



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ROMATOİD ARTRİT VE SİSTEMİK SKLEROZLU  
HASTALARDA NİTRİK OKSİT, MALONDİALDEHİT  
DÜZEYLERİ, KSANTİN OKSİDAZ VE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ  
AKTİVİTELERİ**

Halit DİRİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ş. Nur AKSOY

“Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından  
TF.12.26 nolu proje ile desteklenmiştir.”

Gaziantep

2013



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ROMATOİD ARTRİT VE SİSTEMİK SKLEROZLU  
HASTALARDA NİTRİK OKSİT, MALONDİALDEHİT  
DÜZEYLERİ, KSANTİN OKSİDAZ VE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ  
AKTİVİTELERİ**

Halit DİRİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ş. Nur AKSOY

“Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından  
TF.12.26 nolu proje ile desteklenmiştir.”

Gaziantep

2013

T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ENSTİTÜ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ROMATOİD ARTRİT VE SİSTEMİK SKLEROZLU HASTALARDA NİTRİK  
OKSİT, MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ, KSANTİN OKSİDAZ VE  
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTELERİ**

**Halit DİRİL**

Tez Savunma Tarihi: 22.07.2013  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

**Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir "Yüksek Lisans" derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

**Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Ş. Nur AKSOY**  
Tez Danışmanı



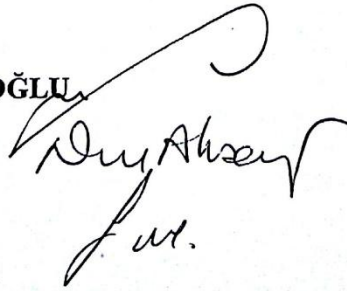
Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jüri İmzası**

**Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU**

**Doç. Dr. Ş. Nur AKSOY**

**Yrd. Doç. Dr. Suzan TABUR**



## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

22.07.2013

Halit DİRİL

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıları ve tez çalışmam sırasında sabır, özveri ve bilimsel desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Ş. Nur AKSOY'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU'na, Prof. Dr. A. Binnur ERBAĞCI'ya, Prof. Dr. Seyithan TAYSI'ya, Prof. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENCİ ve Doç. Dr. Hülya ÇİÇEK'e minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Hasta grubunun oluşturulmasında büyük katkıları olan romatoloji bölümünün tüm çalışanlarına, istatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Seval KUL'a, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan Dr. Mustafa ÖRKMEZ'e, Dr. Emine NAMIDURU'ya, Müslüm AKAN'a ve Elif DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca biyokimya anabilim dalı asistanlarına ve personellerine teşekkürlerimi sunarım.

Destekleri ile her zaman yanımda olan ve eğitimim için her türlü fedakarlığı yapmaktan kaçınmayan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından (Proje No: TF.12.26) desteklendiği için Gaziantep Üniversitesi Rektörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Halit DİRİL  
Gaziantep, 2013

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>ÖNSÖZ</b> .....	i
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ii
<b>KISALTMALAR</b> .....	iv
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	vii
<b>ÖZET</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	3
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	5
2.1. Sistemik Skleroz (Skleroderma) .....	5
2.1.1. Epidemiyoloji .....	5
2.1.2. Etiyoloji .....	5
2.1.3. Tanı kriterleri .....	6
2.1.4. Sınıflandırma .....	7
2.1.5. Patogenez .....	7
2.1.6. Hastalık aktivitesi .....	10
2.1.7. Genel klinik bulgular .....	11
2.1.8. Prognoz .....	15
2.1.9. Tedavi .....	16
2.1.10. Sistemik sklerozda serbest radikallerin rolü .....	16
2.2. Romatoid Artrit (RA) .....	17
2.2.1. Epidemiyoloji .....	17
2.2.2. Etiyoloji .....	17
2.2.3. Patogenez .....	19
2.2.4. Klinik bulgular .....	21
2.2.5. Tanı .....	22
2.2.6. Tedavi .....	23
2.2.7. Romatoid artritte serbest radikallerin rolü .....	23

2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller .....	24
2.3.1. Oksidatif stres .....	24
2.3.2. Serbest radikaller .....	24
2.3.2.1. Reaktif oksijen türleri (ROT) .....	25
2.3.3. Serbest radikallerin kaynakları .....	30
2.3.3.1. Endojen faktörler .....	30
2.3.3.2. Eksojen faktörler .....	32
2.3.4. Serbest radikallerin etkileri .....	33
2.3.4.1. Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu) .....	33
2.3.4.2. Proteinler üzerine etkileri .....	35
2.3.4.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri .....	36
2.3.4.4. Nükleik asitler üzerine etkileri .....	36
2.3.5. Antioksidan savunma sistemleri .....	36
2.3.5.1. Endojen antioksidanlar .....	37
2.3.5.2. Eksojen antioksidanlar .....	41
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM .....</b>	<b>42</b>
3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması .....	43
3.2. Hemolizat Hazırlanması .....	43
3.3. SOD Aktivitelerinin Tayini .....	44
3.4. Malondialdehit (MDA) Tayini .....	45
3.5. XO Aktivitesinin Tayini .....	47
3.6. Nitrik Oksit (NO) Tayini .....	47
3.7. İstatistiksel Analiz .....	50
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>51</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>60</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>61</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>82</b>

## KISALTMALAR

ACA:	Anti-sentromer antikor
ACR:	Amerikan Romatoloji Birliği (American College of Rheumatology)
ANA:	Antinükleer antikor
CAT:	Katalaz
CRP:	C-reaktif protein
DNA:	Deoksiribonükleik asit
EDTA:	Etilen diamin tetraasetik asit
EKG:	Elektrokardiyografi
ESH:	Eritrosit sedimantasyon hızı
ET-1:	Endotelin-1
GİS:	Gastrointestinal sistem
GR:	Glutasyon Redüktaz
GSH:	Glutasyon
GSH-Px:	Glutasyon peroksidaz
GSSG:	Okside glutasyon
GST:	Glutasyon-S-transferaz
HLA:	Human leukocyte antigen
HOCl:	Hipoklorik Asit
IFN:	İnterferon
Ig:	İmmünglobülin
IL:	İnterlökin
JRA:	Juvenil Romatoid Artrit
LDL:	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPO:	Lipit peroksidasyonu
MDA:	Malondialdehit
MHC:	Major histocompatibility complex
NAD:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentetaz

PUFA:	Poliansatüre yağ asitleri
RA:	Romatoid artrit
RF:	Romatoid Faktör
Rf:	Raynaud fenomeni
RNA:	Ribonükleik asit
ROT:	Reaktif oksijen türleri
Scl-70:	Topoizomeraz I
SOD:	Süperoksit dismutaz
SR:	Serbest Radikal
SSk:	Sistemik skleroz (Skleroderma)
TGF-β:	Transforming growth factor-β
TNF:	Tümör Nekrotizan Faktör
<b>VKİ:</b>	Vücut kitle indeksi
XDH:	Ksantin dehidrojenaz
XO:	Ksantin oksidaz

## TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. ACR Sistemik skleroz tanı kriterleri	6
Tablo 2. Sınırlı ve diffüz skleroderma klinik özellikleri	7
Tablo 3. Avrupa skleroderma çalışma grubu aktivite indeksi	11
Tablo 4. Sklerodermada hastalık şiddet indeksi	12
Tablo 5. Reaktif oksijen türleri	25
Tablo 6. SOD çalışma şeması	45
Tablo 7. MDA çalışma şeması	46
Tablo 8. XO çalışma şeması	47
Tablo 9. NO ölçümü sırasında kullanılan kör, standart ve örneklerin miktarları	49
Tablo 10. Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı grubun demografik özellikleri	52
Tablo 11. Sağlıklı ve hasta gruplarının analiz sonuçlarının karşılaştırılması	53
Tablo 12. Diffüz skleroderma ve limitli skleroderma hastaları ile kontrol grubunun analiz sonuçlarının karşılaştırılması	53

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Nitrik oksit (NO•) kaynakları ve oluşumu	29
Şekil 2. Lipid peroksidasyon reaksiyonları	35

## ÖZET

### ROMATOİD ARTRİT VE SİSTEMİK SKLEROZLU HASTALARDA NİTRİK OKSİT, MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ, KSANTİN OKSİDAZ VE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTELERİ

Halit DİRİL

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ş. Nur AKSOY  
Temmuz 2013, 82 sayfa

Sağlıklı kişilerde normal metabolizma esnasında üretilen serbest radikaller organizmadaki antioksidanlar tarafından nötralize edilir. Ancak serbest radikallerin aşırı artışı veya antioksidan sistemlerin yetersizliği oksidatif stresle sonuçlanır. Serbest oksijen radikalleri ile temel hücre komponentlerinin oksidatif hasarı, sistemik skleroz (SSk) ve romatoid artrit (RA) patogenezinde önemli bir mekanizma olarak öne sürülmektedir.

Sistemik skleroz vasküler hasar, immünolojik anormallikler, deri ve iç organların yaygın fibrozu ile seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber patogenezinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Romatoid artrit, periferik eklemlerde inflamasyon ile kendini gösteren kronik bir hastalıktır. RA'nın kesin patolojisi bilinmemekle beraber oksidatif stresin patolojide etkili olduğunu gösteren birçok çalışma vardır. Bu çalışmada SSk ve RA'lı hastalarda malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) düzeyleri, ksantin oksidaz (XO) ve eritrosit süperoksid dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Sistemik skleroz tanısı alan 42 hasta, romatoid artrit tanısı alan 43 hasta ve 40 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alındı. Bireylerin serum MDA ve serum NO düzeyleri, serum XO ve eritrosit SOD enzim aktiviteleri belirlendi. Sistemik skleroz hastalarında serum malondialdehit (MDA) düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunurken ( $p < 0,008$ ), romatoid artrit ve kontrol grupları arasında fark bulunmadı ( $p = 1.00$ ). Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında serum NO düzeyleri, serum XO ve eritrosit SOD enzim aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla  $p = 0.211$ ,  $p = 0.593$ ,  $p = 0.508$ ).

Sonuç olarak çalışmamızda artmış MDA düzeyi sistemik skleroz hastalarında marker olarak önemli olabilir fakat sistemik skleroz hastalarında artmış oksidatif stresin varlığını göstermek için yeterli değildir. Destekleyici sonuçlar SOD, NO ve XO ölçümlerinde elde edilememiştir. Ayrıca çalışmamızda RA hastalarında MDA, SOD, NO ve XO düzeylerinde bir farklılığın bulunmaması bu hastalığın remisyon dönemi ile ilişkili olabilir.

**Anahtar kelimeler:** Sistemik skleroz, Romatoid artrit, Malondialdehit, Nitrik oksit, Süperoksid dismutaz, Ksantin oksidaz.

## ABSTRACT

### THE LEVELS OF MALONDIALDEHYDE, NITRIC OXIDE, THE ACTIVITY OF XANTHINE OXIDASE AND SUPEROXIDE DISMUTASE ENZYMES OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND SYSTEMIC SCLEROSIS

Halit DİRİL

Master Thesis, Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ş. Nur AKSOY

July 2013, 82 page

In healthy humans beings, the endogenous free radicals produced in the body are neutralized by endogenous antioxidants. But, the insufficiency of antioxidant defense systems or the acceleration of the oxidative reactions can result in the oxidative stress. Oxidative damage to essential cell components caused by oxygen free radicals has been proposed as an important mechanism in the pathogenesis of systemic sclerosis (SSc) and rheumatoid arthritis (RA).

Systemic sclerosis is a chronic inflammatory disease characterized by vascular injury, immunological abnormalities and widespread fibrosis of skin and internal organs. Although the etiology of disease is unknown, It is thought that oxidative stress has an important role in the pathogenesis. Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic disease characterized by inflammation in periferic joints. Although the pathophysiological basis of RA is not yet fully understood, some investigations have been shown that oxidative stress have implicated in its pathogenesis. In this study, the levels of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), the activity of xanthine oxidase (XO) and erythrocyte superoxide dismutase (SOD) enzymes of patients with rheumatoid arthritis and systemic sclerosis (SSc) were investigated.

Forthy-two patients with systemic sclerosis (SSc), Forthy-three patients with rheumatoid arthritis and 40 healthy controls were taken into the study. The levels of serum MDA and serum NO, the activity of serum XO and erythrocyte SOD enzymes were determined. While patients with systemic sclerosis had significantly higher serum malondialdehyde (MDA) levels compared to normal subjects ( $p < 0,008$ ); there were no differance between rheumatoid arthritis groups and normal subjects ( $p = 1.00$ ). Besides patients and the control group did not show any difference the level of serum NO, the activity of serum XO and erythrocyte SOD ( $p = 0.211$ ,  $p = 0.593$ ,  $p = 0.508$ ).

In conclusion, increased MDA levels in our study may be importance as a marker but are not sufficient to show that there is an increased oxidative stress in systemic sclerosis patients because supporting results were not obtained from SOD, NO and XO measurements. In addition, in our study the similarity in the levels of MDA, SOD, NO and XO in RA patients might be related to the remission phase of the disease.

**Key Words:** Systemic sclerosis, Rheumatoid arthritis, Malondialdehyde, Nitric oxide, Superoxide dismutase, Xanthine oxidase.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Reaktif oksijen türleri (ROT), oksijenin kısmi indirgenmesiyle oluşan ve diğer moleküllerle kolayca reaksiyona girebilen aktif moleküllerdir (1). Sağlıklı insanlarda da normal metabolizma esnasında az miktarda üretilen ROT'lar sinyal iletimi ve mikrobiyal ajanların öldürülmesi gibi çeşitli hücrel olaylarda fonksiyon görürler (2). ROT'ların zararlı etkileri organizmada varolan çeşitli antioksidan moleküllerin kombine etkileri ile ortadan kaldırılır. Ancak ROT üretiminin aşırı olması veya antioksidan sistemlerin yetersizliği durumunda oksidatif stres ortaya çıkar (3). Bu reaktif, kısa ömürlü moleküllerin DNA, proteinler, lipidler ve lipoproteinleri içeren tüm biyolojik moleküllere zarar verebildikleri ve inflamasyon, infeksiyon, kanser ve ateroskleroz gibi birçok patolojinin ortaya çıkmasında önemli rol oynadıkları bilinmektedir (4,5). Yapılan çalışmaların bir kısmı sistemik skleroz (SSk) ve romatoid artrit (RA) hastalıklarında oksidatif stresin ROT'ların aşırı artması ile oluştuğunu öne sürerken bazı çalışmalar antioksidan defans sisteminin yetersizliğinden kaynaklandığını öne sürmektedir.

Sistemik skleroz (SSk) deri ve iç organların bağ dokusunda fibrozis, vasküler obliterasyon, ekstraselüler matriks sentezinde artış ve depolanma ile karakterize sebebi bilinmeyen kronik multisistemik bir hastalıktır. Hastalığın tipik klinik bulguları arasında en belirleyici olanı deride sertleşme, kalınlaşma ile kendini gösteren cilt fibrozisidir. Akciğer, kalp, gastrointestinal sistem ve böbrekler sıklıkla tutulan diğer organlardır (6). SSk patogenezi tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte vasküler sistemdeki değişiklikler nedeniyle vasküler tonüs bozulmakta ve böylece Reynaud fenomeni (Rf) gelişmektedir. Rf sonrası fibrozisle sonuçlanan olaylar zincirinde oksidatif stresin büyük rol oynadığı düşünülmektedir (7). Romatoid artrit (RA), özellikle diartrodiyal eklemleri tutan, simetrik, eroziv sinovit ile karakterize, tüm ırk ve etnik gruplarda görülebilen, ciddi deformateler ve özürülük geliştirebilen, kronik, inflamatuvar sistemik bir hastalıktır. Sıklıkla klinik dalgalanmalarla seyrederek ve tedaviye rağmen kronikleşerek progresif eklem destrüksiyonu, deformatite, disabilite ve hatta erken ölümle sonuçlanabilir (8). Uzun zamandır araştırılmasına rağmen RA etiyolojisi henüz kesin biçimde ortaya konamamıştır. Multifaktöriyel bir etiyoloji düşünülmeyle birlikte ROT'ların RA'da özellikle eklemlerde hücrel hasarı başlatma potansiyeline sahip oldukları öne sürülmektedir (9).

Reaktif oksijen türleri organizmadaki biyomoleküllerin tümünü etkileşeler de ilk hedefleri membran lipidleridir. Hücre membran lipidleri ile reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Kronik inflamasyon sırasında, ROT'un artmış konsantrasyonları büyük miktarlarda lipid peroksidasyon ürünleri oluşturarak dokularda toksik hasara yol açar (9). Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyon ürünlerinin non-enzimatik oksidatif parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir ve oluşan serbest oksijen radikallerinin iyi bir göstergesidir (10).

Nitrik oksit (NO), çeşitli fizyolojik olaylarda rol oynayan otokrin ve parakrin etkili bir mediatördür. Kararsız moleküler yapısından dolayı serbest radikal özelliğindedir. Sitotoksik ve sitostatik bir ajan olarak etkili olan NO'nun inflamasyon, immünite, sepsis, ateroskleroz ve vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. İnflamasyon sırasında özellikle aktive nötrofillerde artmış indüklenbilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) aktivitesine bağlı olarak aşırı miktarda toksik etkili NO oluşur. Artan NO, büyük oranda süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ ) ile birleşerek peroksinitrit ( $ONOO^{\bullet}$ ) radikalini oluşturur. Peroksinitrit direkt etkilerle sitotoksik olabileceği gibi daha güçlü bir serbest radikal olan hidroksil radikalini ( $\bullet OH$ ) oluşturarak biyomoleküller üzerinde hasar oluşturur (11). RA ve SSk'lı hastalarda yapılan pek çok çalışmada çelişkili MDA ve NO düzeyi sonucu bildirilmiştir.

Organizmada ROT üreten en önemli enzimatik kaynaklardan biri ksantin oksidaz (XO)'dur. Pürin nükleotidlerinin katabolizmasında görev alır ve hipoksantin ksantine, ksantin ise ürik aside yükseltgenmesi reaksiyonunu katalizler (12). XO elektron alıcısı olarak oksijeni kullanır (13). Böylece hipoksantin ksantine ve ksantin de ürik aside dönüşürken  $O_2^{\bullet-}$  ve  $H_2O_2$  meydana gelir (14). Artmış XO aktivitesinin RA patogeneğindeki rolünü belirleyen çalışmalar mevcuttur (15). Ayrıca bir antioksidan enzim olarak ROT'un zararlı etkilerini ortadan kaldırmada fonksiyon gören süperoksit dismutaz (SOD) enzimlerin aktiviteleri bakımından RA ve SSk'lı hastalarında çelişkili sonuçlar bildirilmiştir.

Bizim bu çalışmadaki temel amacımız nitrik oksit (NO), malondialdehit (MDA) düzeyleri, ksantin oksidaz (XO) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerini ölçerek bu oksidan ve antioksidan parametrelerin romatoid artrit ve sistemik skleroz hastalıklarının gelişimindeki rolünü araştırmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Sistemik Skleroz (Skleroderma)**

Sistemik Skleroz (SSk), kollajen ve diğer bağ dokusu makromoleküllerinin deride ve çeşitli organlarda aşırı birikmesiyle tanımlanan, sebebi bilinmeyen kronik multisistemik bir bağ dokusu hastalığıdır (16). Akciğer, kalp, gastrointestinal sistem ve böbrekler sıklıkla tutulan organlardır (6).

