.2 ± 0	0.3 ± 0	0.008
İndirekt bilirubin (mg/dL)		0.6 ± 0.1	0.6 ± 0	0.453
LDH (U/L)		197.1 ± 20.3	172.7 ± 12.3	0.574
ALP (U/L)		189.5 ± 16.9	177.9 ± 12.2	0.98
LDL (mg/dL)		139.9 ± 6.4	149 ± 9.2	0.819
TG (mg/dL)		129.4 ± 9.2		
Total kolestrol (mg/dL)		222.3 ± 9.3		
HDL (mg/dL)		61.5 ± 2.4		
vitD_25OH (μg/L)		22.5 ± 1.7	24.3 ± 1.2	0.304
IgM (g/L)		276.9 ± 24.8		
IgA (g/L)		261.3 ± 23	2.7 ± 0.2	<0.001
IgG (g/L)		1425.6 ± 49.7		
HAI		4.3 ± 0.5		
fibrosis_score		1.7 ± 0.2		
Comorbid_AD	No	33 (73.3%)		
	Yes	12 (26.7%)		
AMA	negative	15 (33.3%)		
	positive	24 (53.3%)		
	high positive	6 (13.3%)		
ANA	negative	26 (57.8%)		
	positive	12 (26.7%)		

	high positive	7 (15.6%)		
kaşıntı	No	24 (53.3%)		
	Yes	21 (46.7%)		
halsizlik	No	14 (31.1%)		
	Yes	31 (68.9%)		
sicca	No	35 (77.8%)		
	Yes	10 (22.2%)		
UDCA kullanımı	No	4 (8.9%)		
	Yes	41 (91.1%)		
ASMA	.00	44 (97.8%)		
	.10	1 (2.2%)		
Hst aktivitesi	No	22 (48.9%)		
	Yes	23 (51.1%)		

Parametrik varsayımların karşılanmaması nedeniyle, sürekli verilerin analizleri, Mann-Whitney U testiyle yapılmıştır. Kategorik verilerin analizi için, uygun Ki kare testleri veya Fisher's exact testi (Freeman-Halton extension) kullanılmıştır. Sürekli veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak; kategorik verilerse, mutlak ve rölatif sıklık olarak raporlanmıştır.

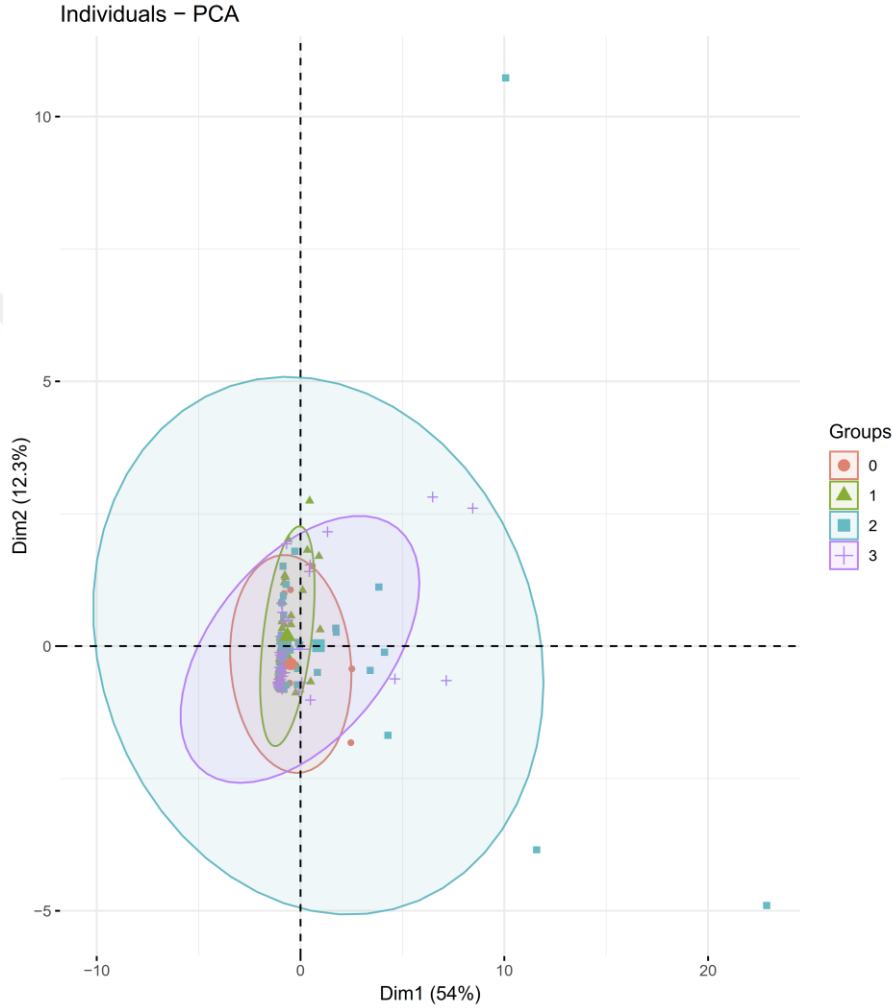
Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis – PCA) : modern veri analizinde standart bir araçtır. PCA'nın amacı, verilen bir veri kümesini yeniden ifade etmek için en anlamlı temeli belirlemektir. Aşağıdaki PCA grafiğinde (**Şekil 15**), PBK kırmızı renk, OİH yeşil renk, çölyak mavi renk ile işaretlenmiştir. Tüm parametreler dahil edilerek yapılan PCA grafiğinde, üç hastalığın paterninin farklılığı gözlenmektedir.



Şekil 15: PBK (1) , OİH (2) , çölyak (3) hastalarında tüm parametrelerin, her grup için temel bileşenler analizi yapılarak gösterilmesi.

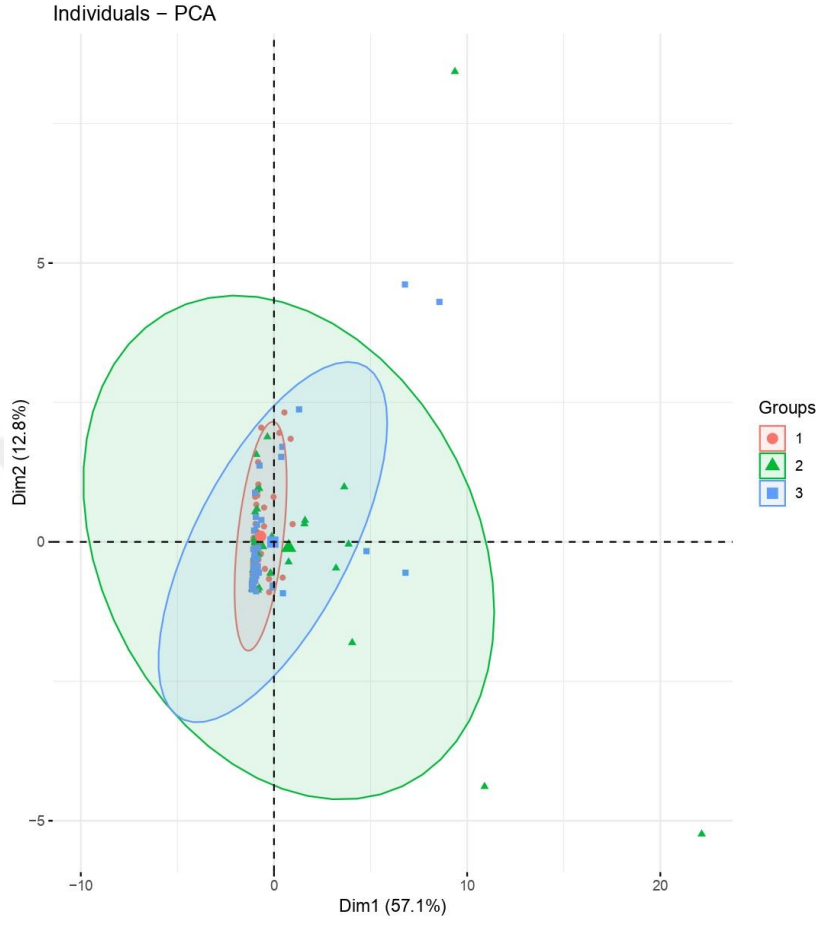
Aşağıdaki PCA grafiğinde (**Şekil 16**), OİH mavi renk, PBK yeşil renk, çölyak mor renk ve kontrol grubu kırmızı renk ile işaretlenmiştir. En dışta OİH paternini mavi renk şeklinde gözlemlemekteyiz. Bunun içinde sırasıyla ÇH, kontrol ve PBK paternleri yer

almaktadır. Sitokin profili açısından, OİH'ın farklılığı, PBK ve ÇH'ın üstüste gelmesi gözlemlenmiştir.

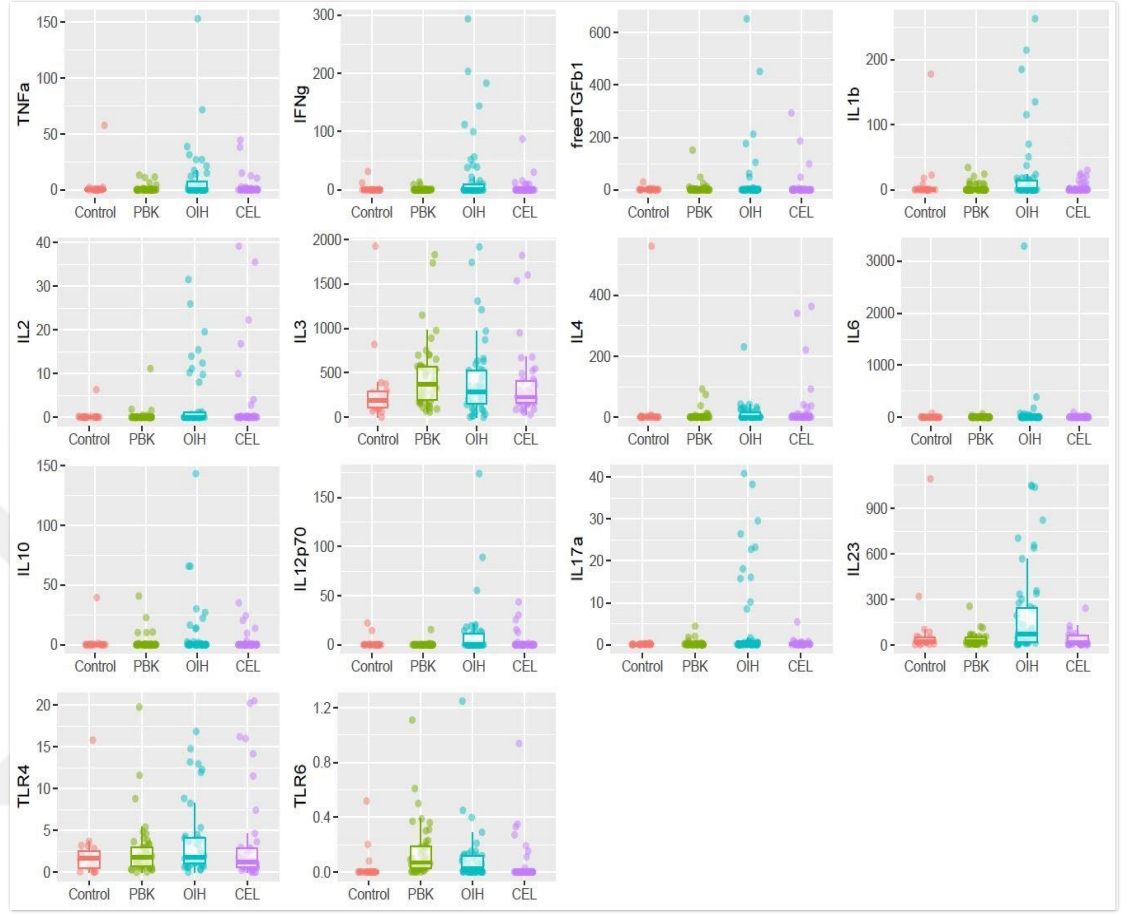


Şekil 16: kontrol (0), PBK (1), OİH (2), çölyak (3) hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, her grup için temel bileşenler analizi yapılarak gösterilmesi.

Aşağıdaki PCA grafiğinde (**Şekil 17**), PBK kırmızı renk, OİH yeşil renk ve çölyak mavi renk ile işaretlenmiştir. En dışta OİH paternini yeşil renk şeklinde gözlemlemekteyiz. Bunun içinde sırasıyla ÇH ve PBK paternleri yer almaktadır. Sitokin profili açısından, OİH'ın farklılığı, PBK ve ÇH'ın üstüste gelmesi gözlemlenmiştir.



Şekil 17: PBK (1), OİH (2), çölyak (3) hastalarında sitokin konsantrasyonlarının, her grup için temel bileşenler analizi yapılarak gösterilmesi.



Şekil 18: kontrol, PBK, OIH, çölyak hastalarında, her grup için tüm sitokin parametrelerinin gösterilmesi.

6. TARTIŞMA

Doğal bağışıklık sistemi, patojenlere karşı ilk savunma hattını oluşturan hızlı ve non-spesifik bir tepkidir. Epitelyal bariyerler, nötrofiller, DC, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler, mast hücreleri ve eozinofiller doğal bağışıklığın elemanlarıdır (17).

Edinsel bağışıklık sistemi ise, spesifik antijenlere karşı gelişen ve hafıza oluşturarak uzun süreli koruma sağlayan daha yavaş bir bağışıklık tepkisidir. Bu sistemin ana sorumlu hücreler, T ve B lenfositlerdir. B lenfositler ve onların ürettiği antikolar hücre dışı patojenleri yok ederken, efektör T lenfositler hücre içi patojenleri hedef alır (4).

