

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ROMATOLOJİ BİLİM DALI

**ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA ATEROSKLEROZUN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE LİPOPROTEİN İLİŞKİLİ FOSFOLİPAZ A2
DÜZEYİ İLE KAROTİS İNTİMA MEDİA KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

UZ. DR. CEMAL BES

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. MEHMET SOY

BOLU-2011

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ROMATOLOJİ BİLİM DALI

ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA ATEROSKLEROZUN

DEĞERLENDİRİLMESİNDE LİPOPROTEİN İLİŞKİLİ FOSFOLİPAZ A2

AKTİVİTESİ İLE KAROTİS İNTİMA MEDİA KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

UZ. DR. CEMAL BES

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. MEHMET SOY

BOLU-2011

TEŞEKKÜR

Bu tezin planlanması, yürütülmesi ve sunuma hazırlanması aşamasında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım; beni Romatoloji camiasına kazandıran ve önderlik yapan değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Soy'a, uzmanlık eğitimim döneminde bana destek olan İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı başkanı Prof. Dr. Haluk Şavlı'ya, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Ana Bilim Dalı başkanı Prof. Dr. Şirzat Çoğalgil'e, tez hastalarının radyolojik görüntülemesini yapan Doç. Dr. Safiye Gürel'e, laboratuvar tetkiklerinin değerlendirmesini yapan Biyokimya Ana Bilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Güler Buğdaycı'ya teşekkür ederim.

Ayrıca desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, hayattaki en güçlü dayanağım olan eşim Dr. Z. Senem Bes'e sonsuz teşekkürler.

Dr. Cemal Bes

Eylül 2011

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	I
ÖZET (TÜRKÇE)	II
ABSTRACT (İNGİLİZCE ÖZET)	III
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
LİPOPROTEİN İLİŞKİLİ FOSFOLİPAZ A ₂ (Lp-PLA ₂) ...	10
KAROTİS İNTİMA-MEDİA KALINLIĞI	11
MATEYAL VE METOD	12
İSTATİSTİKSEL ANALİZ	15
BULGULAR	16
TARTIŞMA	22
SONUÇLAR	25
KAYNAKLAR	26

KISALTMALAR

ACR	American College of Rheumatology
Anti-CCP	Anti-Cyclic Citrullinated Peptide
CIMT	Carotid Intima Media Thickness
CRP	C-Reaktif Protein
DAS	Disease Activity Score (Hastalık aktivite skoru)
DİF	Distal İnterfalangeal
DM	Diyabetes Mellitus
ESH	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
GAS	Görsel Analog Skala
GM-CSF	Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör
HAQ	Health Assessment Questionnaire (Sağlık değerlendirme anketi)
HES	Hassas Eklem Sayısı
IFN-γ	İnterferon Gama
IL-1	İnterlökin 1
IL-2	İnterlökin 2
IL-6	İnterlökin 6
Lp-PLA₂	Lipoprotein-Associated Phospholipase A ₂
MKF	Metakarpofalangeal
MTF	Metatarsofalangeal
PİF	Proksimal İnterfalangeal
RA	Romatoid Artrit
RF	Romatoid Faktör
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
ŞES	Şiş Eklem Sayısı
TNF-α	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
VEGF	Vascular Endotelial Growth Factor

ÖZET

Giriş ve Amaç: Romatoid artrit (RA), etyolojisi tam olarak bilinmeyen kronik sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Primer olarak eklemleri etkilemekle birlikte sıklıkla beraberinde kardiyovasküler, hematolojik, solunum, göz, böbrek veya nörolojik sistem tutulumları da görülmektedir. RA'lı hastalarda mortalite sağlıklı insanlara göre artmıştır ve bu mortalite artışının en önemli nedenini kardiyovasküler hastalıklar oluşturur.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, RA hastalarında bazı inflamatuvar göstergelerin ateroskleroza katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bu göstergelerden biri de lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂ (Lp-PLA₂)'dir. Lp-PLA₂, oksidize LDL'yi hidrolize ederek lisofosfatitilkolin okside serbest yağ asitleri gibi güçlü proinflamatuvar ve proaterojenik ürünler oluşmasını sağlayan fosfolipaz A₂ ailesine ait bir enzimdir. Bu çalışmadaki amacımız RA hastalarında Lp-PLA₂ aktivite düzeyi ile karotis intima media kalınlığına (CIMT) bakmak ve Lp-PLA₂ aktivite düzeyi ile CIMT arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır.

Hastalar ve Yöntem: Çalışmaya, 2010 ACR-EULAR ölçütlerine göre RA tanısı almış 25 hasta ile kontrol grubu olarak 20 Tip2 Diyabetes Mellitus (DM) hastası ve 20 sağlıklı kontrol alındı. Tüm olgulara rutin laboratuvar tetkiklerinden tam kan sayımı, total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, CRP ile sedimantasyon düzeyleri çalışıldı. RA'lı hastaların hastalık aktivitesi DAS28 ile hesaplandı ve her hastanın HAQ skoruna bakıldı. Tüm olguların serum Lp-PLA₂ aktivite düzeyine ve her iki karotid arterden CIMT bakıldı.

Bulgular: DM grubunda RA ve sağlıklı kontrol grubuna göre Lp-PLA₂ aktivite düzeyinde anlamlı bir yükseklik görüldü (p:0.006). LDL-kolesterol düzeyleri RA olgularında ve sağlıklı olgularda Diyabetiklere göre anlamlı olarak daha düşüktü (sırası ile p: 0.001 ve p:0.029). CIMT yönünden karşılaştırıldığında sadece Diyabetik hastalarda sağ CIMT değerinde sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olduğu (p:0.047), sol CIMT açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (p>0.05).

Sonuç: RA olgularımızda Lp-PLA₂ aktivitesi sağlıklı kontrollere göre değişmemiş olarak ama DM olgularına göre anlamlı düşük saptanmıştır. RA olgularımızda CIMT sağlıklı kontrollerden farklı saptanmamıştır. CIMT ve Lp-PLA₂ aktivitesi, DM olgularında yüksek saptanmışken RA hastalarında yüksek saptanmamıştır. Bu durum çalışmaya alınan RA hastalarının ilaç tedavisi altında ve düşük hastalık aktivitesine sahip olmaları ile açıklanabilir.

Anahtar kelimeler: Romatoid artrit, ateroskleroz, lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂.

ABSTRACT

Background and aim: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic and inflammatory disease with an unclear etiology which initially influences the joints and also has effects on neurological, cardiovascular, hematological, respiratory systems and may cause renal and ophthalmic injury. The cardiovascular effects are the reasons of increased mortality in RA.

Recent studies showed that some indicators of inflammatory process contribute development of atherosclerosis in RA. One of these is lipoprotein associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂). Lp-PLA₂ is an enzyme of phospholipase A₂ family; catalyzing the oxidation reaction of lipophosphatidylcholine and LDL, that comprises proinflammatory and proatherogenic products such as oxidized free fatty acids. With this study we aimed to evaluate the LpPLA₂ activity levels in RA patients and consider the relationship between Lp-PLA₂ activity levels and CIMT (carotid intima media thickness) appraised with non-invasive tests such as Doppler ultrasound.

Patients and Methods: 25 patients with established RA and 40 controls 20 of which had type 2 diabetes mellitus (DM) were accepted to the study. Biochemical tests, hemogram, CRP, sedimentation, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total cholesterol measurements were performed. Disease activity was calculated with DAS-28 and HAQ score was evaluated in RA group. For measuring Lp-PLA₂ activity levels, fasting blood samples were assessed in 2 tubes with EDTA. Both left and right CIMT rates were also quantified in all participants.

Findings: Lp-PLA₂ activity levels were significantly higher in DM group (P: 0,006). LDL-cholesterol levels were significantly lower in RA and healthy control groups compared with diabetics (respectively p: 0,001 and p: 0,029). Right CIMT rates were significantly different in DM patients (p: 0,047); but none of groups exposed significantly different results in measurement of left CIMT (P> 0,05).

Result: Lp-PLA₂ activity is not altered in RA group compared with healthy controls but meaningfully higher than both in diabetics. CIMT was not eventuated distinct than healthy controls in RA group. Normality of Lp-PLA₂ activity levels in RA patients can be explained with the treatment they 've been taking and low disease activity scores as its result.

Key words: Rheumatoid arthritis, atherosclerosis, lipoprotein related phospholipase A₂.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Romatoid artrit (RA), primer olarak sinoviyumu tutan, kronik, multisistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Dünya çapında prevalansı ortalama % 1 olup en sık görülen otoimmün hastalıklardan biridir. RA diğer otoimmün hastalıklar gibi kadınlarda daha sık görülmektedir. RA'nın etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Genetik, çevresel ve hormonal faktörlerin patogeneizde rol oynadığı düşünülmektedir (1).

Multisistemik bir hastalık olan RA'da eklem tutulumu dışında kardiyovasküler, hematolojik, solunum, göz, böbrek ve nörolojik sistem tutulumları da olabilmektedir (2). RA'da mortalite artmıştır ve bu mortalite artışının en önemli nedenini kardiyovasküler nedenler oluşturur. RA'lı hastalarda alışılmış risk faktörlerinden bağımsız olarak daha yüksek oranda vasküler aterosklerotik değişiklikler saptanmış ve buna bağlı olarak aterosklerotik koroner arter hastalığı görülme sıklığı artmıştır (3-5).

Son yıllarda RA hastalarında yapılan çalışmalarda, ateroskleroz gelişimi ile inflamatuvar göstergeler arasında bir ilişki olduğu anlaşılmıştır. Bu göstergelerden biri de lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂ (Lp-PLA₂)'dir. Lp-PLA₂, lisofosfatidilkolin ve LDL oksidasyonundan okside serbest yağ asitleri gibi güçlü proenflamatuvar ve proaterojenik ürünler oluşmasını sağlayan A₂ fosfolipazlar ailesine ait bir enzimdir. Lp-PLA₂, normal ve hastalıklı arterlerin media tabakasında bulunmakta, temel olarak monositler/ makrofajlar, T lenfositler ve mast hücreleri tarafından üretilmektedir (6).

Bu çalışmadaki amacımız RA hastalarında erken ateroskleroza öngörmede Lp-PLA₂ aktivite düzeyine bakmak ve aterosklerozun gösterilmesinde kullanılan noninvaziv testlerden biri olan karotis intima media kalınlığına (CIMT) bakarak Lp-PLA₂ aktivite düzeyi ile CIMT arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.ROMATOİD ARTRİT

2.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Romatoid artrit (RA); etyolojisi belli olmayan ve özellikle küçük eklemleri tutan, kronik, inflamatuvar, multisistemik bir hastalıktır. RA tüm dünyada ve tüm ırklarda görülebilen bir hastalık olup daha çok kadınları etkiler. Kadınlarda erkeklere oranla 2-3 kat daha sık görülür ancak ileri yaşlarda bu oranın eşitlendiği bildirilmektedir. En sık 30-50 yaşları arasında görülür. Değişik popülasyonlarda prevalansı %0.5 ile %1 arasında değişmektedir (1-2). Yıllık insidansın yaklaşık 1000 kişi başına 0.2-0.4 arasında değiştiği bildirilmiştir (7).

