

Romatoid Artrit ve Osteoartritli Hastaların Plazma ve Sinovyal Sıvılarında C5a Düzeyi

Serum and Synovial Fluid C5a Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis

Dr. Dilek KESKİN,^a
Dr. Göksal KESKİN,^b
Dr. Ali İNAL,^c
Dr. Ali ŞENGÜL^c

^a2. FTR Kliniği, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
^bİmmünoloji-Romatoloji Kliniği, Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
^cİmmünoloji Kliniği, GATA, ANKARA

Geliş Tarihi/Received: 15.05.2007
Kabul Tarihi/Accepted: 23.01.2008

Bu çalışma 'The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress APLAR 2004'te poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Dilek KESKİN
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
2. FTR Kliniği,
drdilekkeskin@yahoo.com

ÖZET Amaç: Romatoid artrit (RA) etiyolojisi bilinmeyen, öncelikle küçük eklemleri tutan kronik, inflamatuvar bir hastalıktır. RA'da akut alevlenmeler sırasında kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan C5a, RA patogenezinde önemli role sahiptir. Bu çalışmanın amacı plazma ve sinovyal sıvı (SS) örneklerinde C5a düzeyini belirlemektir. **Gereç ve Yöntemler:** RA'lı 15 ve osteoartrit (OA) 13 hasta çalışma kapsamına alındı. RA'lı hastalarda ortalama hastalık süresi 6.7 ± 3.42 yıl, OA'lı hastalarda ise 8.3 ± 4.7 yıl idi. RA'lı hastaların hepsi aktif dönemdeydi. Tüm hastaların diz ekleminde SS aspire edildi ve eş zamanlı plazma örnekleri alındı. C5a düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü. **Bulgular:** Aktif RA'lı ve OA'lı hastaların ortalama plazma C5a düzeyleri sırasıyla 107.3 ± 18.2 µgr/L ve 88.5 ± 23.1 µgr/L bulundu. SS ortalama C5a düzeyleri RA'lı hastalarda 168.4 ± 41.7 µgr/L, OA'lı hastalarda 103.8 ± 33.1 µgr/L idi. Her iki hastalık grubunda plazma C5a düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Aktif RA'lı hastalarda SS C5a düzeyleri OA'lı hastalarinkine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. **Sonuç:** Aktif RA'lı hastaların SS'lerinde C5a düzeyinin yüksek olması, C5a'nın inflamasyon bölgesinde yoğun olarak sentezlendiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kompleman C5a; romatoid artrit; diz osteoartrit

ABSTRACT Objective: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, inflammatory disease, with unknown etiology, primarily affects small joints. C5a which is generated during acute flare-up of RA has an important role in the pathogenesis of RA. The aim of this study was to determine C5a levels in plasma and synovial fluid (SF) samples. **Material and Methods:** Fifteen patients with RA and 13 patients with osteoarthritis (OA) were enrolled in the study. The mean duration of the disease was 6.7 ± 3.42 years in patients with RA and 8.3 ± 4.7 years in patients with OA. All patients with RA were active. Synovial fluid was aspirated from the knee joint and at the same time plasma samples were taken from all patients. C5a levels were determined with ELISA. **Results:** The mean plasma C5a levels in patients with active RA and OA were 107.3 ± 18.2 µgr/L and 88.5 ± 23.1 µgr/L respectively. The mean SF C5a level was 168.4 ± 41.7 µgr/L in patients with active RA and 103.8 ± 33.1 µgr/L in patients with OA. There was no statistically significant difference in plasma C5a levels in both of the groups. The SF C5a levels were significantly high in patients with active RA compared to patients with OA. **Conclusion:** The high levels of C5a levels in SF of the patients with active RA, suggests that C5a is intensively synthesized in the region of inflammation.