#### **2.1.1. Epidemiyoloji**

Sistemik skleroz, tüm coğrafi alanlarda ve tüm ırklarda görülebilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2003 yılında yapılan bir araştırmada hastalığın prevalansı milyonda 242 kişi ve insidansı milyonda 19.3 olarak rapor edilmiştir. Aynı çalışmada kadınların, erkeklere göre 4 kat daha fazla yakalanma riski taşıdığı saptanmıştır (17). Bu risk toplumlar arasında değişkenlik göstermektedir. Skleroderma sıklığının en yüksek olduğu bir Amerikan yerli popülasyonu olan Choctaw'larda 469/100.000 olarak rapor edilmiştir (18). Hastalığın görülme yaşı 30-50 yaş arasında değişirken, çocukluk çağında ve 80 yaşından sonra nadirde olsa rapor edilmiş vakalar bulunmaktadır (19).

#### **2.1.2. Etiyoloji**

Sklerodermanın etiyolojisi bilinmemektedir. Ancak, genetik ve çevresel faktörler etiyojiden sorumlu tutulmaktadır (20).

##### **a) Çevresel faktörler**

Skleroderma etiyolojisinde birçok çevresel ajanların rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. İlk kez 1914 yılında taş işçilerinde ve daha sonra altın, kömür ve uranyum madenlerinde çalışan insanlarda silikanın, SSk sıklığında artışa neden olduğu gösterilmiştir (21). 1987 yılında Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada popülasyondaki skleroderma oranı 3.4/milyon kişi iken, silikon dioksit atıkları içeren altın madeninde bu oran 81.8/milyon kişi olarak bulunmuştur (22).

## **b) Genetik faktörler**

Genetik faktörler hastalığın ortaya çıkışından tamamen sorumlu değildir, ancak genetik yatkınlık tetikleyici olabilir (23). SSk'nın etiyojisinde genetik faktörlerin olduğu değişik çalışmalarda gösterilmiştir (18). Farklı etnik gruplar ve farklı klinik alt tiplerde veya farklı otoantikor paterni taşıyan hastalar arasında belirli insan lökosit antijenleri "human leukocyte antigen" (HLA) ve temel doku uygunluk bileşenleri "major histocompatibility complex" (MHC) allellerinin artan sıklığı SSk gelişiminde genetik faktörlerin rol oynadığını düşündürmektedir (24). Sklerodermaya özgün antikor uyumluluğu monozigotik ikizlerde (%90), dizigotik ikizlere (%60) göre daha yüksektir (25).

## **c) Enfeksiyon ajanları**

Sklerodermanın immünopatogenezinde Herpesvirüsler, Retrovirüsler ve Human Citomegalovirüsler (HCMV)'in enfeksiyonları olası ajanlar arasındadır. Retrovirüslerin rolü SSk hastalarındaki Scl-70 antikorunun hedefi olan topoizomera I antijeni ile retroviral bir protein arasındaki dizi benzerliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir(26).

### **2.1.3. Tanı kriterleri**

Skleroderma tanısına yönelik ilk kriterler 1980 yılında Amerikan Romatoloji Birliği (American College of Rheumatology, ACR) tarafından geliştirilmiştir (Tablo1). Tek majör kriter ya da iki veya daha fazla minör kriter varlığı tanı koydurucudur. Bu kriterlerin sensitivitesi %97, spesifitesi %98 dir (27).

Tablo 1: ACR Sistemik skleroz tanı kriterleri

<b>Majör Kriter</b> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Parmaklarda ve metakarpofalangeal (MKF) ya da metatarsofalangeal (MTF) eklemlerin proksimalinde ciltte simetrik kalınlaşma, sertleşme ve indurasyon bulunmasıdır. Bu değişiklikler ekstremitelerin tümünü, yüz, boyun ve gövdeyi etkileyebilir.</li></ul>
<b>Minör Kriterler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Sklerodaktili</li><li>➤ Parmak uçlarında nedbe gelişimi veya parmak uçlarının volar yastıkcıklarının doku kaybı</li><li>➤ Bibaziler pulmoner fibrozis</li></ul>

#### 2.1.4. Sınıflandırma

Sklerodermanın deri ve diğer organ tutulumlarının yaygınlığına göre limitli ve diffüz olmak üzere iki ana alt tipi mevcuttur. İki grup arasında ana farklılık cilt tutulumunun yaygınlığıdır. Anti sentromer ve anti topoizomerez gibi sklerodermaya özgü antikorlar sayesinde ve klinik tablolarındaki farklılıkların ortaya konulmasıyla ilk kez 1988 yılında diffüz ve limitli skleroderma tanımları kullanılmıştır (28). Limitli ve diffüz skleroderma arasındaki klinik farklılıklar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Limitli ve diffüz skleroderma klinik özellikleri

Limitli Skleroderma	Diffüz Skleroderma
<ul style="list-style-type: none"><li>- Raynaud erken başlar.</li><li>- Yumuşak ödem, geçici veya kalıcıdır.</li><li>- Hafif artralji ve halsizlik olabilir, tendon krepitasyonu yoktur.</li><li>- Cilt kalınlaşması geç olur, ellerde ve yüzde sınırlıdır.</li><li>- Telenjektaziler, kalsinosis sıktır ve erken dönemde olur.</li><li>- Özefagus tutulur.</li><li>- Parmak uçlarında iskemi olur.</li><li>- Antisentromer antikor (+) olabilir.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Raynaud geç başlar.</li><li>- Eller ve ayaklar ödemlidir.</li><li>- Halsizlik akut başlar. Ciddi artralji ve tendon krepitasyonu vardır.</li><li>- Cilt kalınlaşması erkendir, vücudun her tarafına yayılır.</li><li>- Telenjektaziler ve kalsinozis ileri dönemde oluşur.</li><li>- Özefagus tutulur ve bazı intestinal sorunlar vardır.</li><li>- Proksimal interfalangeal (PIF) eklem sırtlarında ve parmak uçlarında iskemi vardır.</li><li>- Anti Scl-70, anti RNA-Polimeraz II (+) olabilir.</li><li>- Kardiyomiyopati ve aritmiler olabilir.</li><li>- Renal kriz görülür.</li><li>- Ciddi pulmoner fibrozis olur</li></ul>

#### 2.1.5. Patogenez

Skleroderma patogenezini kompleks ve hala anlayamamıştır. İmmun aktivasyon, vasküler yetmezlik, hücre dışı matriksin aşırı sentezlenmesi, yapısal normal kollajen dokunun artması bu hastalığın gelişiminde önemlidir. Bu mekanizma hücre-hücre, hücre-sitokin ve hücre-matriks arası ilişkiler sonucu olduğu düşünülmüştür. Bu

patojenik faktörler SSk hastalarının kliniğinin oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (29).

Skleroderma patogenezinde üzerinde en fazla durulan hipotez, aktive fibroblastların bu hastalıktaki efektör hücreler olduğudur. İmmün aktivasyon ve vasküler değişiklikler, fibroblastik aktivasyondan ve fibrozdan sorumlu tutulan temel patojenik mekanizmalardır (30).

### **Endotelinler**

Endotelin bilinen en kuvvetli vazokonstrüktördür ve fibrojenik etkisiyle SSk patogenezinde en önemli potansiyel etkiye sahiptir (31). Endotelin hem vasküler disfonksiyona, hem de SSk'daki fibrotik lezyonlara sebep olabilir (32). Yapılan çalışmalarda SSk hastalarında kontrol gruplarına göre ET-1 düzeyi daha yüksek bulunmuştur (33). ET-1 nitrik oksit düzeyini azaltıp, hücre büyümesi, arteryel duvar kalınlaşması ve endotelial hücre disfonksiyonuna neden olmaktadır (34).

### **Nitrik Oksit (NO)**

Nitrik oksit normal kan damarlarında ET-1'in vazokonstrüktif etkisini dengeler; bu iki faktördeki rölatif değişikliklerin SSk patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (35).

Nitrik oksit sentetaz (NOS) endotelial hücrelerde olduğu gibi bazı nöronlarda da mevcuttur. Diffüz ve limitli SSk hastalarının dermal nöronlarında ilerleyici NOS kaybı saptanmıştır fakat azalmış doku perfüzyonunun bunun sonucu mu yoksa sebebi mi olduğu bilinmemektedir (36).

### **Süperoksit anyonları**

Endoteliumdan salınan süperoksit anyonları, NO nötralize ederek ve dolaşımdaki düşük dansiteli lipoprotein (LDL) okside ederek endotel hasarı meydana getirebilmektedir. SSk'lı hastaların endotel hücrelerine karşı sitotoksik etkiden okside LDL sorumlu olabilir (37). Yapılan çalışmalarda skleroderma hastalarındaki LDL primer Raynaud fenomeni (Rf) ve diğer romatolojik hastalıklara göre daha kolay okside olmaktadır ve sklerodermanın patogenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir (38). Serbest radikallerin tetiklediği oksidatif stres lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve sonucunda doku hasarı oluşmakta bu olayın SSk patogenezinde rol alabileceği

düşünülmektedir (37). Bununla birlikte SSk'lı hastalarda sağlıklı bireylere göre oksidatif serbest radikal hasar belirteç düzeylerinin (F2- isoprostone ve 8-isoprostone) idrar ve serumda daha yüksek olduğu saptanmıştır (38).

Süperoksitlerin bir diğer yan etkileride NO inaktive etmeleridir. NO ve süperoksit etkileşimi sonucu oluşan peroksinitrit, proteinlerin nitrozilasyonuna sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda limitli sklerodermada ve primer Rf'de yükselmiş nitrolize protein saptanmamışken diffüz skleroderma hastalarının plazmalarında anlamlı düzeyde yükselmiş nitrolize protein saptanmıştır (39).

### **Vasküler sitotoksik faktörler**

Sistemik skleroz hastalarında anti-endotel hücre antikorlarının (AECA) endotel hücrelerine karşı gelişen antikor bağımlı hücre sitotoksitesinde aracılık ettiği gösterilmiştir. Diffüz skleroderma hastalarında AECA düzeyi daha yüksektir. Ayrıca bu antikorların digital infarktlar, pulmoner hipertansiyon ve alveolokapiller difüzyon bozukluğu ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (40). Bununla birlikte bu antikorlar endotel apoptozuna neden olabilen adezyon moleküllerini aktive edebilmektedir (41).

Endotelde adezyon molekül ekspresyonu ve geçirgenlik artışı inflamatuvar hücre göçüne neden olur. Hasarlı endotel nedeni ile aktive olan trombositlerden salınan; transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve platelet-derived growth factor (PDGF) fibroblastlarda kollajen yapımını uyaran önemli mediyatörlerdir (42).

### **İmmün sistem**

Geliştirilmiş testler aracılığıyla immün sistemin hem humoral hem de hücre sel mekanizmalarla patogeneizde etkili olduğu anlaşılmıştır. Eritrosit sedimentasyon hızı normal veya yüksek olabilir. Hücre serileri ile antinükleer antikor (ANA), hastaların %95'inde saptanmaktadır (43). Nükleer antikorlar ile klinik bulgular arasında ilişkiler bilinmektedir (44). Antisentromer antikor (ACA), antitopoizomeraz-I (anti-Scl-70), anti-RNA polimeraz ve U3-RNP sklerodermanın karakteristik antikorlarıdır (45,46,47). Sklerodermalı hastaların %90'ından fazlasında ANA pozitif olarak saptanmaktadır. Antisentromer ve anti-Scl-70 antikorları, diffüz ve limitli skleroderma ayırımında kullanılmaktadır. Antisentromer antikorların varlığı limitli sklerodermanın tanısını doğrularken, anti-Scl-70 antikor pozitifliği daha çok diffüz skleroderma ile

ilişkilendirilmektedir. Anti-Scl-70 antikoru, skleroderma için son derece özgüdür ve interstisyel akciğer hastalığı (ILD) için yüksek risk ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca bu otoantikora ek olarak skleroderma ile ilişkili yeni otoantikolar tanımlanmıştır. Anti-RNA polimeraz I ve III antikoları, sklerodermalı hastalarda deri ve renal tutulumla ilişkilendirilmektedir (45). Anti-RNA polimeraz II hem skleroderma hem de sistemik lupus eritematozlu (SLE) hastalarda pozitif bulunurken (46), U3-RNP antikoru özellikle pulmoner arteriyel hipertansiyonlu (PAH) skleroderma hastalarında saptanmaktadır (47).

Bu otoantikoların üretimini başlatan uyarıcı sistem henüz tam olarak bilinmemektedir. Bir ihtimal bu antikoların hedefleri olan antijenler bakır, demir gibi spesifik metaller ve reaktif oksijen türleri aracılığı ile oluşabilmektedir. Metallerin tutulumu sonucunda SSk hastalığının tedavisinde kullanılan D-penisillamin gibi metal şelatörlerinin kullanımı açıklanabilir (48).

Bir diğer ihtimal ise bu antikoların enfeksiyonlara cevap olarak, oluşan antijenlere moleküler benzerlikten dolayı çapraz reaksiyon sonucu gelişmesidir. Bir çalışmada sitomegalovirüs ve SSk'da oluşan antikoların endotel hücreleri yüzey protein komplekslerinin ilişkilerinden dolayı apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (49).

Otoantikolar fibroblast ilişkisinde SSk patogenezinde rol alabilir. Yapılan bir çalışmada 69 skleroderma hastası, 30 sarkoidoz ve 50 sağlıklı bireyde SSk grubunda yüksek bulunan anti-fibroblast antikolarının; fibroblast yüzey antijenlerini aktive ederek, fibroblastlara bir uyarıcı etki yaptığı gösterilmiştir (50).

#### **2.1.6. Hastalık aktivitesi**

Sklerodermada hastalık aktivitesini değerlendirmek için ideal bir klinik ölçüm veya laboratuvar testi mevcut değildir.

2001 yılında Avrupa Skleroderma Çalışma Grubu tarafından ortaya konulan aktivite değerlendirme çalışmasında C-Reaktif Protein (CRP), akciğerin yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografisi (YRBT), tendon krepitasyonları, parmak ülserleri gibi önemli bulgular değerlendirmeye katmadıklarından eksik yönleri bulunmaktadır. 0-10 arasında yapılan bu skorlama, hastanın son 1 ay içerisindeki klinik değişimini değerlendirmeye

çalışmakta, fakat hasta uzun süreden beri aktivite bulgusunu taşıyorsa bunu saptayamamaktadır (Tablo 3) (51).

Tablo 3: Avrupa Skleroderma Çalışma Grubu aktivite indeksi

<b>Kriterler</b>	<b>Puan</b>
Modifiye Rodnan deri skoru >14	1.0
Skleroderma	0.5
Son ayda deri değişikliği*	2.0
Digital nekroz	0.5
Son ayda vasküler değişiklik*	0.5
ESH>30 mm/1 saat	1.5
Akciğer difüzyon kapasitesi <%80	0.5
Kardiyopulmoner semptomlarda değişiklik*	2.0
Muayenede artrit	0.5
Serum kompleman düzeyinde azalma	1.0
Toplam hastalık aktivite indeks skoru	10

\* Hasta tarafından değerlendirilir.

Medsger ve Uluslararası SSK Çalışma Grubu tarafından geniş bir popülasyonda her bir major organ tutulumunun değerlendirmeye alınması ile hazırlanan, hastalık şiddetini kantitatif olarak değerlendiren bir başka skorlamada her bir patoloji 0-4 puanla değerlendirilmiş ve bunların toplamları ile yorumlama yapılmıştır. Bu indeks aktiviteyi değerlendirmede, takipte ve klinik çalışmalarda daha uygun gibi görünmektedir (Tablo 4) (52).

### **2.1.7. Genel klinik bulgular**

Sistemik Skleroz; karakteristik cilt tutulumuna eşlik eden çeşitli derecelerde iç organ tutulumlarının olduğu, birçok farklı klinik tablonun olduğu sistemik bir hastalıktır. Halsizlik, çabuk yorulma ve kilo kaybı gibi sistemik semptomlar hastalığa eşlik edebilir (16). Hastaların genelinde sistemik semptomlarda alevlenme ve yatışma periyodları gözlenir. Hastalığın nadir görülmesi, nedeninin bilinmiyor olması, etkili tedavinin

yokluğu ve hastalığa bağlı kozmetik problemler hastaları psikolojik olarak etkileyen önemli faktörlerdir (53).

Tablo 4: Sklerodermada hastalık şiddet indeksi

	<b>0 (normal)</b>	<b>1 (hafif)</b>	<b>2 (orta)</b>	<b>3 (şiddetli)</b>	<b>4 (son dönem)</b>
<b>Genel durum</b>	Kilo kaybı < %5 kg Hematokrit > %37 Hemoglobin > 12.3 g/dl	%5-9.9 kg %33-36.9 11.0-12.2 g/dl	%10-14.9 kg %29-32.9 9.7-10.9 g/dl	%15-19.9 kg %25-28.9 8.3-9.6 g/dl	>%20 kg <%25 <8.3 g/dl
<b>Periferik damar bulguları</b>	Raynaud yok veya tedavi gerektirmeyen Raynaud fenomeni	Vazodilatatör tedavi gerektiren Raynaud fenomeni	Parmak ucunda yara izi	Dijital ülser	Dijital gangren
<b>Deri Skoru</b>	TDS= 0	TDS= 1-14	TDS= 15-29	TDS= 30-39	TDS ≥ 40
<b>Eklemler/Tendon</b>	Pu= 0-0.9 cm	Pu= 1-1.9 cm	Pu= 2-3.9 cm	Pu= 4-4.9 cm	Pu ≥ 5 cm
<b>Kas zaafı</b>	Proksimal kas gücü: Normal	Hafif azalmış	Orta derecede azalmış	Ağır derecede azalmış	Harekete yardımcı araç kullanıyor
<b>Sindirim sistemi</b>	Normal özefagogram ve ince barsak pasaj grafisi	Distal özofagus hipoperistaltizmi veya patolojik ince barsak grafisi	Antibiyotik gerektiren bakteriyel aşırı gelişim	Malabsorbsiyon veya Psödoobstrüksiyon atakları	Hiperlimentasyon ihtiyacı
<b>Akciğer</b>	DLCO ≥ %80 FVC ≥ %80 sPAP < 35 mmHg Fibroz yok	%70-79 %70-79 35-49 mmHg Fibroz var Baziller raller	%50-69 %50-69 50-64 mmHg	< %50 < %50 ≥ 65 mmHg	Oksijen tedavisi
<b>Kalp</b>	EKG: Normal SVEF: ≥ %50	İleti bozukluğu %45-49	Aritmi %40-44	Tedavi gerektiren aritmi < %30-49	Konjestif kalp yetersizliği < %30
<b>Böbrek</b>	SRK hikayesi yok ve kreatinin <1.3 mg/dl	SRK hikayesi var ve kreatinin < 1.5mg/dl	SRK hikayesi var ve kreatinin 1.5-2.4 mg/dl	SRK hikayesi var ve kreatinin 2.5-5 mg/dl	SRK hikayesi var ve kreatinin >5mg/dl veya diyaliz ihtiyacı

**TDS:** Toplam deri skoru, **Pu:** Fleksiyonda parmak ucu-aya mesafesi, **DLCO:** Karbonmonoksit difüzyon kapasitesi, **FVC:** Zorlu vital kapasite, **SVEF:** Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, **SRK:** Skleroderma renal kriz.