2.1.2. Etiyoloji

Romatoid artritin etyolojisi kesin olarak bilinmemekle beraber, otoimmün hastalıklar grubunda ele alınan ve çevresel, genetik, hormonal faktörlerin etkileşimi ile geliştiği düşünülen bir hastalıktır. Hastalık ile ilgili ilk bilgilere, Boticelli, Da Vinci gibi kasık dönem ressamlarının tablolarında rastlanmaktadır. Bu da 1500'lü yılların başlarına; Amerikanın keşfedildiği yıllara denk gelmektedir. O döneme kadar Avrupada RA çok rastlanan bir hastalık değilken Amerikanın keşfi ile daha sık rastlanır olmuştur. Çünkü Amerikanın keşfi ile Avrupa tütün ile tanışmıştır. Bu da tütünün RA etyolojisi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür (8).

Genel olarak kabul gören görüş, hastalığın genetik olarak yatkın bir konakçıda infeksiyöz bir ajana yanıt olarak oluşabileceği şeklindedir. Dünya çapında yaygın bir hastalık olduğu için mikoplazma, Epstein-Barr virusu (EBV), sitomegalovirus, parvovirus ve rubella virusu gibi ajanlar neden olarak ileri sürülmüştür. Ancak, infeksiyöz ajanların neden olduğuna dair net bir kanıt elde edilememiştir. Son çalışmalarda stafilokoklar, streptokoklar gibi bir dizi mikroorganizma tarafından üretilen "süper antijenlerin" olası rolü üzerinde durulmuştur.

Genetik: RA'da genetik bir etki olduğu kabul edilmektedir. Seropozitif hastaların birinci derece yakınlarında RA beklenenden dört kat daha fazla görülür (7). Monozigot ikizlerde %12-15, dizigot ikizlerde %2-5 görülme riski vardır (7,9). Genetik faktörlerin 6. kromozomda bulunan HLA sistemi genlerine bağlı olduğu ve bir tek genetik bozukluktan ziyade birkaç genin RA'yı etkilediği düşünülmektedir. HLA-DR4 ile RA arasındaki ilişkinin tanımlanmasının ardından, hastalığa neden olan genetik faktörlerle ilgili bilgiler hızla

artmıştır. Yapılan çalışmalarda HLA-DR4, sık görülen etnik topluluklarda RA için 3-6 kat risk oluşturmaktadır. DR4 sıklığının düşük olduğu topluluklarda ise DR1, DR6 ve DR10 alt gurupları incelenmiş ve RA için risk oluşturduğu görülmüştür (10).

Cinsiyet ve Hormonlar: Romatoid artrit kadınlarda 2-3 kat daha fazla görülmekte ve kadın hastalarda daha şiddetli seyretmektedir. Hamileliğin bu hastalığın seyri üzerindeki etkileri nedeniyle seks hormonlarının üzerinde durulmuştur. Çünkü hamilelikte RA'lı hastalar % 75'e varan oranda iyileşme ve remisyon gösterir; hamilelik sonrası ise olguların % 80-90'ında hastalık alevlenmektedir. Ayrıca erken yaşta gebelik ve oral kontraseptiflerin kullanımının hastalığın ortaya çıkışını geciktirdiği veya hastalığın şiddetini azalttığı gösterilmiştir (11). RA'lı hastalarda hipotalamus-hipofiz-adrenal aks fonksiyonu bozulmuştur. RA hastalarında metabolizmadaki sirkadyen değişiklikler veya nokturnal endojen kortikosteriod salınımındaki azalma hastalığın sabah erken klinik yakınmaları ile ilişkili gibi görünmektedir (12,13). Bilindiği gibi RA'da ağrı ve tutukluk sabah saatlerinde daha belirgindir.

Enfeksiyonlar: Günümüze kadar RA etyolojisinde rol oynadığına inanılan bir mikroorganizma tam olarak ortaya konulamamıştır. Birçok bakteri, virus ya da spiroket insanlarda poliartrite neden olabilir. Bazı hastalarda sinovyal dokularda difteroid benzeri mikroorganizmalar elde edilmiştir, ancak benzer mikroorganizmalar nonromatoid dokuda da saptanmıştır. Mikoplazmaların, piyojenik bakterilerin ve mikobakterilerin etyolojik rolleri üzerinde durulmuş ancak yeterli kanıt ortaya konamamıştır (14). HTLV Tip I, retrovirüsler, EBV, Hepatit B virüsü, Rubella virüsü, Parvovirüs B19 gibi virusların da RA etyolojisinde rol oynadığı öne sürülmüştür. Ancak bugüne kadar yapılan çalışmalarda bu virüslerin RA etyopatogeneziindeki rolleri kesin olarak aydınlatılamamıştır (14,15). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Porphyromonas gingivalis* adlı bakterinin neden olduğu gingivit seyrinde RA'nın daha sık saptanması olası bir enfeksiyon ajanının bu hastalığı tetiklediği görüşünü güçlendirmiştir (16). *Porphyromonas gingivalis* periodontid denilen dişeti enfeksiyonu etyolojisinde rol oynayan major ajandır. RA'lı hastalar arasında periodontid de sık rastlanan bir durumdur ve RA'lı hastalarda *Porphyromonas gingivalis*'e karşı antikor titreleri sağlıklı insanlara göre daha anlamlı yüksek bulunmuştur (17). Bu da *Porphyromonas gingivalis* ile RA arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmüştür. *Porphyromonas gingivalis* sitrülline peptidi meydana getiren peptidylarginine deiminase isimli enzimi katalize eden bilinen tek bakteridir. Peptidylarginine deiminase enziminin katalize olması ile anti-sitrülline peptid antikorları ortaya çıkmaktadır. *Porphyromonas gingivalis* bakterisini taşıyan insanlarda daha sık RA görülmesinin nedeni bu şekilde açıklanabilmektedir (17).

2.1.3. Patogenez

Romatoid artrit patogenezinde hümmoral ve hümmresel bağışıklık mekanizmaları birlikte rol oynar. Hastalığı başlatan olaylar bilinmemektedir. Ancak dokudaki inflamatuvar sürecin CD4+ T hücre aktivasyonuyla başladığı öne sürölmüştür. Aktive olan bu hümmreler IFN- γ ve IL-2 gibi sitokinleri salgılayarak diğer T lenfosit hümmrelerini, makrofajları ve fibroblastları uyarır. IFN- γ monosit/makrofaj hümmrelerinin sentez ve sekresyon fonksiyonlarını aktive eder. Aktive olan makrofajlardan sürekli IL-1 ve TNF- α salgılanır. IFN- γ ile inkübasyondan sonra monositler morfolojik, metabolik ve fenotipik değişiklikler gösterirler. IFN- γ , kollagen sentezini önleyen bir kapasiteye de sahiptir (1). Buna rağmen RA'lı hastaların sinovyal sıvı ölçömlerinde IFN- γ düzeyleri çok düşük tespit edilmiştir. IFN- γ ile TNF- α 'nın birbirlerine zıt etkileri vardır. IFN- γ 'nın RA'lı hastalarda düşük saptanmasının nedeni TNF- α 'nın bu hastalarda artmış olmasından kaynaklanabilir (18). Yardımcı T lenfositler tarafından aktive edilen B lenfositler, plazma hümmrelerine dönüşerek immunglobulin (Ig) ve romatoid faktör (RF) salgırlar. Salgılanan Ig'ler sinovyal membran, sinovyal sıvı ve eklem kıkırdağındaki antijenlerle birleşerek immün kompleksleri oluştururlar. Eklem boşluğuna serbestçe yayılan immün kompleksler, komplemanı aktive ederek kemotaktik faktörlerin salınmasına yol aarlar. Kemotaktik faktörler damarsal geairgenliği arttırır, polimorfonökleer lökositlerin ve monositlerin bu bölgede toplanmasını sağrlar. Bu hümmreler immün kompleksleri fagosit ederek doku hasarına neden olan prostoglandin, lökotrien, serbest radikal ve proteolitik enzimlerin yapım ve serbestleşmesine neden olurlar. Mast hümmrelerinden salgılanan histamin gibi vazoaktif peptitler de inflamatuvar bölgeye inflamatuvar hümmrelerin girişini sağrlar. Sonuçta sinovyumı kaplayan hümmrelerin sayısında artışla birlikte mononökleer hümmrelerin perivasküler alanda infiltrasyonu görölmektedir. Bu dönem ışık mikroskopuyla incelendiğinde; sinovyumı kaplayan hümmrelerin hipertrofi ve hiperplazisi, mikrovasküler hasar, tromboz, neovaskülarizasyon gibi fokal veya segmental damarsal değişiklikler ve küçük kan damarları etrafında toplanmış mononökleer hümmre infiltrasyonları şeklinde görölür (19).

RA'da, sinovyada sitokinlerin düzeyleri artmıştır ve sitokinler patogenezde önemli bir role sahiptir. En belirgin artış TNF- α ve IL-1 sitokinlerinde görölür. Her iki sitokin de lenfosit kemotaksisini, angiogenezi, damar geairgenliğini ve metalloproteinaz üretimini arttırırlar. Ayrıca IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, granölosit monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) gibi sitokinlerin de önemli rolü olduğu gösterilmiştir. RA'lı hastalarda trombosit sayısı, C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A ve gama globulin yüksekliği, IL-6'nın aşırı

retilmesiyle açıklanmaya çalışılmıştır (20). Hastalığın kronik fazında sinovyal tabakada hücre infiltrasyonu, özellikle tip A ve tip B sinovyal hücrelerde artma olmaktadır. Hücre artışı sonucu villöz oluşumlar meydana gelir ve pannus oluşur. Pannusların etkili olduğu alan kıkırdak ile kemiğin birleştiği bölgelerdir. Pannusta bulunan makrofajların salgıladıkları proteinaz ve kollajenazların yıkıcı etkileri sonucu subkondral kemikte erezyonlar başlar. Pannus kartilajı harab ederken eklem aralığı gittikçe daralır. Ayrıca subkondral kemik boyunca da ilerler ve bu bölgede yzeyssel kistik oluşumların ortaya çıkmasına neden olur. Sonuçta eklemlerde zamanla deformiteler gelişmeye başlar (1,20). RA’da klinik belirtiler sinovyal membranda T lenfosit aktivasyonu belirginleştiği zaman başlar. Bu dönem eklemdede şişlik, hareket kısıtlılığı ve ağrı ile klinik bulgu verir.