Key Words: Complement C5a; arthritis, rheumatoid; osteoarthritis, knee

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2008, 28:133-136

Romatoid artrit (RA) etiyolojisi bilinmeyen, öncelikle küçük eklemleri tutan kronik, inflamatuvar bir hastalıktır.¹ Çeşitli çalışmalarda RA'nın tipik lezyonlarının patogenezinde nötrofil lökositlerinin ve onların salgıladığı proinflamatuvar mediatörlerinin önemli rolleri olduğu bi-

linmektedir.² Kronik inflamasyon, eklem destrüksiyonu ve kartilajda harabiyet ile invaziv pannus oluşumuna yol açar.³

İmmünolojik ve non-immünolojik uyarıların inflamatuvar hücreleri etkilemesi ile çeşitli kimyasal mediatörler salgılanır. Oluşan biyokimyasal olayların romatizmal hastalıklar dahil pek çok hastalık patogenezinde çok önemli roller oynadığı bilinmektedir. Kompleman sistemi konakçı defansında ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan, plazmada ve hücre membranlarında bulunan bir grup proteinden oluşmuştur. Klasik veya alternatif yolla aktifleşirler. Aktivasyonları sonucu C3 ve C5 komponentleri oluşur ve sitolitik membran atak proteinini meydana getirirler. Bu aktivasyon sırasında, çeşitli proinflamatuvar proteinler ortaya çıkar. Bunlardan biri de, güçlü anafatoksin olarak bilinen C5a'dır. C5a'nın kemotaksis ve vasküler permeabilitenin artması, spazmogenез, immün regülasyon, inflamatuvar sitokin ve mediatörün salınması gibi birçok immün ve inflamatuvar işlevi vardır.^{4,5}

RA'da, akut alevlenmeler sırasında kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan C5a, RA patogenezinde önemli role sahiptir. C5a, RA'lı hastalarda vasküler permeabilitenin artmasına, inflamatuvar hücrelerin migrasyonuna ve agregasyonuna neden olur.^{6,7} Bu çalışmada C5a'nın inflamasyon patogenezinde önemli role sahip olmasından dolayı RA'lı ve OA'lı hastaların plazma ve SS'lerinde C5a düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

■ GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon ve Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, romatoloji polikliniklerine başvuran 15 RA ve 13 OA'lı hasta alındı. RA'lı hastalar Amerikan Romatoloji Derneği tanı kriterlerini, OA'lı hastalar ise Amerikan Romatoloji Derneği'nin diz OA'sı tanı kriterlerini taşımaktaydı.^{8,9} RA'lı hastaların 13'ü kadın, 2'si erkek, OA'lı hastaların ise 12'si kadın, 1'i erkekti. Her iki hasta grubunda hipertansiyon dışında başka bir hastalık yoktu. Tüm hastaların yaş, cinsiyet, sabah tutukluğu, hastalık süresi, kullandıkları ilaçları kaydedildi.

RA'lı hastaların hepsi aktifti. Romatoid faktör (RF) tüm hastalarda pozitif ve DAS-28 skor ortalaması 3.8 ± 0.9 idi. Hastaların eklem ağrı düzeyleri vizüel analog skala (VAS) ile ölçüldü. Hastalarda laboratuvar parametrelerinden eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), RF, hemoglobin (Hb) değerlerine bakıldı. Eklem hassasiyeti Ritchie artiküler indeksi (RAİ) ile değerlendirildi.

Aktif RA'lı ve OA'lı hastaların diz ekleminden artrosentezle SS aspire edildi. Aynı anda hastalardan kan örnekleri alındı, plazma numuneleri ayrıldı ve tüm numuneler çalışma gününe kadar -70° derecede dondurularak bekletildi. Plazma ve SS'de C5a düzeyleri aynı anda Enzygnost (Behring, Diagnostica GmbH) kiti kullanılarak ELİSA yöntemiyle çalışıldı.

■ İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS programı 13.0 versiyonu ile yapıldı. Tüm değişkenlerin ortalaması tanımlayıcı analizler ile değerler ortalama \pm standart sapma olarak belirtildi. Gruplar arası karşılaştırma için t testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

■ BULGULAR

RA'lı ve OA'lı hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. RA'lı hastaların yaş ortalaması 33.6 ± 2.4 yıl, ortalama hastalık süresi ise 6.7 ± 3.4 yıl idi. OA'lı hastaların yaş ortalaması 52.1 ± 4.5 yıl, tanı konulduktan çalışma anına kadar geçen hastalık süreleri ise 8.3 ± 4.7 yıl idi.