#### a) Cilt bulguları

Sklerodermada sırasıyla ödematöz, enduratif ve atrofik fazlar olmak üzere üç dönemde farklı cilt bulguları gözlenir. Hastalar başlangıçta özellikle sabahları ortaya çıkan gerginlikten ve parmaklardaki şişlikten yakınır (ödematöz faz). Çoğu olguda şişlik devamlı bir hal alır. Ödem, genellikle ağrısız ve gode bırakmamasına karşın gode

birakan ödem de görülebilir. Bu fazın süresi değişkindir. Çoğu zaman, ödem daha sonra deri sertliği ile yer değiştirmektedir. Deri sertliği düffüz sklerodermada birkaç ay içinde, limitli sklerodermada ise birkaç yılda ortaya çıkabilir. Deri sertliğine ek olarak, etkilenen deri zamanla parlaklık kazanmaya, gerginleşmeye ve cilt altı dokusuna sıkıca yapışmaya başlar. Endurasyon fazında dermiste önemli derecede kalınlaşma, epidermiste ise incelme gözlenir. Dermiste kollajen birikimi, deride kıvrım oluşmasının engellemesine ve kıl folikülleri, ter bezleri ve yağ bezlerinin kaybına neden olur. Bu durum kılların dökülmesine, derinin terleme ve yağlanması azalmaya yol açar. Eritem gözlenebilir, ancak sıklıkla hiperpigmentasyon veya hipopigmentasyon bulunmaktadır. Yüz görünümü karakteristik olarak hareketsiz ve ifadesizdir. ‘Sıkılmış burun’ görünümü vardır. Limitli sklerodermada telenjiektaziler daha belirgindir. Birkaç yıl sonra deri sertliği yumuşamaya başlar veya normal kalınlığına geri döner ya da normal deriden daha ince bir hal alır (atrofik faz) (54).

#### **b) Raynaud fenomeni (Rf)**

Sklerodermalı hastaların % 95’inden fazlasında görülen Rf, soğuk veya strese karşı aşırı vasküler yanıt olarak tanımlanmaktadır. Bu vasküler yanıt, deride belirgin renk değişikliğine neden olur. Parmaklar daha sık etkilenir, yüzde de ataklar görülebilir. Ağır formlarda parmak uçlarında küçük iskemik nekroz alanları gözlenebilir (54). Nadiren bir grup hastada Rf hiç gelişmez. Bu grup çoğunlukla erkeklerdir ve bunlarda renal ve myokard tutulumu riski çok yüksek olduğundan zayıf sağkalım ile beraberdir (55).

#### **c) Kas-iskelet sistemi**

Hastalar sıklıkla el ve ayak küçük eklemlerinde ağrı ve sabah tutukluğundan yakınır. Klinik olarak sinovit sık görülmesine de bazı hastalarda eroziv artropati gelişebilir. Cilt gerginliğine ve tendon kalsifikasyonlarına bağlı eklemlerde hareket kısıtlılıkları oluşabilir. Tendon krepitasyonu, sıklıkla hızlı ilerleyen cilt değişikliklerinin habercisidir. Kaslarda güç kaybı; kullanılmamaya bağlı atrofi, primer miyopati ve/veya inflamatuvar miyozit sonucu görülebilir (16).

Hastaların yaklaşık %20’sinde primer miyopati mevcuttur. Hastaların bir kısmında ise daha belirgin olarak polimiyozitin elektrofizyolojik, biyokimyasal ve patolojik kanıtları ile karakterli kas güçsüzlüğü gelişebilir. Bu grup polimiyozit skleroderma çakışma sendromu adı altında değerlendirilir (56).

#### **d) Gastrointestinal sistem (GİS)**

Sklerodermada, GİS sıklıkla tutulmaktadır. Özofagus tutulumu %85 sıklıkta görülmektedir. Disfaji, hipomotilite, gastroözofageal reflü, peptik özofajit, Barret metaplazisi ve fibrotik strüktürler görülebilmektedir. Gastrointestinal sistem tutulumunun karakteristik özelliği, düz kas fibrozudur. GİS tutulumunun histopatolojisinde, lamina propria ve bazı segmentlerde infiltrasyonlar, atrofi, düz kas hücrelerinde kollajen birikimi ve kan damarlarında düzensizlik görülebilir (57).

#### **e) Akciğer tutulumu**

Sklerodermada akciğer tutulumu hastaların %70'inde görülür. Son yıllarda hastalığa bağlı en başta gelen ölüm nedenini oluşturmaktadır (58). Erkek cinsiyet, diffüz skleroderma, difüzyon kapasitesinde azalma ve inflamatuvar belirteçler akciğer tutulumunun şiddeti ile ilişkilendirilmektedir (59). Hastalığın tipine bakmaksızın hastaların 2/3'ünden fazlasında pulmoner fonksiyon testlerinde bozulma mevcuttur (58).

Sklerodermada, akciğerlerdeki fibroblastların kollajen yapımı artmıştır. Hastalığın erken dönemlerinde, akciğer hasarı başlamadan önce, alveollerde inflamatuvar hücre birikimi olmaktadır. Sklerodermada, akciğer fibrozu alveolit geliştikten sonra başlamaktadır. Sklerodermadaki alveolit alveoler makrofaj, lenfosit, nötrofil ve eozinofillerin birikimiyle karakterizedir. Sklerodermada akciğer fibrozu akciğer fonksiyonlarında bozulmaya, respiratuvar volümde ve difüzyon kapasitesinde azalmaya neden olur (60).

#### **f) Kalp tutulumu**

Skleroderma hastalarında miyokard tutulumuna bağlı kalp tutulumu görülmektedir. Vazospazma bağlı olarak miyokard perfüzyonunda azalma, sonrasında fonksiyonlarında bozulma gelişir. Takip eden sürede arterlerin strüktürel lezyonları sonucunda geri dönüşümsüz hale gelir. Yapılan çalışmalarda konvansiyonel ekokardiografilerde sol ventrikül kontraksiyonunda azalma, yaklaşık %40'ında sol ventrikül gevşemesinde anormallik, kapaklarda yetmezlik ve sağ ventrikül yetmezlik bulguları saptanmıştır (61).

#### **g) Böbrek tutulumu**

Sklerodermanın iç organ tutulumları arasında en kötü prognoz ve en yüksek mortalite nedeni böbrek tutulumudur. Klinik olarak, skleroderma hastalarının %10-40'ında böbrek tutulumu bulunmaktadır. Ancak, bu oran otopsilerde %80'lere ulaşmaktadır

(62). Skleroderma renal krizi, yaygın cilt tutulumu olan hastalarda ilk 4 yıl içinde görülen böbrek fonksiyonlarında hızlı bozulma, malign hipertansiyon, hematuri, proteinuri ve mikroanjiyopatik hemolitik anemi ile karakterize, mortalitesi yüksek bir klinik tablodur (63).

#### **h) Karaciğer tutulumu**

Limitli form sklerodermalı bazı kadın hastalarda, genellikle Sjögren sendromu ile birlikte primer biliyer siroz gelişir. Bu hastalarda yüksek serum alkalen fosfataz aktivitesi ile birlikte kaşıntı ve sarılık gözlenir. Karaciğerde nodüler dejeneratif hiperplazi de bildirilmiştir (64).

#### **i) Diğer klinik problemler**

Kuru göz ve ağızda kuruluk hissi de SSk'lı hastaların yaygın şikayetlerindedir. Minor tükürük bezi biyopsilerinde genellikle fibrozis saptanır (65). Skleroderma genellikle merkezi sinir sistemini tutmaz ve tutulum varsa başka nedenler araştırılmalıdır. Tek istisna trigeminal nevraljidir ve bu durum ilk önce yüzde uyuşma ve daha sonra yüzde ağrı ile ortaya çıkabilir. Mikrovasküler hastalığa bağlı olarak gelişen anormal nöral fonksiyon sindirim sisteminin erken dönem bulgularını açıklayabilir. Hipotiroidi tiroid fibrozisine bağlı olarak veya otoimmün tiroidit sonucu oluşabilir (64).

Skleroderma hastalarının yaklaşık %50'sinde depresyon semptomları saptanmıştır (66). SSk'lı hastalarda seksüel disfonksiyon sıklıkla görülür. Normal insanlarla karşılaştırıldığında SSk hastalarında gebe kalmakta güçlük ve infertilite daha sık görülür. Spontan düşük, preterm veya düşük kilolu bebek oranı yüksektir (64).

#### **2.1.8. Prognoz**

Sklerodermada prognoz, organ tutulumu özellikle de akciğer, kalp, böbrek tutulumu ile ilişkilidir (67). SSk'lı hastalarda topluma göre mortalite artmıştır (68). Diffüz SSk'da 10 yıllık sağkalım yaklaşık %55 iken, bu oran limitli SSk'da %70'dir (69). Diffüz SSk'da en önemli ölüm nedenleri sklerodermaya bağlı böbrek, akciğer ve kalp hastalığı iken, limitli formda en önemli ölüm nedeni pulmoner hipertansiyondur. Kötü prognoz bulguları; hastalık başlangıç yaşının ileri olması, siyah ırk, diffüz tip, tendon krepitasyonu, DLCO'nun %40'ın altında olması, belirgin böbrek hastalığı olarak sıralanabilir (70).

### **2.1.9. Tedavi**

Skleroderma tedavisinde amaç, gelişebilecek organ tutulumları ve fonksiyon bozukluklarının engellenmesi, mümkünse geri döndürülmesi ve/veya progresyonunun engellenerek, hasta yaşam kalite ve süresinin artırılmasıdır.

Günümüzdeki tedavi yaklaşımları sklerodermanın bazı bulgularını kontrol altına alabiliyor olsa da skleroderma için standart ve onaylanmış bir tedavi protokolu bulunmamaktadır. Tedaviye başlamadan önce, iç organ tutulumları ve organ fonksiyon bozukluklarının bulunup bulunmadığı dikkatli şekilde araştırılmalıdır. Öykü, fizik bakı, laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri skleroderma hastalığının tanısı ve organ tutulumları konusunda yeterli bilgiyi sağlayabilir. Sklerodermada tedavi, temel olarak organ sistemlerinin tutulumuna göre planlanmalı ve yapılmalıdır (71).

### **2.1.10. Sistemik sklerozda serbest radikallerin rolü**

Oksidatif stres vücutta serbest radikal ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda meydana gelmektedir.

İmmün aktivasyon inflamatuvar hücrelerden üretilen serbest oksijen radikalleri (SOR) ve sitokinler ile oksidatif strese katkı sağlar (72). SSk hastalarında askorbik asit,  $\alpha$ - tokoferol (vitamin E), selenyum gibi antioksidanların azalması ve/veya malondialdehit, F2 izoprostanlar, SOR gibi oksidanların artması ile karakterize oksidatif stres kanıtları gösterilmiştir (73). Oksidatif stres doğrudan ekstraselüler matriks yapı elemanlarının üretimini artırabildiği (74) gibi, sitokinleri artırarak (75) ve otoantikör üretimini indükleyerek (76) immün aktivasyonu da artırabilir.

Serbest radikallerin vasküler hasara ve endotelial disfonksiyona neden olduğu, böylece immün sistem aktivasyonuna ve fibrozisle sonuçlanan fibroblast aktivasyonuna öncülük ettiği düşünülmektedir (75). Doku hasarı sadece iskemik hasar sonucu ile değil, iskemi sonrası gelişen reperfüzyon hasarıyla da meydana gelmektedir. Reperfüzyon sonucu oksijen akımı nedeniyle süperoksitler üretilmektedir. Tekrarlayan iskemi atakları SSk'nın iyi bilinen bir özelliği olup karakteristik olarak Rf'de meydana gelmektedir. Hastalık progresyonu ile damarlarda yapısal değişiklikler meydana gelmekte ve sonuçta vazospazm nedeniyle tekrarlayan oksidatif hasar sonucu bir kısır döngü oluşmaktadır. İskemi-reperfüzyon atakları esnasında üretilen ksantin oksidaz adhezyon moleküllerinin

aktivasyonuna neden olabilir (77). Bu adhezyon molekülleri, aktive olduklarında oksidan ve proteaz salınımına neden olan nötrofillerin birikmesine sebep olmaktadır. Böylece nötrofiller, endotel hasarına neden olan yüksek miktarda reaktif oksijen türevi üretebilmektedir. Endoteldeki bu olaylar (aktivasyon, hasar, oksidatif stres ve ürünleri) vasküler sistemde hasardan ölüme kadar olan süreçte önemli rol oynamaktadır. Erken dönemde adhezyon moleküllerinin aktivasyonu lenfositlerin endotel boyunca akımını artırmakta ve bu durum perivasküler alandaki fibroblastlarla etkileşimlerini ve perivasküler bölgede lenfosit birikmesini kolaylaştırmaktadır. ROT'leri ayrıca direk toksik etki ile membran lipidleri, protein, karbonhidrat ve DNA yapısında değişikliklere neden olarak hücre hasarı ve ölümünü tetiklemektedirler (78). Lipid peroksidasyonu esnasında gelişen oksidatif stresin SSk'lı hastaların eritrosit membranında yapısal ve fonksiyonel değişikliklere sebep olduğu gösterilmiştir (79).

## **2.2. Romatoid Artrit (RA)**

Romatoid artrit, birden çok eklemi aynı anda tutan, kronik seyirli, etiyojisi bilinmeyen, inflamatuvar karakterde, sistemik, otoimmün bir hastalıktır (80). Eklem tutulumu, şekil bozukluğu (deformiteler) yaparak zaman içinde önemli sakatlıklara yol açabilmektedir (81).

### **2.2.1. Epidemiyoloji**

Tüm dünyada bütün ırk ve etnik gruplarda görülür (80). Değişik popülasyonlarda prevalansı %0.5 ile %1 arasında değişmektedir (82). En çok 35-60 yaşlarında başlamakta ve kadınlarda erkeklere oranla 2-3 kat daha fazla görülmektedir. Prevalansı yaş ile artmakta ve cinsiyet farklılığı yaşlılarda azalmaktadır (81).

### **2.2.2. Etiyoloji**

Hastalığın etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı çok nedenli bir hastalık olarak tanımlanmaktadır.

### **Genetik faktörler**

Romatoid artrit görülme sıklığının dizigotik ikizlere oranla monozigotik ikizlerde daha yüksek olması ve aile bireylerinde risk artışının daha fazla olması hastalığın etiyojisinde kalıtsal bir faktörün rol oynadığını düşündürmektedir. Genel popülasyonda görülme oranı %1 iken monozigotik ikizlerden biri etkilendiğinde

diğerinde de görölme oranı %30-50 olur. Dizigotik ikizlerde görölme oranı ise birinci dereceden akrabalarda görölme oranıyla aynıdır (% 25) (83).

Major histocompatibility complex (MHC) immunité ile ilişkili çok sayıda geni içeren büyük bir kromozomal bölgedir. İnsanlarda MHC, Human leucocytes antigens (HLA) olarak isimlendirilir ve 6. kromozomdaki genler ile kodlanır (83). HLA-DR4 ile RA arasındaki ilişkinin tanımlanmasının ardından, hastalığa neden olan genetik faktörlerle ilgili bilgiler hızla artmıştır. Yapılan çalışmalarda HLA-DR4 sık görölen 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 görölmüştür (84).

## **Genetik olmayan faktörler**

### **1. Yaş ve cinsiyet**

Hastalığın yaş ve cinsiyetle yakın ilişkisi vardır. Yaş ilerledikçe cinsiyet farklılığı azalır (85). RA, kadınlarda erkeklere göre yaklaşık 3 kat fazla görölmektedir (86). Birçok kronik inflamatuvar hastalıkta olduğu gibi RA'nın kadınlarda daha sık görölmesinin muhtemel sebebi hormonal durumun immün fonksiyon üzerindeki etkileridir (8). Genel olarak 30-50 yaşları arasında daha sık görölür. Kadınlarda 40-50 yaşları arasında başlama eğilimi fazladır. Bununla birlikte tüm yaşlarda da ortaya çıkabilir (86).

### **2. İnfeksiyonlar**

Romatoid artritte eklemlerde inflamasyona yol açan antijenlerin doğası hala bilinmemekle birlikte doku ve sinoviyal sıvılarda virüs ve bakteri gibi eksojen ajanların varlığı uzun süredir araştırılmaktadır (87). Ancak hiçbir mikroorganizma etiyolojide tam olarak ortaya konulamamıştır. Bazı hastalarda sinovyal dokularda difteroid benzeri mikroorganizmalar elde edilmiştir, ancak benzer mikroorganizmalar diğer dokularda da saptanmıştır. Mikobakteriyum tüberkülozisin kartilaj proteoglikanları ile moleküler benzerlik gösterdiği ve sinovyal sıvıda lenfosit proliferasyonuna neden olduğu ileri sürölmüştür (88).

Etiyolojide rol oynadığı düşünölen virüsler arasında ise; EBV, HTLV Tip I, diğer retrovirüsler, Hepatit B virüsü, Rubella virüsü, Parvovirüs B19 sayılabilir (83). Bu virüslerin RA etiyopatogenezindeki rolleri kesin olarak aydınlatılamamakla birlikte üç

farklı mekanizma üzerinde durulmaktadır. İlki artrojenik bir ajanın eklem kıkırdağına ve diğer yapılara yayılarak direk etkiyle veya lokalize immün yanıtla artrite yol açması, ikinci mekanizma virüslerin immün kompleksler oluşturmak yoluyla artrite neden olabilecekleri, üçüncü olası mekanizma ise viral ajanların immün sistemi etkileyerek otoantikor oluşumuna yol açmalarıdır (88). Elde edilen bu bulgular ışığında virüslerin uygun genetik ve daha bilemediğimiz bazı faktörlerin de katkısıyla RA'da tetikleyici olabilecekleri düşünülmektedir (83).

### **3. Isı şok proteinleri (Heat Shock Protein (HSP))**

Isı şok proteinlerinin (HSP) de RA patogenezinde yeri olabileceği son yıllarda tartışılmaya başlanmıştır. Strese yanıt olarak hücreler tarafından salınan bu proteinler hücreleri ısı, bakteri ve oksijen radikallerinden korurlar. Mikobakterium tüberkülozisin bazı HSP'leri ile insan 70 HSP molekülünün aminoasit sıralanışları arasında %65'e varan oranlarda benzerlik vardır. RA'lı olgularda mikobakteriyel HSP'ye karşı oluşan antikor düzeyinde özellikle sinoviyal sıvıda artış saptanmıştır. Burada da moleküler benzerlik olayı gündeme gelmektedir. Ayrıca HSP'nin süperantijen gibi bir etkisi zayıf da olsa gündemdedir (89).

### **4. Romatoid faktör (RF)**

Romatoid faktör (RF), Ig G'nin Fc parçasına karşı gelişmiş antikordur. RF olarak adlandırılan otoantikorlar Ig M, Ig G, Ig A ve Ig E cinsinden olabilir. RA'da RF, periferik kan ve sinoviyal B hücreleri tarafından yapılır. RF'nin otoantikor olarak teşhisi ve karakterize edilmesi otoimmünitenin RA'da bir rol oynayabileceğine doğrudan ilk delil olmuştur. RF ve diğer immünglobulinlerden oluşmuş immün komplekslerin primer patojen olarak RA gelişmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ancak RF yüksek bulunan her olguda RA kliniği gelişmez ve RF, RA yanında diğer romatolojik hastalıklar, kronik inflamatuvar hastalıklar, akut viral infeksiyonlar, neoplazmlar gibi başka olaylarda da yükselebilir. Bunun yanında RA'lı olgulardaki B hücreleri tarafından sentez edilen RF'ler normal B hücreleri tarafından sentez edilenlerden farklı yapıya sahiptir (83,85,89).