Doğal bağışıklık yanıtı, edinsel bağışıklık yanıtına göre daha hızlı (saatler içinde) ancak daha sınırlı ve özgün olmayan bir tepkidir. Edinsel bağışıklık yanıtı geç (günler içinde) ve yavaş başlayan, ancak spesifik ve güçlü bir bağışık yanıtıdır (2).

Sitokinler, bağışıklık sisteminin hücreleri arasında iletişimi sağlayan küçük proteinlerdir. İnterlökinler, interferonlar, tümör nekroz faktörleri ve büyüme faktörleri gibi çeşitli sınıfları içeren geniş bir molekül yelpazesini kapsarlar. Sitokinler, bağışıklık hücrelerinin büyümesini, farklılaşmasını ve fonksiyonlarını düzenleyerek hem doğal hem de edinsel bağışıklık yanıtını regüle ederler. Örnek olarak; TNF- α , inflamasyonu başlatan ve enfeksiyon bölgesine diğer bağışıklık hücrelerinin göçünü kolaylaştıran bir sitokindir. IL-1, ateşi tetikleyen ve akut faz proteinlerinin üretimini artıran bir sitokindir. Sitokinler, doğal ve edinsel bağışıklık sistemleri arasında kritik bir bağlantı sağlar, inflamasyonu düzenler ve enfeksiyonlarla mücadelede kritik işlevler üstlenirler. Sitokinlerin fonksiyonlarının ve etkileşimlerinin anlaşılması, immünolojik hastalıkların patogenezinin ve tedavisinin anlaşılmasında önemli bir adımdır (2, 3).

Otoinflamatuvar hastalıklar, monogenik ve multifaktöriyel kalıtmalı, doğal bağışıklık sistemini içeren akut inflamatuvar ataklar ve heterojen semptomlarla seyreden, disregüle doğal bağışıklık ve inflamatuvar yanıt ile ilişki multiprotein sitoplazmik komplekslerin patogenezinde olduğu bir hastalık grubudur. Otoantikorların varlığı tanı, sınıflandırma veya tedavi açısından önemli bir rol oynamaz. Otoinflamatuvar tedavisinde,

immünosupresif ilaçlar etkili değildir ve bu hastalığın yönetiminde temel tedavi, hastalığın patogenezeine ve inflamasyona yöneliktir. Otoinflamatuvar hastalıkların en tipik örneği FMF'dir, gastroenteroloji bölümünde en yaygın gözlenen ise ÇH'dır (129, 130).

ÇH, genetik olarak yatkınlığı olan bireylerde glüten alımıyla tetiklenen otoimmün özelliklere sahip kalıcı bir otoinflamatuvar enteropatidir. Glüten, buğday-arpa ve çavdarda bulunur ve hastalığın tetikleyicisidir. ÇH, ince bağırsağın mukoza zarında inflamasyon ve villus atrofi ile karakterizedir, bu da besinlerin emiliminde bozulmaya yol açar. Glüten alımından sonra, gliadin peptidleri enterositlerden absorbe edildiğinde, subepitelyal lamina propriadaki doku transglutaminaz enzimi tarafından deamidasyon işlemine tabi tutulur. Bu işlem, gliadin peptidlerinin APC üzerindeki HLA-DQ2 veya HLA-DQ8 moleküllerine bağlanmasını kolaylaştırır ve bu peptidler CD4+ T lenfositlere sunulur. Aktivasyon sonrasında, bu T lenfositlerden salınan IFN- γ , IL-15 ve IL-21 gibi sitokinler mukozal inflamatuvar süreci hızlandırır. Aynı zamanda, lamina propriadaki B hücrelerini uyarak anti-gliadin ve anti-doku transglutaminaz antikorlarının salınımını sağlar. Öte yandan dendritik hücrelerden salınan IL'ler, intraepitelyal lenfositlerin aktivasyonuna ve sitotoksik yanıtların oluşmasına yol açarak epitelde stres yaratır. Bu adaptif immün reaksiyona ek olarak, epitelyal kompartmanda doğuştan gelen bir immün yanıt da gözlemlenir, bu yanıt patolojik olarak intraepitelyal lenfositoz ile karakterizedir. ÇH tedavinin ana dayanak halen glütensiz diyetle uyum olarak görülmektedir. Tedavi de immünosupresan ilaçlar kullanılmamaktadır (8, 147).

Otoimmün hastalıklar ise multifaktöriyel kalıtmalı, otoreaktif T ve B hücrelerinin aktive olması ve kendi dokularına karşı immün tolerans kaybına neden olan edinsel bağışıklık sisteminin bozulması olarak tanımlanır. Otoinflamatuvar hastalıkların aksine, otoantikorların varlığı hem sınıflandırma hem de tedavi planlaması açısından önemlidir (ref). Kortikosteroidler ve azatioprin gibi immünosupresif ilaçlar, otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılır ve otoantikorların yaptığı hasarı önleyerek, hastalığın ilerlemesini kontrol altına almada etkilidir. Otoimmün hastalıkların en tipik örneği, OİH'dir (135, 270).

OİH, karaciğerin kronik hastalığı olup, bağışıklık sisteminin karaciğer hücrelerine saldırması sonucu ortaya çıkar. OİH, hepatosellüler hasar, inflamasyon ve fibrozis ile karakterizedir. Klinik bulgular arasında yorgunluk, karın ağrısı, sarılık ve hepatomegali yer almaktadır. Laboratuvar testlerinde ise yüksek serum transaminaz seviyeleri, hipergamaglobulinemi ve otoantikör pozitifliği sıkça görülür. Ülkemizde kesin bir değer bilinmemekle birlikte, tüm kronik hepatitlerin %1.5-2'sini OİH'nin oluşturduğu tahmin edilmektedir. OİH'nin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte yapılan araştırmalar sonucunda genç ve yetişkin bireylerde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı gösterilmiştir. OİH patogenezinde aktif olan başlıca sitokinler şunlardır: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IL-21, IL-22, TNF- α ve IFN- γ . Bu sitokinler, hem doğal hem de edinsel bağışıklık tepkilerinde önemli rol oynar ve hastalığın ilerlemesinde kritik işlevlere sahiptirler. Otoantikörler, tanısal skorlama sistemine göre OİH tanısı ve sınıflandırılmasında önemli role sahiptirler. 2008 yılında Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu tarafından güncellenen tanı kriterlerinde, ANA veya SMA antikörlerinin pozitifliği, LKM-1 ve SLA/LP antikörlerinin varlığı, serum IgG veya gama-globulin düzeylerinin yüksekliği, karaciğer biyopsisi bulguları ve viral hepatit markerlarının negatif olması önemli kriterlerdir ve her birinin belirli bir puanlama sistemi vardır. Belirli bir puan eşliğini (kesin AIH için ≥ 7 , olası AIH için ≥ 6) aşan hastalarda, kesin veya olası OİH tanısı konulabilir. OİH tedavisinin ana amacı, bağışıklık sisteminin karaciğere saldırmasını engellemek ve karaciğerdeki inflamasyonu azaltmaktır. Bu nedenle, tedavi genellikle immünosupresif ilaçların kullanımını içerir. Tedavi almayan hastalarda, beş yıllık sağkalım oranı %32 iken, kortikosteroid tedavisi gören hastalarda bu oran %82 olarak belirlenmiştir. Erken tanı ve erken tedavi hayat kurtarıcıdır (10, 248, 253).

PBK ise, karaciğerin küçük safra kanallarını etkileyen kronik, progresif bir karaciğer hastalığıdır. Hastalık, safra kanallarında yavaş yavaş gelişen inflamasyon (kolanjit) ve destrüksiyon ile karakterizedir. Zamanla, bu inflamasyon fibrozis ve siroza ilerleyerek karaciğer fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. PBK hastalığı kadınlarda daha sık görülmektedir ve kadın/erkek oranı yaklaşık olarak 10/1 ile 6/1 arasında değişmektedir. PBK'nin kesin etiyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır, ancak hem genetik

hem de çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Erken evrede, genellikle asemptomatik seyretmektedir, Hastalığın evresine göre portal hipertansiyon, ksantomlar, yağda çözünen vitamin malabsorpsiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, malignite gibi bulgular ve semptomlar görülebilmektedir. PBK tanısı koymak için 3 kriterden en az ikisinin sağlanması gerekmektedir; ALP'nin normal üst sınırın 1,5 kat üzerinde olması (yetişkin referans değerler: 30-120 U/L), AMA pozitifliğinin 1/40 ya da daha yüksek titrelerde olması, histopatolojik olarak PBK ile uyumlu görünüm olmasıdır. PBK hastalarının %5-10'u AMA negatif oldukları unutulmamalıdır. PBK'nin en etkili tedavisi UDKA'dır. UDKA tedaviye yanıtızsız hastalara, Farnesoid X reseptör agonisti olan Obitikolik Asit (OKA) tedaviye kombine edilmektedir. Metotreksat, Kolşisin, Mikofenolat Mofetil, Siklosporin, Klorambusil ve immünsüpresif ilaçlar gibi birçok farklı ilaç üzerine çalışmalar yapılmış ancak istenilen sonuç elde edilmemiştir. İleri karaciğer hasarı için mevcut tek tedavi seçeneği, karaciğer naklidir (173, 179, 222).

PBK ve OİH arasındaki önemli farklılıklar, otoantikörlerin tanı ve tedavi süreçlerindeki rolünde ve immünosupresif ilaçların etkinliğinde belirginleşir. PBK'de ÇH gibi diğer otoinflatuar hastalıklarda olduğu gibi, otoantikörlerin varlığı tanı, sınıflandırma veya tedavi açısından önemli bir rol oynamaz ve otoantikör negatifliği durumunda bile PBK tanısı konulabilir. Buna karşın, OİH'de otoantikörlerin varlığı hem sınıflandırma hem de tedavi planlaması açısından kritiktir. PBK tedavisinde, immünosupresif ilaçlar etkili değildir ve bu hastalığın yönetiminde temel tedavi, UDCA ve OCA gibi safra asidi düzenleyici ilaçlardır. Buna karşın, OİH tedavisi immünosupresif ilaçlara dayanır; bu ilaçlar, bağışıklık sisteminin karaciğere saldırmasını engelleyerek inflamasyonu azaltır. Kortikosteroidler ve azatioprin gibi immünosupresif ilaçlar, OİH tedavisinde yaygın olarak kullanılır ve hastalığın ilerlemesini kontrol altına almada etkilidir (13, 222).

PBK tedavisindeki immünsüpresif ilaçların etkisizliği ve otoantikörlerin tanı ve tedavi sürecinde belirleyici bir öneme sahip olmaması, otoantikör negatifliğinde bile tanının koyulabilmesi, ek olarak otoantikör varlığının tedavi sürecini değiştirmemesi, bu hastalığın otoimmün hastalıktan ziyade otoinflatuar hastalığa daha uygun olduğunu

göstermektedir. Bu tez çalışmasında amacımız, otoimmün patogeneze örnek olarak OİH hastalarını ve otoinflamatuvar patogeneze örnek olarak ÇH hastalarını değerlendirerek, ELISA ve flow sitometri gibi yöntemlerle doğal ve edinsel bağışıklıkla ilişkili sitokinlerin ölçülerek, PBK hastalarının patogenezinin aydınlatılması ve bu patogenezdaki sitokinlerin tanı ve tedavide potansiyel marker ve/veya tedavi ajanı olarak kullanılabileceğinin gösterilmesidir.

Yaptığımız çalışmada, PBK ve çölyak hastalarına göre OİH hastalarında TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 (p=0.034), IL-17a, IL-23 (p=0.006) ve TLR 4 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu parametreler PBK hastalarında en düşük olmakla beraber, çölyak hastalarında orta düzey düşüklük göstermektedir.

İnflamatuvar yanıtların ana düzenleyicisi TNF- α , aktive edilmiş makrofajlar, T-lenfositler ve NK hücrelerden üretilen, inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde yer alan sitokindir (98, 99). Fizyolojik olarak, TNF- α , normal bir bağışıklık yanıtı için kritik bir sitokindir. Bağışıklık sistemini düzenlemek için aktive eder ve inflamatuvar molekülleri tetikler. OİH (290), RA (100), inflamatuvar bağırsak hastalığı (101), psöriatik artrit (PSA), psoriasis (PS)(102) ve enfeksiyöz olmayan üveit (NIU), TNF- α 'nın aşırı üretimiyle tetiklenir. Özetle, TNF- α , hem otoinflamatuvar hem de otoimmün hastalık patogenezinde, anahtar bir faktördür. Bizim çalışmamızda, PBK hastalarına göre, Çölyak hastalarında, TNF- α 'nın istatistiksel olarak yüksekliği gözlemlenmiştir (p=0.017).

IFN- γ , doğal bağışıklıkta makrofajlar, DC ve NK hücrelerinden, edinsel bağışıklıkta CD4+ Th1 T hücrelerinden üretilen (107-110), TNF- α gibi otoimmün hastalık patogenezinde anahtar bir faktördür. SLE, SS, polimiyozit (PM), dermatomiyozit (DM), sistemik skleroz (Ssc), RA, MS ve OİH (290) hastaların patogenezinde kritik önemi olup, IFN- γ salgılayan T hücrelerinin infiltrasyonu sonucu makrofaj aktivasyonu, inflamasyon ve doku hasarına yol açmaktadır (98, 111-114). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IFN- γ 'nın yüksekliği gözlemlenmiştir.