Çalışmamızda aktif RA'lı hastaların plazma C5a düzeyleri ortalama 107.3 ± 18.2 $\mu\text{gr/L}$, OA'lı hastaların plazma C5a düzeyleri ise ortalama 88.5 ± 23.1 $\mu\text{gr/L}$ bulundu. Her iki hasta grubunda SS'de C5a düzeylerine bakıldığında RA'lı hastalarda 168.4 ± 41.7 $\mu\text{gr/L}$, OA'lı hastalarda 103.8 ± 33.1 $\mu\text{gr/L}$ bulundu. Her iki hastalık grubunda plazma C5a düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Aktif RA'lı hastaların SS C5a düzeyleri OA'lı hastalarinkine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p = 0.024$). OA'lı hastaların SS C5a düzeyleri plazma C5a düzeylerinden nispeten yüksekti, ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Buna karşılık, aktif

TABLO 1: Hastaların demografik özellikleri ve laboratuvar parametreleri.

	RA'lı hastalar	OA'lı hastalar
Yaş (yıl)	33.6 ± 2.4	52.1 ± 14.5
Hb (g/dL)	10.91 ± 0.83	12.66 ± 0.84
RF (IU/dL)	168.16 ± 203.56	7.53 ± 4.76
Sedimentasyon (mm/saat)	46.04 ± 10.03	15.75 ± 3.30
C-reaktif protein (mg/dL)		1.50 ± 1.04
Plazma C5a düzeyi (µgr/L)	107.3 ± 18.2	88.5 ± 23.1
Sinovyal sıvı C5a düzeyi (µgr/L)	168.4 ± 41.7	103.8 ± 33.1

Sonuçlar, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

RA'lı hastaların SS C5a düzeyleri plazma C5a düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p= 0.016$).

TARTIŞMA

Patogenezi henüz tam olarak anlayamamasına rağmen RA'lı hastalarda sinovitin başlaması ve giderek artmasında çeşitli hücrelerin (lenfositler, endotel hücreleri, mast hücreleri, makrofaj ve monositler) ve humoral faktörlerin rolü olduğu bilinmektedir.³ RA'daki inflamasyon olayında rol oynayan humoral faktörler arasında çeşitli sitokinler, immünglobulinler ve kompleman kaskadı (C3 ve C5a) sayılabilir.^{3,10}

Normal sinovyal membranda makrofaj ve fibroblast benzeri sinovisitler, fibroblastlar, makrofajlar ve endotel hücreler bulunur. OA'da sinovyal hücre tabakasının hiperplazisinde fokal lenfosit birikimleri görünürken RA'daki hiperplazide lenfosit, plazma hücreleri, makrofaj, fibroblast ve endotel hücrelerinin oluşturduğu kronik inflamasyon vardır. Bu nedenle RA ve OA'da sinovyal membranlarda, kompleman komponentlerini sentezleme kabiliyeti farklı hücreler gözlenir.^{6,11} RA'da tutulan eklemlerde komplemanın rolü olduğuna dair çeşitli çalışmalar yapılmıştır.^{6,12}

Eklem içinde kompleman aktivasyonu, RA'da inflamatuvar süreçten sorumludur. Daha da önemlisi eklem ve dolaşımında saptanan kompleman aktivasyonunun derecesinin hastalığın ciddiyeti ile korele olduğu ve bu yüzden C5a'nın hastalığın patogenezinde önemli role sahip olduğu bildirilmiştir.^{4,13} Kompleman aktivasyon sürecinin ilk bölümlerinin proteolitik basamaklarında, yakındaki hücreleri aktive etmek için C4a, C5a, C3a gibi düşük molekül