2.1.4. Klinik

Romatoid artrit, kronik poliartrit ile seyreden bir hastalıktır. Hastalığın başlangıç şekli hastadan hastaya farklılık gösterse de tipik klinik başlangıç genellikle sinsi ağrı ile birlikte, sabah tutukluğu ve küçük eklemlerde simetrik şişlik şeklindedir (21). Hastaların % 30-35’inde akut veya subakut başlangıç özelliği görülürken %10 hasta grubunda ise aylar hatta yıllarca devam eden palindromik romatizma tablosunun ardından kronik hastalık tablosu gelişir. Birçok hastada hastalığın başlangıç döneminde halsizlik, yorgunluk, kilo kaybı, subfebril ateş gibi genel sistemik bulgular grlr (21). Hastalığın erken haftalarında tanı, tipik serolojik özellikleri ile güçlü olarak RA’yı destekleyen simetrik sinovit yapan diğer nedenlerin dışlanması ile konur. Hastalığın başlangıç dönemindeki tipik klinik bulgular el bileği, elin proksimal interfalangeal (PİF) ve metakarpofalangeal (MKF) eklemlerin bilateral, simetrik ağrılı şişmesidir. En çok tutulan eklemlerin başında MKF, el bilekleri ve PİF eklemler gelir (%70–90). Bilek ekleminin sinoviti RA’nın değişmez bir özelliğidir. Hareket kısıtlılığına, deformiteye ve medyan sinir sıkışmasına (karpal tünel sendromu) neden olabilir. El parmaklarında sabahları bir saati aşan tutukluk önemlidir. Dizler, dirsekler, metatarsofalangeal (MTF) eklemler de %60’ların üzerinde bir oranla olaya katılır. Kalça ve omuzlar, ayak bilekleri ve servikal bölge, özellikle C1 ve C2, %40–50 oranında tutulan eklemlerdir. Temporomandibuler eklem tutuluşu daha az oranda görülmesine karşın başlangıç bulgusu da olabilir. RA’da dorsal ve lumbal vertebraların, sakroiliak ve distal interfalangeal (DİF) eklemlerin tutulması olağan değildir (22). Çok yönlü bir hastalık olan RA tanısını kolaylaştırmak ve bir standarda bağlamak amacıyla 1987 yılında American College of Rheumatology (ACR) sınıflandırma ltleri oluşturmuştur (23). Bu ölçütlerin kullanılması

ile romatoid artrit tanısında % 90 oranında sensitivite, % 89 oranına spesifite sağlanabilmektedir (24,25). Ancak zamanla bu kriterlerin RA tanısı için yetersiz olduğu anlaşılmıştır. Bunun üzerine 2010 yılında ACR ve EULAR (The European League Against Rheumatism) tarafından yeni klasifikasyon kriterleri geliştirilmiştir (26).

2.1.5. Eklem dışı tutulum

Romatoid artrit, primer olarak eklemleri hedef alan bir hastalık olmasına karşın birçok organ ve/veya sistemi de etkileyebilen multisistemik bir hastalıktır. Eklem bulguları ortaya çıkmadan önce yorgunluk, kilo kaybı gibi nonspesifik bulgular görülebilir (27). RA'da en sık görülen deri bulgusu derialtı romatoid nodüllerdir. Ön kol ekstansör yüzeyinde veya diğer mekanik basıya maruz kalan bölgelerde oluşur. Hastaların % 25-30'unda gözlenmektedir. Nadiren akciğer, dalak, kalp vb. diğer organlarda gelişebilir. Romatoid nodüller sert, hassas olmayan, oval yuvarlak kitlelerdir. Mikroskopik olarak palizatik makrofajlarla çevrili granülasyon dokusuyla sınırlı, santral fibroid nekrozun olabildiği patolojik yapılardır. Genellikle RF pozitif hastalarda görülür (28).

Keratokonjunktivitis sıklıkla RA'da en sık görülen göz bulgusudur. Bunun dışında özellikle sklerit ve episklerit görülmektedir. Skleromalazi perforans ise RA'nın nadir görülen önemli göz komplikasyonlarından biridir. Serozal tutulum, fibrinöz plevritis veya perikarditis veya her ikisi şeklinde ortaya çıkabilir; akciğer parankimi progresif interstisiyel fibrozis ile hasarlanabilir. Akciğer hastalığı bronşiyolit, pulmoner hipertansiyon veya küçük havayolu hastalığı ile giden geniş bir yelpazeye sahiptir. Perikardit genellikle klinik bulgu vermez. Yapılan otopsilerde RA'lı hastaların % 50'sinde perikardit gösterilmiştir (29).

Hastalığın aktif dönemlerinde normokrom-normositer anemi görülür. Kronik hastalık anemisi şeklindedir ve inefektif eritropoeze bağlıdır. Bazı hastalarda demir, vitamin B12 ve folik asit eksikliği anemileri de görülebilir. Demir eksikliği beslenme bozukluğuna, NSAİ ilaçların demir emilimini bozmasına veya barsaktan neden oldukları kronik mikro kanamalara bağlı gelişebilir. Metotreksat kullanımı hastalarda folik asit eksikliğine bağlı makrositer anemiye neden olabilir. Otoimmün hastalıklarda gözlenen pernisiyöz anemi RA'da da görülmektedir.

RA bazı hastalarda polindromik romatizma şeklinde başlayabilir. Felty Sendromu, RA'nın lenfadenopati, splenomegali, nötropeni ile seyreden bir şeklidir. Nadiren tabloya hepatomegali eklenebilir. Ateş yüksekliği, kilo kaybı ve hipersplenizm tablosu gelişmektedir. Tüm kan hücrelerinde azalma olmasına rağmen nötropeni daha belirgindir. RA'da böbrek, direkt olarak nadir tutulmaktadır. Hafif fokal segmental glomerülosklerozlar tanımlanmıştır.

Amiloidoz gelişebilir. NSAİ ilaçlar, intertisyel nefrit ve papiller nekroz yapabilmektedir. Altın tuzları ve D-penisilamin membranöz nefropatiye sebep olabilir (30).

2.1.7. Laboratuvar Bulguları

Romatoid artrite özgü bir laboratuvar bulgusu yoktur. Ancak birçok laboratuvar testinde anormallik görülür. Bugün tanı aşamasında en sık kullanılan testler akut faz reaktanları ve RF ile anti-CCP gibi otoantikorlardır.

Hematolojik bulgular: Aktif RA'lı hastaların çoğunda anemi görülür. Fakat çoğu hastada hemoglobin düzeyi 10 gr/dl'nin üzerindedir. Kemik iliği demir depoları normal veya azalmış olabilir. Serum demiri düşüktür, ancak demir bağlama kapasitesinde belirgin yükselme genellikle yoktur. Anemili RA'lılarda en sık normokrom normositer anemi vardır. Eritroprotein düzeyi artmıştır ve kemik iliğinin eritroproteine verdiği cevap azalmıştır. Lökosit sayısı normaldir ancak aktif RA'lı hastalarda sıklıkla lökositoz ve trombositoz saptanabilir. Ayrıca kullanılan ilaçlara veya Felty Sendromuna bağlı olarak lökopeni ve trombositopeni görülebilir (31).

Akut Faz Reaktanları: Aktif RA'lı hastalarda akut faz reaktanları genellikle yüksek bulunur. En sık kullanılan ve en ucuz olan eritrosit sedimantasyon hızı (ESH) ile C-Reaktif Protein (CRP)'dir. Klinik olarak aktivite saptanmasa da CRP'nin yüksek seyrettiği vakalarda destrüktif hastalıkla uyum saptanmıştır. Aktif RA'lı hastalarda ESH ve CRP dışında trombosit sayısında da artış görülebilir (31).

Serolojik ve İmmünolojik Bulgular

Romatoid Faktör: RF, IgG'nin Fc kısmına karşı oluşan bir anti-antiimmunglobindir. Sıklıkla IgM yapısındadırlar. RA hastalarının %85'inde pozitif bulunmaktadır. RF pozitif olduğu bilinen hastalarda testin daha sonra tekrarlanması sonucunda elde edilecek değerlerin herhangi bir anlamı yoktur. RF negatif RA'lı hastalarda hastalığın genelde daha hafif seyrettiği kabul edilmektedir. Yüksek titrede RF pozitifliği olan hastalarda ekstra-artiküler bulgular olan romatoid nodüller, romatoid vaskülit daha sık görülmektedir (32).

Anti-CCP (Anti cyclic citrullinated peptide) antikorlar: Filagrin ve onun sirküler formu gibi sitrullinize peptidlere karşı oluşmuş antikorlardır. RA'da bilinen anti-keratin antikor, anti-perinükleer faktör (APF), anti-filagrin antikor gibi çeşitli antikorların da, günümüzde anti-CCP antikorlar grubuna dahil oldukları anlaşılmıştır. RA'in erken tanısında önemlidirler ve hastalığın ciddi seyredeceğini gösterirler. Bu antikorların duyarlılığı %82, özgünlüğü %98,5 civarındadır (32).

Sinovyal Sıvı Analizi: RA'lı hastalarda sinovyal sıvı miktarı aktif hastalık sırasında artar ve açık sarı, hafif bulanık, viskozitesi düşük ve eksuda karakterindedir. Lökosit sayısı mm³'te 5000-50000 arasında değişir ve çoğunluğunu nötrofiller oluşturur (33).

2.1.8. Radyolojik Bulgular

Romatoid artritli hastalarda eklem tutulumunun radyolojik değerlendirilmesinde öncelikle konvansiyonel radyograflardan yararlanılır. Yumuşak teknikte çekilen grafilere erozyon gözden kaçabilir. Yeterli değerlendirmeler 2 yönlü grafler ile yapılır. Özellikle ön arka pozisyonundaki el graflerinde metakarp başlarında, proksimal falanksalarda erken dönemde erozyonlar görülür. Ayak graflerinde de benzer bulgular izlenir (34). Radyolojik olarak ilk bulgu eklem çevresinde kalsifikasyon ve birlikte yumuşak doku şişliğinin görülmesidir. Başlangıçta eklem aralığında genişleme vardır. İlerleyen inflamasyon ile geç dönemde eklem aralığında simetrik daralma, kistik ve eroziv değişiklikler, subluksasyon, eklemde ankiloz izlenmektedir (35).

2.1.9. Romatoid Artrit ve Ateroskleroz

Romatoid artritli hastalarda mortalite sıklığı artmıştır. Artmış mortalitenin en önemli nedeni kardiyovasküler hastalıklar (KVH)'dır. RA'lı hastalarda akut miyokard infarktüsü riski 2-3 kat, konjestif kalp yetersizliği riski 2 kat, ani kardiyak ölüm riski 2 kat ve strok riskinde de 1.7 kat artış sözkonusudur (36). Bu hastalarda kardiyovasküler riskteki artışın hızlanmış ateroskleroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (37). Ancak kronik sistemik inflamasyonla seyreden RA'da ateroskleroz gelişiminde yaş, cinsiyet, sigara, DM, hiperlipidemi, hipertansiyon, sedanter yaşam ve aile hikâyesi gibi bilinen risk faktörlerinden farklı bir mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir (36). Örneğin genel popülasyondakinin aksine RA'lı hastalarda, düşük vücut kitle indeksi olanlarda kardiyovasküler mortalite daha sıktır. Bu durumdan, vücut kitle indeksi düşük olan hastalarda artmış sitokin üretiminin tetiklediği katabolizma artışı sorumlu tutulmuştur (38). Yüksek sedimantasyon değerleri, çok sayıda eklem tutulumu, RF pozitifliği, vaskülit varlığı, akciğer tutulumu RA'lı hastalarda kardiyovasküler mortalite için önemli risk faktörleridir (39). Aslında ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar RA'nın ekstra-artiküler tutulumu kabul edilebilir.