Kritik anti-inflamatuar rolü olan TGF- β 1, immün hücrelerin proliferasyonu, diferansiyasyonu, migrasyonu ve apoptozu düzenler. Bağışıklık yanıtının erken aşamasında hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırmada ve proinflamatuar sitokinlerin indüksiyonu ile inflamasyonu teşvik ederek, immün hücre homeostazı ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynar (115, 116). OİH hastalarında, aktif hastalık evrelerinde TGF- β 1 seviyelerinin önemli ölçüde yüksek olduğunu ancak remisyon döneminde bu rolün azaldığını gösterilmiştir (291). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, TGF- β 1'in yüksekliği gözlemlenmiştir.

IL-1 β , monositler, makrofajlar, DC, B lenfositler ve endotel hücrelerinden üretilen proinflamatuar sitokin olup, B ve T hücrelerin aktivasyonunu sağlar, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 gibi mediatörlerin salgılanmasını tetikler (31-38). Akut faz proteinlerinin ve adezyon moleküllerinin üretiminin artırılmasını, ateşi, anoreksiyi, katabolik etkileri indükler. Güçlü bir proinflamatuar sitokin olarak hem otoinflamatuar hem otoimmün hastalıkların patogeneğinde önemlidir ve potansiyel bir terapötik hedeftir (5, 6, 29). CAPS, FMF, PAPA sendromu, TRAPS veya HIDS gibi otoinflamatuar hastalıkların tedavisinde, anti-IL-1 β anakinra tedavisinin etkinliği gösterilmiştir (31-34). OİH hastalarında, serumda ve karaciğerde IL-1 β seviyeleri yükseldiği ve inflammatuar süreçte önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir, ayrıca IL-1 β , Th0 lenfositlerinin Th17 hücrelerine farklılaşmasını teşvik ederek inflammatuar yanıtı devam etmesine ve fibrozis gelişimine zemin hazırladığı gösterilmiştir (292, 293). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-1 β 'nın yüksekliği gözlemlenmiştir.

IL-6, endotel hücreleri, fibroblastlar ve mononükleer fagositik hücrelerden üretilen, JAK-STAT3 yolu üzerinden hepatositler ve B lenfositler üzerine etkili, inflammatuar hastalıkların tedavisi için ana hedef olarak kabul edilen pro-inflamatuar sitokindir, akut faz proteinlerinin ve IL-2 salınımını artırır, IL-1 ile TNF ile sinerjistik etki gösterir (5, 6, 43). IL-6, TGF β ile birlikte Th17 hücrelerini indükler. Th17 hücrelerinin IL-17 üretimi, otoimmünite, özellikle de OİH'te önemli bir rol oynar. Ayrıca, IL-6'nın RA, miyeloma, astım, atopik dermatit ve diğer iltihabi ve otoimmün hastalıkların şiddeti ile korele olduğu birçok çalışma tarafından belirlenmiştir. Otoimmüniteyle birlikte, IL-

6'nın 23 farklı kanser türünün prognozu ile ilişkilendirilmiştir (42, 294-296). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-6'nın yüksekliği gözlemlenmiştir.

IL-10, aktive B ve Th1-2 hücreleri, makrofajlar ve keratinositlerden üretilen, T hücrelerin sitokin yapımını baskılayan, antijen ile uyarılmış T hücre proliferasyonunu inhibe eder, makrofaj ve NK hücrelerinin aktivasyonunu engeller, TGF- β ile sinerjistik etki gösterir (6, 51). IFN- γ ile beraber IL-10 yapımını artırarak, doku harabiyetinin minimize edilmesini sağlar. IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını engelleyerek, GM-CSF ve G-CSF üretimini inhibe ederek, lökosit aktivasyonu ve inflamasyon bölgesine göçünü engeller (5, 6, 24, 52-59). Bu etkilerinden dolayı, IL-10 ekspresyonunun artışı, Myastenia gravis, SLE, RA, OİH, Polimiyozit ve Dermatomyozit, SS, Psöriasis, Pemfigus vulgaris gibi otoimmün hastalıklarda gösterilmiştir (60-67). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-10'un yüksekliği gözlemlenmiştir.

IL-12, T ve B lenfositler, NK hücreleri ve DC tarafından üretilerek, OİH patolojisinde Th 0 hücrelerinin Th 1'e dönüşmesine neden olmaktadır. CD ve psöriasis gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde, IL-12 inhibitörleri kullanılmaktadır (74). NK hücre aktivasyonu, IL-8 ve IFN- γ üretimi, Th1 hücrelerinin aktivasyonu ve IL-2 ile sitotoksik T hücre yanıtını indükleyen kritik bir sitokin olarak hücrel yanıtın önemli bir düzenleyicisidir (5, 6, 16, 68, 69). IL-12, IL-4'ün etkilerini baskılayarak, IFN- γ 'nın üretimini teşvik eder, IFN- γ üretimi IL-4 tarafından baskılanabilmektedir (70-73). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-12'nin yüksekliği gözlemlenmiştir. Bu yükseklik, OİH hastalarında, PBK hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.005$). Çölyak hastalarında ise IL-4'ün gruplar arasında en yüksek olduğu görülmüştür (PBK vs ÇH, $p=0.021$).

IL-17, özellikle aktive T hücreleri tarafından üretilen bir pro-inflamatuvar sitokindir (80, 81). RA, OİH, astım ve MS'un patogeneğinde dokuların homeostazında ve hastalığın ilerlemesinde, IL-17A ve Th17 hücreleri kritik rol oynar (79, 82). IL-1 β benzer olarak,

bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-17'nin yüksekliği gözlemlenmiştir (PBK vs ÇH, $p=0.002$).

IL-23, hem doğal hem de edinsel bağışıklıkta üretilir (94). Patojenik/antijenik bir karşılaşmanın erken yanıtında üretilir (95). NK hücrelerinin aktivasyonunda, T hücrelerinin proliferasyonunun artırılmasında ve antikör üretiminin düzenlenmesini sağlar (96, 97). IL-12 ailesindeki IL-23, aktive makrofajlar, DC'ler, KC'ler ve sinoviyositler tarafından üretilir, IL-17 ve IL-22 üreten hücreleri farklılaştırır ve uyarır (83, 84). RA'de inflamasyonu teşvik ederek (85), UC hastalık şiddetiyle korele (86) olarak otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıkların patogenezinde rol oynar. Benzer olarak, IL-17 ve IL-22, psöriazisde ve RA'da inflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri indükleyerek doku hasarına yol açar. IL-23, inflamatuvar yanıtın anahtar faktörüdür, patogeneizde hastalığı başlatır (86, 87). IL-1 β , IL-23 FLS'de artışına neden olur. TNF- α , KC'ler ve FLS'de IL-23 ekspresyonunu artırırken, makrofajlar ve DC'ler üzerinde ters bir etki göstererek, IL-23 ekspresyonunu azaltır. Benzer şekilde, IFN- γ ve IL-10, IL-23 ekspresyonunu düşürür (84, 88-93). Serum IL-23 seviyelerinin, UC, RA, ensefalomiyelit, psoriasis gibi otoimmün hastalıklarda artışı, potansiyel tedavi hedefi olabileceğini göstermiştir (85, 86, 297, 298). Bizim çalışmamızda, PBK ve Çölyak hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-23'ün yüksekliği gözlemlenmiştir (PBK vs OİH, $p=0.001$).

TLR'lerin, özellikle hücre dışı matriks patojenlerinin tanınmasında ve immün yanıtların düzenlenmesindeki öneminden dolayı, RA, EAE, MS ve SLE gibi otoimmün hastalıklarda, doğal bağışıklık sistemi, APC diferansiyonuyla edinsel bağışıklık aktivasyonu ve özellikle TLR'lerin patogenezindeki kritik rolü gösterilmiştir. İnflamasyonu teşvik etmek için makrofajların, nötrofillerin, NK hücrelerin ve DC'lerin inflamasyonu göç etmelerini ve sitokinlerin sentezini sağlarlar (299). NAFLD, ALD, viral hepatit, OİH, hepatik fibroz ve hepatosellüler kanser olmak üzere pekçok karaciğer hastalığının patogenezinde önemli bir rol oynarlar (117-119). Literatürde gösterildiği gibi, PBK ve Çölyak hastalarına göre, en yüksek TLR4 düzeyi, OİH hastalarımızda gözlenmiştir.

Çölyak ve OİH hastalarına göre, PBK hastalarında IL-2 en düşük ve IL-13 en yüksek düzeyde gözlenmektedir.

IL-2, aktive edilmiş CD4+ ve CD8+ T hücreleri tarafından üretilir, düzenleyici T hücrelerinin gelişimi, homeostazı ve fonksiyonunun teşvik edilmesinde önemli bir rol oynar (25-29). T ve B hücrelerinin proliferasyonunu sağlar, antikor yapımını indükler, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 gibi mediatörlerin salgılanmasını tetikler, nötrofillerin ve NK hücrelerinin sitotoksitesini artırır ve ayrıca otokrin etki ile kendi sentezini uyarabilir (6). IL-2 eksikliği, bağışıklık yanıtının çok yönlü bir şekilde düzensizliğine neden olur. OİH gibi otoimmün hastalığı olan hastalarda, IL-2 üretiminin azalması, düzenleyici T hücrelerinin üretiminin azalması, apoptozun azalması ve CTL sitotoksitesinin azalması gibi çeşitli bağışıklık defektlerini tetikler (39). Bizim çalışmamızda, PBK hastalarına göre, Çölyak hastalarında, IL-2'nin istatistiksel olarak yüksekliği gözlemlenmiştir (p=0.007). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, yine PBK hastalarına göre, OİH hastalarında, IL-2 yüksekliği görülmüştür.

IL-13, IL-4, IL-5 ve IL-10, Th2 hücrelerinden salgılanan sitokinlerdendir (75). IL-13, Th2 hücreleri, doğal öldürücü T hücreleri ve doğal bağışıklık hücreleri tarafından üretilen, RA, SLE, UC, OİH, astım, multipl skleroz ve ÇH gibi otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklarda artışı gösterilmiş bir sitokindir (78, 79) (79-82). Refrakter fazda ÇH'ında, lamina propria lenfositlerinde IL-13 artmış ve NK hücreleri, ÇH'nda %30 azalmasına rağmen, IL-13+ NK hücrelerinde %41 artış görülmüştür. Öte yandan, ÇH olan tedavi edilmemiş hastalarda, duodenal biyopsilerden elde edilen IL-13 gibi Th2 sitokinleri olan IL-4, IL-5 ve IL-10'un üretimi benzer şekilde tedavi edilmiş hastalarla ve kontrol grubunda düşüktür (40). Literatürle uyumlu olarak, tedavi sürecindeki PBK hastalarımızda, tedavi sürecindeki ÇH hastalarının immün profiline benzer IL-13 artışı gözlenmektedir. Ek olarak Th17 hücrelerinde, işlevsel IL-13 reseptörlerinin olması nedeniyle, IL-13'ün IL-17'nin üretimini azalttığını göstermişlerdir (76, 77). Literatürde gösterildiği gibi, en düşük IL-17 düzeyi PBK hastalarımızda gözlenmiştir.

PBK ve OİH hastalarına göre, çölyak hastalarında ise IL-4 en yüksek düzeyde gözlenmektedir.

B hücresi büyüme faktörü olan IL-4, Th2 lenfositler, sitotoksik T lenfositler, NK ve mast hücreleri tarafından üretilen sitokindir (300). OİH'de Th0 hücreler, IL-4 etkisi ile Th2'ye dönüşmesine ve hastalığın ilerlemesine neden olmaktadır (248, 252, 301, 302). IL-12, IL-4'ün etkilerini baskılayarak, IFN- γ 'nın üretimini teşvik eder, IFN- γ üretimi, IL-4 tarafından baskılanabilmektedir (70-73). Bu nedenle, ÇH hastalarımızda IL-4 yüksek düzeyde, OİH hastalarımızda da IL-12 ve IFN- γ yüksek düzeyde bulunmuştur.

IL-4 ve IL-13, alerjik sitokinlerdir, makrofajlarda MHC klas II üretimini aktive eder, mast hücrelerinin diferansiasyonunu, aktive B hücrelerinin proliferasyonunu ve IgE salınımını sağlar, Th1 oluşumunu IL-12 üretimini azaltarak baskılar, Th2 oluşumunu uyarır. Makrofajların fagositozunu artırır, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α inhibisyonu sağlar (5, 6). Hem PBK hastalarımızda IL-13 yüksekliği hem de Çölyak hastalarımızda IL-4 yüksekliği, iki hasta grubunun sitokin profili benzerliği göstererek, otoinflamatuvar patogeneze uygunluklarını düşündürmektedir. Benzer şekilde, UC hastalığında ise, Th2 yanıt sitokini olan IL-4 artışı, Crohn hastalığında ise, IFN- γ ve TNF- α gibi Th1 sitokinlerinin artışı gözlenir (40). Bizim çalışmamızda, PBK hastalarına göre, Çölyak hastalarında, IL-4'ün istatistiksel olarak yüksekliği gözlemlenmiştir ($p=0.0021$).

Kontrol grubuna göre, TLR 6 düzeyleri hasta gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermektedir ($p<0.001$).

TLR'ler, hem APC diferansiyonu üzerinden edinsel bağışıklık aktivasyonu ile otoimmün hastalıklarda hem de patojene ilk yanıt ile doğal bağışıklık sistemi aktivasyonu ile otoinflamatuvar hastalıklarda gösterilmektedir. Kontrol grubuna göre, tüm hasta gruplarında artışı, literatürle uyumludur.