#### **2.2.3. Patogenez**

Romatoid artrit sistemik bir hastalık olmasına rağmen hastalığın karakteristik özelliği sinovyum fonksiyonlarındaki bozulmadır. RA'da normalde hücre ve damar yapısından

fakir olan sinovyum, makroskopik olarak hipervasküler, proliferasyon gösteren, tümör dokusunu andıran bir yapıya dönüşür (89). İki hipotez RA patogenezi için açıklanmış üzere ortaya konulmuştur. Bunlar T hücre hipotezi ve makrofaj fibroblast hipotezleridir. Bu iki hipotez hastalığın çeşitli evrelerinde farklı hücre tiplerinin önemi konusunda birbirlerinden ayrılırlar (90).

Her iki hipotezde de RA, CD4+ T hücrelerine bilinmeyen bir antijenin sunulmasıyla başlar. Bu antijen uyarısını izleyerek sinoviyal CD4+ T hücreleri aktive olur ve sitokin salgılar. Bu da diğer T hücrelerine yayılarak makrofajları ve fibroblastları aktive eder, eklem içine lökosit göçünü artırır. Bu başlangıç fazından sonra mezenkimal teori, sinovitisin makrofaj ve sinoviyal fibroblastları içeren otokrin ve parakrin yollar ile devam ettirildiğini ve T hücrelerine gerek olmadığını savunur. T hücre hipotezi ise sinovitisin kronik evresinde bile T hücrelerinin bulunduğunu ve makrofaj ile fibroblastın ise özellikle eklem erozyonunda önemli rolleri olduğunu öne sürmektedir (91).

T helper hücrelerinden gönderilen sinyallerle aktive olan B lenfositleri plazma hücrelerine dönüşerek immünglobulinleri (Ig) yaparlar. Ig'ler sinoviyal membran, sinoviyal sıvı ve eklem kıkırdağındaki antijenlerle birleşir ve immün kompleksleri oluştururlar. İmmün kompleksler eklem boşluğuna serbestçe yayılır ve komplemanı aktive ederek kemotaktik faktörlerin salınmasına yol açar. Kemotaktik faktörler damar geçirgenliğini artırır, polimorfonüveli lökositleri ve monositleri ortama çeker. Bu hücrelerin immün kompleksleri fagosite etmesiyle doku hasarına neden olan prostaglandin, lökotrien, serbest radikal ve proteolitik enzimler yapılır ve serbestleşir (83).

Romatoid artrit bir mediyatör hastalığıdır ve sitokinler de inflamatuvar reaksiyonlara aracılık eden önemli moleküllerdir. Hormon benzeri proteinler olan sitokinler, bağışıklık hücrelerinin haberleşmelerini sağlayarak normal bağışıklık tepkilerinin oluşmasında kritik bir rol oynarlar. Bunun yanında sinovitin başlaması ve sürdürülmesinde de görev alırlar (83). Romatoid sinovyumda ilk olarak sinovyal mikrodolaşımda tıkanma, hücre şişmesi ve hücreler arası mesafede artış görülür. Önce T hücrelerinde daha sonra ise makrofaj ve dentritik hücre ve bunların salgıladığı sitokinlerde artış olur. Bu aşamada inflamasyon artar, sinovyum hipertrofik bir hale

gelir ve yavaş yavaş kıkırdağı aşındırmaya başlar. Sinovyal hücrelerde artmış inflamasyon ve bunlara bağlı olarak proliferen olmuş sinovyal oluşumlar pannus dokusunu oluşturur. Pannuslar eklem anatomisinin bozulmasında ve hastalığın yol açtığı deformitelerin oluşmasında önemli rol oynar. Romatoid sinovyum ve pannus dokusunda bulunan makrofaj, fibroblast ve lenfosit gibi çeşitli hücreler anjiogeneze rol oynarlar. Tedavide kullanılan non steroid anti inflamatuvar ilaçların, steroidlerin ve ikinci basamak ilaçların anjiogenezi inhibe ettikleri anlaşılmıştır (92).

#### **2.2.4. Klinik bulgular**

Romatoid artrit, alevlenme ve sessiz dönemlerle seyreden kronik bir hastalıktır (93). RA'nın ilk belirtileri yorgunluk, ekstremitte ağrısı, hafif ateş ve kilo kaybıdır. Uyku sırasında eklem içinde sıvı birikmesi sonucu ödeme bağlı olarak sabah katılığı (tutukluğu) ağrıdan önce görülen ilk bulgulardandır (94). Sabah katılığı dışında diğer eklem belirtileri ise hareket kısıtlılığı, ağrı ve şişliktir (95). Genellikle önce el eklemleri tutulur ve zamanla tutulan eklem sayısı artar. En çok tutulan eklemler omuz, diz, dirsek, el bileği ve el parmakları iken en az tutulan eklemler ayak bilekleri, kalça ve temporomandibular eklemlerdir (96). Eklem tutulumu tek taraflı başlasa da sonraları genellikle simetrik hale gelir (94,95). Kıkırdak ve kemik dokudaki inflamasyona bağlı meydana gelen yıkım, tendonlardaki gevşeme ve yırtılmalar el deformitelerinin gelişimine sebep olan etkenlerdir (97). Bu deformiteler; düğme iliği, kuğu boynu, ulnar deviasyon, çekiç parmak, pençe parmak olarak adlandırılır (94,95). Dirsek, omuz, diz ve ayak gibi daha büyük eklemler genellikle hastalığın ileri safhalarında tutulurlar (94).

Hastalık eklem dışında, kaslar, hematolojik sistem, karaciğer, akciğer, kalp, göz, böbrekler ve damarlar da dahil olmak üzere birçok organ ve sistemi tutabilir (98). Bu hastalıktaki mortalite oranı genel populasyondan daha fazladır (99).

Hastalığın seyri sırasında gözlenen romatoid nodüller hastaların %50'sinde bulunmakta ve hastalık aktivitesinin kontrolü ile kendiliğinden kaybolmaktadır (100). Olgunlaşmış romatoid nodül; merkezde bir nekroz alanı, etrafında fibroblastlardan oluşan bir halka, onun da çevresinde kronik inflamatuvar hücrelerin perivasküler birikimleri ve kollajen kapsülden oluşur (86). Ayrıca romatoid nodülü olan hastalarda hemen hemen her zaman RF bulunur (8).

Eklem dışı bulguların varlığı ve şiddeti, hastalığın süre ve şiddetine bağlı olarak değişiklik gösterir (101). Birçok eklemde ani tutulum, eklem dışı belirtilerin varlığı, yüksek titrede RF, HLA-DR4 genetik yatkınlığı ve ilk yıl içerisinde erozyon oluşması kötü prognoz faktörleridir (100). Laboratuvar incelemelerinde RA'ya özgün bir test yoktur. Eritrosit sedimentasyon hızı ve CRP yüksektir. Bu yükseklik hastalığın aktif dönemine işaret eder. Hastaların %50'sinde anemi mevcuttur. %70-80'inde ise RF pozitifdir. Yüksek RF titreleri genellikle kötü prognozu gösterir (85).

### **2.2.5. Tanı**

Hastalığın tanısında simetrik eklem tutulumu ve romatoid faktör pozitifliği tanıya yardımcı olsa da sistemik lupus eritematozus (SLE), sedef artriti gibi değişik hastalıklarla karışabilir. Amerikan Romatoloji Birliği (American College of Rheumatology, ACR) 1987 yılında yayınladığı tanı kriterleri bugün için RA'yı tanımlayan en iyi araç olarak kabul edilmektedir (89).

#### **Romatoid artrit tanı kriterleri-1987 (ACR)**

- 1) Sabah tutukluğu; eklem ve çevrelerinde en az 1 saat süren sabah tutukluğu.
- 2) Üç veya daha fazla eklemde artrit; en az 3 eklemde hekim tarafından kaydedilen yumuşak doku şişliği veya sinovyal sıvı artışı ile beraber olan artrit.
- 3) El eklemlerinde artrit; el bileği, MKF ve PİF eklemlerinin en az birinde artrit.
- 4) Simetrik artrit; vücudun iki yarısında aynı bölgedeki eklemlerin aynı anda tutulması; bilateral PİF, MKF veya mutlak simetri olmaksızın bilateral MTF eklemlerin artriti.
- 5) Romatoid nodüller; kemik çıkıntıları üzerinde, ekstansör yüzeylerde veya eklemlerin çevresinde hekim tarafından gözlenen subkutan nodüller.
- 6) Romatoid faktör; herhangi bir metod ile anormal miktarda romatoid faktör pozitifliği.
- 7) Radyolojik değişiklikler; ön-arka el ve bilek radyografilerinde erozyonlar ve /veya periartiküler osteopeni.

Romatoid artrit tanısı için sayılan kriterlerden en az 4 tanesinin bulunması ve ilk 4 kriterin en az 6 haftadır devam ediyor olması gerekir. Bu kriterlerin kullanılması ile romatoid artrit tanısında %90 oranında sensitivite, %89 oranında spesifite sağlanabilmektedir (102).

### **2.2.6. Tedavi**

Romatoid artrit tedavisinde ağrı ve inflamasyonun azaltılması, eklem yapılarının ve fonksiyonların korunması ve sistemik tutulumun kontrol edilmesi hedeflenmelidir. Şu anda tedavide kullanılan ajanların pek çoğunun etki mekanizması tam olarak bilinmemekte ve tedavi edici girişimlerin hiçbirisi tam bir iyileşme sağlamamaktadır. Genellikle bu tedaviler hastalığın belirti ve bulgularını azaltmaya, hastayı rahatlatmaya ve eklemden ileri erozyonları önlemeye yöneliktir (103). Romatoid artrit hastalığı erken tanınıp tedavi edilmediğinde ilerlediği ve kalıcı eklem hasarına neden olduğu anlaşılmıştır. Bunun için RA tedavisinde dikkat edilmesi gereken noktalar; erken tanı, prognostik faktörlerin belirlenmesi, erken ve agresif tedavidir. Erken tanı sonucu; ilk iki üç ayda tedavisine başlanan hastada, hastalığın ilerleyişi durdurulup kalıcı eklem hasarları engellenmiş olur. Hastalarda prognostik faktörler belirlenip tedavi buna göre başlandığında daha iyi sonuçlar alınmaktadır. Kötü prognostik faktörler; erken ve yaygın sinovit, eklem erozyonu, eklem dışı bulgular, RF pozitifliği, sabah sertliğinin süresi, aile hikayesinin bulunması olarak sayılabilir (89,100).

### **2.2.7. Romatoid artritte serbest radikallerin rolü**

Serbest radikallerin RA patogenezi üzerindeki etkilerinin araştırılması son 30 yıldır devam etmektedir. RA'lı hastalarda bazı antioksidan maddelerin kullanılması faydalı etkiler göstermiştir. Serbest radikaller ve serbest radikal ürünleri inflamasyonun önemli mediatörlerindedir (104).

Romatoid artrit, inflamatuvar infiltratın sinoviyal membranda birikmesi ile sinovitis ve eklem yapılarının yıkımına neden olan kronik inflamatuvar bir hastalıktır (105). Sinovitisle birlikte meydana gelen hücreli proliferasyon ve yeniden damarlanma, eklem kıkırdağı ve kemiği yıkan pannes oluşumuna neden olur (106). Bu yapının içerisindeki SR'lerin inflamasyonda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (107). Oksijen radikallerinin, hyaluronik asit gibi karbonhidrat polimerlerini parçalayabildiğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (108). Bu madde sinovial sıvının viskozitesinin korunmasında büyük öneme sahiptir. Eklem sıvısında bulunan hyaluronik asit ve diğer proteoglikanlara ilave olarak, kollajen ve kıkırdak dokularının, iltihap hücrelerinden salınan serbest radikallerin etkisi ile parçalanmasının, RA oluşmasında önemli role sahip olduğu düşünülmektedir (109).

## 2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

### 2.3.1. Oksidatif stres

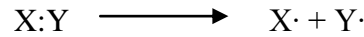
Oksidatif stres reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile antioksidan sistem arasındaki dengenin oksidan yönde bozulması ile gerçekleşir (110). Oksidatif stres doğal bir süreç olup bu stresi kontrol altında tutan özelleşmiş mekanizmalar mevcuttur. Bu mekanizmaların yetersizliği durumlarında oksidatif hasar oluşur (111).

### 2.3.2. Serbest radikaller

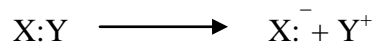
Serbest radikaller, en dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler eşleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (112). Bu nedenle kararsız bir yapıya sahip olduklarından organik ve inorganik moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler (113). Serbest radikaller pozitif ve negatif yüklü veya yüksüz olarak bulunabilmekte, hem oksidan hem de redüktan olarak görev yapabilmektedirler (114).

**Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler (115).**

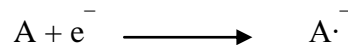
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Aerobik canlılarda serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Hayat için gerekli olan kimyasal enerji ve ısı enerjisini sağlamak üzere karbondan zengin

substratlar okside edilir. Bu olayda oksijen molekülünün indirgenmesi esnasında serbest oksijen radikalleri oluşabilir (116).

### 2.3.2.1. Reaktif oksijen türleri (ROT)

Organizmada hücrenin farklı bölümlerinde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi reaktif oksijen türleridir (ROT). ROT, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (117). ROT enerji üretim sürecinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir (118).

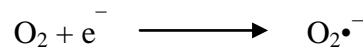
Diradikal olarak isimlendirilen oksijen, iki tane eşleşmemiş elektrona sahiptir. Bundan dolayı diğer serbest radikallerle ve radikal olmayan maddelerle kolaylıkla reaksiyona girer. Oksijen moleküllerinin %95-99'u oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondrial sitokrom oksidazlar ile suya dönüştürülmekte ve sonuçta ATP elde edilmektedir. Bu reaksiyonlar esnasında kısmi redüksiyonla reaktif oksijen türleri oluşur. Bunlar, süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikalidir ( $\bullet OH$ ). Bunların yanı sıra singlet oksijen, hipoklorik asit, peroksinitrit ve nitrik oksit de reaktif oksijen türlerine dahil edilir (119).

Tablo 5: Reaktif oksijen türleri

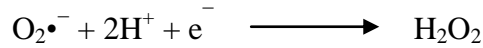
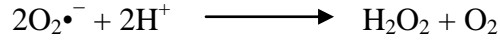
Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ )	Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )
Hidroksil ( $\bullet OH$ )	Hipoklorit ( $HOCl$ )
Nitrik oksit ( $NO\bullet$ )	Hidroperoksid ( $ROOH$ )
Peroksil ( $ROO\bullet$ )	Singlet Oksijen ( $\Delta O_2$ )
Hidroperoksil ( $HOO\bullet$ )	Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )
Alkoksil ( $RO\bullet$ )	

#### 2.3.2.1.A. Süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ )

Oksidatif fosforilasyonun ana bileşeni olan oksijene bir elektron eklenmesi ile süperoksit radikali oluşur (120).



Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kaynağı ve geçiş metali iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) meydana getirir (117).

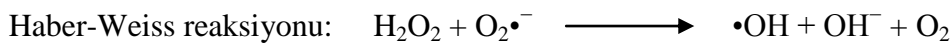
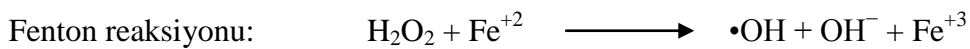


Süperoksit hem oksidan hem de redüktan özelliğe sahiptir (3). Süperoksit kimyası çözelti ortamına bağlı olarak farklılıklar gösterir. Süperoksit sulu çözeltide askorbik asit, tiyol gibi molekülleri oksitleyebilen zayıf bir oksitleyici ajandır. Bunun yanında süperoksit güçlü bir indirgeyici ajan olup sitokrom c ve ferrik-EDTA gibi çeşitli demir komplekslerini indirgeyebilir (116).

Süperoksitin fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO<sub>2</sub>•), hidroksil radikali (•OH) ve nitronyum iyonu (NO<sub>2</sub><sup>+</sup>) gibi toksik ürünlere dönüşürler (117).

### 2.3.2.1.B. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

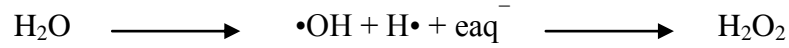
Hidrojen peroksit süperoksit radikalının dismutasyon tepkimesi sonucu oluşur. Ürat oksidaz, glukoz oksidaz, d-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim oksijene iki elektron transfer ederek direkt hidrojen peroksit oluşturabilirler (115). Eşleşmemiş elektronu olmadığı için aslında bir radikal değildir. Esas önemi, O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> radikali veya Fe gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil (•OH) radikalini oluşturmasıdır. •OH radikalının oluştuğu bu reaksiyonlar; Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonudur (14). Diğer bir önemli işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır(121).



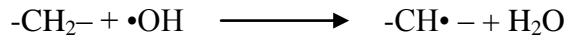
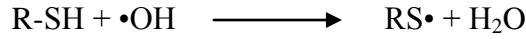
Hidrojen peroksitin redoks özelliği ve geçiş metalleri varlığında yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmaya karşı vücut, savunma sistemi geliştirmiştir. İstenmeyen hidrojen peroksit katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer oksidazlar ile hücreden uzaklaştırılır (116).

### 2.3.2.1.C. Hidroksil radikali (•OH)

Hidroksil radikali; suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması veya geçiş metallerinin varlığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin indirgenmesi ile meydana gelir (116).



Hidroksil radikali bilinen en güçlü okside edici ajanlardan biridir. Lipid peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerini kırabilir ve hemen hemen tüm organik molekülleri okside edebilir (119). Membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirleri ile reaksiyona girerek zincirdeki C atomundan H<sup>+</sup>'i ayırır. Böylece lipid peroksidasyonunu başlatarak membranların yapısını bozar (113). Tiyol ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur.



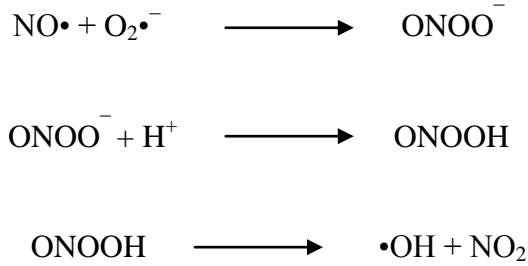
### 2.3.2.1.D. Singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' adı verilir. Enerji verilmek suretiyle meydana gelir ve oksijenin oldukça reaktif şekli olarak bilinmektedir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT arasında yer alan singlet oksijen, doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmada ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (117,118). Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, aynı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdukları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, ayrı yörüngelerde iseler sigma

singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup kolayca delta formuna dönüşebilir (112).