CRP yüksekliği RA hastalarında sık görülen bir durumdur ve bu durum KVH gelişme riskini arttırmaktadır. Yeni tanı almış inflamatuvar poliartritli hastadaki CRP düzeyleri (>5 mg/l bazal CRP değerleri) kardiyak mortalite açısından kadınlarda 3,9 kat; erkeklerde 4,2 kat

artmış riskle ilişkilidir. Ayrıca ESH yüksekliği de artmış KVH riski ile ilişkili bulunmuştur (40).

RA'daki sinovyal inflamasyon aterosklerozdaki vasküler infalamasyonla eşdeğerdir. Unstabil aterosklerotik plak ile RA'daki inflame sinovyum karşılaştırıldığında her ikisinde de inflamatuvar monositler, makrofajlar ve T hücreleri olduğu görülür. Ateroskleroz ve RA benzer bir sistemik ve lokal immün aktivasyon gösterirler; T hücre ve mast hücresi aktivasyonu, TNF-alfa ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimi, metalloproteinazları indirgeyen ekstraselüler matrix ve artmış lökosit adhezyon molekülü ekskresyonu gibi. Ayrıca hem RA, hem de aterosklerozun artmış T helper-1 tipi immün yanıt upregülasyonu ile ilişkili olduğu da bilinmektedir. TNF-alfa ve IL-6 gibi sitokinlerin KVH patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Her iki sitokin düzeyi de RA'da artmıştır ve hastalık patogenezinde rol oynarlar. RA'da inflamasyonun en çok etkilediği yer sinovyum olmasına rağmen TNF-alfa ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler sistemik dolaşıma salınarak adipoz doku, iskelet kası, dalak, immün sistem, hematolojik sistem ve endotelyumda da etki gösterirler. Bunun sonucu pro-aterojenik bir süreçte öncülük eden, sistemik inflamasyona sekonder gelişen olaylar kaskadının tetiklenmesidir; bunlar oksidatif stres, aterojenik lipid anormallikleri, vasküler yatak onarımı ile ilişkili endotelial progenitör hücrelerin tükenmesi, artmış damar sertliği, insülin rezistansı, endotelial disfonksiyon, hiperkoagülabilité, artmış homosistein düzeyleri ve aterojenik T hücrelerinin upregülasyonudur (41,42).

RA'yı anti-inflamatuvar immünmodülatörlerle tedavi etmek kardiyovasküler hastalık riskini kısmen azaltmaktadır. Yine son dönemde yapılan bir çalışmada da TNF-alfa antagonistleri tedavisi alan RA hastalarında tedaviye daha iyi yanıt veren grupta miyokard infarktüsü sıklığının daha az olduğu gösterilmiştir (43). Tüm bu araştırmalar göstermektedir ki RA'deki artmış KVH riski büyük ölçüde sistemik inflamasyonla ilişkilidir ve sistemik inflamasyonun daha iyi bir şekilde supresyonu RA'da KVH riskini düşürmede kilit rol oynamaktadır. RA'lı hastalarda birçok lipid düzeyi anormalliği görülür. Ancak RA'daki artmış KVH riski ile kan lipid düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Son zamanlarda yapılmış olan araştırmalarda ateroskleroz gelişiminde ve progresyonunda kritik bir rol üstlenen okside LDL (oxLDL) isimli bir molekül tanımlanmıştır. oxLDL'nin çeşitli mekanizmalarla ateroskleroza yol açtığı hem hayvan modellerinde hem de insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (44). SLE, antifosfolipid antikor sendromu ve RA'lı hastaların sinovyumlarında oxLDL'nin olduğu tespit edilmiştir (45). Ayrıca oxLDL düzeyleri aktif RA olgularında SLE ve sağlıklı insanlara göre yüksek saptanmıştır (46,47).

2.1.10. LİPOPROTEİN İLİŞKİLİ FOSFOLİPAZ A₂ (Lp-PLA₂)

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂ (Lp-PLA₂) fosfolipidleri hidrolize eden fosfolipaz A₂ ailesinin bir üyesidir. Lp-PLA₂, 50 kDa ağırlığında kalsiyum bağımsız bir lipazdır ve trombosit aktive edici faktör asetil-hidrolaz (platelet activating factor acetylhydrolase, PAF-AH) olarak da bilinir (48). Çoğunlukla monosit ve makrofajlar tarafından üretilir ve insan plazmasında başlıca LDL'ye bağlı bulunur. Lp-PLA₂'nin aterogenezdaki anahtar rolü dolaşımda okside olmuş LDL'leri (oxLDL) hidrolize etmesidir. oxLDL'nin Lp-PLA₂ tarafından hidroksilasyonu sonucu proinflamatuvar, aterojenik ürün olan lisofosfatidilkolin (LysoPC) ve okside yağ asitleri (oxFA) oluşur. LysoPC aterogeneзде, endotel disfonksiyonu, plazma zarı hasarı, hücre ölümü ve düz kas hücreleri ile makrofajlarda apoptozun indüklenmesi gibi kritik roller oynar (49).

Lp-PLA₂, insanlarda LDL ile ilişkili olmasına karşın farelerde HDL ile ilişkilidir. Dolaşımdaki Lp-PLA₂ aterogeneзде kritik role sahip olan inflamasyonun bir belirteçidir. Preklinik çalışmalardan elde edilen bilgilere göre Lp-PLA₂'nin inhibisyonu antiaterojenik etkilere yol açabilir. Hücre kültür sistemlerine Lp-PLA₂ inhibitörü eklenmesi oxLDL bağımlı monosit kemoatraksiyonuna ve monositlerin apoptotik ölümünün indüklenmesine yol açar. Bu da LysoPC ve oxFA konsantrasyonlarında anlamlı azalmaya neden olur (49). Koroner arter hastalığı için anjiyografik kanıtı olan ve tip 2 diyabetli hastalarda Lp-PLA₂ düzeyleri ve kardiyovasküler risk arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu ilişkiden dolayı Lp-PLA₂ düzeylerinin ölçümü ile koroner arter hastalığı açısından yüksek riskli hastaların erken tanınması söz konusu olacaktır (50). Plazmadaki LDL'ye bağlı Lp-PLA₂'nin dışında HDL'ye bağlı Lp-PLA₂ de vardır ki bu da antiaterojenik olarak kabul edilmektedir (51). Lp-PLA₂ düzeyleri bir enzim immunassey yöntemi olan PLAC test ile ölçülür ya da Lp-PLA₂ aktivite ölçümü yapılabilir.

Lourida ve ark. (52) erken RA olgularında oxLDL'ye karşı antikor titrelerinde artışa paralel olarak Lp-PLA₂ aktivitesinin anlamlı olarak düştüğünü göstermişler ve bunun inflamasyona bağlı gelişen enzim salgılanmasında azalma ile açıklamışlardır. Tselepis ve ark. (53) ise juvenil RA olgularında bu enzim aktivitesinin düşük olduğunu göstermişlerdir.

2.1.11. KAROTİS İNTİMA-MEDİA KALINLIĞI

Arter duvarı, en içte intima, ortada media ve en dışta adventisya olmak üzere üç tabakadan oluşur. Aterosklerotik lezyonun ortaya çıktığı bölge olan intima, tek sıra endotel hücre tabakasından oluşur. Media tabakası düz kas hücreleri, elastik ve kollajen liflerini içerirken, adventisya tabakası yoğun kollajen ve elastik lifler içermektedir. İntima media kalınlığı endotel hücreleri, konnektif doku, düz kas hücreleri ve de plak oluşumu için gerekli olan lipid yoğunluğunu gösterir (54). İntima media kalınlığı ilk kez 1986 yılında Pignoli tarafından B-mod ultrason ile ölçülmüştür (55). 1990'lı yıllarda ölçümlerin daha rahat yapılabilmesi ve karotis arterin sık olarak incelenmesinden dolayı intima media kalınlığı ölçümünde karotis arteri kullanılmaktadır (56). O tarihten beri yapılan çeşitli çalışmaların sonucunda karotis intima media kalınlığı ölçümünün ateroskleroza belirlemede iyi bir yöntem olduğunu göstermektedir (56). İntimal kalınlaşmadan primer olarak endotel fonksiyon bozukluğu sonucu oluşan ateroskleroz, medianın kalınlaşmasından ise genellikle hipertansiyona bağlı oluşan düz kas hipertrofisi sorumlu tutulmaktadır. İntima media kalınlığı ölçümü diyastol sırasında, lümen çapının en dar ancak intima-media kalınlığının en geniş olduğu an yapılır (57). Sağlıklı bireylerde normal intima media kalınlığı 0.25-1.0 mm olarak kabul edilir ve yaşla ilişkili olup yıl başına 0.01-0.02 mm artış gösterir (58). Karotis intima media kalınlığının yaygınlığı ve derecesi kardiyovasküler hastalık ve inme gelişme riskini artırmaktadır (59,60).

3. MATERYAL ve METOD

3.1.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Tanımlanması

Bu çalışma prospektif bir çalışma olup çalışmaya, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Romatoloji polikliniğine Eylül 2010–Aralık 2010 tarihleri arasında başvuran; EULAR ile ACR’ın 2010 yılında belirlemiş olduğu klasifikasyon kriterlerine göre RA tanısı almış 25 hasta ile kontrol grubu olarak Endokrinoloji polikliniğine başvuran 20 Tip 2 Diyabetes Mellitus hastası ve 20 sağlıklı kontrol dahil edildi. RA’lı hastalardan öyküsünde hipertansiyon, koroner arter hastalığı, diyabetes mellitus, hiperlipidemi, hipotiroidi, hipertiroidi veya malignite anamnezi olanlar çalışma dışı bırakıldı. Tüm hasta ve kotrollerin yaş, cins ve genel demografik özellikleri kaydedilerek fizik muayeneleri yapıldı. RA’lı hastaların hastalıkla ilgili şikayetleri, sistemik hastalık varlığı ve ilaç kullanımı sorgulandı. Tüm olgularda rutin laboratuvar tetkiklerinden tam kan sayımı, biyokimyasal tetkikler, total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, CRP ile sedimantasyon düzeyleri çalışıldı. Tip 2 Diyabetes Mellitus hastalarında ilave olarak tokluk kan şekeri ve HbA1c bakıldı. Her hastaya EKG çekildi. Boy ile kilo ölçümü yapıldı ve buna göre vücut kitle indeksi hesaplandı. RA’lı hastaların hastalık aktivitesi DAS28 ile hesaplandı ve her hastanın HAQ skoruna bakıldı. Çalışma başlangıcında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’ndan onay ve çalışmaya katılan olguların tümünden katılım onayı alındı.