PCA grafiğine bakıldığında, OİH'den farklı olarak, PBK ve ÇH'nda sitokin dağılımının benzer olduğu görülmektedir. OİH, doğal bağışıklıktan edinsel bağışıklığa doğru giden immün mekanizmalarla oluşan bir hastalık olduğu için, hem doğal hem

edinsel immünite kaynaklı sitokinlerin geniş profilini görmekteyiz. PBK ve ÇH'da primer doğal bağışıklığın baskın olmasından dolayı, PCA grafiğinde sitokin profilleri benzerdir.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, PBK hastalığının otoinflamatuvar bir hastalık olup olmadığını değerlendirmek amacıyla sitokin düzeyleri incelenmiş ve PCA analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, ÇH otoinflamatuvar bir hastalık olarak, OİH ise otoimmün hastalık olarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar, OİH ve Çölyak grubuna göre, PBK grubunun sitokin profillerinin diğer gruplardan belirgin şekilde farklı olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle TNF- α , IFN- γ , TGF β , IL1b, 2, 4, 6, 10, 12p70 (p=0.034), IL17a, IL23 (p=0.006) ve TLR4 düzeylerinde düşüklük ve IL-13'de yükseklik bulunmuştur.

OİH ve PBK grubuna göre, Çölyak grubunun sitokin profilinde ise IL-4 en yüksek ve IL-13 en düşük değerdedir. TNF- α , IFN- γ , TGF β , IL1b, 2, 6, 10, 12p70 (p=0.034), IL17a, IL23 (p=0.006) ve TLR4 düzeyleri, OİH en yüksekken, Çölyak grubu orta düzey, PBK en düşük düzeydedir.

Kontrol grubuna göre, TLR 6 düzeyleri hasta gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermektedir (p<0.001).

PBK ve OİH hastaları karşılaştırıldığında, OİH hastalarında TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70 (p=0.005), IL-17a, IL-23 (p=0.001) ve TLR 4 düzeyleri yüksek bulunmuştur. PBK hastarında ise IL-13 yüksekliği gözlenmiştir.

PBK ve Çölyak hastaları karşılaştırıldığında, Çölyak hastalarında TNF- α (p=0.017), IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-2 (p=0.007), IL-4 (p=0.021), IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17a (p=0.02), IL-23 ve TLR 4 düzeyleri yüksek bulunmuştur. PBK hastarında ise IL-13 yüksekliği gözlenmiştir.

PCA analizi ele alırsak, OİH'den farklı olarak, PBK ve ÇH'nda sitokin profillerinin benzer olduğu görülmektedir ve otoinflamatuvar hastalık patogenezini desteklemektedir.

PBK'nın otoinflamatuvar hastalık olarak sınıflandırılmasını desteklemek amacıyla daha geniş çaplı ve uzun süreli klinik çalışmalar yapılmalıdır. Otoimmün hastalıkların patogenezinde bahsettiğimiz gibi, doğal bağışıklıktan edinsel bağışıklığa doğru giden immün mekanizmalarla oluşan bu hastalıklarda hem doğal hem edinsel immünte kaynaklı sitokinleri, hastalık evresine göre göstermek mümkündür. Erken dönem otoimmün hastalıklarla, doğal bağışıklığın baskın olduğu otoinflamatuvar hastalıkların sitokin profili benzerlik gösterir. Bu nedenle, sitokin düzeylerinin, hastalığın farklı evrelerinde ölçülmesi (tedavi sürecindeki hastaların baseline değerlerinin olması) gerekmektedir, ayrıca sitokin profillerinin daha detaylı incelenmesi için ek biyobelirteçler ve inflamatuvar yanıtı modüle eden diğer moleküller üzerinde araştırmalar da yapılmalıdır. Hastalarımızda tedavi öncesi baseline sitokin düzeyleri ölçülmediği için, 20 adet sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiştir, fakat her ne kadar semptomatik enfeksiyonu ve anamnezinde otoimmün ya da otoinflamatuvar hastalığı olmayan sağlıklı kontroller seçilse de sitokin değerlerini değiştirebilecek, asemptomatik enfeksiyonlar ekarte edilememiştir.

Bu çalışmanın bulguları, Primer Biliyer Kolanjit'in otoinflamatuvar bir hastalık olarak değerlendirilmesine yönelik önemli kanıtlar sunmakta ve bu alanda yapılacak gelecekteki tanı ve tedavide marker ve potansiyel tedavi ajanı olarak kullanımı araştırmaları için temel oluşturmaktadır.

8. KAYNAKLAR

1. Songu M, Katilmis H. Immune system and protection from infections. Ent Updates. 2012;2(1):31-42 <https://doi.org/10.2399/jmu.2012001006>.
2. Lichtman AH, Abbas AK, Pillai S. Basic Immunology : Functions and Disorders of the Immune System e-book 4th Edition 2015.
3. Mayer G. İmmünoloji- Bölüm On Üç Sitokinler ve İmmünoregülasyon Çeviri: Yula, Erkan. 2016 [Available from: <https://www.microbiologybook.org/Turkish-immunol/immunolchapter13turk.htm>].
4. Denis R. Burton IMR, Peter J. Delves , Seamus J. Martin. Roitts Temel İmmünoloji: Atlas kitapçılık; 2008.
5. ÖZBAL PDY. Temel immunoloji: NOBEL TIP KİTABEVLERİ; 1994.
6. Kılıçturgay PDK. İmmünoloji: Güneş Tıp Kitabevi; 2003.
7. Caso F, Costa L, Nucera V, Barilaro G, Masala IF, Talotta R, et al. From autoinflammation to autoimmunity: old and recent findings. Clin Rheumatol. 2018;37(9):2305-21 <https://doi.org/10.1007/s10067-018-4209-9>.
8. Kalaycı Ag. Çölyak Hastalığı. Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2009;17(2) <https://doi.org/10.5835/jecm.v17i2.567>.
9. El-Shebiny EM, Zahran ES, Shoeib SA, Habib ES. Bridging autoinflammatory and autoimmune diseases. The Egyptian Journal of Internal Medicine. 2021;33(1):11 <https://doi.org/10.1186/s43162-021-00040-5>.
10. European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. J Hepatol. 2015;63(4):971-1004 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.030>.
11. Floreani A, Restrepo-Jimenez P, Secchi MF, De Martin S, Leung PSC, Krawitt E, et al. Etiopathogenesis of autoimmune hepatitis. J Autoimmun. 2018;95:133-43 <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2018.10.020>.
12. Donaldson PT. Genetics of liver disease: immunogenetics and disease pathogenesis. Gut. 2004;53(4):599-608 <https://doi.org/10.1136/gut.2003.031732>.
13. Scheuer PJ. Ludwig Symposium on biliary disorders--part II. Pathologic features and evolution of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. Mayo Clin Proc. 1998;73(2):179-83 <https://doi.org/10.4065/73.2.179>.
14. Beuers U, Trauner M, Jansen P, Poupon R. New paradigms in the treatment of hepatic cholestasis: from UDCA to FXR, PXR and beyond. J Hepatol. 2015;62(1 Suppl):S25-37 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.02.023>.
15. Gonzalez RS, Washington K. Primary Biliary Cholangitis and Autoimmune Hepatitis. Surg Pathol Clin. 2018;11(2):329-49 <https://doi.org/10.1016/j.path.2018.02.010>.
16. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology First Edition HBJ International ed1991.
17. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(2 Suppl 2):S24-32 <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.016>.
18. Barcena J, Blanco E. Design of novel vaccines based on virus-like particles or chimeric virions. Subcell Biochem. 2013;68:631-65 https://doi.org/10.1007/978-94-007-6552-8_21.

19. Loncar SR, Halcrow SE, Swales D. Osteoimmunology: The effect of autoimmunity on fracture healing and skeletal analysis. *Forensic Sci Int Synerg*. 2023;6:100326 <https://doi.org/10.1016/j.fsisyn.2023.100326>.
20. Glycopedia. Innate, Adaptative, Passive-Active Immunities: Glycopedia; 2015 [Available from: <https://glycopedia.eu/echapter/introduction-9/innate-adaptative-passive-active-immunities-2/>].
21. pharma i. innate pharma; 2019 [Available from: <https://www.innate-pharma.com/science/innate-immunity-nk-cells>].
22. Shah DD, Dave BP, Patel PA, Chorawala MR, Patel VN, Shah PA, Patel MP. Revamping the innate or innate-like immune cell-based therapy for hepatocellular carcinoma: new mechanistic insights and advanced opportunities. *Med Oncol*. 2023;40(2):84 <https://doi.org/10.1007/s12032-023-01948-4>.
23. Doan T, Melvold R, Viselli S, Valtenbaugh C. *Immunology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
24. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10(6):775-86.
25. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-8 <https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>.
26. Esquivel-Velazquez M, Ostoa-Saloma P, Palacios-Arreola MI, Nava-Castro KE, Castro JI, Morales-Montor J. The role of cytokines in breast cancer development and progression. *J Interferon Cytokine Res*. 2015;35(1):1-16 <https://doi.org/10.1089/jir.2014.0026>.
27. Behne T, Copur MS. Biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Int J Hepatol*. 2012;2012:859076 <https://doi.org/10.1155/2012/859076>.
28. Williams RO, Paleolog E, Feldmann M. Cytokine inhibitors in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 2007;7(4):412-7 <https://doi.org/10.1016/j.coph.2007.06.001>.
29. Oppenheim J, Ruscetti F, Faltynek C, Stites D, Terr A, Parslow T. *Basic and clinical immunology*. Prentice-Hall Norwalk NJ; 1991.
30. Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(4-5):323-40 [https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(02\)00020-5](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(02)00020-5).
31. Gattorno M, Pelagatti MA, Meini A, Obici L, Barcellona R, Federici S, et al. Persistent efficacy of anakinra in patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Arthritis Rheum*. 2008;58(5):1516-20 <https://doi.org/10.1002/art.23475>.
32. van der Hilst JCH, Bodar EJ, Barron KS, Frenkel J, Drenth JPH, van der Meer JWM, et al. Long-term follow-up, clinical features, and quality of life in a series of 103 patients with hyperimmunoglobulinemia D syndrome. *Medicine (Baltimore)*. 2008;87(6):301-10 <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e318190cfb7>.
33. Aksentijevich I, Masters SL, Ferguson PJ, Dancey P, Frenkel J, van Royen-Kerkhoff A, et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *N Engl J Med*. 2009;360(23):2426-37 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0807865>.
34. Reddy S, Jia S, Geoffrey R, Lorier R, Suchi M, Broeckel U, et al. An autoinflammatory disease due to homozygous deletion of the IL1RN locus. *N Engl J Med*. 2009;360(23):2438-44 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0809568>.
35. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Volund A, Ehses JA, Seifert B, et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2007;356(15):1517-26 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa065213>.

36. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Ehres JA, Donath MY, Mandrup-Poulsen T. Sustained effects of interleukin-1 receptor antagonist treatment in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(9):1663-8 <https://doi.org/10.2337/dc09-0533>.
37. Roell MK, Issafras H, Bauer RJ, Michelson KS, Mendoza N, Vanegas SI, et al. Kinetic approach to pathway attenuation using XOMA 052, a regulatory therapeutic antibody that modulates interleukin-1beta activity. *J Biol Chem*. 2010;285(27):20607-14 <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.115790>.
38. Lust JA, Lacy MQ, Zeldenrust SR, Dispenzieri A, Gertz MA, Witzig TE, et al. Induction of a chronic disease state in patients with smoldering or indolent multiple myeloma by targeting interleukin 1beta-induced interleukin 6 production and the myeloma proliferative component. *Mayo Clin Proc*. 2009;84(2):114-22 <https://doi.org/10.4065/84.2.114>.
39. Geng X, Zhang R, Yang G, Jiang W, Xu C. Interleukin-2 and autoimmune disease occurrence and therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012;16(11):1462-7.
40. Di Sabatino A, Giuffrida P, Fornasa G, Salvatore C, Vanoli A, Naviglio S, et al. Innate and adaptive immunity in self-reported nonceliac gluten sensitivity versus celiac disease. *Dig Liver Dis*. 2016;48(7):745-52 <https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.03.024>.
41. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986;324(6092):73-6 <https://doi.org/10.1038/324073a0>.
42. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol*. 2021;33(3):127-48 <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>.
43. Galun E, Rose-John S. The regenerative activity of interleukin-6. *Methods Mol Biol*. 2013;982:59-77 https://doi.org/10.1007/978-1-62703-308-4_4.
44. Coelho AL, Hogaboam CM, Kunkel SL. Chemokines provide the sustained inflammatory bridge between innate and acquired immunity. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2005;16(6):553-60 <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2005.03.004>.
45. Burke SM, Issekutz TB, Mohan K, Lee PW, Shmulevitz M, Marshall JS. Human mast cell activation with virus-associated stimuli leads to the selective chemotaxis of natural killer cells by a CXCL8-dependent mechanism. *Blood*. 2008;111(12):5467-76 <https://doi.org/10.1182/blood-2007-10-118547>.
46. Matsushima K, Morishita K, Yoshimura T, Lavu S, Kobayashi Y, Lew W, et al. Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J Exp Med*. 1988;167(6):1883-93 <https://doi.org/10.1084/jem.167.6.1883>.
47. Holck S, Norgaard A, Bennedsen M, Permin H, Norn S, Andersen LP. Gastric mucosal cytokine responses in *Helicobacter pylori*-infected patients with gastritis and peptic ulcers. Association with inflammatory parameters and bacteria load. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003;36(3):175-80 [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00028-2](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00028-2).
48. Gur-Toy G, Lenk N, Yalcin B, Aksaray S, Alli N. Serum interleukin-8 as a serologic marker of activity in Behcet's disease. *Int J Dermatol*. 2005;44(8):657-60 <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2004.02184.x>.
49. Durmazlar SP, Ulkar GB, Eskioglu F, Tatlican S, Mert A, Akgul A. Significance of serum interleukin-8 levels in patients with Behcet's disease: high levels may indicate vascular involvement. *Int J Dermatol*. 2009;48(3):259-64 <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2009.03905.x>.