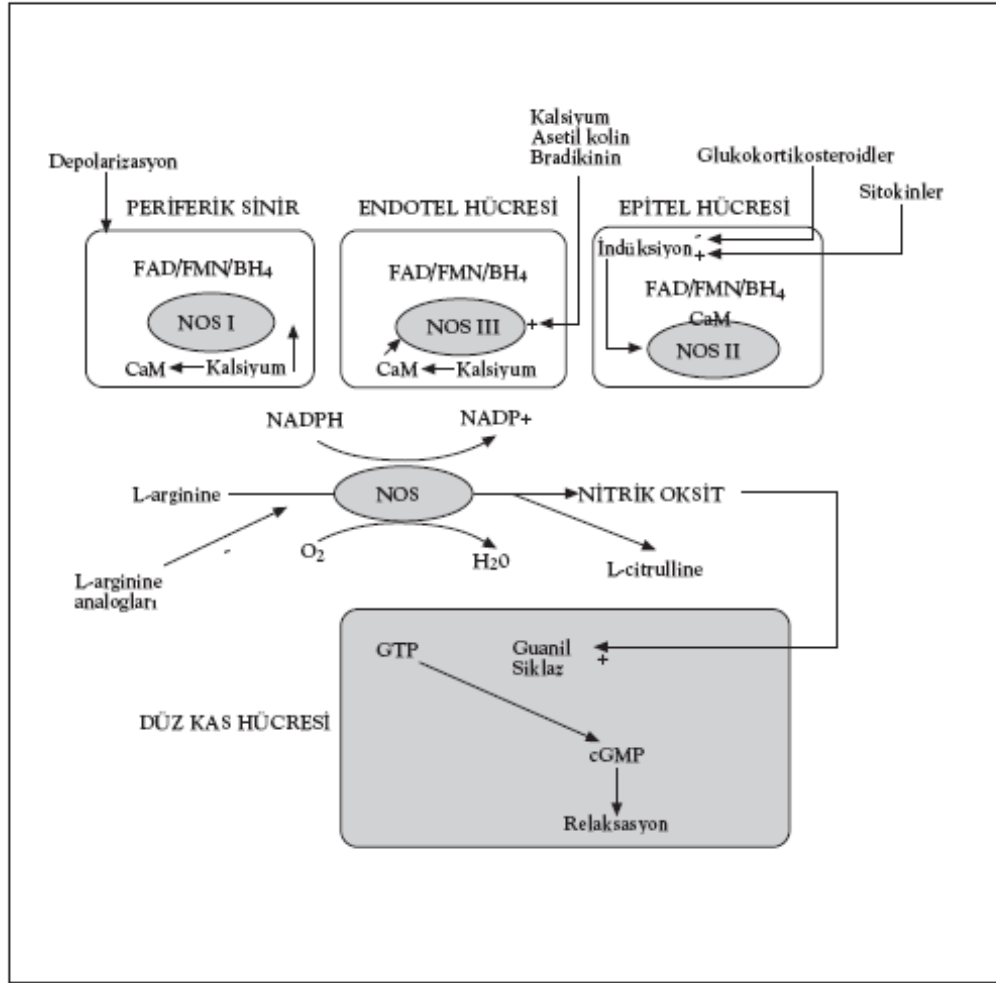
### 2.3.2.1.E. Nitrik oksit (NO•)

Nitrik oksit (NO•) bir adet çiftlenmemiş elektrona sahiptir ve bu nedenle reaktif oksijen türü olarak kabul edilir (122). Zarlardan kolayca difüzyona uğrayabilir. Nörotransmisyon, kan pıhtılaşması ve kan basıncının kontrolü gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde rol oynar. Günümüzde NO•'nun vazodilatör bir faktör olan endotel kaynaklı gevşetici faktör olduğu anlaşılmıştır. NO• dayanıklı olmayan bir moleküldür ve depolanmaz.  $O_2^{\bullet-}$  ile reaksiyona girerek peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) serbest radikalini oluşturabilir. Güçlü bir oksidan olan peroksinitrit, asit pH'da metal katalizinden bağımsız olarak küçük miktarda •OH radikali oluşturabilir (116). Reaktif nitrojen türlerinin aşırı üretimi nitrozatif stres olarak adlandırılır. Nitrozatif stres protein yapısını değiştirerek normal fonksiyonlarını inhibe eden nitrolizasyon reaksiyonlarına yol açabilir (123).



Nitrik oksit renksiz bir gaz olup oksijen yokluğunda oldukça stabildir. Fakat hava ile temas durumunda hızla oksijen ile reaksiyona girerek nitrojen dioksit ( $NO_2$ ) dönüşür.  $NO_2$  doku hasarı yapabilecek toksik bir gazdır (124). Nitrik oksit bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur (125).

Nitrik oksit, lokal olarak endotelium ve sinir hücreleri başta olmak üzere makrofajlar, trombositler ve düz kas hücrelerinde üretilmektedir (126). Nitrik oksit, Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-argininden sentezlenmektedir. NO iyon kanallarını regüle eden solubl guanilat siklazı aktive ederek vasküler tonüsün düzenlenmesinde major rol oynar (125).



Şekil 1: Nitrik oksit (NO•) kaynakları ve oluşumu (127).

Nitrik oksit sentazın (EC 1.13.23) üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlar indüklenebilir form (iNOS) ile endotelial ve nöronal olmak üzere iki tip konstitütif formlardır (cNOS) (128). cNOS, vasküler endotel tarafından fizyolojik düzeyde salgılanmaktadır. cNOS'un kalsiyum ve kalmoduline bağımlı olarak çalıştığı gösterilmiştir (129).

Hücre içinde artan  $Ca^{+2}$ ; kalmodulinle bir kompleks oluşturarak cNOS enzimini uyarır. cNOS enzimi düşük miktarlarda (pikomol düzeyinde) ve kısa süreli NO sentezine yol açar (126). cNOS tarafından üretilen NO nontoksik olup hücre içi sinyal iletiminde görevlidir (130).

İndüklenebilir form (iNOS) kardiyomyositler, hepatositler, makrofajlar, mikroglia hücreleri, nötrofiller, damar endotel ve düz kas hücreleri gibi birçok farklı hücrede bulunur (128). Tetramerik yapıda olup, endotoksin, TNF-alfa, IFN-gama, IL-1 ve 2 ile

indüklenebilir. Uyarılan iNOS, daha uzun süre aktive olur ve nanomolar konsantrasyonlarda NO sentezler. Aktivitesi diğer izoenzimlerden daha fazladır. Glukokortikoidler, IL-4, IL-10, IL-13 ve TGF-beta mRNA transkripsiyonunu engelleyerek iNOS'u inhibe ederler (126).

Nitrik oksit; sepsiste, sistemik inflamatuvar cevap sendromunda, akut ve kronik inflamasyonda rol oynar (11). Astım, ülseratif kolit, psöriatik artropati, dev hücreli artrit, romatoid artrit ve osteoartriti içeren inflamatuvar hastalıkların çoğunda iNOS upregülasyonu sonucu aşırı NO üretimi görülür (128). İnflamasyonda; uyarılmış periferik kan monositleri, alveolar makrofajlar, kupfer hücreleri ve nötrofiller NO sentezler (126).

#### **2.3.2.1.F. Diğer serbest radikaller**

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R•), peroksil radikalleri (ROO•), alkoksil radikalleri (RO•), tiyol radikalleri (RS•) gibi serbest radikaller de meydana gelirler. Özellikle peroksil radikali poliansatüre yağ asitlerinden meydana gelen uzun yarılanma ömürlü önemli bir serbest radikaldir (117).

#### **2.3.3. Serbest radikallerin kaynakları**

Serbest radikaller hücrelerin fonksiyonları esnasında endojen kaynaklı olarak oluşabildikleri gibi eksojen kaynaklı olarak da meydana gelebilirler.

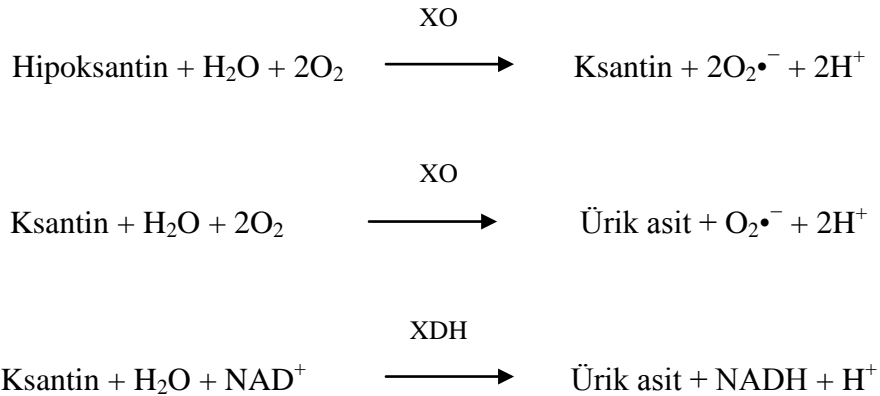
##### **2.3.3.1. Endojen faktörler**

Normal metabolik yolların işleyişi sırasında, hücrenin, sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum, hücre membranı gibi bölümlerinde serbest oksijen radikalleri üretilmektedir (114,131).

**a) Enzimatik reaksiyonlar:** Oksidaz adı verilen enzimler tarafından katalizlenir. NADH oksidaz, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, amin oksidaz, aldehit oksidaz, dihidrooratat dehidrogenaz gibi enzimler direkt olarak serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açarlar (131).

Organizmada serbest radikal üreten en önemli enzimlerden biri ksantin oksidazdır (XO). XO enzimi (E.C.1.1.3.22) oksidoredüktazlar sınıfına giren bir flavoproteindir. Memeli

hücrelerinde XO ve ksantin dehidrogenaz (XDH) enziminin ikisine birden ksantin oksidoredüktaz denir. Bu iki enzim aynı genin ürünüdür ve birbirine dönüşebilir. En fazla karaciğer ve barsaklarda olmak üzere böbrekler, beyin, plazma ve eritrositler gibi pek çok dokuda yaygın olarak bulunur. Sitozolik bir enzimdir. Pürin nükleotidlerinin katabolizmasında görev alır ve hipoksantin ve ksantini ksantine, ksantin ise ürik aside yükseltgenmesi reaksiyonunu katalizler (12). Sağlıklı dokularda enzimin çoğu XDH şeklindedir. Ancak iskemi gibi patolojik durumlarda hücre zarının geçirgenliğinin bozulması ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasıyla kalsiyum bağımlı proteazların aktivasyonu neticesinde XDH, XO'ya dönüştürülür. XDH, hipoksantini ksantine ve ksantini ürik aside dönüştürürken elektron alıcısı olarak daha çok NAD'yi tercih eder. Ancak XO elektron alıcısı olarak oksijeni kullanır (13). Böylece hipoksantin ksantine ve ksantin de ürik aside dönüşürken  $O_2^{\bullet-}$  ve  $H_2O_2$  meydana gelir (14). Her iki form da  $O_2^{\bullet-}$  ve  $H_2O_2$  üretebilir ancak XDH elektron alıcısı olarak NAD'yi daha çok tercih ettiği için serbest radikal oluşumunda primer sorumlu olan XO'dur (13).



**b) Mikrozomal hidroksilasyon sistemi:** NADPH'a dayalı radikal oluşumu mikrozomal hidroksilasyon sisteminin normal işleyişi sırasında gerçekleşmektedir. Mikrozomlarda kompleks bir elektron transport sistemi tarafından çeşitli alifatik ve aromatik bileşiklerin hidroksilasyonu sağlanır. Mikrozomal sitokrom p450 ve sitokrom b5 redüktaz, radikal oluşumunda etkili enzimlerdir. NADH ve NADPH ise indirgeyici ekivalanlar olarak görev yaparlar (132). Sitokrom p450 ve b5 doymamış yağ asitlerini ve ksenobiyotikleri oksitleyebilir ve dioksijeni indirgeyebilir (133).

**c) Mitokondriyal elektron taşıma zinciri:** Hücre içinde oluşan serbest radikallerin en önemli kaynağı, mitokondri iç membranında yer alan elektron transport zinciridir. Başta

$O_2\cdot^-$  radikali olmak üzere  $\cdot OH$  radikali ve  $H_2O_2$ 'nin mitokondri içinde üretimi bildirilmiştir (134).

**d) Prostaglandin sentezi sırasında,** peroksidaz fonksiyonu ile süperoksit radikali ortaya çıkar (132).

**e) Otooksidasyon reaksiyonları:** Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidropterinler gibi moleküller dioksijenin redüksiyonunu sağlarken primer olarak  $O_2\cdot^-$  radikalinin oluşumuna neden olurlar (14,134).

**f) Fagositoz:** Nötrofil, monosit ve eozinofil gibi fagositik hücreler savunma mekanizmalarının bir parçası olarak  $O_2\cdot^-$  radikalini oluşturmaktadır. Nötrofiller, mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını oluşturmaları nedeni ile yangısal yanıtta en önemli rolü oynayan kan hücreleridir. Nötrofillerin membran yüzeyinde bulunan NADPH oksidaz sistemi,  $O_2\cdot^-$  radikalinin oluşumu için önemli bir kaynaktır. Normal koşullarda inaktif durumda olan bu enzim, bakteri, mitojen veya sitokin gibi bazı faktörlerin etkisiyle oksijeni  $O_2\cdot^-$ 'ye dönüştürür.  $O_2\cdot^-$  ise SOD katalizörlüğünde hidrojen perokside indirgenir (135). Solunum patlaması olarak bilinen bu olay fagositlerin mikroorganizmaları yok etmelerinde temel mekanizmadır. Ayrıca nötrofillere özgü miyeloperoksidaz enzimi;  $H_2O_2$  ve klorür iyonunu ( $Cl^-$ ) hipoklorit asite (OHCl) dönüştürerek bakterisidal etkili toksisitede rol olmaktadır (136).

**g) Stres:** Stres durumunda vücutta katekolamin düzeyi artar ve artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi de artar (137).

**h) Yaşlanma** (138).

### **2.3.3.2. Eksojen faktörler**

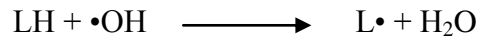
Alkol, uyuşturucu gibi bağışıklık yapan maddeler, radyasyon, hava kirliliği, pestisitler, solventler, anestezi ilaçlar, aromatik hidrokarbonlar, sigara ve antineoplastik ilaçlar (adriamisin, bleomisin, doksorobisin, donorobisin ) eksojen radikal kaynakları olarak sayılabilir (139).

### 2.3.4. Serbest radikallerin etkileri

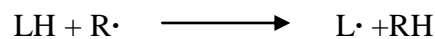
Normal hücre metabolizması sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri antioksidanlar tarafından zararsız hale getirilirler (140). Oksidatif stres altında oksijen radikallerinin oluşumu, antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aşarsa, artan serbest oksijen radikalleri hücrenin çeşitli bileşenleri ve hücre dışı makromoleküller ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar (141). Serbest oksijen radikallerinden etkilenen başlıca vücut kimyasal maddeleri proteinler (enzimler, kollajen) nörotransmitterler, nükleik asitler (DNA ve RNA) ve hücre membranının başlıca bileşeni olan yağ asitleridir (142).

#### 2.3.4.1. Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu)

Lipidler serbest radikal etkilerine en duyarlı hücre bileşenleridir. Biyolojik sistemlerde poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) serbest radikallerle oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Biyolojik sistemlerde birçok radikalin lipid peroksidasyonuna neden olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte lipid peroksidasyonunu başlatan asıl ajan  $\bullet\text{OH}$  radikalidir (113,116).

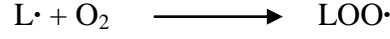


Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarı geri dönüşümsüzdür (116,120). Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir. Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali ( $\text{L}\bullet$ ) niteliği kazanır.



Yağ asidinde bir çift bağın varlığı çift bağın bitişiğindeki karbon atomundaki C-H bağını zayıflatır, böylece hidrojenin uzaklaşmasını kolaylaştırır. Bundan dolayı membran lipidlerinin PUFA yan zincirleri peroksidasyona daha duyarlıdır. Oluşan lipit

radikalinin molekül içi çift bağlarının pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bir alkenin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa bu yapı konjuge dien olarak isimlendirilir. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali (LOO•) oluşur.



Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (116,120,143).

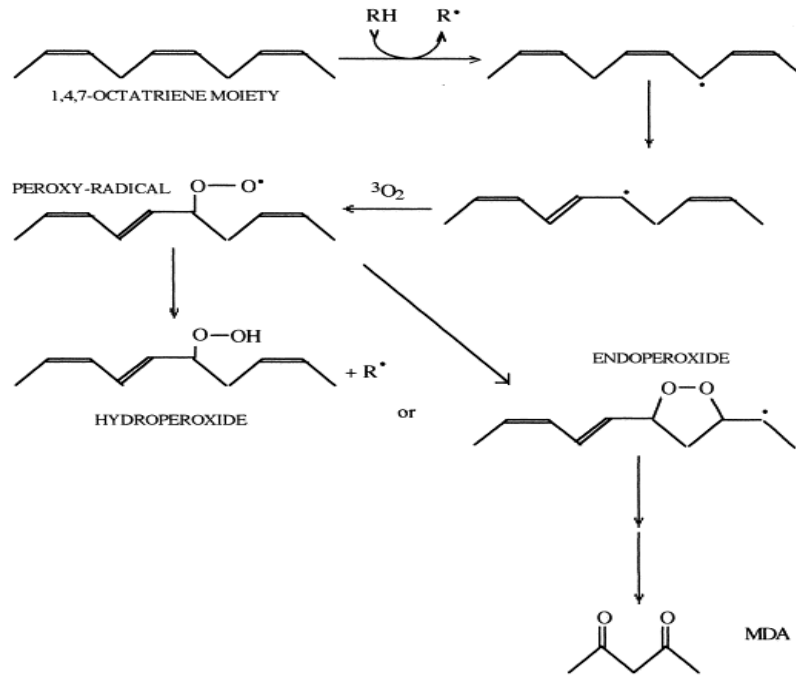


Oldukça kararlı olan lipit hidroperoksitleri lipit peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Peroksidasyon, eğer ortamda zincir reaksiyonunu sona erdirecek E vitamini gibi bir antioksidan bulunmazsa substratlar bitinceye kadar devam eder (144). Lipid hidroperoksitleri fizyolojik sıcaklıklarda oldukça stabil moleküllerdir. Ancak geçiş metalleri ve metal kompleksleri varlığında lipid alkoksil (LO•) ve peroksil (LOO•) radikallerine dönüşürler. Alkoksil ve peroksil radikalleri başka bir lipid substratından hidrojen çıkararak yeni zincir reaksiyonlarını uyarırlar (116). Lipid hidroperoksitleri yıkıldığı zaman aldehidler oluşurlar. Bu bileşikler metabolize edilmezlerse diffüze olarak hücrenin diğer bölümlerinde de hasara neden olurlar. Aldehidler; sitotoksik, hepatotoksik, mutajenik ve genotoksik özelliklere sahiptir (134). Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipit peroksidasyonu” denirken diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise “non enzimatik lipit peroksidasyonu” denir (117).

Lipit peroksidasyonunun en önemli ve son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu bir dialdehidtir ve oksidatif durumun göstergesi olarak yaygın kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH<sub>2</sub> ve/veya SH gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve

hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açar (120). MDA ölçümü lipid peroksid seviyelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır (117).

Lipid peroksidasyonu oldukça zararlı bir zincir reaksiyonudur. Membran akışkanlığını ve permeabilitesini azaltarak membran bütünlüğünün bozulmasına yol açar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intraselüler sindirime neden olur (145).



Şekil 2: Lipid peroksidasyon reaksiyonları (146).

#### 2.3.4.2. Proteinler üzerine etkileri

Proteinler radikallerin etkilerine lipidlere oranla daha az hassastır. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri aminoasit içeriğine bağlıdır. Özellikle de doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasit içeren proteinler serbest radikallerinden daha kolay etkilenirler. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler aminoasitlerin modifikasyonu, proteinlerin fragmantasyonu, proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalardır. Proteinin temel yapısındaki değişme,

antijenitesinde değişmeye ve proteolize yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (117,147).

#### **2.3.4.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (148). Bunlar kronik hastalıkların patolojik süreçlerinde önemli rol oynarlar (147).