3.1.2. Hastalık Aktivitesinin Saptanması

Romatoid artritli hastalarda hastalık aktivitesi DAS28 ile değerlendirildi. Bu 28 eklem; 2 omuz, 2 dirsek, 2 el bileği, 10 MKF, 2 başparmak İF, 8 PİF ve 2 diz eklemdir. DAS28’de kullanılan HES ve ŞES, 28 eklemden 0: hayır ve 1: evet olarak değerlendirildi. Hastalıktan dolayı olan şikâyet düzeyi, 100 milimetrelik düz çizgi üzerinde hasta tarafından işaretlenerek görsel analog skoru (GAS) milimetre cinsinden ölçüldü. Hastaların aynı dönemde bakılmış ESH ve CRP düzeyleri kayıt edildi. Bu veriler kullanılarak aşağıdaki formül ile DAS28 skoru her hasta için bilgisayarda hesaplandı:

$$\text{DAS28} = (0.56 \times \sqrt{\text{HES}}) + (0.28 \times \sqrt{\text{ŞES}}) + (0.70 \times \text{Ln}(\text{ESH})) + (0.014 \times \text{GAS})$$

2.6’dan küçük değerler bulunması halinde hasta remisyonda kabul edildi. 2.6-3.2 arası değerler düşük klinik aktivite, 3.2 -5.1 arası değerler orta klinik aktivite, 5.1’in üzeri değerler ise yüksek klinik aktivite varlığı olarak kabul edildi.

GAS: Hastalara 100 mm'lik bir çizgi üzerinde o anki ağrı şiddetine karşılık gelen noktaya tek bir çizgi koyması istendi. 0: ağrı yok, 10 cm: dayanılmaz ağrı olarak işaretlendi. Hastanın işaretlediği nokta GAS olarak kullanıldı.

HAQ: Hastaların fonksiyonel disabiliteleri HAQ ile değerlendirildi. RA'lı hastalarda hastalık seyrinin takibinde günlük kullanım için en pratik ve en duyarlı fikir veren skalanın HAQ olduğu bildirilmiştir. HAQ subskalası 8 fonksiyonel kategoride 20 soru içermektedir. HAQ kullanılarak hastalara 0-3 arası skala değerleri verildi.

3.1.3. Serum Örneklerinin Alınması

Tüm olguların serum Lp-PLA₂ düzeylerine bakılmak üzere 2 adet EDTA'lı tüpe açlık kanları alındı. Tüpler 1500 devirde santrifüj edildi ve serum ependorflara aktarıldı. Serumlar gün ışığı ile direkt temas etmeyecek şekilde muhafaza edilerek -80°C'de saklandı.

3.1.4. Serum Lp-PLA₂ aktivitesi Ölçümü

Serum Lp-PLA₂ aktivitesi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında çalışıldı. Kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben, sabah saat 9:00'da, oturur vaziyette, K3EDTA'lı vakumlu tüpe (Vacuette, Greiner Bio-one GmbH, Kremsmünster, Avusturya) alındı. Alınan kan örnekleri +4 C'de 1250Xg de 15 dakika santrifüj edildi. Plazma daha sonra ayrıldı ve deney gününe kadar -80°C'de saklandı. Deney günü çözülen kan örnekleri aşamalı olarak çözüldü. Örneklerde plazma Lp-PLA₂ aktivite ölçümü için Aarsman ve arkadaşlarının tanımlamış olduğu ölçüm yöntemine göre PAF Asetil Hidrolaz Deney Kiti (Katalog No. 760901, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, ABD) kullanılarak yapıldı (61).

Örneklerin üzerine DTNB (5 %'-ditiobis (2-nitrobenzoik asit) ve 2-tio PAF ekledikten sonra dakikadaki değişimi ölçüldü. 25 derecede dakikada 1 mikromol 2-tio PAF'ın hidrolizini sağlayan enzim bir ünite olarak tanımlandı, 412 nm de ölçümü yapıldı. DTNB ekstinksiyon katsayısı 10,66 mM'a göre aktivite $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ olarak hesaplandı ve sonuçlar bu şekilde verildi. Ölçümler Biorad Benchmark Plus (Bio-Rad Laboratories Inc, California, ABD) kullanılarak yapıldı. ESR ölçümü Vacuette marka 1,6ml sodyum sitratlı tüplere alınan numuneler Vacuette SRS 100/II marka Greiner Bio-one firmasının cihazı ile çalışılmıştır (Moduler Analytics P800, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya). RF ve CRP ölçümleri: Nefelometrik yöntemle " Dade Behring BN Prospec, USA" cihazında yapıldı.

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan olgulardan sabah saatlerinde 12 saatlik açlığı takiben periferik bir venden, 19 gauge iğne ile hemolizden kaçınarak, EDTA'lı tüplere kan alındı. Örnekler alındıktan sonra ivedilikle 4000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon için “Elektro-mag® M615M Laboratory Centrifuge İstanbul/Türkiye” marka ve model numaralı santrifüj aleti kullanıldı. Ayrılan plazma örnekleri pipetleme yöntemi ile 1 ml plastik kaplara konarak -80 °C’de derin dondurucuda saklandı (Angelontoni Industrie S.P.A biomedical division Massa Montana P.G.).

3.1.5. Karotis İntima Media Kalınlığının değerlendirilmesi

Her bir olgunun karotis intima media kalınlığı (CIMT) ölçümü ultrasonografik olarak yapıldı. CIMT ölçümü supin ve hastanın yüzü karşı tarafa bakar pozisyondayken sagittal planda ana karotid arter bulbusunun yaklaşık 2 cm proksimalinden Siemens marka Antares model (Erlangen, Almanya) US cihazı ve 7.5 MHz'lik lineer prob kullanılarak gerçekleştirildi. CIMT ölçüm ve değerlendirmesi bir radyoloji uzmanı tarafından yapıldı.

4.1. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın istatistik analizinde ve Grafik çizimlerinde Graphpad prism 5.0 ve SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15 programı kullanıldı. Normal dağılım gösteren grupların verilerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi; post hoc analiz için Tukey testi ve korelasyon için Pearson testi kullanıldı. Sonuçlar Ortalama $\pm$ SD olarak gösterildi. $p<0,05$ anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışmaya; 25 Romatoid artrit (RA), 20 Diyabetes Mellitus (DM) ve 20 sağlıklı kontrol (SK) olmak üzere toplam 65 kişi alındı. RA'lı hastalarda ortalama yaş 45.32 ± 10.123 (yaş aralığı 27-61), DM'lu hastalarda ortalama yaş 47.8 ± 10.278 (yaş aralığı 28-68), sağlıklı kontrol grubundaki ortalama yaş ise 39.75 ± 8.265 (yaş aralığı 26-57) yıldı. RA'lı hastaların 4'ü (%16) erkek, 21'i (%84) kadın, DM'lu hastaların 4'ü (%20) erkek, 16'sı (%80) kadın, sağlıklı kontrol grubunun 4'ü (%20) erkek, 16'sı (%80) kadındı. RA, DM ve sağlıklı kontrollere ait bazı demografik özellikler ve biyokimyasal değerler tablo 5.1'de verilmiştir.

Tablo 5.1: RA, DM ve SK demografik özellikler ve laboratuvar değerleri

	RA N=25	DM N=20	SK N=20	P
Yaş	45,32±10,12	47,80±10,27	39,75±8,26	>0,05
Cins(K/E)	21/4 (%84/16)	16/4 (%80/20)	16/4 (%80/20)	>0,05
Hastalık süresi-yıl	5,08±5,83	5.23±5.18	-	P:???
Lp-PLA2 aktivitesi	15,12±6,25	20,65±6,21	16,50±3,92	<0.01*
Sağ CIMT	0,51±0,16	0,56±0,13	0,45±0,08	>0,05
Sol CIMT	0,75±1,10	0,60±0,14	0,51±0,11	>0.05
CRP	8,57±10,15	3,73±1,50	3,28±1,24	0.011
ESR	17,76±17,62	14,90±7,26	10,15±6,14	>0.05
Total kolesterol	161,68±39,52	199,85±40,24	169,20±21,29	0.02
LDL-Kolesterol	90,72±35,13	128,56±36,71	102,19±19,55	>0.001 **
Trigliserid	97,76±49,93	176,30±143,62	124,40±102,13	0.043
HDL-Kolesterol	47,54±16,52	42,58±8,37	44,26±11,58	>0.05
Açlık glukoz	88,40±20,86	172,40±65,89	92,75±8,33	<0.05
HbA1c	-	8,27±2,03	-	
VKİ	25,86±6,423	28,90±4,65	26,50±4,23	>0.05
DAS28	2.61±0.845	-	-	
HAQ	0.455±0,38	-	-	

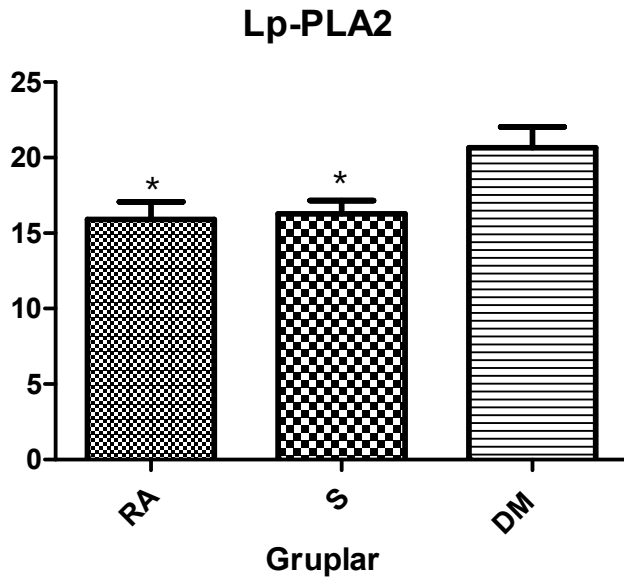
*: DM grubuna göre anlamlı fark

**::RA ve DM arasında anlamlı farklılık saptandı: p:0.01; Sağlıklı ve DM: p:0.029 saptanmıştır.

CIMT: Carotis Intima-Media Thickness (Karotis İntima-Media Kalınlığı), CRP: C-Reaktif Protein, ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate (Eritrosit Sedimentasyon Hızı), HbA1c: Hemoglobin A1c, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, DAS28: Disease Activity Score (Hastalık Aktivite Skoru), HAQ; Healt Assessment Questionnaire (Sağlık Değerlendirme anketi).