ağırlıklı fragmanlar aşırı salınarak anafeksiye benzer bir reaksiyonu tetiklerler, bu nedenle bu maddeler anafatoksin olarak isimlendirilirler. C3a ve C5a en kuvvetli mediatördür, bunlar kompleman aktivasyon bölgesinde kendine özgün reseptöre bağlanırlar (kompleman bağlayan bölge). Bağlandıkları bölgeleri aktive ederek mast hücrelerinden histamin salınmasını ve fagositik hücrelerin kemotaksisi gibi olaylara yol açarlar. C3a ve C5a, epitelyal hücrelerinin çoğu, immünkompleman hücreler, hepatositler, endotel hücreler, nöronlar ve diğer hücrelerden eksprese edilirler.¹⁴ RA'lı hastalarda eklem harabiyetine neden olan polimorfonükleer lenfositlerin (PMN) infiltrasyonundan kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan C5a ve araşidonik asit derivesi lökotrienler sorumludur.¹⁵

C5a nötrofil infiltrasyonuna ve ödeme neden olan bir mediatördür. Bu nedenle inflamasyon bölgesinde miktarının artması normalde beklenen bir bulgudur. Buna rağmen C5a'nın aktivasyonu ve lökosit reseptörlerine bağlandığının tespit edilmesi oldukça zordur. RA'lı hastalarda eksüdatif SS'de lökosit reseptörleri üzerine C5a'nın bağlandığı ilk kez Jose tarafından radyoimmünoassay yöntemiyle tespit edilmiştir.⁶ Çalışmamızda, aktif RA'lı ve OA'lı hastalarda plazma ve SS'de C5a düzeylerini saptamaya çalıştık. Her iki hasta grubunda da SS'de C5a düzeylerini plazmaya oranla yüksek bulduk. OA'lı hastalarda bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu da muhtemelen hastalığın patogenezinin kaynaklanmaktadır.

Moxley ve Ruddy RA'lı eklemlerde immünreaktif C3a'nın SS'de yüksek konsantrasyonda bulunmasına rağmen sadece 1 hastada C5a'yı tespit ettiklerini bildirmiştir.¹¹ C3a ve C5a'nın aralarında yapısal benzerlikler olmasına rağmen C3a ve C5a farklı reseptörlere bağlanırlar. Bir çalışmada SS'de C3 fragmanlarının yüksek konsantrasyonda bulunduğu bildirilmiştir.⁵ Çalışmamıza benzer şekilde Woodruff ve ark. da RA'lı hastalarda SS C5a düzeylerini OA'lı hastalarinkine göre yüksek bulmuşlardır.⁴

Komplemanlar normalde SS'de plazmadan daha düşük konsantrasyonda bulunur. Bizim çalışmamızda da plazma C5a düzeyleri her iki hastalık grubunda düşüktü. Guç ve ark. SS'de kompleman bileşimleri ve alternatif yolun düzenleyici protein-

lerini incelemişler ve çalışmalarının sonucunda normal, RA'lı ve OA'lı hastaların SS'lerinde birçok kompleman komponentinin sentezlendiğini tespit etmişlerdir.¹⁶

Bütün bu çalışmalara rağmen SS'de C5a'nın tespit edilemediğini bildiren az sayıda çalışma vardır. Wagner ve Hugli RA ve OA'lı hastaların SS'lerinde C3a ve C4a saptamalarına rağmen C5a'yı saptayamadıklarını bildirmişlerdir.¹²

Kompleman aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan en güçlü mediatör olan C5a'nın bu özelliğinden yola çıkılarak RA'lı hastaların SS'lerinde nötrofillerin kemotaktik aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, anti C5a antikorlarının %80-90 oranında romatoid SS'de kemotaktik aktiviteyi inhibe ettiği gösterilmiştir.⁴ C5a etkilerini C5a reseptörleri (CD88) aracılığı ile yapar, inflamatuvar olaylarda C5a gibi çok önemlidir.^{3,5,17,18} Bu nedenle, immün aracılı artrit hayvan modelleri-

nin tedavisinde C5a reseptör antagonistleri kullanılmış, bunların oral olarak verilmesinden sonra eklem şişliğinin azaldığı ve yürümenin rahatladığı gözlemlenmiştir.⁴