Bağ dokuda bulunan hyaluronik asid, sinovyal sıvıda da bulunur. İnflamatuar eklem hastalıklarında sinovyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler geçer ve bunların immün kompleksler ile aktivasyonu sonucu ekstraselluler sıvıya hidrojen peroksit ve serbest oksijen radikalleri salınır. Bu radikallerin hyaluronik asidi parçalamaları sonucu inflamatuvar eklem hastalıklarında karakteristik sinovyal sıvı özellikleri belirir (149).

#### **2.3.4.4. Nükleik asidler üzerine etkileri**

Radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek mutasyona neden olur ve hücre ölümüne yol açarlar. Bu zararlı etki büyük oranda nükleik asid baz modifikasyonlarından oluşan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, bazlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre fonksiyonlarının bozulmasına hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA daha kolay zarar görebilen bir moleküldür (150).

#### **2.3.5. Antioksidan savunma sistemleri**

Serbest radikal hasarını önlemek amacıyla vücutta antioksidanlar olarak isimlendirilen savunma sistemleri bulunmaktadır. Antioksidan; düşük konsantrasyonlarda substratının oksidasyonunu geciktiren veya önleyen tüm maddelerdir (116). Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek lipid peroksidasyonunu inhibe eden ve/veya reaktif oksijen radikallerini tutan maddeler olarak da tarif edilebilir (151).

Antioksidan sistemde görev yapan moleküller; organizmada sentezlenen (endojen) veya dışarıdan alınan (ekzojen), oksidan molekülerin hücreye zarar vermesini önleyen, enzimatik veya nonenzimatik yapılardır (152).

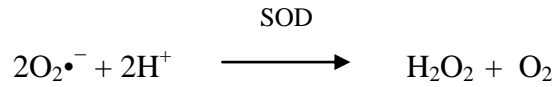
### 2.3.5.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antoksidanlar SOD, GSH-Px, GST, CAT, hidroperoksidaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi gibi enzimler ile enzim olmayan melatonin, seruloplazmin, transferin, miyogloblin, ferritin, hemoglobin, bilirubin, GSH, sistein, metiyonin ve albümindir (117).

#### 2.3.5.1.A. Enzimatik antioksidanlar

##### a) Süperoksit dismutaz (SOD)

En etkili hücre içi antioksidanlardan biri Süperoksit dismutazdır (EC.1.15.1.1). Süperoksit dismutaz  $O_2\bullet^-$  radikalinin  $H_2O_2$ 'ye dönüşümünü katalizleyerek lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri korur.



İnsanda sitozolik Cu-Zn SOD, mitokondriyal Mn SOD ve ekstraselüler SOD olmak üzere 3 tane formu bulunmaktadır (153).

##### Mangan süperoksit dismutaz (Mn SOD)

Mitokondriyal Mn SOD, her alt birim başına bir manganez atomu içeren bir homotetramerdir. Etki ettiği reaksiyon Cu-Zn SOD ile aynı tepkimedir. Ancak yapı olarak tamamen farklı bir enzimdir. Aktif bölgesinde Mn içerir ve dayanıksızdır. SOD'nın bu formu siyanürle inhibe olmaz. Eritrositlerde Mn SOD tespit edilmemiştir. Genellikle mitokondrilerde yerleşiktir (117).

##### Sitozolik SOD (Cu-Zn SOD)

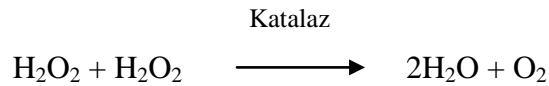
Daha çok sitozolde bulunan, aynı zamanda lizozom, peroksizom, nükleus ve mitokondri iç ve dış membranı arasında da bulunan intraselüler bir enzimdir (154,155). Cu-Zn SOD aktif bölgesinde Cu ve Zn içeren, 32.5 kDa ağırlığında bir homodimerdir. Cu enzimin katalitik aktivitesinde, Zn ise protein yapısının stabilitesinde rol alır. Dismutasyon reaksiyonlarında bakır iyonu indirgenir ve yükseltgenir. Cu-Zn SOD'nin katalizlediği dismutasyon reaksiyonları oranı pH'tan bağımsızdır (92). Düşük oksijen konsantrasyonu Cu-Zn SOD ekspresyonunu azaltır (154).

### **Ekstraselüler SOD (Ec SOD)**

Süperoksit dismutazın bir diğer formu Ec SOD 135 kDa ağırlığında sekreteruar tetramerik bir glikoproteindir. Aktif bölgesinde bakır ve çinko içerir (154,155). Ekstraselüler dokunun ve intertisyumun major SOD'udur. Sistemik ve pulmoner damarlarda total SOD aktivitesinin %70'ine sahiptir. Ayrıca NO seviyelerinin düzenlenmesinde major role sahip olduğu düşünülmektedir. SOD aktivitesi homosistein ile azalır angiotensin II ve hipertansiyonla artar (155).

### **b) Katalaz (CAT)**

Katalaz (E.C. 1.11.1.6) dört tane hem grubu içeren ve her bir alt birimin molekül ağırlığı 60 kDa olan tetramerik yapıya sahip bir enzimdir. Tüm aerobik mikroorganizmalarda, bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan bir hemoproteindir (156). Katalaz esas olarak peroksizomlarda olmak üzere endoplazmik retikulum ve sitozolde yoğunudur. Aktivitesi; karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Görevi, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak; bu enzim bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (117). Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez (157).



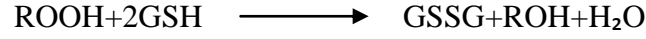
### **c) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)**

Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitleri indirgeyerek etki gösteren antioksidan bir enzimdir (3). Sitozol ve mitokondrielerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır (158). Glutasyon peroksidaz enziminin altı izoenzimi (GSH-Px 1,2,3,4,5 ve 6) vardır. GSH-Px 5 izoenzimi selenyumdan bağımsız, diğerleri de selenyuma bağımlıdır (122).

### **Glutasyon-S-transferaz (GST)**

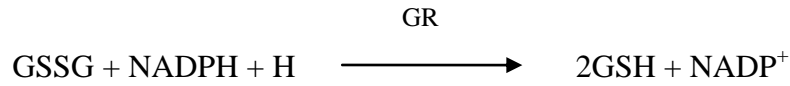
Glutasyon-s-transferaz başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı Se-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir savunma

mekanizması oluştururlar. Antioksidan aktivitelerine ilaveten çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlarada sahip olup hem, bilirubin ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddeleri dönüştürümlü olarak bağlayarak bunların hücre içi transportunda yer alırlar (117).



### **Glutasyon redüktaz (GR)**

Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 subünitten oluşmuş bir enzimdir. Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen GSSG, GR'ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale GSH dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır (117).



### **2.3.5.1.B. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

#### **a) Askorbik asit (C vitamini)**

Suda çözünen bir vitamin olan C vitamini vücut sıvısında genellikle askorbat olarak bulunur. Kolayca elektron vererek dehidroaskorbik asite kendiliğinden okside olur ve  $\text{O}_2\bullet^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HOCl}$ ,  $\bullet\text{OH}$  ve  $^1\text{O}_2$  süpürücü etki gösterir (118).

#### **b) $\beta$ -Karoten (A vitamini ön maddesi)**

Vitamin A'nın ön maddesi olan  $\beta$ -karoten singlet oksijene karşı en güçlü antioksidandır. Singlet oksijenin enerjisini yok ederek serbest radikallerden oluşan aktif molekülü engeller. Diğer antioksidan özelliği ise serbest radikalleri yok etmesidir (159).

#### **c) E vitamini ( $\alpha$ -Tokoferol)**

E vitamini sekiz farklı formda bulunan ve yağda çözünebilir ve zincir kıran güçlü bir antioksidandır. Alfa-tokoferol, E vitamininin insanlardaki en aktif formudur. Bu molekülün hücreler tarafından kullanılan membrana bağlı major antioksidan olduğu düşünülmektedir (155).

#### **d) Glutasyon (GSH)**

Tiyol grubu içeren bir tripeptiddir. Hücredeki önemli fonksiyonlarının (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu vb.) yanı sıra antioksidan olarak da görev yapar (160).

#### **e) Albumin**

Albumini oluşturan her molekülde bir sülfidril grubu olduğundan kendisi pek çok SR türünü temizler ve bu nedenle primer hücre dışı savunma sistemi olarak kabul edilir (118). Albumin yüzeyinde oluşacak olan  $\bullet\text{OH}$  radikali yine albumin tarafından temizlenir. Aynı zamanda miyeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'yi hızlı bir şekilde temizler (145,158).

#### **f) Seruloplazmin**

Seruloplazmin karaciğerde sentez edilen, plazma bakırının %95'ini taşıyan bir proteindir. Plazmada bakır taşıyan seruloplazmin aynı zamanda karaciğerde ve diğer dokularda demir hemostazında da rol alır. Ferrooksidaz aktivitesine sahiptir (161). Seruloplazmin ferrooksidaz aktivitesi ile toksik olan ferröz demiri toksik olmayan ferrik forma çevirerek Fenton reaksiyonunu ve böylece serbest radikal oluşumunu inhibe eder (117).

#### **g) Melatonin**

Temel olarak pineal bezden sentez edilen melatonin, sinerjistik bir etkiyle antioksidan ve immünostimulatör olarak davranır. Direkt olarak oksidan maddeye (serbest radikal, reaktif oksijen türevi vb.) elektron sağlaması yoluyla olan temizleyici etki ve indirekt olarak ise endojen antioksidan mekanizmaları reseptör bağımlı olarak harekete geçirmek yoluyla antioksidan enzimlerin DNA seviyesinde ekspresyonlarını artırdığı ve peroksinitritlerin artışına neden olabilen uyarılabilir nitrik oksit sentetaz enzimini inhibe ettiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (162).

#### **h) Transferin ve laktoferrin**

Demiri bağlayarak lipid peroksidasyonu ve demir katalizli Haber-Weiss reaksiyonlarına katılımını durdurur veya yavaşlatır (145,158).

### **i) Bilirubin**

Bilirubin peroksil radikalini temizleyip lipit ve lipoproteinlerin oksidasyonunu suprese ederek antioksidan aktivite gösterir (163).

### **k) Ürat**

Pürin metabolizmasının son ürünü olan ürat plazmada bulunan ve suda çözünen bir maddedir. Süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler, fakat lipit radikalleri üzerine etkisi yoktur (117).

### **l) Oksipürinol**

Allopürinolün metaboliti olup doğrudan •OH ve HOCl radikallerini azaltıcı yönde etki eder (117).

### **2.3.5.2. Eksojen antioksidanlar**

Vitamin E ve C, folik asit, β-karoten, ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, asetilsistein, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler, barbitüratlar, demir şelatörleri, sodyum benzoat gibi antioksidanlar eksojen kaynaklıdır (117).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran romatoid artrit ve skleroderma tanısı alan 18-65 yaş arası kadın ve erkek olgular ile sağlıklı gönüllüler alınmıştır. Herhangi bir kronik hastalığı olanlar (diyabet, hipertansiyon vb) çalışma dışı bırakıldı. Çalışma grubuna alınan kişilerden bilgilendirilmiş olur formu ve çalışma öncesinde Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan araştırmanın yapılmasının uygunluğuna dair 17/01/2012 tarihli ve 17/01/2012/1 nolu kararı ile onay alındı.

Çalışmaya 10'ü erkek ve 75'i kadın olmak üzere toplam 85 hasta ve 4'ü erkek ve 36'ı kadın olmak üzere toplam 40 sağlıklı birey dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen bireylerin adı-soyadı, cinsiyeti, yaşı, boyu, ağırlığı, diyabet, hipertansiyon, ilaç, sigara ve alkol kullanımı öyküsü forma kaydedilmiştir.

Çalışmaya katılan bireylerin vücut kitle indeksi, vücut ağırlığının (kg cinsinden) boyun karesine (m cinsinden) bölünmesiyle elde edildi.

$$VKİ = \text{Vücut ağırlığı (kg)} / \text{Boy (m}^2\text{)}$$

#### **Çalışmaya dahil edilen bireyler şu şekilde gruplandırıldı;**

1. Grup; Remisyon dönemindeki Romatoid artrit hastaları (6 erkek ve 37 kadın olmak üzere toplam 43 birey)
2. Grup; Klinik özelliklerine göre “diffüz skleroderma” ve “limitli skleroderma” olarak skleroderma tanısı konulan hastalar (4 erkek ve 38 kadın olmak üzere toplam 42 birey)
3. Grup; Sağlıklı gönüllülerden oluşan bireyler (4 erkek ve 36 kadın olmak üzere toplam 40 birey)

Sağlıklı grubuna alınan 40 birey son altı ay içerisinde herhangi bir şikayeti olmayan, herhangi bir diyet yapmayan, genel olarak bir hastalığa ait ilaç kullanmayan, herhangi bir cerrahi operasyon geçirmemiş, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi kronik bir hastalığı olmayan ve aralarında akrabalık bağı olmayan tamamen sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Bu grup çalışma hakkında bilgilendirildi ve onayları alındı.

### **3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

Çalışmaya dahil olan bireylere çalışmayla ilgili bilgi verilip onayı alındıktan sonra 12 saat açlık sonrası sabah aç karnına venöz kan alındı. Alınan kan örnekleri antikoagülan madde içermeyen tüplere ve antikoagülan madde olarak EDTA içeren tüplere alındı. Antikoagülan madde olarak EDTA içeren tüplerde tam kan sayımı hemen çalışıldı ve aynı tüpteki kandan hemolizat hazırlanarak endorf tüplerde porsiyonlara ayrıldı. Antikoagülan madde içermeyen tüpler ise 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 1500 g'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra serum endorf tüplerde porsiyonlara ayrıldı. Daha sonra bu örnekler çalışma zamanına kadar -80 °C'de saklandı. Hazırlanan bu örneklerden oksidan/antioksidan parametreler (MDA, SOD, XO, NO) çalışıldı. Hemolizli ve lipemik örnekler çalışma dışı bırakıldı.

### **3.2. Hemolizat Hazırlanması**

Etilendiamin tetraasetik asitli (EDTA) tüplere alınan kan örneğinden hemolizat hazırlama aşamaları aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi;

- 1) Tüpler 2800 g ve +4 °C'de 10 dk santrifüj edildi. Üst kısımdaki plazma ve lökosit tabakaları pipetlenerek atıldı.
- 2) Tüpte kalan numune hacminin 1.5 katı kadar soğuk %0.9 NaCl çözeltisi eklendi, 2800g ve +4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek tüplerin üst kısmındaki süpernatant atıldı. Bu yıkama işlemi üç defa tekrarlandı.
- 3) Yıkama işleminden sonra 0.1 ml hazırlanan hücre paketinden alınıp bir düz tüpe konuldu ve üzerine 4.9 ml soğuk distile su eklenerek eritrositler hemoliz edildi.
- 4) Hazırlanan tüpler vorteksenerek +4 °C'de 1 saat bekletildi ve 2800g'de 10 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant SOD analizi için kullanılmak üzere porsiyonlara ayrılarak -80 °C' de saklandı.

### 3.3. Eritrosit SOD Aktivitelerinin Tayini

#### Kullanılan çözeltiler

- 1) 0.3 mmol/L Ksantin: 9.13 mg ksantin bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 200 ml'ye tamamlandı.
- 2) 0.6 mmol/L Etilendiamin tetraasetik asit-2 Na tuzu (EDTA): 25 mg EDTA bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 100 ml'ye tamamlandı.
- 3) 150 µmol/L Nitrobluetetrazolyum (NBT): 12.3 mg NBT bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 100 ml'ye tamamlandı.
- 4) 400 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 2.54 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 60 ml'ye tamamlandı.
- 5) 1 gr/L Bovin Serum Albumin (BSA): 30 mg BSA üzerine yaklaşık 15 ml distile su ilave edildi. Köpürtmeden alt üst edilerek karıştırıldı. Son hacim distile su ile 30 ml'ye tamamlandı. Işık geçirmeyen şişede +4 °C' de saklandı.

İlk beş çözeltinin yukarıda belirlenen miktarları karıştırılarak ölçüm reaktifi hazırlandı. Koyu renkli şişede, +4 °C' de saklandı.

- 6) 2 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 2.64 gr (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> alınıp 10 ml distile suda çözüldü.
- 7) 167 U/L Ksantin Oksidaz (XO): 10 µL XO alınıp üzerine, 2 mol/L'lık (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinden 1 ml eklendi. Tüp birkaç kez alt üst edilerek karıştırıldı. Enzim çözeltisi çalışma esnasında hazırlandı.

**Testin prensibi:** SOD aktivitesi, Sun ve ark. (164) ve Durak ve ark. (165) tarafından tanımlanan NBT indirgenmesi yöntemiyle çalışıldı. Reaktif içerisinde bulunan ksantin, XO enzimi tarafından ürik aside oksitlenirken ortaya çıkan O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radikali numunede mevcut SOD için substrat görevi görür. Ortamda bulunan O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radikali NBT'yi oksitlediği için mavi renkli formazon bileşiği oluşur. Oluşan bu formazonun 560 nm'de absorbansı ölçüldü. Körün içerisinde SOD bulunmadığı için, tüm NBT oksitlenir. Bu nedenle körün absorbansı, numunelerin absorbanslarından yüksektir. Numunede ne kadar çok SOD mevcutsa NBT oksidasyonu o kadar fazla engelleneceği için enzimatik reaksiyon sonucu ortaya çıkan renk de o kadar açık olur.

Tablo 6: SOD çalışma şeması

	Kör(ml)	Numune(ml)
Substrat solusyonu	2.45	2.45
Numune(Hemolizat)	-	0.5
Distile su	0.5	-
XO	0.05	0.05
Tüpler 25 C°'de 20 dakika inkübe edilir		

### SOD aktivitelerinin hesaplanması

Bir SOD Ünitesi; NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}}] \times 100$$

$A_{\text{kör}}$ : Körün absorbansı

$A_{\text{numune}}$ : Numunenin absorbansı

$$\text{Aktivite (U/ml)} = [ (\% \text{inhibisyon} / 50 \times 0,5) \times \text{Dilüsyon Faktörü} ]$$

$$\text{SOD aktivitesi (U/gr Hb)} = [\text{SOD aktivitesi (U/ml)} / \text{Hb değeri (gr/ml)}]$$

### 3.4. Malondialdehit (MDA) Tayini

#### Kullanılan çözeltiler

- 1) Fosfat tamponu (pH: 7.4): 8.1 gr NaCl, 2.302 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.194 gr NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartılıp bir miktar distile suda eritilip son hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- 2) Butilehidroksitoluen (**BHT**) çözeltisi (% 0.88): 88 mg BHT tartılıp, 10 ml %96 alkol içinde çözüldü.
- 3) Triklor asetik asit (TCA) çözeltisi (% 30): 30 gr TCA tartılıp bir miktar suda eritilerek ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.
- 4) EDTA çözeltisi (0.1 M): EDTA-Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O 37.224 gr tartılıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- 5) Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi (%1'lik): 1 gr TBA tartılıp, 100 ml 0.05 N NaOH içinde çözüldü.

6) NaOH çözeltisi (0.05 N): 2 gr NaOH tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 1000 ml'ye tamamlandı.

**Testin prensibi:** MDA Jain ve ark. (166) tarafından tanımlanan tiyobarbitürik asit (TBA) metodu esas alınarak yapılmıştır. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA içeriği ölçülmesinde MDA'nın TBA ile reaksiyona girmesi esas alınır. Yöntem MDA ile TBA'nın oluşturduğu pembe renkli bileşiğin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesi esasına dayanır.