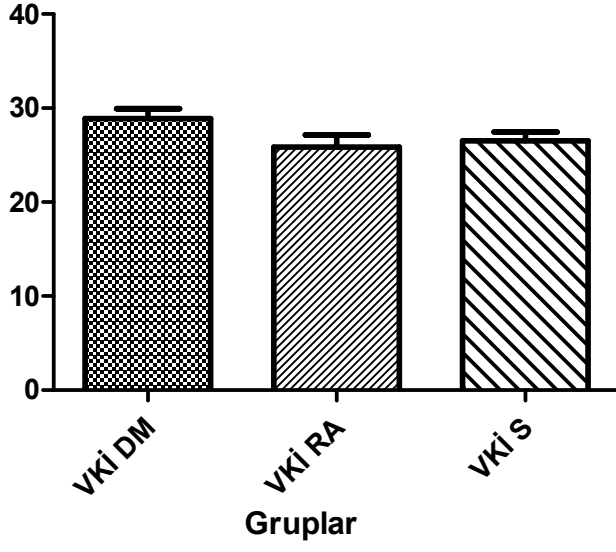
CRP düzeyleri sağlıklı kontrollerde ve DM olgularında RA olgularına göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (sırası ile $p:0.021$; $p:0.038$). LDL-kolesterol düzeyleri RA'lı ve sağlıklı olgularda Diyabetiklere göre anlamlı olarak daha düşüktü (sırası ile $p: 0.001$ ve $p:0.029$). Benzer şekilde total kolesterol düzeyi de DM olgularında RA olgularına ve sağlıklı kontrollere göre daha yüksekti (sırası ile $p: 0.002$; ve $p: 0.021$).

DM grubunda RA ve sağlıklı kontrol grubuna göre Lp-PLA₂ aktivite düzeyinde anlamlı bir yükseklik görüldü ($p:0.006$) (RA grubunda bir hastanın Lp-PLA₂ düzeyi hatalı okunduğu için değerlendirilmeye alınmadı). Post hoc analizde bu farklılığın RA ve DM arasındaki farktan kaynaklandığı görüldü: Lp-PLA₂ aktivitesi DM olgularında anlamlı olarak daha yüksekti ($p:0.005$; ANOVA; post hoc Tukey testi). RA, DM ve sağlıklı kontrollere ait Lp-PLA₂ aktivitesinin grafik görüntüsü şekil 5.1'de görülmektedir.



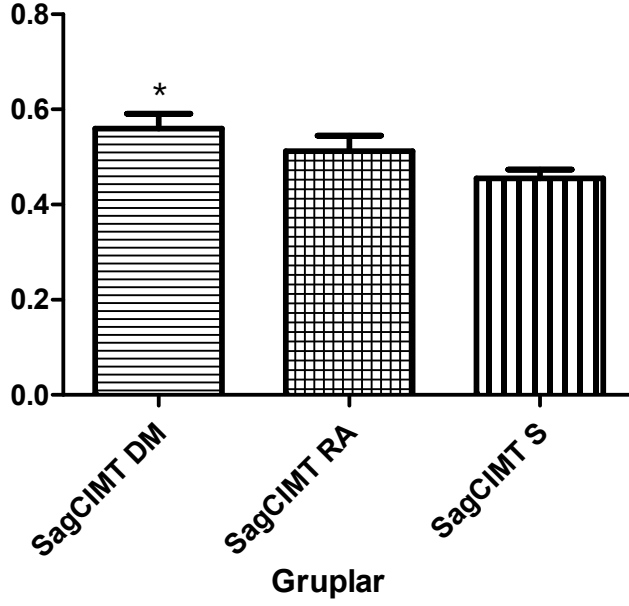
Şekil 5.1: Gruplar arası Lp-PLA₂ aktivesi

Vücut kitle indeksine bakıldığında gruplar arasında fark yoktu (ANOVA; Tukey testi)
(Şekil 5.2).



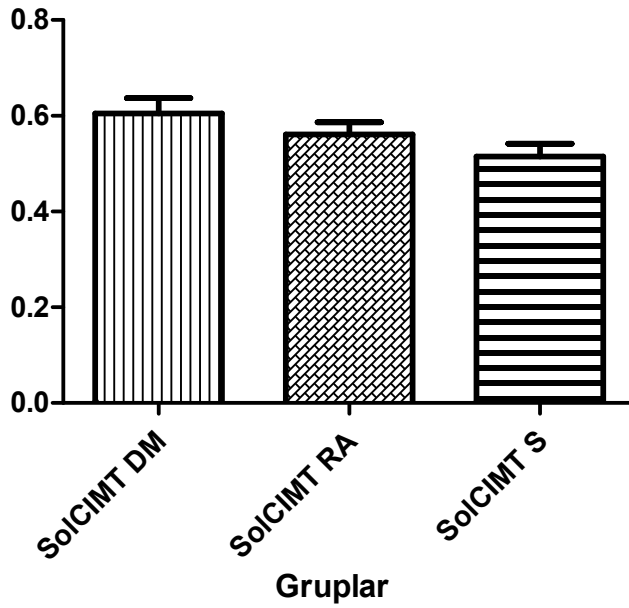
Şekil 5.2: Gruplar arası vücut kitle indexi

Karotis intima media kalınlığı (CİMT) karşılaştırıldığında sadece Diyabetik hastalarda sağ CİMT değerinde sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olduğu ($p:0.047$); sol CİMT açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Şekil 5.3 ve 5.4). (ANOVA; Tukey testi)



Şekil 5.3: Gruplar arası Sağ CİMT

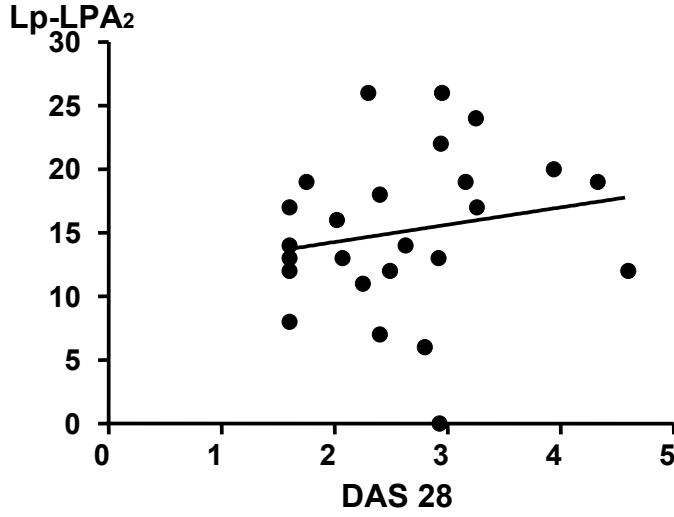
*, $p<0.05$, Sağ CİMT değerleri diyabetik hastalarda RA ve sağlıklı grubu göre anlamlı farklı yüksekti.



Şekil 5.4: Gruplar arası sol CİMT

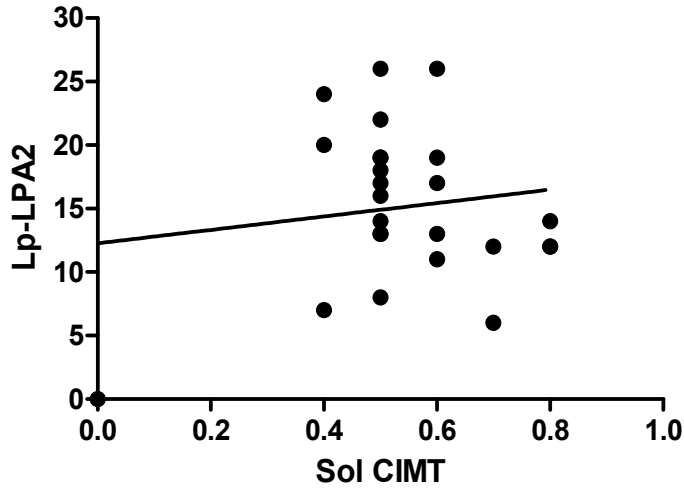
Sol CİMT değerleri açısından gruplar arasında fark yoktur ($p:>0.05$)

Pearson korelasyon testi ile karşılaştırıldığında DAS 28 ile Lp-LPA₂ değerleri arasında korelasyon bulunmamıştır (Şekil 5.5)

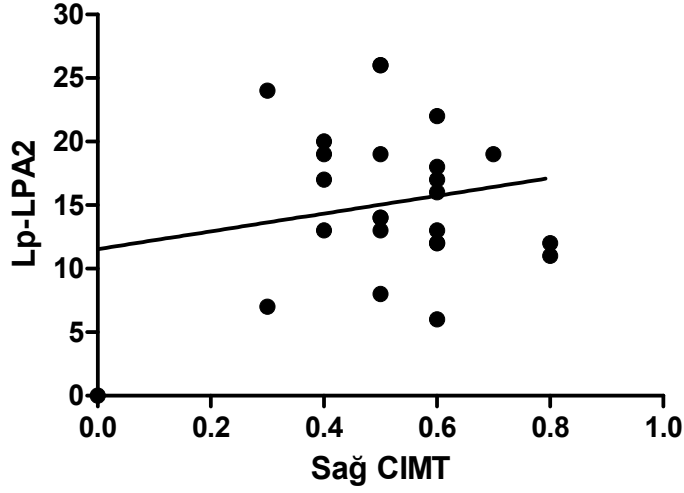


Şekil 5.5: Lp-PLA₂ aktivitesi ile DAS 28 arasındaki korelasyon

Pearson korelasyon test ile karşılaştırıldığında sol CIMT ile Lp-PLA₂ aktivitesi ve sağ CIMT ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasında bir korelasyon bulunamadı (şekil 5.6 ve 5.7).



Şekil 5.6: Sol CIMT ile Lp-PLA₂ aktivesi arasındaki korelasyon



Şekil 5.7: Sağ CIMT ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasındaki korelasyon

RA olgularında HAQ skoru, DAS 28; total kolesterol, HDL-kolesterol, kan şekeri düzeyleri ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasında korelasyon saptanmazken VKİ ve LDL-kolesterol ile anlamlı korelasyon saptanmıştır (sırası ile $r: 0.546$; $p:0.022$ ve $r:0.449$; $p:0.024$). Metotreksat almayan 7 olgu ile almakta olan 18 olgunun total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, CIMT ve Lp-PLA₂ aktivite düzeyleri bakımından aralarında anlamlı fark saptanmamıştır (hepsi için $p>0.05$). Benzer şekilde hidroksiklorokin alan 20 olgu ile almayan 5 olgunun total kolesterol, LDL, HDL, CIMT ve Lp-PLA₂ aktivite düzeyleri bakımından aralarında anlamlı fark saptanmamıştır (hepsi için $p>0.05$). Ancak bu konuda kesin yargı için olgu sayılarımız oldukça azdır.

DM olgularında ise herhangi bir biyokimyasal parametre ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasında korelasyon saptanamamıştır.