Genel olarak, literatüre bakıldığında RA'da C5a'nın inflamasyonda rolü olduğu görülmektedir. Bizim bulgularımız da bu yöndedir ve hastalığın aktivasyonu ile SS'de titrasyonu artmaktadır. Çalışmamızda hasta sayısının fazla olmaması ve inaktif RA'lı hastalardan SS örneği alınmamış olması nedeniyle hastalığın aktivitesini belirlemede SS C5a düzeylerinin kullanılıp kullanılmayacağını söyleyemiyoruz. Bununla birlikte hastalık aktivitesi ile birlikte SS C5a düzeylerinin yüksek olduğunu ve bazı tedavi şekillerinin bu bulgular ışığında düzenlenebileceğini söyleyebiliriz. Plazma C5a düzeylerinin OA'lı hastalarla benzer olması, hastalığın sistemik olmasına rağmen C5a'nın primer inflamasyon bölgesinde daha yoğun sentezlendiğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Gordon DA, Hastings DE. Clinical features of rheumatoid arthritis. In: Hochberg MC, Silman AJS, eds. Rheumatology. 3rd ed. Spain: Mosby; 2003.p. 765-80.
- Marinò I, Columbo M, Marone G. The releasability of lysosomal enzymes from neutrophil leukocytes in patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 1996;14:387-94.
- Kiener HP, Baghestanian M, Dominkus M, Walchshofer S, Ghannadan M, Wilhelm M, et al. Expression of the C5a receptor (CD88) on synovial mast cells in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1998;41:233-45.
- Woodruff TM, Strachan AJ, Dryburgh N, Shiels IA, Reid RC, Fairlie DP, et al. Antiarthritic activity of an orally active C5a receptor antagonist against antigen-induced monarticular arthritis in the rat. Arthritis Rheum 2002;46:2476-85.
- Onuma H, Masuko-Hongo K, Yuan G, Sakata M, Nakamura H, Kato T, et al. Expression of the anaphylatoxin receptor C5aR (CD88) by human articular chondrocytes. Rheumatol Int 2002;22:52-5.
- Jose PJ, Moss IK, Maini RN, Williams TJ. Measurement of the chemotactic complement fragment C5a in rheumatoid synovial fluids by radioimmunoassay: role of C5a in the acute inflammatory phase. Ann Rheum Dis 1990;49:747-52.
- Neumann E, Barnum SR, Tamer IH, Echols J, Fleck M, Judex M, et al. Local production of complement proteins in rheumatoid arthritis synovium. Arthritis Rheum 2002;46:934-45.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988;31:315-24.
- Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. Arthritis Rheum 1986;29:1039-49.
- Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. Annu Rev Immunol 1996;14:397-440.
- Moxley G, Ruddy S. Elevated C3 anaphylatoxin levels in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1985;28:1089-95.
- Wagner JL, Hugli TE. Radioimmunoassay for anaphylatoxins: a sensitive method for determining complement activation products in biological fluids. Anal Biochem 1984;136:75-88.
- Weissmann G. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. J Clin Rheumatol 2004;10(3 Suppl):S26-31.
- Firestein GS. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Harris ED, Budd RC, eds. Kelly's Textbook of Rheumatology. 7th ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2005. p. 996-1042.
- Matsubara S, Yamamoto T, Tsuruta T, Takagi K, Kambara T. Complement C4-derived monocyte-directed chemotaxis-inhibitory factor. A molecular mechanism to cause polymorphonuclear leukocyte-predominant infiltration in rheumatoid arthritis synovial cavities. Am J Pathol 1991;138:1279-91.
- Guc D, Gulati P, Lemerrier C, Lappin D, Birnie GD, Whaley K. Expression of the components and regulatory proteins of the alternative complement pathway and the membrane attack complex in normal and diseased synovium. Rheumatol Int 1993;13:139-46.
- Kumar V, Ali SR, Konrad S, Zwirner J, Verbeek JS, Schmidt RE, et al. Cell-derived anaphylatoxins as key mediators of antibody-dependent type II autoimmunity in mice. J Clin Invest 2006;116:512-20.
- Yuan G, Wei J, Zhou J, Hu H, Tang Z, Zhang G. Expression of C5aR (CD88) of synovial cells isolated from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Chin Med J (Engl) 2003;116:1408-12.