Tablo 7: MDA çalışma şeması

Çözeltiler	Tüpler (ml)
Numune	0.2
Fosfat Tamponu	0.8
BHT	0.025
TCA	0.5
Tüpler vorteksenip buz içinde 2 saat bekletildikten sonra 2000 rpm de 15 dk santrifüj edildi	

Oluşan süpernatandan her bir örnek için 1 ml alınarak başka bir tüpe konuldu ve üzerlerine aşağıdaki tabloda belirtilmiş şekilde çözeltiler eklendi.

Çözeltiler	Tüpler (ml)
EDTA	0.075
TBA	0.25
15 dakika kaynar su banyosunda bekletildi	

Kaynar su banyosunda bekletildikten sonra oda ısısına soğutulup spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda absorbansları okundu.

### Hesaplama

Elde edilen absorbans değerleri molar ekstinksiyon katsayısı ( $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplanıp nmol/ml cinsinden MDA değerleri bulundu.

### 3.5. XO Aktivitesinin Tayini

#### Kullanılan çözeltiler

Fosfat tamponu (50 mM, pH 7.5 ): 0.5 mM Na<sub>2</sub>EDTA'lı, 4 mM ksantin, TCA (%100 w/v )

**Deneyin prensibi:** XO aktivitesi Prajda ve ark.'nın (167) metoduna göre çalışıldı. Bu metotta XO aktivitesi, numunede bulunduğu farzedilen XO'ın ortamdaki ksantinden ürik asit oluşturması esasına dayanır. Oluşan ürik asit miktarı, %100'lük TCA solüsyonun eklenmesi ile sabitlenir. Spektrofotometrede 293 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülür. Böylece 30 dakika içerisinde üretilen ürik asit miktarı belirlenir ve aktivite U/ml cinsinden ifade edilir.

Tablo 8: XO çalışma şeması

	Kör	Numune
Tampon (mL)	2.8	2.8
Ksantin (µL)	50	50
Numune (µL)	-	50
37 °C'de 30 dakika inkübasyon		
Numune (µL)	50	-
TCA (µL)	100	100

### 3.6. Nitrik Oksit (NO) Tayini

#### Kullanılan çözeltiler

- 1) Kadmiyum granül: Granüller her örnek için yaklaşık 2 gr hesabıyla 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde saklandı. Kadmiyum granüllerinin tamamen redüksiyonu için kullanılmadan önce en az 12 saat süreyle 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde kalması gerekir. Çalışma yapılmadığı sürelerde kadmiyum granülleri 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde oda ısısında saklandı.
- 2) Glisin-NaOH çözeltisi: 15 gr glisin bir miktar distile su içinde çözüldü ve hacim distile su ile 1L'ye tamamlandı. Daha sonra 2 M NaOH ile çözeltinin pH'ı 9.7'ye gelene kadar küçük miktarlarda ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı.
- 3) Griess reaktifi: Eşit miktarlarda Sülfanilamid ve N-1-naftil-etilendiamin dihidroklorür (NED) çözeltisinin karıştırılması ile elde edilir.

Sülfanilamid çözeltisi: 3 M, bir miktar HCl çözeltisi içinde 5 gr Sülfanilamid çözüldü ve hacim HCl ile 500 ml'ye tamamlandı.

NED çözeltisi: Bir miktar distile su içerisinde 100 mg NED çözüldü ve hacim distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

- 4) NaOH çözeltisi: 55 mM NaOH çözeltisi hazırlamak için 2.2 gr NaOH tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 1L'ye tamamlandı.
- 5) ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi: 75 mM ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlamak için 21.5 gr ZnSO<sub>4</sub> tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 1L'ye tamamlandı.
- 6) CuSO<sub>4</sub> çözeltisi: 100 mM CuSO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlamak için 25 gr CuSO<sub>4</sub> tartıldı, bir miktar glisin-NaOH çözeltisi içinde çözüldü ve hacim glisin-NaOH çözeltisi ile 1L'ye tamamlandı.
- 7) Standartlar: 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 µmol/L konsantrasyonlarda NaNO<sub>2</sub> çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiler kadmiyumsuz ortamda direkt Griess reaktifi ile renklendirilerek standart eğri elde edildi.

100 µM NaNO<sub>2</sub> çözeltisi hazırlamak için 6.9 mg NaNO<sub>2</sub> tartıldı, bir miktar distile su içinde çözüldü ve hacim distile su ile 1L'ye tamamlandı. Stok çözelti 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100 seyreltilerek diğer konsantrasyonlar elde edildi.

Serum NO düzeyleri Griess yöntemi ile ölçüldü. Griess yöntemi NO<sub>2</sub><sup>-</sup>'in asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamid ile reaksiyonu ve N-1-naftil-etilendiamin dihidroklorür (NED) ile mor renkli bir azo ürünü oluşturması ilkesine dayanır. Bu reaksiyona Griess Reaksiyonu denir. Griess Reaksiyonu, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> iyonlarına duyarlı olduğundan ortamdaki NO<sub>3</sub><sup>-</sup>'ün NO<sub>2</sub><sup>-</sup>'ye indirgenmesi, in vivo olarak oluşan NO'nun gerçeğe yakın miktarda ölçümüne olanak sağlar (168).

### **Deproteinizasyon**

Serum örnekleri 5'erli gruplar halinde çalışmaya alındı ve çift olarak çalışıldı. Her bir örnekten 300 µl alınıp, temiz cam tüplere kondu, üzerine 600 µl 55 mM NaOH çözeltisi eklendi. Vorteksle en az 30 saniye karıştırıldı. Bunun üzerine 600 µl 75 mM ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi ilave edildi. Vorteksle en az 30 saniye karıştırıldı. Beyaz bulanık hale gelen tüm örnekler soğutmalı santrifüj cihazına konarak 5000 rpm 10 °C'de 5 dakika santrifüj

edildi. Santrifüj işlemi sonunda tüplerin üst kısmında kalan saf su berraklığındaki süpernatant kısmı alınarak bundan sonraki aşamalarda kullanıldı. Bu işlem sırasında 5 kez dilüsyon yapılmış oldu.

### **Kadmiyum aktivasyonu**

Çalışma için yetecek kadar ve en az 12 saat  $H_2SO_4$  içinde bekletilmiş olan kadmiyum granülleri üzerindeki  $H_2SO_4$  boşaltıldı. Granüller yeterli miktarda distile su ile yıkandı. Ardından her 100 gr kadmiyum için 15 ml 100 mM  $CuSO_4$  çözeltisi granüller üzerine ilave edildi. Granüllerin bulunduğu kap çalkalanmadan hafifçe döndürülerek mavi renkli solüsyonun berrak, renksiz hale dönmesi sağlandı. Bu aşamada kadmiyum granülleri koyulaştı. Üstteki berrak su boşaltıldı. Granüller üzerine üç kez yeterli miktarda glisin-NaOH çözeltisi eklenerek yıkandı ve solüsyon boşaltıldı. Burada glisin-NaOH çözeltisi tampon olarak,  $CuSO_4$  çözeltisi ise kadmiyumların redüksiyon özelliği kazanması için kullanıldı. Böylece kadmiyum granüllerinin aktivasyonu sağlanmış oldu. Bu andan itibaren kadmiyum, redüksiyon kapasitelerinin azalmaması için en geç 1 saat içinde kullanıldı.

### **Deneyin yapılışı**

Örnekler, standartlar ve kör için uygun sayıda tüp alındı. Örnek tüplerine yaklaşık iki gr aktive edilmiş kadmiyum granülü kondu. Her birinin üzerine 1000  $\mu$ l glisin-NaOH çözeltisi ilave edildi. Daha sonra tüplere aşağıdaki ilaveler yapıldı.

Tablo 9: NO ölçümü sırasında kullanılan kör, standart ve örneklerin miktarları

	Standart tüpler	Örnek tüpleri	Kör tüpü
Örnek	-	500 $\mu$ l	-
Standart	500 $\mu$ l	-	-
Distile su	500 $\mu$ l	500 $\mu$ l	1000 $\mu$ l

Bu aşamada daha önce 5 kez dilüe edilmiş örneklere 4 kez daha dilüsyon yapılmış oldu. Tüm örneklerin işlemleri tamamlandıktan sonra tüplerin kapakları kapatılarak karıştırıcı cihazda 90 dakika döndürüldü. Bu sırada tüplerin çalkalanmamasına dikkat edildi. Bu sürenin sonunda tüm tüpler 3000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Tüplerin üzerindeki

süpernatantdan 1000 µl alındı ve yeni temiz tüplere kondu. Hazırlanan örnek tüplerine ve daha önce hazırlanmış olan standart ve kör tüplerine 1000 µl Griess reaktifi kondu. Tüpler, reaksiyonun ışıktan etkilenmemesi için karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda renklenen örnekler ve standartlar köre karşı 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okutuldu.

### **Hesaplama**

Standart konsantrasyonları ile absorbansları arasındaki lineer ilişki, standart eğri çizilerek saptandı. Örnek absorbansları standart eğriden elde edilen faktörle çarpıldı. Çıkan sonuç seyreltme faktörü olan 20 ile çarpılarak konsantrasyonlar hesaplandı. Sonuçlar nmol/ml olarak verildi.

### **3.7. İstatistiksel Analiz**

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip değişkenlerin 2 bağımsız grupta karşılaştırılmasında Student t testi, 3 bağımsız grup karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD çoklu karşılaştırma yöntemi, normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için 2 bağımsız grup için Mann Whitney u testi ve 2 den fazla bağımsız grup için Kruskal Wallis ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler ki-kare analizi ile saptanmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11,5 paket programı kullanılmış ve  $P \leq 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı'nda Romatoid Artritin remiyon dönemindeki 43 hasta ve skleroderma tanısı alan 42 hasta ile 40 sağlıklı gönüllü birey olmak üzere toplam 18-65 yaş arası 125 birey dahil edildi. Çalışmaya alınanların % 11.2'si (n= 14) erkek ve % 88.8'i (n= 111) kadın bireylerden oluşmaktadır. Çalışmaya katılan bireylerden 12 saat açlık sonrası sabah aç karnına venöz kan alındı. Kan örnekleri antikoagülan madde içermeyen tüplere ve antikoagülan madde olarak EDTA içeren tüplere alındı. Elde edilen serumlardan XO, NO ve MDA tayini yapılırken hazırlanan hemolizattan SOD tayini yapıldı.

### Demografik veriler

Skleroderma hasta grubunun yaş ortalaması  $48.81 \pm 13.534$  yıl, Romatoid artrit hasta grubunun yaş ortalaması  $46.95 \pm 14.904$  ve sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması  $48.05 \pm 13.066$  yıldır. Yaş bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p= 0.825$ ). Skleroderma hasta grubunun 4'ü erkek, 38'i kadın Romatoid artrit hasta grubunun 6'sı erkek, 37'si kadın sağlıklı kontrol grubunun 4'ü erkek, 36'sı kadındır. Cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p= 0.782$ ). Skleroderma hasta grubunun VKİ değeri  $26.015 \pm 4.042$  kg/m<sup>2</sup>, Romatoid artrit hasta grubunun VKİ değeri  $24.959 \pm 2.859$  kg/m<sup>2</sup>, sağlıklı kontrol grubunun VKİ değeri  $27.235 \pm 4.809$  kg/m<sup>2</sup> olarak bulundu. VKİ değerleri bakımından kontrol grubu ile skleroderma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken kontrol grubu ile Romatoid artrit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ( $p= 0.036$ ). Skleroderma hasta grubundaki 11 kişi (%26.2) sigara kullanırken romatoid artrit ve kontrol grubunda sigara kullanan yoktu ( $p= 0.001$ ).

Romatoid artrit hastalarının aktivite skorları DAS 28 sedimentasyon ile hesaplandı çalışma grubundaki hastaların tümü düşük hastalık aktivitesi yada remisyondaki (DAS 28 skoru < 3.2) hastalardı.

Tablo 10: Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı grubun demografik özellikleri

		Skleroderma (n=42)	Romatoid Artrit (n=43)	Kontrol (n=40)	Önemlilik testi (p)
Cinsiyet	Erkek	n= 4 (%9.5)	n= 6 (%14)	n= 4 (%10)	p= 0.782
	Kadın	n= 38 (%90.5)	n= 37 (%86)	n= 36 (%90)	
Sigara	Kullanıyor	n= 11 (%26.2)	n= 0 (%0)	n= 0 (%0)	p= 0.001*
	Kullanmıyor	n= 31 (%73.8)	n= 43 (%100)	n= 40 (%100)	
Alkol	Kullanıyor	n= 1 (%2.4)	n= 0 (%0)	n= 0 (%0)	p= 0.333
	Kullanmıyor	n= 41 (%97.6)	n= 43 (%100)	n= 40 (%100)	
Yaş (Yıl)		48.81 ± 13.534	46.95 ± 14.904	48.05 ± 13.066	p= 0.825
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )		26.015 ± 4.042	24.959 ± 2.859	27.235 ± 4.809	p <sup>x</sup> = 0.222 p <sup>y</sup> = 0.166 p <sup>z</sup> = 0.01*

\* P ≤ 0.05

p<sup>x</sup>= Skleroderma ile Romatoid artrit

p<sup>y</sup>= Skleroderma ile kontrol grubu

p<sup>z</sup>= Romatoid artrit ile kontrol grubu

### Biyokimyasal değerler

Skleroderma hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre malondialdehit (MDA) düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi (p= 0.008). Diğer gruplar arasında MDA seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p<sup>x</sup>= 0.08, p<sup>z</sup>= 1.00).

Süperoksid dismutaz (SOD) (p= 0.508), Ksantin oksidaz (XO) (p= 0.593) ve Nitrik oksit (NO) (p= 0.211) bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Grupların analiz sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 11'te verilmiştir.

Sklerodermanın alt grupları olan diffüz ve limitli skleroderma ile sağlıklı kontrol grubu MDA, SOD, XO ve NO düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 12).

Tablo11: Sağlıklı ve hasta gruplarının analiz sonuçlarının karşılaştırılması

	Skleroderma (n=42)	Romatoid Artrit (n=43)	Kontrol (n=40)	Önemlilik testi (p)
MDA (nmol/ml)	1.664 ± 1.17	1.723 ± 0.966	1.51 ± 0.181	p <sup>x</sup> = 0.08 p <sup>y</sup> = 0.008* p <sup>z</sup> = 1.00
SOD (U/gr Hb)	2094.119± 1128.28	1970.986 ± 799.217	2108.394±814.352	p= 0.508
XO (U/ml)	0.8 ± 0.45	0.78 ± 0.58	0.74 ± 0.51	p= 0.593
NO (nmol/ml)	238.895 ± 58.1	233.116 ± 52.752	218.08 ± 27.189	p= 0.211

\* P ≤ 0.05

p<sup>x</sup>= Skleroderma ile Romatoid artrit

p<sup>y</sup>= Skleroderma ile kontrol grubu

p<sup>z</sup>= Romatoid artrit ile kontrol grubu

Tablo 12: Diffüz skleroderma ve limitli skleroderma hastaları ile kontrol grubunun analiz sonuçlarının karşılaştırılması

	Diffüz (n= 28)	Limitli (n= 14)	Kontrol (n= 40)	Önemlilik testi (p)
MDA (nmol/ml)	1.606 ± 1.138	1.78±1.262	1.51 ± 0.181	p= 0.894
SOD (U/gr Hb)	2060.674± 1099.926	2161.009± 1222.697	2108.394 ± 814.352	p= 0.729
XO (U/ml)	0.82 ± 0.48	0.77 ± 0.39	0.74 ± 0.51	p= 0.989
NO (nmol/ml)	230.457 ± 63.403	255.771 ± 42.858	218.08 ± 27.189	p= 0.07

## 5.TARTIŞMA

Reaktif oksijen türleri olarak bilinen ve oksijenden türeyen  $O_2\bullet^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $\bullet OH$  ve diğer serbest radikaller normal metabolik yollar aracılığıyla sağlıklı kişilerde az miktarda üretilir (169). Üretilen bu radikaller intraselüler sinyal yolları ve bazı transkripsiyon faktörlerinin aktivitesi gibi fizyolojik olaylarda fonksiyon görür ve mikrobial ajanlara karşı vücudun savunma sisteminin bir parçasını oluşturur (2). Ancak bunların artmış düzeyleri hücre ve dokularda hasara neden olur. Potansiyel olarak hasarlayıcı etkilerinden dolayı, organizmayı bu aşırı reaktif mediyatörlerin zararlı etkilerinden korumak için çeşitli antioksidan mekanizmalar geliştirilmiştir. Antioksidan mekanizmaların oksidan ajanları nötraliz etme kapasitesinin yeterli olmadığı durumlarda hücre membranları, lipidler, nükleik asitler, proteinler ve ekstraselüler matriks bileşenlerinin hasarı meydana gelebilir (170). Bu temel hücre komponentlerinin oksidatif hasarı kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, diyabet ve inflamatuvar romatizmal hastalıklar gibi birçok hastalığın patogeneğinde önemli bir mekanizma olarak öne sürülmektedir (4).

Sistemik skleroz (SSk); kollajen ve diğer bağ dokusu makromoleküllerinin deride ve çeşitli organlarda aşırı birikmesiyle tanımlanan, sebebi bilinmeyen kronik multisistemik bir bağ dokusu hastalığıdır (16). Klinik özellikleri çok değişkenlik gösterip başlıca klinik bulgu vasküler patoloji (Rf) ve kas iskelet, renal, pulmoner, kardiyak, gastrointestinal sistem gerek vasküler gerekse fibrotik tutulum ile seyrederek (28). SSk nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen patogeneğinde serbest radikallerin vasküler hasara ve endotelial disfonksiyona neden olduğu, böylece immün sistem aktivasyonuna ve fibrozisle sonuçlanan fibroblast aktivasyonuna öncülük ettiği düşünülmektedir (75).

Romatoid artrit (RA); birden çok eklemi aynı anda tutan, kronik seyirli, etiyojisi bilinmeyen, inflamatuvar karakterde, sistemik, otoimmün bir hastalıktır (80). RA'nın patofizyolojik temeli henüz tam olarak ortaya konulamamasına rağmen son yıllardaki çalışmalar serbest radikallerin hücresel hasarını başlatma potansiyeline sahip olduklarını düşündürmüştür (143).

Kronik inflamasyonla seyreden hastalıklar olan RA ve SSk patofizyolojisinde ROT'ların etkilerinin kesin bir biçimde ortaya konması hem tedaviye yeni yaklaşımlar getirmede fayda sağlayacak hem de oksidatif stresin suçlandığı diğer hastalıkların patofizyolojilerinin aydınlatılmasında yol gösterici olacaktır. Gerek hayvan modellerindeki in vivo, gerekse hücre kültürlerindeki in vitro çalışmalar ile bu hastalıkların patogenezinin daha iyi anlaşılması hedeflenmektedir. Patogenezin açıklanması ise her iki hastalık için etkili ve yeterli tedavi sağlanması açısından önemlidir. Bundan dolayı çalışmamızda RA ve SSk hastalarında oksidatif stresin varlığı, antioksidan enzim düzeyini araştırdık.