6.TARTIŞMA

Romatoid artrit kronik inflamatuvar bir artittir. Bu hastalığın patogenezinde otoimmün mekanizmaların tetklediği kronik inflamatuvar bir süreç rol almaktadır. Primer olarak eklemleri etkilemesine karşın hastalığın seyri sırasında sıklıkla birçok eklem dışı organ ve/veya sisteme ait bulgulara da rastlanmaktadır. Ateroskleroza eğilim de bu eklem dışı bulgulardandır. RA'lı hastalarda ortalama yaşam süresi normal popülasyondan 5-7 yıl daha kısa saptanmıştır. Kısalmış yaşam süresinin en önemli nedeni KVH'dır. RA'lı hastalarda akut miyokard infarktüsü riski sağlıklı insanlara göre 2-3 kat, konjestif kalp yetersizliği riski 2 kat, ani kardiyak ölüm riski 2 kat ve strok riskinde de 1.7 kat artış sözkonusudur (34). Bu hastalarda kardiyovasküler riskteki artışın hızlanmış ateroskleroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (35). Ancak kronik sistemik inflamasyonla seyreden RA'da ateroskleroz gelişiminde yaş, cinsiyet, sigara, DM, hiperlipidemi, hipertansiyon, sedanter yaşam ve aile hikâyesi gibi bilinen risk faktörlerinden farklı bir mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir (34). Örneğin genel popülasyondakinin aksine RA'lı hastalarda, düşük vücut kitle indeksi olanlarda kardiyovasküler mortalite daha sıktır.

Ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıkların yol açtığı mortalite için önemli bir risk faktörü olduğundan henüz preklinik evrede ateroskleroza tespit etmek ve buna yönelik önlemler almak son derece önemlidir. Aktif RA hastalarında kardiyovasküler ölümlerin en önemli nedeni bu hastalardaki hızlanmış aterosklerozdur (62,63). Son yıllarda ateroskleroza göstermek için çeşitli biyomarkırlar ve görüntüleme teknikleri geliştirilmiştir. Lp-PLA₂, kardiyovasküler ve aterosklerotik hastalıklarda kullanılan yararlı biyomarkırlardan biridir (64). Ancak günümüze kadar RA hastalarında Lp-PLA₂ pek çalışılmamıştır. Oysa RA hastalarında aterosklerozun ciddi bir mortalite ve morbidite nedeni olduğu iyi bilinmektedir. Ateroskleroza eğilimi görüntüleme yöntemi olarak CIMT ölçümü ile gösterebilmek de mümkündür. Biz de bu gerçekler ışığında RA hastalarında hem Lp-PLA₂ aktivitesine baktık hem de CIMT ölçümü yaptık.

Birçok prospektif ve kohort çalışmada Lp-PLA₂'nin proaterojenik olduğu gösterilmiştir (63). Gong ve ark.'nın (64) yapmış olduğu bir çalışmada Lp-PLA₂ aktivitesi, metabolik sendromu olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada, karotis arterde aterom plağı olan hastalarda da Lp-PLA₂ aktivitesi aterom plağı olmayanlara göre daha yüksek saptanmıştır. Ayrıca klasik risk faktörleri olan yaş, sistolik kan basıncı, LDL-kolesterol ve CIMT dahil bir çok parametre ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasında korelasyon göstermişlerdir. Yaş ve lipid değerleri ile düzeltme

yapınca CIMT ile olan anlamlılık kaybolmuş. Bir başka çalışmada ise Tip1 diyabetes mellitusu olan hastalarda Lp-PLA₂ aktivitesi sağlıklı insanlara göre daha yüksek tespit edilmiştir (65). Tip2 diyabetes mellitusu olan hastalarda yapılan bir çalışmada ise Lp-PLA₂ serum düzeyi normal olmasına karşın Lp-PLA₂ aktivitesi anlamlı yüksek bulunmuştur (66). Literatürde, diyabetes mellituslu hastalarda Lp-PLA₂ aktivite ölçümü ile ilgili birçok çalışmaya rastlamak mümkün iken aterosklerozun sık görüldüğü hastalıklardan biri olan RA hastalarında Lp-PLA₂ düzeyi ve aktivitesi ile ilgili çok az sayıda makale mevcuttur (52,67).

Bu çalışmamızda RA hastalarında, ateroskleroza yatkınlığın mekanizmalarını açıklamak amacıyla lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂ (Lp-PLA₂) aktivitesi ve karotis intima media kalınlığı (CIMT) bakıldı. Kontrol grubu olarak da aterosklerozun sık ve şiddetli düzeyde görüldüğü hastalıklardan biri olan Diabetes Mellitus (DM)'u bulunan hastalar ile yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı bireyler alındı. RA hastaları ile sağlıklı kontrol grubu arasında Lp-PLA₂ aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0.05$) DM'u olan hastalarda Lp-PLA₂ aktivitesi RA olgularına göre anlamlı yüksek bulundu ($P:0.005$).

Romatoid artitte CIMT ya da diğer noninvazif yöntemlerle ateroskleroza eğilim çok çalışılmıştır (55,56,58,60,68). Ayrıca oxLDL ve oxLDL'ye karşı antikor titrelerinde artışın RA'da ateroskleroza eğilimi arttıran faktörlerden olduğu gösterilmiştir (42-44). Ancak RA'da Lp-PLA₂ konusunda çok az çalışma vardır. Lourida ve ark. (52) erken RA olgularında oxLDL'ye karşı antikor titrelerinde artışa paralel olarak total ve HDL ilişkili Lp-PLA₂ aktivitesinin anlamlı olarak düştüğünü göstermişler ve bunun inflamasyona bağlı gelişen enzim salgılanmasında azalma ile açıklamışlardır. Aynı çalışmada oxLDL'ye karşı antikor titrelerinde anlamlı artış saptanmış olup, bir yıl DMARD tedavisinden sonra bu antikor titrelerinde anlamlı azalma ve buna paralel olarak HDL'ye bağlı Lp-PLA₂ aktivitesinin yükseldiğini saptamışlardır. Bilindiği gibi RA olgularının önemli bir kısmında HDL düşüktür. Bizim çalışmamızda total Lp-PLA₂ aktivitesine bakılmış olup HDL- Lp-PLA₂ aktivitesine bakılmamıştır. Tselepis ve ark. (53) juvenil RA olgularında bu enzim aktivitesinin sağlıklı insanlara göre düşük değerlerde olduğunu göstermiştir. Bu düşme HDL2 ve HDL3 alt gruplarına paralel olarak ve aktif hastalarda daha belirgin olarak saptanmıştır. Çalışmamızda oxLDL ya da anti-oxLDL antikor ya da lipoprotein alt gruplarına bakılamamış olması araştırmamızın zayıf yönleridir. Çalışmamızda RA'lı hastalarda Lp-PLA₂ aktivitesi sağlıklı olgulardan farklı saptanmamış olup diyabetik olgulara göre daha düşük saptanmıştır ($p:0.005$). Oysa RA hastalarında, ateroskleroza eğilim yaratan DM gibi diğer hastalıklar göz önüne alındığında Lp-PLA₂ aktivitesinde artış bekliyorduk. DM ve sağlıklı kontroller arasında ise Lp-PLA₂ aktivitesi DM olgularında daha yüksek ama istatistiksel olarak anlamlı

düzeylerde değildi (p:0.059). RA olgularımızın total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinin DM olgularına göre daha düşük olması Lp-PLA₂ aktivitesi arasındaki bu farkı açıklayabilir. Ayrıca sağlıklı kontrol grubunda da RA olgularına göre, istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmasa da, LDL-kolesterol düzeyleri daha yüksekti. RA olgularında LDL-kolesterol düzeylerinin düşük saptanması tesadüfi olabileceği gibi, olguların %80 kadarının Hidroksiklorokin alıyor olması buna katkı sağlamış olabilir. LDL-kolesterol düzeyleri bakımından homojen kontrol grubu alınmamış olması da RA olgularında Lp-PLA₂ aktivitesinin sağlıklı kontrollerden farklı saptanmamasının bir diğer nedeni olabilir. Bu sonuçların daha geniş sayıda, LDL-kolesterol bakımından homojen, daha aktif RA olgularında ve tedavi öncesi ile tedavi sonrası Lp-PLA₂ aktivite ölçümlerinin yapıldığı çalışmalar daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

Ayrıca RA hastalarımızın DAS 28 ortalaması hastalık yaşı ve yaş ortalaması da nispeten düşük olduğundan, RA olgularımızda, gerek CIMA değeri gerekse de Lp-PLA₂ aktivitesinin yüksek saptanmamış olmasına katkıda bulunmuş olabilir.

Hatoum ve ark. (69), artmış Lp-PLA₂ aktivitesinin diyabetik kadın ve erkeklerde klasik risk faktörlerinden bağımsız olarak ateroskleroz için risk faktörü olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da CIMA ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasında korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca LDL-kolesterol ve Lp-PLA₂ aktivitesi arasında da bir korelasyon görülmemiştir.

Sonuç olarak RA olgularımızda Lp-PLA₂ aktivitesi sağlıklı kontrollerden farklı değildi ancak DM olgularına göre düşük saptanmıştır. Ayrıca CIMA ile Lp-PLA₂ arasında korelasyon saptanamamıştır. Olgularımızın inaktif ve ilaç tedavisi altında olması bu sonuçlara neden olabilir. Öte yandan DM olgularında Lp-PLA₂ aktivitesi daha yüksek saptanmıştır. CIMA ölçümleri de en azından sağ karotid arterde DM olgularında daha yüksekti. Daha önceden bildirildiği gibi, DM olgularında ateroskleroza eğilimi göstermede CIMA ve Lp-PLA₂ aktivitesi ölçümü iyi birer gösterge olabilir.