50. Surmiak M, Kosalka-Wegiel J, Polanski S, Sanak M. Endothelial cells response to neutrophil-derived extracellular vesicles miRNAs in anti-PR3 positive vasculitis. *Clin Exp Immunol.* 2021;204(2):267-82 <https://doi.org/10.1111/cei.13581>.
51. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol.* 1997;15:675-705 <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.675>.
52. Liew FY. The role of nitric oxide in parasitic diseases. *Ann Trop Med Parasitol.* 1993;87(6):637-42 <https://doi.org/10.1080/00034983.1993.11812822>.
53. Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C. Macrophage deactivation by interleukin 10. *J Exp Med.* 1991;174(6):1549-55 <https://doi.org/10.1084/jem.174.6.1549>.
54. Mertz PM, DeWitt DL, Stetler-Stevenson WG, Wahl LM. Interleukin 10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. *J Biol Chem.* 1994;269(33):21322-9.
55. Takanashi S, Nonaka R, Xing Z, O'Byrne P, Dolovich J, Jordana M. Interleukin 10 inhibits lipopolysaccharide-induced survival and cytokine production by human peripheral blood eosinophils. *J Exp Med.* 1994;180(2):711-5 <https://doi.org/10.1084/jem.180.2.711>.
56. Kasama T, Strieter RM, Lukacs NW, Burdick MD, Kunkel SL. Regulation of neutrophil-derived chemokine expression by IL-10. *J Immunol.* 1994;152(7):3559-69.
57. Wang P, Wu P, Anthes JC, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukin-10 inhibits interleukin-8 production in human neutrophils. *Blood.* 1994;83(9):2678-83.
58. Cassatella MA, Meda L, Bonora S, Ceska M, Constantin G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1993;178(6):2207-11 <https://doi.org/10.1084/jem.178.6.2207>.
59. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med.* 1991;174(5):1209-20 <https://doi.org/10.1084/jem.174.5.1209>.
60. Bucht A, Larsson P, Weisbrot L, Thorne C, Pisa P, Smedegard G, et al. Expression of interferon-gamma (IFN-gamma), IL-10, IL-12 and transforming growth factor-beta (TGF-beta) mRNA in synovial fluid cells from patients in the early and late phases of rheumatoid arthritis (RA). *Clin Exp Immunol.* 1996;103(3):357-67 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1996.tb08288.x>.
61. Houssiau FA, Lefebvre C, Vanden Berghe M, Lambert M, Devogelaer JP, Renauld JC. Serum interleukin 10 titers in systemic lupus erythematosus reflect disease activity. *Lupus.* 1995;4(5):393-5 <https://doi.org/10.1177/096120339500400510>.
62. Zhang GX, Navikas V, Link H. Cytokines and the pathogenesis of myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 1997;20(5):543-51 [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4598\(199705\)20:5<543::aid-mus2>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4598(199705)20:5<543::aid-mus2>3.0.co;2-9).
63. Kallmann BA, Huther M, Tubes M, Feldkamp J, Bertrams J, Gries FA, et al. Systemic bias of cytokine production toward cell-mediated immune regulation in IDDM and toward humoral immunity in Graves' disease. *Diabetes.* 1997;46(2):237-43 <https://doi.org/10.2337/diab.46.2.237>.
64. Ohshima Y, Nakamura S, Matsuzaki G, Shinohara M, Hiroki A, Fujimura T, et al. Cytokine messenger RNA expression in the labial salivary glands of patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 1996;39(8):1376-84 <https://doi.org/10.1002/art.1780390816>.

65. Hagiwara E, Adams EM, Plotz PH, Klinman DM. Abnormal numbers of cytokine producing cells in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol*. 1996;14(5):485-91.
66. Michel G, Gailis A, Jarzebska-Deussen B, Muschen A, Mirmohammadsadegh A, Ruzicka T. 1,25-(OH)₂-vitamin D₃ and calcipotriol induce IL-10 receptor gene expression in human epidermal cells. *Inflamm Res*. 1997;46(1):32-4 <https://doi.org/10.1007/s000110050042>.
67. Wucherpfennig KW, Yu B, Bhol K, Monos DS, Argyris E, Karr RW, et al. Structural basis for major histocompatibility complex (MHC)-linked susceptibility to autoimmunity: charged residues of a single MHC binding pocket confer selective presentation of self-peptides in pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(25):11935-9 <https://doi.org/10.1073/pnas.92.25.11935>.
68. Jalah R, Rosati M, Ganneru B, Pilkington GR, Valentin A, Kulkarni V, et al. The p40 subunit of interleukin (IL)-12 promotes stabilization and export of the p35 subunit: implications for improved IL-12 cytokine production. *J Biol Chem*. 2013;288(9):6763-76 <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.436675>.
69. Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med*. 1989;170(3):827-45 <https://doi.org/10.1084/jem.170.3.827>.
70. Weiss JM, Subleski JJ, Wigginton JM, Wiltout RH. Immunotherapy of cancer by IL-12-based cytokine combinations. *Expert Opin Biol Ther*. 2007;7(11):1705-21 <https://doi.org/10.1517/14712598.7.11.1705>.
71. Tugues S, Burkhard SH, Ohs I, Vrohings M, Nussbaum K, Vom Berg J, et al. New insights into IL-12-mediated tumor suppression. *Cell Death Differ*. 2015;22(2):237-46 <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.134>.
72. Yuzhalin AE, Kutikhin AG. Interleukin-12: clinical usage and molecular markers of cancer susceptibility. *Growth Factors*. 2012;30(3):176-91 <https://doi.org/10.3109/08977194.2012.678843>.
73. Seo SH, Kim KS, Park SH, Suh YS, Kim SJ, Jeun SS, Sung YC. The effects of mesenchymal stem cells injected via different routes on modified IL-12-mediated antitumor activity. *Gene Ther*. 2011;18(5):488-95 <https://doi.org/10.1038/gt.2010.170>.
74. Nanni P, Nicoletti G, De Giovanni C, Landuzzi L, Di Carlo E, Cavallo F, et al. Combined allogeneic tumor cell vaccination and systemic interleukin 12 prevents mammary carcinogenesis in HER-2/neu transgenic mice. *J Exp Med*. 2001;194(9):1195-205 <https://doi.org/10.1084/jem.194.9.1195>.
75. McKenzie AN, Li X, Largaespada DA, Sato A, Kaneda A, Zurawski SM, et al. Structural comparison and chromosomal localization of the human and mouse IL-13 genes. *J Immunol*. 1993;150(12):5436-44.
76. Newcomb DC, Zhou W, Moore ML, Goleniewska K, Hershey GK, Kolls JK, Peebles RS, Jr. A functional IL-13 receptor is expressed on polarized murine CD4⁺ Th17 cells and IL-13 signaling attenuates Th17 cytokine production. *J Immunol*. 2009;182(9):5317-21 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803868>.
77. Newcomb DC, Boswell MG, Zhou W, Huckabee MM, Goleniewska K, Sevin CM, et al. Human TH17 cells express a functional IL-13 receptor and IL-13 attenuates IL-17A production. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(4):1006-13 e1-4 <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.043>.

78. Spadaro A, Rinaldi T, Riccieri V, Taccari E, Valesini G. Interleukin-13 in autoimmune rheumatic diseases: relationship with the autoantibody profile. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20(2):213-6.
79. Tokayer A, Carsons SE, Chokshi B, Santiago-Schwarz F. High levels of interleukin 13 in rheumatoid arthritis sera are modulated by tumor necrosis factor antagonist therapy: association with dendritic cell growth activity. *J Rheumatol*. 2002;29(3):454-61.
80. Rouvier E, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P. CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol*. 1993;150(12):5445-56.
81. Yao Z, Timour M, Painter S, Fanslow W, Spriggs M. Complete nucleotide sequence of the mouse CTLA8 gene. *Gene*. 1996;168(2):223-5 [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(95\)00778-4](https://doi.org/10.1016/0378-1119(95)00778-4).
82. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14(2):155-74 [https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(03\)00002-9](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(03)00002-9).
83. Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity*. 2000;13(5):715-25 [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)00070-4](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)00070-4).
84. Smits HH, van Beelen AJ, Hessle C, Westland R, de Jong E, Soeteman E, et al. Commensal Gram-negative bacteria prime human dendritic cells for enhanced IL-23 and IL-27 expression and enhanced Th1 development. *Eur J Immunol*. 2004;34(5):1371-80 <https://doi.org/10.1002/eji.200324815>.
85. Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, Kobashigawa T, Yamanaka H, Kotake S. IL-23 and Th17 Disease in Inflammatory Arthritis. *J Clin Med*. 2017;6(9) <https://doi.org/10.3390/jcm6090081>.
86. Mirsattari D, Seyyedmajidi M, Zojaji H, Haghazali M, Orimi PG, Shoushtarizadeh T, Almasi S. The relation between the level of interleukin-23 with duration and severity of ulcerative colitis. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2012;5(1):49-53.
87. Cayatte C, Joyce-Shaikh B, Vega F, Boniface K, Grein J, Murphy E, et al. Biomarkers of Therapeutic Response in the IL-23 Pathway in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Transl Gastroenterol*. 2012;3(2):e10 <https://doi.org/10.1038/ctg.2012.2>.
88. Liu W, Ouyang X, Yang J, Liu J, Li Q, Gu Y, et al. AP-1 activated by toll-like receptors regulates expression of IL-23 p19. *J Biol Chem*. 2009;284(36):24006-16 <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.025528>.
89. Qian X, Ning H, Zhang J, Hoft DF, Stumpo DJ, Blackshear PJ, Liu J. Posttranscriptional regulation of IL-23 expression by IFN-gamma through tristetraprolin. *J Immunol*. 2011;186(11):6454-64 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002672>.
90. Zakharova M, Ziegler HK. Paradoxical anti-inflammatory actions of TNF-alpha: inhibition of IL-12 and IL-23 via TNF receptor 1 in macrophages and dendritic cells. *J Immunol*. 2005;175(8):5024-33 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5024>.
91. Goldberg M, Nadiv O, Luknar-Gabor N, Agar G, Beer Y, Katz Y. Synergism between tumor necrosis factor alpha and interleukin-17 to induce IL-23 p19 expression in fibroblast-like synoviocytes. *Mol Immunol*. 2009;46(8-9):1854-9 <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.01.004>.
92. Liu FL, Chen CH, Chu SJ, Chen JH, Lai JH, Sytwu HK, Chang DM. Interleukin (IL)-23 p19 expression induced by IL-1beta in human fibroblast-like synoviocytes with rheumatoid arthritis

- via active nuclear factor-kappaB and AP-1 dependent pathway. *Rheumatology (Oxford)*. 2007;46(8):1266-73 <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kem055>.
93. Li H, Yao Q, Mariscal AG, Wu X, Hülse J, Pedersen E, et al. Epigenetic control of IL-23 expression in keratinocytes is important for chronic skin inflammation. *Nature communications*. 2018;9(1):1420.
 94. Langrish CL, McKenzie BS, Wilson NJ, de Waal Malefyt R, Kastelein RA, Cua DJ. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev*. 2004;202:96-105 <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00214.x>.
 95. Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, et al. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med*. 2006;203(11):2473-83 <https://doi.org/10.1084/jem.20061099>.
 96. Beadling C, Slifka MK. Regulation of innate and adaptive immune responses by the related cytokines IL-12, IL-23, and IL-27. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2006;54(1):15-24 <https://doi.org/10.1007/s00005-006-0002-6>.
 97. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem*. 2003;278(3):1910-4 <https://doi.org/10.1074/jbc.M207577200>.
 98. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008;214(2):149-60 <https://doi.org/10.1002/path.2287>.
 99. Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, Tsukamoto H, Shimoda T. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(7):1215-28 <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq031>.
 100. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*. 2015;302:2-22 <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.038>.
 101. Adegbola SO, Sahnan K, Warusavitarne J, Hart A, Tozer P. Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8) <https://doi.org/10.3390/ijms19082244>.
 102. Celis R, Cuervo A, Ramirez J, Canete JD. Psoriatic Synovitis: Singularity and Potential Clinical Implications. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:14 <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00014>.
 103. Lis K, Kuzawinska O, Balkowiec-Iskra E. Tumor necrosis factor inhibitors - state of knowledge. *Arch Med Sci*. 2014;10(6):1175-85 <https://doi.org/10.5114/aoms.2014.47827>.
 104. Raychaudhuri SP, Raychaudhuri SK. Biologics: target-specific treatment of systemic and cutaneous autoimmune diseases. *Indian J Dermatol*. 2009;54(2):100-9 <https://doi.org/10.4103/0019-5154.53175>.
 105. Dahmus J, Rosario M, Clarke K. Risk of Lymphoma Associated with Anti-TNF Therapy in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Implications for Therapy. *Clin Exp Gastroenterol*. 2020;13:339-50 <https://doi.org/10.2147/CEG.S237646>.
 106. Kotyla PJ. Bimodal Function of Anti-TNF Treatment: Shall We Be Concerned about Anti-TNF Treatment in Patients with Rheumatoid Arthritis and Heart Failure? *Int J Mol Sci*. 2018;19(6) <https://doi.org/10.3390/ijms19061739>.
 107. Billiau A, Matthys P. Interferon-gamma: a historical perspective. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20(2):97-113 <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2009.02.004>.
 108. Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Adv Immunol*. 2007;96:41-101 [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(07\)96002-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(07)96002-2).

109. Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:713-58
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.140942>.
110. Meyer O. Interferons and autoimmune disorders. *Joint Bone Spine.* 2009;76(5):464-73
<https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2009.03.012>.
111. Seery JP. IFN-gamma transgenic mice: clues to the pathogenesis of systemic lupus erythematosus? *Arthritis Res.* 2000;2(6):437-40 <https://doi.org/10.1186/ar124>.
112. Ronnblom L, Eloranta ML. The interferon signature in autoimmune diseases. *Curr Opin Rheumatol.* 2013;25(2):248-53 <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e32835c7e32>.
113. Baccala R, Gonzalez-Quintial R, Schreiber RD, Lawson BR, Kono DH, Theofilopoulos AN. Anti-IFN-alpha/beta receptor antibody treatment ameliorates disease in lupus-predisposed mice. *J Immunol.* 2012;189(12):5976-84 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201477>.
114. Hu X, Ivashkiv LB. Cross-regulation of signaling pathways by interferon-gamma: implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity.* 2009;31(4):539-50
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.09.002>.
115. Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-beta in T-cell biology. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(1):46-53 <https://doi.org/10.1038/nri704>.
116. Schmid P, Cox D, Bilbe G, Maier R, McMaster GK. Differential expression of TGF beta 1, beta 2 and beta 3 genes during mouse embryogenesis. *Development.* 1991;111(1):117-30
<https://doi.org/10.1242/dev.111.1.117>.
117. Testro AG, Visvanathan K. Toll-like receptors and their role in gastrointestinal disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24(6):943-54 <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.05854.x>.
118. Seki E, Brenner DA. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. *Hepatology.* 2008;48(1):322-35 <https://doi.org/10.1002/hep.22306>.
119. Chen Y, Sun R. Toll-like receptors in acute liver injury and regeneration. *Int Immunopharmacol.* 2011;11(10):1433-41 <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.04.023>.
120. Daubeuf B, Mathison J, Spiller S, Hugues S, Herren S, Ferlin W, et al. TLR4/MD-2 monoclonal antibody therapy affords protection in experimental models of septic shock. *J Immunol.* 2007;179(9):6107-14 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.9.6107>.
121. Kanzler H, Barrat FJ, Hessel EM, Coffman RL. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat Med.* 2007;13(5):552-9
<https://doi.org/10.1038/nm1589>.
122. Lin H, Xiao Y, Chen G, Fu D, Ye Y, Liang L, et al. HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin suppresses Toll-like receptor 2 ligand-induced activation of nuclear factor kappa B by preventing RhoA activation in monocytes from rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int.* 2011;31(11):1451-8 <https://doi.org/10.1007/s00296-010-1510-6>.
123. Su DL, Lu ZM, Shen MN, Li X, Sun LY. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:347141
<https://doi.org/10.1155/2012/347141>.
124. Nedeva C. Inflammation and Cell Death of the Innate and Adaptive Immune System during Sepsis. *Biomolecules.* 2021;11(7) <https://doi.org/10.3390/biom11071011>.
125. Ben-Chetrit E, Gattorno M, Gul A, Kastner DL, Lachmann HJ, Touitou I, Ruperto N. Consensus proposal for taxonomy and definition of the autoinflammatory diseases (AIDs): a Delphi study. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2018;77(11):1558-65
<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-212515>.

126. De Luca F, Shoenfeld Y. The microbiome in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol*. 2019;195(1):74-85 <https://doi.org/10.1111/cei.13158>.
127. van Kempen TS, Wenink MH, Leijten EF, Radstake TR, Boes M. Perception of self: distinguishing autoimmunity from autoinflammation. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(8):483-92 <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.60>.
128. Doria A, Zen M, Bettio S, Gatto M, Bassi N, Nalotto L, et al. Autoinflammation and autoimmunity: bridging the divide. *Autoimmun Rev*. 2012;12(1):22-30 <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.07.018>.
129. Hausmann JS. Targeting cytokines to treat autoinflammatory diseases. *Clin Immunol*. 2019;206:23-32 <https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.10.016>.
130. Marcuzzi A, Melloni E, Zauli G, Romani A, Secchiero P, Maximova N, Rimondi E. Autoinflammatory Diseases and Cytokine Storms-Imbalances of Innate and Adaptive Immunity. *Int J Mol Sci*. 2021;22(20) <https://doi.org/10.3390/ijms222011241>.
131. Havnaer A, Han G. Autoinflammatory Disorders: A Review and Update on Pathogenesis and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2019;20(4):539-64 <https://doi.org/10.1007/s40257-019-00440-y>.
132. Sanchez-Solares J, Sanchez L, Pablo-Torres C, Diaz-Fernandez C, Sorensen P, Barber D, Gomez-Casado C. Celiac Disease Causes Epithelial Disruption and Regulatory T Cell Recruitment in the Oral Mucosa. *Front Immunol*. 2021;12:623805 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.623805>.
133. Covelli C, Sacchi D, Sarcognato S, Cazzagon N, Grillo F, Baciocchi F, et al. Pathology of autoimmune hepatitis. *Pathologica*. 2021;113(3):185-93 <https://doi.org/10.32074/1591-951X-241>.
134. Davidson A, Diamond B. General Features of Autoimmune Disease. *The Autoimmune Diseases*. 2020.
135. Amaya-Urbe L, Rojas M, Azizi G, Anaya JM, Gershwin ME. Primary immunodeficiency and autoimmunity: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2019;99:52-72 <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.01.011>.
136. Zhang P, Lu Q. Genetic and epigenetic influences on the loss of tolerance in autoimmunity. *Cell Mol Immunol*. 2018;15(6):575-85 <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.137>.
137. Parikh NS, Merkler AE, Iadecola C. Inflammation, Autoimmunity, Infection, and Stroke: Epidemiology and Lessons From Therapeutic Intervention. *Stroke*. 2020;51(3):711-8 <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.119.024157>.
138. ÖKTEN A, DEMİR K, KAYMAKOĞLU S, ÇAKALOĞLU Y, DİNÇER D, BEŞİŞİK F. Kronik hepatitlerin etyolojik dağılımı. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 1998;9(2):113-5.
139. Dalgic B, Sari S, Basturk B, Ensari A, Egritas O, Bukulmez A, et al. Prevalence of celiac disease in healthy Turkish school children. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(8):1512-7 <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.183>.
140. Rubio-Tapia A, Hill ID, Semrad C, Kelly CP, Greer KB, Limketkai BN, Lebwohl B. American College of Gastroenterology Guidelines Update: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol*. 2023;118(1):59-76 <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000002075>.
141. Losowsky MS. A history of coeliac disease. *Dig Dis*. 2008;26(2):112-20 <https://doi.org/10.1159/000116768>.
142. Sakula J, Shiner M. Coeliac disease with atrophy of the small-intestine mucosa. *Lancet*. 1957;273(7001):876-7 [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(57\)90010-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(57)90010-7).

143. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S, et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*. 2003;362(9377):30-7 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13803-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13803-2).
144. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M, Louka AS, Clot F, Percopo S, et al. HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens*. 2004;63(6):562-7 <https://doi.org/10.1111/j.0001-2815.2004.00237.x>.
145. Maruntelu I, Preda CM, Sandra I, Istratescu D, Chifulescu AE, Manuc M, et al. HLA Genotyping in Romanian Adult Patients with Celiac Disease, their First-degree Relatives and Healthy Persons. *J Gastrointest Liver Dis*. 2022;31(2):191-7 <https://doi.org/10.15403/jgld-4187>.
146. DeGeorge KC, Frye JW, Stein KM, Rollins LK, McCarter DF. Celiac Disease and Gluten Sensitivity. *Prim Care*. 2017;44(4):693-707 <https://doi.org/10.1016/j.pop.2017.07.011>.
147. Manavalan JS, Hernandez L, Shah JG, Konikkara J, Naiyer AJ, Lee AR, et al. Serum cytokine elevations in celiac disease: association with disease presentation. *Hum Immunol*. 2010;71(1):50-7 <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.09.351>.
148. Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology*. 2005;128(4 Suppl 1):S10-8 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.008>.
149. Shiner M. Small intestinal biopsy: diagnostic and research value. *Proc R Soc Med*. 1959;52(1):10-4.
150. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo I, Kurppa K, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, et al. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020;70(1):141-56 <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002497>.
151. Li M, Yu L, Tiberti C, Bonamico M, Taki I, Miao D, et al. A report on the International Transglutaminase Autoantibody Workshop for Celiac Disease. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(1):154-63 <https://doi.org/10.1038/ajg.2008.8>.
152. Jabri B, Sollid LM. Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(12):858-70 <https://doi.org/10.1038/nri2670>.
153. Leffler DA, Schuppan D. Update on serologic testing in celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(12):2520-4 <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.276>.
154. Hopper AD, Cross SS, Sanders DS. Patchy villous atrophy in adult patients with suspected gluten-sensitive enteropathy: is a multiple duodenal biopsy strategy appropriate? *Endoscopy*. 2008;40(3):219-24 <https://doi.org/10.1055/s-2007-995361>.
155. Lebwohl B, Tennyson CA, Holub JL, Lieberman DA, Neugut AI, Green PH. Sex and racial disparities in duodenal biopsy to evaluate for celiac disease. *Gastrointest Endosc*. 2012;76(4):779-85 <https://doi.org/10.1016/j.gie.2012.05.011>.
156. Evans KE, Aziz I, Cross SS, Sahota GR, Hopper AD, Hadjivassiliou M, Sanders DS. A prospective study of duodenal bulb biopsy in newly diagnosed and established adult celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(10):1837-742 <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.171>.
157. Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, Lahr BD, Wu TT, Murray JA. Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(6):1412-20 <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.10>.
158. Lebwohl B, Granath F, Ekblom A, Smedby KE, Murray JA, Neugut AI, et al. Mucosal healing and risk for lymphoproliferative malignancy in celiac disease: a population-based

- cohort study. *Ann Intern Med*. 2013;159(3):169-75 <https://doi.org/10.7326/0003-4819-159-3-201308060-00006>.
159. Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekbom A, Brandt L, Granath F. Small-intestinal histopathology and mortality risk in celiac disease. *JAMA*. 2009;302(11):1171-8 <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1320>.
 160. Illus T, Kaukinen K, Virta LJ, Huhtala H, Maki M, Kurppa K, et al. Refractory coeliac disease in a country with a high prevalence of clinically-diagnosed coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(4):418-25 <https://doi.org/10.1111/apt.12606>.
 161. Ahrens EH, Jr., Payne MA, Kunkel HG, Eisenmenger WJ, Blondheim SH. Primary biliary cirrhosis. *Medicine (Baltimore)*. 1950;29(4):299-364 <https://doi.org/10.1097/00005792-195012000-00002>.
 162. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S. Serological Tests in Diagnosis of Primary Biliary Cirrhosis. *Lancet*. 1965;1(7390):827-31 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(65\)91372-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(65)91372-3).
 163. Beuers U, Gershwin ME, Gish RG, Invernizzi P, Jones DE, Lindor K, et al. Changing Nomenclature for PBC: From 'Cirrhosis' to 'Cholangitis'. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(11):1536-8 <https://doi.org/10.1038/ajg.2015.312>.
 164. Kim WR, Lindor KD, Locke GR, 3rd, Therneau TM, Homburger HA, Batts KP, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology*. 2000;119(6):1631-6 <https://doi.org/10.1053/gast.2000.20197>.
 165. Lleo A, Jepsen P, Morenghi E, Carbone M, Moroni L, Battezzati PM, et al. Evolving Trends in Female to Male Incidence and Male Mortality of Primary Biliary Cholangitis. *Sci Rep*. 2016;6:25906 <https://doi.org/10.1038/srep25906>.
 166. Selmi C, Bowlus CL, Gershwin ME, Coppel RL. Primary biliary cirrhosis. *Lancet*. 2011;377(9777):1600-9 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61965-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61965-4).
 167. Lleo A, Colapietro F. Changes in the Epidemiology of Primary Biliary Cholangitis. *Clin Liver Dis*. 2018;22(3):429-41 <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.03.001>.
 168. Sood S, Gow PJ, Christie JM, Angus PW. Epidemiology of primary biliary cirrhosis in Victoria, Australia: high prevalence in migrant populations. *Gastroenterology*. 2004;127(2):470-5 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.04.064>.
 169. Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ, American Association for Study of Liver D. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2009;50(1):291-308 <https://doi.org/10.1002/hep.22906>.
 170. Dahlan Y, Smith L, Simmonds D, Jewell LD, Wanless I, Heathcote EJ, Bain VG. Pediatric-onset primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2003;125(5):1476-9 <https://doi.org/10.1016/j.gastro.2003.08.022>.
 171. Tsuji K, Watanabe Y, Van De Water J, Nakanishi T, Kajiyama G, Parikh-Patel A, et al. Familial primary biliary cirrhosis in Hiroshima. *J Autoimmun*. 1999;13(1):171-8 <https://doi.org/10.1006/jaut.1999.0299>.
 172. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 2005;353(12):1261-73 <https://doi.org/10.1056/NEJMra043898>.
 173. Cheung AC, LaRusso NF, Gores GJ, Lazaridis KN. Epigenetics in the Primary Biliary Cholangitis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Semin Liver Dis*. 2017;37(2):159-74 <https://doi.org/10.1055/s-0037-1603324>.
 174. Selmi C, Mayo MJ, Bach N, Ishibashi H, Invernizzi P, Gish RG, et al. Primary biliary cirrhosis in monozygotic and dizygotic twins: genetics, epigenetics, and environment. *Gastroenterology*. 2004;127(2):485-92 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.05.005>.