Sonuçlar

- 1) Tedavi altındaki RA olgularında Lp-PLA₂ aktivitesi sağlıklı kontrollere göre değişmemiştir.
- 2) DM olgularında Lp-PLA₂ aktivitesi RA olgularına göre daha yüksek saptanmıştır.
- 3) RA olgularımızda CIMT ölçümü sağ ve solda sağlıklı kontrollerden farklı saptanmamıştır.
- 4) DM olgularında sağ CIMT değerleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Firestein GS. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, (eds). Kelley's Textbook of Rheumatology. Sixth ed, Philadelphia, WB Saunders 2001; 921-1000.
2. Hurd ER. Extraarticular manifestations of rheumatoid arthritis. Semin Arthritis Rheum. 1979; 8(3):151-176
3. Wolfe F, Mitchell DM, Sibley JT et al. The mortality of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1994;37:481-494
4. Wallberg Jonsson S, Ohman ML. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive Rheumatoid arthritis. J Rheumatol 1997; 24: 445-451
5. Jacobsson LTH, Knowler WC, Pillemer S. et al. Rheumatoid arthritis and mortality. A longitudinal study in Pima Indians. Arthritis Rheum 1993;36:1045-1053.
6. Caslake MJ, Packard CJ. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as a biomarker for coronary disease and stroke. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2005; 2:529-535.
7. MacGregor AJ, Silman AJ. Classification and epidemiology. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, (eds). Rheumatology. Third ed, Spain, Mosby 2003;757-763.
8. Hazes, J. M. W. , Dijkmans, B. A. C., Vandenbroucke, J. P., deVries, R.R.P., and Cats, A. Lifestyle and the risk of rheumatoid arthritis: Cigarette smoking and alcohol consumption. Ann. Rheum. Dis. 1990;49:980.
9. Fuchs HA, Sargent JS, Rheumatoid arthritis: The clinical Picture. In: Koopman WJ, (ed). Arthritis and Allied Conditions. 13th ed, Pennsylvania, Williams and Wilkins 1997;1041-1070.
10. Maini RN, Feldmann M: Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. In Madison P, Isenberg D, Woo P, Glass D (eds). Oxford Textbook of Rheumatology, Oxford University Press p 1998: 983-1004.
11. Alarcon GS. Epidemiology of rheumatoid arthritis. Rheum Dis Clin North Am 1995; 21(3):589-604.
12. Jorgensen C, Sany J. Modulation of the immune response by the neuro-endocrine axis

- in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheum* 1994;12: 435-441.
13. Cutolo M, Seriola B, Cravioito C, Pizzorni C, Sulli A. Circadian rhythms and arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2005;31:115– 29.
 14. Carty SM, Snowden N, Silman AJ. Should infection still be considered as the most likely triggering factor for rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 46-49.
 15. Albani S, Carson DA. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Kopman WJ (ed). *Arthritis and Allied Conditions*. Thirteenth edition, Pennsylvania, Williams and Wilkins 1997; 979-992.
 16. Berthelot JM, Le Goff B. Rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Joint Bone Spine* 2010;77(6):537-41.
 17. Liao F, Li Z, Wang Y, Shi B, Gong Z, Cheng X. *Porphyromonas gingivalis* may play an important role in the pathogenesis of periodontitis-associated rheumatoid arthritis. *Med Hypotheses*. 2009;72(6):732-5.
 18. Firestein GS, Zvaifler NJ. Peripheral blood and synovial fluid monocyte activation in inflammatory arthritis II. Low levels of synovial fluid and synovial tissue interferon suggest that gamma-interferon is not the primary macrophage activating factor. *Arthritis Rheum* 1987;30:864-871.
 19. Budh M, Emery P. The Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Hospital Pharmacist* 2002;9:5-10.
 20. Sack U, Kinner R, Marx T, Heppt P, Bender S, Emmrich F. Interleukin-6 in synovial fluid is closely associated with chronic synovitis in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1993; 13: 45-51.
 21. Wolheim FA. Rheumatoid arthritis. *Oxford Textbook of Rheumatology*. Isenberg DA, ed, 1998;1004-1019.
 22. Öncel S, Peker Ö, Göğüş F. Romatoid Artrit Etiyopatogenez, Klinik ve Laboratuar Bulgular. Göksoy T (ed). *Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi* Yüce reklam/yayım/dağıtım a.ş. İstanbul, 2002;422-431,436-449.
 23. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA. The American Rheumatism Association revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315–24.
 24. Duncan AG, Hasting DE. Clinical features of early progressive and late disease in Rheumatology edited by Klippel JH, Dieppe PA, Mosby-Wolfe pp:5.3.1.14,1998.
 25. Emery P, Symmons DPM. What is early Rheumatoid arthritis?:definition and diagnosis. *Bailliere's Clin Rheumatol* 1997;11:13-26.
 26. Neogi T, Aletaha D, Silman Alan J, Naden Raymond L, Felson David T, Aggarwal R, et

- al. The 2010 American Collage of Rheumatology/ European League Against Rheumatism Classification criteria for Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatism* 2010; 62 (9): 2582-2591.
27. Matteson EL, Extra-articular features of rheumatoid arthritis and systemic involvement. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, eds. *Rheumatology*. Third ed, Spain, Mosby 2003; 781-792.
28. Ziff M. The rheumatoid nodule. *Arthritis Rheum* 1990;33:761-767.
29. Mc Rorie ER, Wright RA, Errington ML, et al. Rheumatoid constrictive pericarditis. *Br J Rheumatology* 1997;36:100-103.
30. İhsan Ertenli. Romatoid Artrit. *Romatizmal Hastalıklara Giriş* 2000;97-101.
31. Blackburn WD, Chatham WW Jr. Laboratory findins in rheumatoid arthritis. In: Kopman WJ (ed). *Arthritis and Allied Conditions*. 13th ed, Pennsylvania, Williams and Wilkins 1997; 1089-1102.
32. Martinus AM van Boekel, Erik R Vossenaar, Frank HJ van den Hoogen and Walther J van Venrooij. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002; 4:87–93.
33. Harris ED Jr. Clinical features of rheumatoid arthritis. In: Ruddy S, Harris ED Jr, Sledge JS, (eds). *Kelley’s Textbook of Rheumatology*. Sixth ed, Pennsylvania, W.B.Saunders 2001; 967-1000.
34. Theodorou DJ, Theodorou SJ, Resnick D. Imaging of rheumatoid arthritis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, (eds). *Rheumatology*. Third ed, Spain, Mosby 2003; 765-780.
35. Fuchs HA, Sargent JS, Rheumatoid arthritis: The clinical Picture. In: Koopman WJ, (ed). *Arthritis and Allied Conditions*. 13th ed, Pennsylvania, Williams and Wilkins 1997;1041 1070.
36. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003; 107:1303-1307.
37. Del Rincon I, O.leary DH, Freeman GL, Escalante A. Acceleration of atherosclerosis during the course of rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2007;195:354-360.
38. Kremers HM, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Prognostic importance of low body mass index in relation to cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3450-3457.
39. Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular

- death in rheumatoid arthritis: a populationbased study. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 722-32.
40. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Lopez-Diaz MJ, Piñeiro A, Garcia-Porrúa C, Miranda-Filloo JA, et al. HLA-DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007 Feb 15;57(1):125-32.
41. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor- α and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000; 9;101(18):2149-53.
42. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000;18;101(15):1767-72.
43. Dixon WG, Watson KD, Lunt M, Hyrich KL, British Society for Rheumatology Biologics Register Control Centre Consortium, Silman AJ, Symmons DP, British Society for Rheumatology Biologics Register. Reduction in the incidence of myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis who respond to anti-tumor necrosis factor α therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum* 2007;56(9):2905-12.
44. Holvoet P, Collen D. Oxidation of low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1998;137 Suppl:S33-8.
45. McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, Dahlin-Lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54(8): 2541-9.
46. Kim SH, Lee CK, Lee EY, Park SY, Cho YS, Yoo B, Moon HB. Serum oxidized low-density lipoproteins in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2004;24(4):230-3.
47. Vuilleumier N, Bratt J, Alizadeh R, Jogestrand T, Hafström I, Frostegard J. Anti-apoA-1 IgG and oxidized LDL are raised in rheumatoid arthritis (RA): potential associations with cardiovascular disease and RA disease activity. *Scand J Rheumatol* 2010;39:447-53.
48. Dada N, Kim NW, Wolfert RL. Lp-PLA2: an emerging biomarker of coronary heart Disease. *Expert Rev Mol Diagn*. 2002;2(1):17-22.
49. MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J*. 1999 Mar 1;338 (Pt 2):479-87.

50. Khuseyinova N, Imhof A, Rothenbacher D, Trischler G, Kuelb S, Scharnagl H, et al. Association between Lp-PLA2 and coronary artery disease: focus on its relationship with lipoproteins and markers of inflammation and hemostasis. *Atherosclerosis* 2005;182(1):181-8.
51. Tselepis AD, Chapman JM. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A₂, platelet activating factor acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl.* 2002;3:57–68.
52. Lourida ES, Georgiadis AN, Papavasiliou EC, Papathanasiou AI, Drosos AA, Tselepis AD. Patients with early rheumatoid arthritis exhibit elevated autoantibody titers against mildly oxidized low-density lipoprotein and exhibit decreased activity of the lipoprotein-associated phospholipase A2. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(1):R19.
53. [Tselepis AD](#), [Elisaf M](#), [Besis S](#), [Karabina SA](#), [Chapman MJ](#), [Siamopoulou A](#). Association of the inflammatory state in active juvenile rheumatoid arthritis with hypo-high-density lipoproteinemia and reduced lipoprotein-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Arthritis Rheum.* 1999;42(2):373-83.)
54. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993;87: 56-65.
55. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, et al. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ul-trasound imaging. *Circulation* 1986; 74:1399-1406.
56. O'Leary DH, Polak JF. Intima-Media Thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol.* 2002; 90:18-21.
57. Geul KW, Van Sluisveld IL, Grobbee DE, et al. The importance of thyroid microsomal antibodies in the development of elevated serum TSH in middle-aged women: Association with serum lipids. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993;39(3):275-80.
58. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, et al. Carotid Plaque, Intima Media Thickness, Cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. *Stroke* 1999;30: 841-850.
59. Rothwell PM. The Interrelation between carotid, femoral and coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2001;22: 11-4.
60. Mukherjee D, Yadav JS. Carotid artery intimal-medial thickness: indicator of atherosclerotic burden and response to risk factor modification. *Am Heart J.* 2002;144: 753-9.
61. Arsman AJ, Neys FW, Van den Bosch N. Catabolism of platelet-activating factor and its acyl analog. Differentiation of the activities of lysophospholipase and platelet-activating

- factor- acetylhydrolase, Eur J Biochem 1991; 200; 197-193.
62. Goodson N. Coronary artery disease and rheumatoid arthritis. Curr Opin Rheumatol 2002;14:115-120.
63. Symmons DP. Looking back: rheumatoid arthritis-aetiology, occurrence and mortality. Rheumatology 2005;44:14-17.
64. Gong HP, Du YM, Zhong LN, Dong ZQ, Wang X, Mao Y, Lu QH. Plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 in patients with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis. Lipids Health Dis. 2011;10:13.
65. Gomes MB, Cobas RA, Nunes E, Castro-Faria-Neto HC, da Matta MF, Neves R, Tibirica E. Plasma PAF-acetylhydrolase activity, inflammatory markers and susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients with type 1 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract. 2009;85(1):61-8.
66. Nelson TL, Kamineni A, Psaty B, Cushman M, Jenny NS, Hokanson J, Furberg C, Mukamal KJ. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and future risk of subclinical disease and cardiovascular events in individuals with type 2 diabetes: the Cardiovascular Health Study. Diabetologia. 2011;54(2): 329-33.
67. Hilliquin P, Houbaba H, Aissa J, Benveniste J, Menkes CJ. Correlations between PAF-acether and tumor necrosis factor in rheumatoid arthritis. Influence of parenteral corticosteroids. Scand J Rheumatol. 1995;24(3): 169-73.
68. Yildiz M, Soy M, Kurum T, Ozbay G. Increased pulse wave velocity and shortened pulse wave propagation time in young patients with rheumatoid arthritis. Can J Cardiol. 2004;20(11):1097-100.
69. Hatoum IJ, Hu FB, Nelson JJ, Rimm EB. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and incident coronary heart disease among men and women with type 2 diabetes. Diabetes. 2010 ;59(5):1239-43. Epub 2010 Feb 25.