175. Rieger R, Gershwin ME. The X and why of xenobiotics in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun.* 2007;28(2-3):76-84 <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2007.02.003>.
176. Hirschfield GM, Liu X, Xu C, Lu Y, Xie G, Lu Y, et al. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants. *N Engl J Med.* 2009;360(24):2544-55 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810440>.
177. Hirschfield GM, Liu X, Han Y, Gorlov IP, Lu Y, Xu C, et al. Variants at IRF5-TNPO3, 17q12-21 and MMEL1 are associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet.* 2010;42(8):655-7 <https://doi.org/10.1038/ng.631>.
178. Liu X, Invernizzi P, Lu Y, Kosoy R, Lu Y, Bianchi I, et al. Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet.* 2010;42(8):658-60 <https://doi.org/10.1038/ng.627>.
179. Kar SP, Seldin MF, Chen W, Lu E, Hirschfield GM, Invernizzi P, et al. Pathway-based analysis of primary biliary cirrhosis genome-wide association studies. *Genes Immun.* 2013;14(3):179-86 <https://doi.org/10.1038/gene.2013.1>.
180. Donaldson PT, Baragiotta A, Heneghan MA, Floreani A, Venturi C, Underhill JA, et al. HLA class II alleles, genotypes, haplotypes, and amino acids in primary biliary cirrhosis: a large-scale study. *Hepatology.* 2006;44(3):667-74 <https://doi.org/10.1002/hep.21316>.
181. Bogdanos DP, Baum H, Grasso A, Okamoto M, Butler P, Ma Y, et al. Microbial mimics are major targets of crossreactivity with human pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2004;40(1):31-9 [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(03\)00501-4](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(03)00501-4).
182. Ohno N, Ota Y, Hatakeyama S, Yanagimoto S, Morisawa Y, Tsukada K, et al. A patient with E. coli-induced pyelonephritis and sepsis who transiently exhibited symptoms associated with primary biliary cirrhosis. *Intern Med.* 2003;42(11):1144-8 <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.42.1144>.
183. Selmi C, Balkwill DL, Invernizzi P, Ansari AA, Coppel RL, Podda M, et al. Patients with primary biliary cirrhosis react against a ubiquitous xenobiotic-metabolizing bacterium. *Hepatology.* 2003;38(5):1250-7 <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50446>.
184. Abdulkarim AS, Petrovic LM, Kim WR, Angulo P, Lloyd RV, Lindor KD. Primary biliary cirrhosis: an infectious disease caused by Chlamydia pneumoniae? *J Hepatol.* 2004;40(3):380-4 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2003.11.033>.
185. Harada K, Tsuneyama K, Sudo Y, Masuda S, Nakanuma Y. Molecular identification of bacterial 16S ribosomal RNA gene in liver tissue of primary biliary cirrhosis: is Propionibacterium acnes involved in granuloma formation? *Hepatology.* 2001;33(3):530-6 <https://doi.org/10.1053/jhep.2001.22653>.
186. Kim KA, Kim YS, Park SH, Chung WJ, Choi DH, Jang ES, Jeong SH. Environmental risk factors and comorbidities of primary biliary cholangitis in Korea: a case-control study. *Korean J Intern Med.* 2021;36(2):313-21 <https://doi.org/10.3904/kjim.2019.234>.
187. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology.* 2005;42(5):1194-202 <https://doi.org/10.1002/hep.20907>.
188. Amano K, Leung PS, Rieger R, Quan C, Wang X, Marik J, et al. Chemical xenobiotics and mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis: identification of antibodies against a common environmental, cosmetic, and food additive, 2-octynoic acid. *J Immunol.* 2005;174(9):5874-83 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.9.5874>.
189. Juran BD, Lazaridis KN. Environmental factors in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2014;34(3):265-72 <https://doi.org/10.1055/s-0034-1383726>.

190. Corpechot C, Chretien Y, Chazouilleres O, Poupon R. Demographic, lifestyle, medical and familial factors associated with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2010;53(1):162-9 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.02.019>.
191. Gulamhusein AF, Hirschfield GM. Pathophysiology of primary biliary cholangitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2018;34-35:17-25 <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2018.05.012>.
192. Huet PM, Deslauriers J, Tran A, Faucher C, Charbonneau J. Impact of fatigue on the quality of life of patients with primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(3):760-7 <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.01857.x>.
193. Beuers U, Kremer AE, Bolier R, Elferink RP. Pruritus in cholestasis: facts and fiction. *Hepatology*. 2014;60(1):399-407 <https://doi.org/10.1002/hep.26909>.
194. Fleming CR, Dickson ER, Hollenhorst RW, Goldstein NP, McCall JT, Baggenstoss AH. Pigmented corneal rings in a patient with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1975;69(1):220-5.
195. Watt FE, James OF, Jones DE. Patterns of autoimmunity in primary biliary cirrhosis patients and their families: a population-based cohort study. *QJM*. 2004;97(7):397-406 <https://doi.org/10.1093/qjmed/hch078>.
196. Long RG, Scheuer PJ, Sherlock S. Presentation and course of asymptomatic primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1977;72(6):1204-7.
197. Koulentaki M, Ioannidou D, Stefanidou M, Maraki S, Drigiannakis I, Dimoulis P, et al. Dermatological manifestations in primary biliary cirrhosis patients: a case control study. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(3):541-6 <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00423.x>.
198. Lindor KD, Bowlus CL, Boyer J, Levy C, Mayo M. Primary Biliary Cholangitis: 2018 Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2019;69(1):394-419 <https://doi.org/10.1002/hep.30145>.
199. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A. Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology*. 1989;10(1):1-7 <https://doi.org/10.1002/hep.1840100102>.
200. Poupon R. Liver alkaline phosphatase: a missing link between cholestasis and biliary inflammation. *Hepatology*. 2015;61(6):2080-90 <https://doi.org/10.1002/hep.27715>.
201. Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cancado EL, Mackay IR, Manns MP, et al. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol*. 2004;41(4):677-83 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.08.002>.
202. Nishio A, Keeffe EB, Ishibashi H, Gershwin EM. Diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis. *Med Sci Monit*. 2000;6(1):181-93.
203. Bjornsson E, Kalaitzakis E, Neuhauser M, Enders F, Maetzel H, Chapman RW, et al. Fatigue measurements in patients with primary biliary cirrhosis and the risk of mortality during follow-up. *Liver Int*. 2010;30(2):251-8 <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2009.02160.x>.
204. European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol*. 2009;51(2):237-67 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.04.009>.
205. Metcalf JV, Mitchison HC, Palmer JM, Jones DE, Bassendine MF, James OF. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet*. 1996;348(9039):1399-402 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)04410-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)04410-8).

206. Idilman IS, Venkatesh SH, Eaton JE, Bolan CW, Osman KT, Maselli DB, et al. Magnetic resonance imaging features in 283 patients with primary biliary cholangitis. *Eur Radiol*. 2020;30(9):5139-48 <https://doi.org/10.1007/s00330-020-06855-0>.
207. Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS. Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis). *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1978;379(2):103-12 <https://doi.org/10.1007/BF00432479>.
208. European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee, European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol*. 2017;67(1):145-72 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.022>.
209. Kakuda Y, Harada K, Sawada-Kitamura S, Ikeda H, Sato Y, Sasaki M, et al. Evaluation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. *Hum Pathol*. 2013;44(6):1107-17 <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.09.017>.
210. Il'ichenko L, Golovanova EV, Tsaregorodtseva TM, Serova TI, Gudkova RB. [Current understanding of primary biliary cirrhosis]. *Ter Arkh*. 2005;77(2):50-4.
211. Hu C, Deng C, Song G, Zhang W, Zhang S, Li X, et al. Prevalence of autoimmune liver disease related autoantibodies in Chinese patients with primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2011;56(11):3357-63 <https://doi.org/10.1007/s10620-011-1756-1>.
212. Kleiner DE. Drug-induced Liver Injury: The Hepatic Pathologist's Approach. *Gastroenterol Clin North Am*. 2017;46(2):273-96 <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2017.01.004>.
213. Chang CY, Schiano TD. Review article: drug hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25(10):1135-51 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03307.x>.
214. Chazouilleres O, Wendum D, Serfaty L, Montembault S, Rosmorduc O, Poupon R. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology*. 1998;28(2):296-301 <https://doi.org/10.1002/hep.510280203>.
215. Poupon R, Chazouilleres O, Corpechot C, Chretien Y. Development of autoimmune hepatitis in patients with typical primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2006;44(1):85-90 <https://doi.org/10.1002/hep.21229>.
216. Saksena S, Tandon RK. Ursodeoxycholic acid in the treatment of liver diseases. *Postgrad Med J*. 1997;73(856):75-80 <https://doi.org/10.1136/pgmj.73.856.75>.
217. Lindor KD, Jorgensen RA, Therneau TM, Malinchoc M, Dickson ER. Ursodeoxycholic acid delays the onset of esophageal varices in primary biliary cirrhosis. *Mayo Clin Proc*. 1997;72(12):1137-40 <https://doi.org/10.4065/72.12.1137>.
218. Corpechot C, Carrat F, Bonnard AM, Poupon RE, Poupon R. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on liver fibrosis progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2000;32(6):1196-9 <https://doi.org/10.1053/jhep.2000.20240>.
219. Lammers WJ, van Buuren HR, Hirschfield GM, Janssen HL, Invernizzi P, Mason AL, et al. Levels of alkaline phosphatase and bilirubin are surrogate end points of outcomes of patients with primary biliary cirrhosis: an international follow-up study. *Gastroenterology*. 2014;147(6):1338-49 e5; quiz e15 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.08.029>.
220. Corpechot C, Chazouilleres O, Poupon R. Early primary biliary cirrhosis: biochemical response to treatment and prediction of long-term outcome. *J Hepatol*. 2011;55(6):1361-7 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.02.031>.
221. Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 6th ed 2018.

222. Nevens F, Andreone P, Mazzella G, Strasser SI, Bowlus C, Invernizzi P, et al. A Placebo-Controlled Trial of Obeticholic Acid in Primary Biliary Cholangitis. *N Engl J Med*. 2016;375(7):631-43 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1509840>.
223. Younossi ZM, Stepanova M, Ong J, Trimble G, AlQahtani S, Younossi I, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Is the Most Rapidly Increasing Indication for Liver Transplantation in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021;19(3):580-9 e5 <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.05.064>.
224. Sylvestre PB, Batts KP, Burgart LJ, Poterucha JJ, Wiesner RH. Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation: Histologic estimate of incidence and natural history. *Liver Transpl*. 2003;9(10):1086-93 <https://doi.org/10.1053/jlts.2003.50213>.
225. Christensen E, Neuberger J, Crowe J, Portmann B, Williams R, Altman DG, et al. Azathioprine and prognosis in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1986;90(2):508-9 [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(86\)90972-8](https://doi.org/10.1016/0016-5085(86)90972-8).
226. Angulo P, Batts KP, Therneau TM, Jorgensen RA, Dickson ER, Lindor KD. Long-term ursodeoxycholic acid delays histological progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1999;29(3):644-7 <https://doi.org/10.1002/hep.510290301>.
227. Pares A, Caballeria L, Rodes J. Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic Acid. *Gastroenterology*. 2006;130(3):715-20 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.12.029>.
228. Roll J, Boyer JL, Barry D, Klatskin G. The prognostic importance of clinical and histologic features in asymptomatic and symptomatic primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 1983;308(1):1-7 <https://doi.org/10.1056/NEJM198301063080101>.
229. Trivedi PJ, Bruns T, Cheung A, Li KK, Kittler C, Kumagi T, et al. Optimising risk stratification in primary biliary cirrhosis: AST/platelet ratio index predicts outcome independent of ursodeoxycholic acid response. *J Hepatol*. 2014;60(6):1249-58 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.01.029>.
230. Lammers WJ, Hirschfield GM, Corpechot C, Nevens F, Lindor KD, Janssen HL, et al. Development and Validation of a Scoring System to Predict Outcomes of Patients With Primary Biliary Cirrhosis Receiving Ursodeoxycholic Acid Therapy. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1804-12 e4 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.061>.
231. Carbone M, Sharp SJ, Flack S, Paximadas D, Spiess K, Adgey C, et al. The UK-PBC risk scores: Derivation and validation of a scoring system for long-term prediction of end-stage liver disease in primary biliary cholangitis. *Hepatology*. 2016;63(3):930-50 <https://doi.org/10.1002/hep.28017>.
232. Waldenstrom J. [Liver, blood proteins and food proteins]. *Dtsch Z Verdau Stoffwechselkr*. 1952;12(Spec No):113-21.
233. Manns MP, Strassburg CP. Autoimmune hepatitis: clinical challenges. *Gastroenterology*. 2001;120(6):1502-17 <https://doi.org/10.1053/gast.2001.24227>.
234. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology*. 1993;18(4):998-1005 <https://doi.org/10.1002/hep.1840180435>.
235. McFarlane IG. Autoimmune hepatitis: Clinical manifestations and diagnostic criteria. *Can J Gastroenterol*. 2001;15(2):107-13 <https://doi.org/10.1155/2001/279637>.
236. Schalm SW, Ammon HV, Summerskill WH. Failure of customary treatment in chronic active liver disease: causes and management. *Ann Clin Res*. 1976;8(3):221-7.

237. Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010;51(6):2193-213
<https://doi.org/10.1002/hep.23584>.
238. Boberg KM, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N, Stiris M, Bell H. Incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis in a Norwegian population. *Scand J Gastroenterol*. 1998;33(1):99-103
<https://doi.org/10.1080/00365529850166284>.
239. Ngu JH, Bechly K, Chapman BA, Burt MJ, Barclay ML, Gearry RB, Stedman CA. Population-based epidemiology study of autoimmune hepatitis: a disease of older women? *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(10):1681-6 <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2010.06384.x>.
240. Lee YM, Teo EK, Ng TM, Khor C, Fock KM. Autoimmune hepatitis in Singapore: a rare syndrome affecting middle-aged women. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001;16(12):1384-9
<https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2001.02646.x>.
241. Delgado JS, Vodonos A, Malnick S, Kriger O, Wilkof-Segev R, Delgado B, et al. Autoimmune hepatitis in southern Israel: a 15-year multicenter study. *J Dig Dis*. 2013;14(11):611-8 <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12085>.
242. Donaldson PT. Genetics of autoimmune and viral liver diseases; understanding the issues. *J Hepatol*. 2004;41(2):327-32 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.06.001>.
243. Francque S, Vonghia L, Ramon A, Michielsen P. Epidemiology and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepat Med*. 2012;4:1-10 <https://doi.org/10.2147/HMER.S16321>.
244. Czaja AJ, Doherty DG, Donaldson PT. Genetic bases of autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci*. 2002;47(10):2139-50 <https://doi.org/10.1023/a:1020166605016>.
245. Czaja AJ, Strettell MD, Thomson LJ, Santrach PJ, Moore SB, Donaldson PT, Williams R. Associations between alleles of the major histocompatibility complex and type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1997;25(2):317-23 <https://doi.org/10.1002/hep.510250211>.
246. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Significance of HLA DR4 in type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 1993;105(5):1502-7 [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(93\)90157-8](https://doi.org/10.1016/0016-5085(93)90157-8).
247. Ma Y, Bogdanos DP, Hussain MJ, Underhill J, Bansal S, Longhi MS, et al. Polyclonal T-cell responses to cytochrome P450IID6 are associated with disease activity in autoimmune hepatitis type 2. *Gastroenterology*. 2006;130(3):868-82 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.12.020>.
248. Czaja AJ, Manns MP. Advances in the diagnosis, pathogenesis, and management of autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2010;139(1):58-72 e4
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.04.053>.
249. Mieli-Vergani G, Vergani D, Czaja AJ, Manns MP, Krawitt EL, Vierling JM, et al. Autoimmune hepatitis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:18017
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.17>.
250. Crispe IN. Liver antigen-presenting cells. *J Hepatol*. 2011;54(2):357-65
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.10.005>.
251. Ebrahimkhani MR, Mohar I, Crispe IN. Cross-presentation of antigen by diverse subsets of murine liver cells. *Hepatology*. 2011;54(4):1379-87 <https://doi.org/10.1002/hep.24508>.
252. Wan YY, Flavell RA. How diverse--CD4 effector T cells and their functions. *J Mol Cell Biol*. 2009;1(1):20-36 <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjp001>.
253. Sucher E, Sucher R, Gradistanac T, Brandacher G, Schneeberger S, Berg T. Autoimmune Hepatitis-Immunologically Triggered Liver Pathogenesis-Diagnostic and Therapeutic Strategies. *J Immunol Res*. 2019;2019:9437043 <https://doi.org/10.1155/2019/9437043>.

254. Luong KV, Nguyen LT. The role of vitamin d in autoimmune hepatitis. *J Clin Med Res*. 2013;5(6):407-15 <https://doi.org/10.4021/jocmr1505w>.
255. Smyk DS, Orfanidou T, Invernizzi P, Bogdanos DP, Lenzi M. Vitamin D in autoimmune liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2013;37(5):535-45 <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2013.05.016>.
256. Kriegel MA, Manson JE, Costenbader KH. Does vitamin D affect risk of developing autoimmune disease?: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum*. 2011;40(6):512-31 e8 <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2010.07.009>.
257. Efe C, Kav T, Aydin C, Cengiz M, Imga NN, Purnak T, et al. Low serum vitamin D levels are associated with severe histological features and poor response to therapy in patients with autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci*. 2014;59(12):3035-42 <https://doi.org/10.1007/s10620-014-3267-3>.
258. Heneghan MA, Yeoman AD, Verma S, Smith AD, Longhi MS. Autoimmune hepatitis. *Lancet*. 2013;382(9902):1433-44 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)62163-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62163-1).
259. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. Serology in autoimmune hepatitis: A clinical-practice approach. *Eur J Intern Med*. 2018;48:35-43 <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2017.10.006>.
260. Sebode M, Weiler-Normann C, Liwinski T, Schramm C. Autoantibodies in Autoimmune Liver Disease-Clinical and Diagnostic Relevance. *Front Immunol*. 2018;9:609 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00609>.
261. Efe C, Ozaslan E, Wahlin S, Purnak T, Muratori L, Quarneri C, et al. Antibodies to soluble liver antigen in patients with various liver diseases: a multicentre study. *Liver Int*. 2013;33(2):190-6 <https://doi.org/10.1111/liv.12022>.
262. Stechemesser E, Strienz J, Berg PA. Serological definition of new subgroup of patients with autoimmune chronic active hepatitis. *Lancet*. 1987;1(8534):683 [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)90443-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)90443-0).
263. Suwanchote S, Rachayon M, Rodsaward P, Wongpiyabovorn J, Deekajorndech T, Wright HL, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and their clinical significance. *Clin Rheumatol*. 2018;37(4):875-84 <https://doi.org/10.1007/s10067-018-4062-x>.
264. Mack CL, Adams D, Assis DN, Kerkar N, Manns MP, Mayo MJ, et al. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis in Adults and Children: 2019 Practice Guidance and Guidelines From the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2020;72(2):671-722 <https://doi.org/10.1002/hep.31065>.
265. AKBAYIR N. OTOİMMÜN HEPATİT AUTOİMMÜN HEPATİTİS.
266. Verma S, Torbenson M, Thuluvath PJ. The impact of ethnicity on the natural history of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2007;46(6):1828-35 <https://doi.org/10.1002/hep.21884>.
267. Kessler WR, Cummings OW, Eckert G, Chalasani N, Lumeng L, Kwo PY. Fulminant hepatic failure as the initial presentation of acute autoimmune hepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(7):625-31 [https://doi.org/10.1016/s1542-3565\(04\)00246-0](https://doi.org/10.1016/s1542-3565(04)00246-0).
268. Werner M, Prytz H, Ohlsson B, Almer S, Bjornsson E, Bergquist A, et al. Epidemiology and the initial presentation of autoimmune hepatitis in Sweden: a nationwide study. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43(10):1232-40 <https://doi.org/10.1080/00365520802130183>.
269. Gatselis NK, Zachou K, Koukoulis GK, Dalekos GN. Autoimmune hepatitis, one disease with many faces: etiopathogenetic, clinico-laboratory and histological characteristics. *World J Gastroenterol*. 2015;21(1):60-83 <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i1.60>.

270. AK T. Otoimmün Hepatit - Güncel gastroenteroloji dergisi Eylül 2019 Güncel gastroenteroloji dergisi: Güncel gastroenteroloji dergisi; 2019 [Available from: <https://guncel.tgv.org.tr/journal/79/pdf/100624.pdf>.
271. Czaja AJ, Carpenter HA. Sensitivity, specificity, and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis. *Gastroenterology*. 1993;105(6):1824-32 [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(93\)91081-r](https://doi.org/10.1016/0016-5085(93)91081-r).
272. Manns M, Gerken G, Kyriatsoulis A, Staritz M, Meyer zum Buschenfelde KH. Characterisation of a new subgroup of autoimmune chronic active hepatitis by autoantibodies against a soluble liver antigen. *Lancet*. 1987;1(8528):292-4 [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)92024-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)92024-1).
273. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Pares A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008;48(1):169-76 <https://doi.org/10.1002/hep.22322>.
274. Czaja AJ. Performance parameters of the diagnostic scoring systems for autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008;48(5):1540-8 <https://doi.org/10.1002/hep.22513>.
275. Al-Chalabi T, Boccato S, Portmann BC, McFarlane IG, Heneghan MA. Autoimmune hepatitis (AIH) in the elderly: a systematic retrospective analysis of a large group of consecutive patients with definite AIH followed at a tertiary referral centre. *J Hepatol*. 2006;45(4):575-83 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.04.007>.
276. Kirk AP, Jain S, Pocock S, Thomas HC, Sherlock S. Late results of the Royal Free Hospital prospective controlled trial of prednisolone therapy in hepatitis B surface antigen negative chronic active hepatitis. *Gut*. 1980;21(1):78-83 <https://doi.org/10.1136/gut.21.1.78>.
277. Czaja AJ, Menon KV, Carpenter HA. Sustained remission after corticosteroid therapy for type 1 autoimmune hepatitis: a retrospective analysis. *Hepatology*. 2002;35(4):890-7 <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.32485>.
278. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: Standard treatment and systematic review of alternative treatments. *World J Gastroenterol*. 2017;23(33):6030-48 <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i33.6030>.
279. Lamers MM, van Oijen MG, Pronk M, Drenth JP. Treatment options for autoimmune hepatitis: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hepatol*. 2010;53(1):191-8 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.01.037>.
280. Fallatah HI, Akbar HO. Mycophenolate mofetil as a rescue therapy for autoimmune hepatitis patients who are not responsive to standard therapy. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;5(4):517-22 <https://doi.org/10.1586/egh.11.45>.
281. Hyams JS, Ballou M, Leichtner AM. Cyclosporine treatment of autoimmune chronic active hepatitis. *Gastroenterology*. 1987;93(4):890-3 [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(87\)90454-9](https://doi.org/10.1016/0016-5085(87)90454-9).
282. Chatrath H, Allen L, Boyer TD. Use of sirolimus in the treatment of refractory autoimmune hepatitis. *Am J Med*. 2014;127(11):1128-31 <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.06.016>.
283. Ytting H, Larsen FS. Everolimus treatment for patients with autoimmune hepatitis and poor response to standard therapy and drug alternatives in use. *Scand J Gastroenterol*. 2015;50(8):1025-31 <https://doi.org/10.3109/00365521.2014.998271>.
284. Van Dilla MA, Fulwyler MJ, Boone IU. Volume distribution and separation of normal human leucocytes. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1967;125(2):367-70 <https://doi.org/10.3181/00379727-125-32093>.

285. Fulwyler MJ. Status quo in flow-through cytometry. *J Histochem Cytochem.* 1974;22(7):605-6 <https://doi.org/10.1177/22.7.605>.
286. Maciorowski Z, Chattopadhyay PK, Jain P. Basic Multicolor Flow Cytometry. *Curr Protoc Immunol.* 2017;117:5 4 1-5 4 38 <https://doi.org/10.1002/cpim.26>.
287. Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A. Flow cytometry: basic principles and applications. *Crit Rev Biotechnol.* 2017;37(2):163-76 <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>.
288. Salzman GC. Light scatter: detection and usage. *Curr Protoc Cytom.* 2001;Chapter 1:Unit 1 13 <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy0113s09>.
289. Díaz M, Herrero M, García LA, Quirós C. Application of flow cytometry to industrial microbial bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal.* 2010;48(3):385-407 <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.07.013>.
290. Sirbe C, Simu G, Szabo I, Grama A, Pop TL. Pathogenesis of Autoimmune Hepatitis- Cellular and Molecular Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24) <https://doi.org/10.3390/ijms222413578>.
291. Bayer EM, Herr W, Kanzler S, Waldmann C, Meyer Zum Buschenfelde KH, Dienes HP, Lohse AW. Transforming growth factor-beta1 in autoimmune hepatitis: correlation of liver tissue expression and serum levels with disease activity. *J Hepatol.* 1998;28(5):803-11 [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(98\)80230-4](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(98)80230-4).
292. Zhao L, Tang Y, You Z, Wang Q, Liang S, Han X, et al. Interleukin-17 contributes to the pathogenesis of autoimmune hepatitis through inducing hepatic interleukin-6 expression. *PLoS One.* 2011;6(4):e18909 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018909>.
293. Zhao R, Zhou H, Su SB. A critical role for interleukin-1beta in the progression of autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol.* 2013;17(3):658-69 <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.08.012>.
294. Madhok R, Crilly A, Watson J, Capell HA. Serum interleukin 6 levels in rheumatoid arthritis: correlations with clinical and laboratory indices of disease activity. *Ann Rheum Dis.* 1993;52(3):232-4 <https://doi.org/10.1136/ard.52.3.232>.
295. Ludwig H, Nachbaur DM, Fritz E, Krainer M, Huber H. Interleukin-6 is a prognostic factor in multiple myeloma. *Blood.* 1991;77(12):2794-5.
296. Hirano T, Teranishi T, Toba H, Sakaguchi N, Fukukawa T, Tsuyuguchi I. Human helper T cell factor(s) (ThF). I. Partial purification and characterization. *J Immunol.* 1981;126(2):517-22.
297. Reich K, Rich P, Maari C, Bissonnette R, Leonardi C, Menter A, et al. Efficacy and safety of mirikizumab (LY3074828) in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis: results from a randomized phase II study. *Br J Dermatol.* 2019;181(1):88-95 <https://doi.org/10.1111/bjd.17628>.
298. Taylor PC, Keystone EC, van der Heijde D, Weinblatt ME, Del Carmen Morales L, Reyes Gonzaga J, et al. Baricitinib versus Placebo or Adalimumab in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med.* 2017;376(7):652-62 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1608345>.
299. Mohammad Hosseini A, Majidi J, Baradaran B, Yousefi M. Toll-Like Receptors in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Adv Pharm Bull.* 2015;5(Suppl 1):605-14 <https://doi.org/10.15171/apb.2015.082>.
300. Ohara J, Paul WE. Receptors for B-cell stimulatory factor-1 expressed on cells of haematopoietic lineage. *Nature.* 1987;325(6104):537-40 <https://doi.org/10.1038/325537a0>.

301. Wenzel S, Ford L, Pearlman D, Spector S, Sher L, Skobieranda F, et al. Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. *N Engl J Med*. 2013;368(26):2455-66 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1304048>.
302. Beck LA, Thaci D, Hamilton JD, Graham NM, Bieber T, Rocklin R, et al. Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2014;371(2):130-9 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1314768>.