Serbest radikallerin aşırı reaktif yapılarından dolayı bunların in vivo varlıklarının direkt olarak belirlenmesi zordur. Bu sebeple lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi çeşitli moleküller üzerindeki etkilerini ve oluşan metabolik ürünleri ölçmek daha pratiktir. Bizim çalışmamızda oksidan ajanların oluşturduğu lipid peroksidasyon ürünü olan serum MDA düzeyi, antioksidan enzimler olan eritrosit Cu-Zn SOD, serbest radikal kaynaklarından biri olan serum XO ve bir reaktif oksijen türü olan NO düzeyi ölçülerek SSk ve RA'da oksidatif stresin varlığı araştırıldı.

Yapılan birçok çalışmada RA ve SSk patofizyolojisinde serbest radikallerin etkileri araştırılmış ancak birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiş ve kesin bir bilgi sağlanamamıştır.

Malondialdehid düzeyleri dokulardaki oksidatif stresin hassas göstergelerinden birisidir. MDA, serbest oksijen radikallerinin dokularda oluşturduğu lipid peroksidasyonu esnasında bir dizi reaksiyon sonucu meydana gelen oldukça reaktif metabolik bir üründür (10). RA hastaları ile yapılan çalışmalarda farklı MDA düzeyi bildirilmiştir.

Taysi ve ark. (171), Ozkan ve ark. (5) RA hastalarında serum MDA seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Kamanlı ve ark. (172), Karataş ve ark. (173), Sarban ve ark. (174), Kızıltunç ve ark. (175) RA da plazma MDA seviyelerini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Ayrıca Çimen ve ark. (15) RA hastalarında eritrosit MDA seviyelerini kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Ancak Olivieri ve ark. (176) RA hastalarında yaptıkları çalışmada MDA seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığını rapor etmişlerdir.

Musellim ve ark. (177) SSk hastalarında plazma MDA seviyelerini kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Devrim ve ark. (178) SSk hastalarında yaptıkları çalışmada eritrosit MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Solans ve ark. (79) SSk hastaları ile ilgili yaptıkları başka bir çalışmada sağlıklı kontrol grubuna göre lipid peroksidasyonunun artmış olduğunu ve bunun artmış eritrosit membran akışkanlığına bağlı olduğunu düşünmüşlerdir. Bu çalışma oksidatif stresin mikrovasküler akımı azalttığını gösterip oksidatif hasar gelişiminde yeni bir mekanizma ortaya koymuştur.

Bizim çalışmamız Musellim ve ark. (177), Devrim ve ark. (178), Solans ve arkadaşlarının (79) yaptıkları çalışmalar ile uyumlu olup SSk hastalarının serum MDA düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Ayrıca RA hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum MDA düzeyi bakımından fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. RA hastaları ile yapılan birçok çalışmada (5,15,171,172,174,175) araştırmacılar lipit peroksidasyonun arttığını öne sürmüşlerdir. Ancak Kocabaş ve ark. (179) düşük ve orta aktivite gösteren RA grubunda bu çalışmaya benzer şekilde plazma MDA düzeylerinde artış olduğunu fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Yüksek aktivite gösteren RA grubunda ise anlamlı bir yükseklik bulmuşlardır. Olivieri ve arkadaşları (176) da bizim çalışmamızla uyumlu olarak MDA düzeyinde anlamlı bir fark bulmamışlardır.

Sistemik skleroz ve RA hastalarında antioksidan olarak en çok araştırılan enzimlerden birisi SOD'dur. SOD, serbest radikallere karşı olan savunma sisteminin ilk basamağını oluşturur ve  $O_2^{\bullet-}$  anyonunun  $H_2O_2$ 'ye dismutasyonunu katalize eder. Eritrosit SOD aktivitesi ile ilgili olarak SSk ve RA hastaları ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir.

Taysi ve ark. (171) RA hastalarında serum SOD aktivitelerini, Çimen ve ark. (15) ise RA hastalarında eritrosit SOD aktivitelerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Ayrıca Kocabaş ve arkadaşlarının (179) yaptıkları çalışmada RA hastalarında plazma SOD seviyeleri anlamlı yükseklik göstermese de eritrosit SOD aktivitelerinde anlamlı bir artış olduğunu bulmuşlardır. Ancak Banford ve ark. (180), Karataş ve ark. (173) RA hastalarında eritrosit SOD aktivitesini kontrol grubuna göre

anlamli derecede d̨şük bulmuşlardır. Benzer şekilde Comstock ve ark. (181) RA hastalarında serum SOD aktivitelerini d̨şük bulmuşlardır. Bununla birlikte Abella ve ark. (182), Peretz ve ark. (183), Gambhir ve ark. (184) ve Sarban ve ark. (174) RA hastaları ile yaptıkları çalışmalarda kontrol grubuna göre eritrosit SOD aktivitelerinde anlamli bir fark bulmamışlardır. Ozkan ve ark. (5) da RA hastalarında serum SOD aktivitelerini kontrol grubuna göre anlamli bir fark bulmamışlardır. Igari ve ark.'nın (185) RA, Osteoarthritis (OA) ve normal kontrol grupları üzerinde serum ve sinovyal sıvı SOD aktivitesinin çalışıldığı bir diğer çalışmada, her u grubun serum SOD d̨zeyleri arasında önemli fark olmadığı, buna karşın sinovyal sıvı SOD aktivitesinin RA'lı grupta OA'lı gruba kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu alışmada RA' lı hastalarda SOD aktivitesi ile C-Reaktif Protein (CRP) arasında önemli bir ilişki olduğu bildirilmiştir.

Musellim ve ark. (177) SSk hastalarında plazma SOD aktivitesini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli bir fark bulmamışlardır. Ancak Morita ve ark. (186) SSk hastaları ile yaptıkları çalışmada plazma SOD aktivitelerini sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır.

Çalışmamızda eritrosit SOD aktivitesi açısından SSk ve RA hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamli bir farklılık bulunmadı.

Nitrik oksit (NO) ET-1'in normal kan damarlarındaki vazokonstriktör etkisini dengeleyen bir faktör (35) olup bir adet çiftlenmemiş elektrona sahip olduğundan reaktif oksijen türü olarak kabul edilir (122). Dolaşımdaki oranlarında meydana gelen değişikliklerin SSk ve RA patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, SSk ve RA patogenezindeki etkisi ile ilgili çelişkili yayınlar bulunmaktadır.

Nitrik oksit üretimi iNOS inhibitörleriyle ve deksametazonla inhibe edilmektedir. NOS inhibitörleri sinovyal doku tarafından üretilen NO'yu, sinovyal inflamasyonu ve doku hasarını azaltmaktadır (126). Deneysel bir çalışmada sistemik inflamatuvar eklem hastalığı modeli olarak ratlarda kollajenle oluşturulan artritte, NO retimi ve eklemlerdeki iNOS ekspresyonu artrit gelişimiyle paralellik göstermektedir (187). İNFLAMASYONDA iNOS ENZİMİ AKTİVE OLUR VE NO DÜZEYİ FİZYOLOJİK DEĞERLERİN ÇOK ÜZERİNE ÇIKAR (126). Yüksek konsantrasyonlarda iNOS tarafından üretilen NO proinflamatuvar

etkili olup komşu hücre ve dokulara zarar verir. NO, proinflamatuvar etkilerle; TNF- $\alpha$  ile IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin uyarılmasına, inflamasyonlu dokularda vasküler permeabilitenin artmasına, peroksinitrit ve hidroksil gibi zararlı serbest radikallerin üretilmesine yol açar (128). Birçok araştırmacı NO'nun inflamatuvar eklem hastalıklarında önemli bir mediatör olduğunu ve iNOS aktivasyonunun inflamatuvar artrit patogeneğinde büyük önem taşıdığını bildirmiştir (11).

Farrell ve ark. (188) ve Choi J.W. (189) RA hastalarında serum NO düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek saptamışlardır. Benzer şekilde Daneshtalab ve ark. (190) aktif dönemdeki RA'lı hastaların serum nitrit düzeylerini kontrol grubuna ve remisyon dönemine göre yüksek bulmuşlardır. Yine Kashanian G.R.M. (191) RA hastalarında yaptığı çalışmada hastalık aktivitesi ile NO arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. CRP düzeyi 11-20 mg/L olan RA grubu inaktif grup kabul edilmiş ve CRP düzeyi 51-100 mg/L olan aktif RA'lı grup ile karşılaştırıldığında serum nitrit düzeyleri yüksek bulunmuştur. Ancak sadece CRP düzeyi 100 mg/L'nin üzerindeki hastaların serum nitrit düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Bu çalışmaların aksine Doğruel (192) Juvenil RA hastalarında serum NO düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını rapor etmiştir. Her ne kadar JRA, RA'dan yaş grubu bakımından farklı olsa da eklem tutulumu ve immünolojik marker varlığı ile benzerlik gösterir (193).

Musellim ve ark. (177) SSk hastalarında plazma NO seviyelerini kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak önemli oranda yüksek bulmuşlardır. Benzer şekilde Yamamoto ve ark. (194) SSk hastalarındaki serum NO düzeyini araştırmış ve kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak önemli oranda yüksek bulmuşlardır. Ayrıca Andersen ve ark. (195) SSk hastalarında kontrol grubuna göre NO seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmaların aksine Kahaleh ve ark. (196) ve Allano ve ark. (197) SSk hastalarında NO seviyesini kontrol grubuna göre düşük seviyede olduğunu rapor etmişlerdir. Dooley ve ark. (39) ise SSk hastalarında yaptıkları bir çalışmada plazma NO seviyesini limitli SSk hastalarında kontrol grubuna göre yüksek bulurken, diffüz SSk hastalarında kontrol grubuna göre bir fark bulmadılar. Yapılan başka bir çalışmada Takagi ve ark. (198) SSk hastalarında serum NO seviyelerini araştırmış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli oranda yüksek bulmuşlardır. Ancak alt grupları incelendiğinde; diffüz, erken dönem ve

akciğer tutulumu olan SSk hastalarında serum NO düzeyi yüksek bulunurken, limitli ve geç dönem SSk hastalarında serum NO normal düzeyde bulunmuştur.

Bazı çalışmalarda SSk ve RA gibi etiyopatogenezinde immünolojik bozuklukların suçlandığı hastalıklarda NO değerlerinin yüksek bulunması, NO'nun immün sistemdeki inflamatuvar ve sitotoksik özelliğinin bir sonucu olarak bu hastalıkların ortaya çıkmasında önemli olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda RA ve SSk hastalarında serum NO düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmasına rağmen bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu durum hasta sayımızın az olması ile ilişkili olabilir. SSk ve RA hastaların takibinde hastalığın aktivite belirteci olarak NO düzeyinin kullanılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

İnflamasyon esnasındaki düzensiz mitokondrial oksidatif fosforilasyon ATP üretiminde azalma ve bunun sonucunda ATP yıkımında artışa neden olur. Ortamda biriken adenozin; ksantin ve hipoksantine yıkılır (12). Bu ürünler de XO için substrat olarak kullanılabilirler. XO ile bu maddelerin ürik aside yıkımı esnasında  $O_2^{\bullet-}$  üretilir. Çeşitli çalışmalarda XO'nun RA'daki artmış oksidan varlığına katkısı olduğu öne sürülmüştür.

Çimen ve ark. (15) yaptıkları çalışmada artmış eritrosit XO aktivitesinin RA patolojisindeki primer faktör olduğunu öne sürmüşlerdir. Ayrıca Kocabaş ve ark. (179) RA hastalarında plazma XO aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır.

Bizim çalışmada yapılan bu çalışmaların aksine RA hastaları ile sağlıklı kontrol grubunun serum XO aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı. Ayrıca SSk ve sağlıklı kontrol grubunun serum XO aktivitelerini karşılaştırdık ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemedik.

Sistemik skleroz hastalarında MDA, SOD ve NO parametrelerin bir veya birkaçının yer aldığı çalışmalar literatürde bulunmasına karşın XO aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlayamadığımızdan bu çalışmanın SSk ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi ortaya koymada ve yeni tedavi stratejilerini geliştirmede faydalı olacağı inancındayız.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmada lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeyi SSk hastalarında sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunurken RA hastalarında önemli bir farklılık tespit edilmedi. Ayrıca sağlıklı kontrol grupları ile kıyasladığımızda SSk ve RA hastalarının serum NO düzeyleri, serum XO aktiviteleri ve eritrosit SOD aktivitelerinde önemli bir farklılık bulunmadı.

Sonuç olarak çalışmamızda artmış MDA düzeyi SSk hastalarında marker olarak önemli olabilir fakat SSk hastalarında artmış oksidatif stresin varlığını göstermek için yeterli değildir. Destekleyici sonuçlar SOD, NO ve XO ölçümlerinde elde edilememiştir. Ayrıca çalışmamızda RA hastalarında MDA, SOD, NO ve XO düzeylerinde anlamlı bir farklılığın bulunmaması bu hastalığın düşük hastalık aktivitesi yada remisyon dönemi ile ilişkili olabilir.

Pek çok çalışma yapılmasına rağmen kesin bir bilgiye ulaşamaması ve birbiriyle çelişkili sonuçlar elde edilmesi SSk ve RA patogenezinin çok karmaşık olduğunu ve organizmadaki moleküllerin bu kompleks davranışlarının anlaşılması için çok daha kapsamlı ve yoğun araştırmalar gerektiğini ortaya koymuştur.

## 7. KAYNAKLAR

1. Smith C, Marks DA, Lieberman M. Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach. 2<sup>nd</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
2. Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2004;6:265-278.
3. Murray R, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 26<sup>th</sup> ed. Mc Graw Hill Co, 2003.
4. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 2002;18:872-879.
5. Ozkan Y, Akaydn S, Sepici A, Keskin E, Sepici V, Şimşek B. Oxidative status in Rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2007;26:64-68.
6. Gilliland BC. Systemic sclerosis (scleroderma). In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Eds.). *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 15<sup>th</sup> ed. USA: Mc Graw Hill Comp; 2001: p.1937-1945.
7. Campbell PM, Leroy EC. Pathogenesis of systemic sclerosis: A vascular hypothesis. *Semin Arthritis Rheum.* 1975;4:351-368.
8. Harris ED, Budd RC, Firestein GS. Romatoid Artritin Etyolojisi ve Patogenezi. *Kelley Romatoloji*, 7. Baskı, Arasıl T, Günes Kitapevi, Ankara, 2006: 996-1042.
9. Biemond P, Swaak AJ, Koster JF. Protective factors against oxygen free radicals and hydrogen peroxide in rheumatoid arthritis synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 1984;27:760-765.

10. Knight JA, Pieper RK, McClellan L. Specificity of the thiobarbituric acid reaction: Its use in studies of lipid peroxidation. *Clin Chem.* 1988;34:2433-2438.
11. Jang D, Murrell G.A. Nitric oxide in arthritis. *Free Radical Biology and Medicine.* 1998;24(9):1511-1519.
12. Borges F, Fernandes E, Roleira F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr Med Chem.* 2002;9:195-217.
13. Martin HM, Hancock JT, Salisbury V. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. *Infect Immun.* 2004;72:4933-9.
14. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc.* 1988;63:381-389.
15. Cimen MY, Cimen OB, Kacmaz M. Oxidant/antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2000;19:275-277.
16. Jimenez S.A, Derk C. T. Following the molecular pathways toward an understanding of the pathogenesis of systemic sclerosis. *Annals of Internal Medicine.* 2004;140:37-50.
17. Mayes MD, Lacey JV Jr, Beebe-Dimmer J, Gillespie B.W, Cooper B, Laing T.J, Schottenfeld D. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum.* 2003;48:2246-2255.
18. Arnett F.C, Howard R.F, Tan F, Moulds J.M, Bias W.B, Durban E, Cameron H.D, Paxton G, Hodge T.J, Weathers P.E, Reveille J.D. Increased prevalence of systemic Sclerosis (scleroderma) in a Native American tribe in Oklahoma: Association with an Amerindian haplotype. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1362-1370.

19. Laing TJ, Gillespie BW, Toth MB, Toth MB, Mayes MD, Gallavan RH Jr. Racial differences in scleroderma among women in Michigan. *Arthritis Rheum.* 1997;40:734-742.
20. Black CM, Welsh KI. Genetics of scleroderma. *Clin Dermatol.* 1994;12:337-347.
21. Bramwell B. Diffuse scleroderma: its frequency, its occurrence in Stone masons, its treatment by fibrolysin-elevations of temperature due to fibrolysin injections. *Edinburgh Med J.* 1914;12:387-392.
22. Rodnan GP, Benedek TG, Medsger TA Jr, Cammarata RJ. The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miners' pneumoconiosis and other forms of silicosis. *Ann Intern Med.* 1967;66:323-334.
23. Hamamdžić D, Harley RA, Hazen-Martin D, LeRoy EC. MCMV induces neointima in IFN- $\gamma$ R<sup>-/-</sup> mice: intimal cell apoptosis and persistent proliferation of myofibroblasts. *BMC Musculoskelet Disord.* 2001;2:3.
24. Derk TC, Jimenez SA. Systemic Sclerosis: current views of its pathogenesis. *Autoimmunity Reviews.* 2003;2:181-192.
25. Feghali-Bostwick C, Medsger TA Jr, Wright TM. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum.* 2003;48:1956-1963.
26. Maul G.G, Jimenez S.A, Riggs E, Ziemnicka-Kotula D. Determination of an epitope of the diffuse systemic sclerosis marker antigen DNA topoisomerase I: sequence similarity with retroviral p30gag protein suggests a possible cause for autoimmunity in systemic sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86(21):8492-8496.

27. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1980;23:581-590.
28. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, Rowell N. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol.* 1988;15:202-207.
29. Black CM. The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: Thick skin-thin hypotheses. The Parkes Weber Lecture. *J R Coll Physicians Lond.* 1995;29:119-130.
30. Sollberg S, Mauch C, Eches B, Krieg T. The fibroblast in systemic sclerosis. *Clin Dermatol.* 1994;12:379-385.
31. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med.* 1995;333:356.
32. Kahaleh MB. Endothelin: An endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1991;34:978-983.
33. Yamane K, Miyauchi T, Suzuki N, Yuhara T, Akama T, Suzuki H, Ksahiwagi H. Significance of plasma endothelin-1 levels in patients with SSc. *J Rheumatol.* 1992;19:1566-1571.
34. Hassoun PM, Thappa V, Landman MJ, Fanburg BL. Endothelin 1: Mitogenic activity on pulmonary artery smooth muscle and release from hypoxic endothelial cell. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1992;199:165-170.
35. Kahaleh MB, LeRoy EC. Autoimmunity and vascular involvement in systemic sclerosis (SSc). *Autoimmunity.* 1999;31:195-214.
36. Ibbá-Manneschi L, Niissalo S, Milia AF. Variations of neuronal Nitric oxide synthase in systemic sclerosis skin. *Arthritis Rheum.* 2006;54:202-208.

37. Blake DR, Winyard P, Scott DG, Brailsford S, Blann A, Lunec J. Endothelial cell cytotoxicity in inflammatory vascular diseases -the possible role of oxidised lipoproteins. *Ann Rheum Dis.* 1985;44:176-182.
38. Bruckdorfer KR, Hilary JB, Bunce T, Vancheeswaran R, Black CM. Increased susceptibility to oxidation of low-density lipoproteins isolated from patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1995;38:1060-1064.
39. Dooley A, Gao B, Bradley N, Abraham D, Black C, Jacobs M, Bruckdorfer K. Abnormal nitric oxide metabolism in systemic sclerosis: increased levels of nitrated proteins and asymmetric dimethylarginine. *Rheumatology(Oxford).* 2006;45:676-684.
40. Renaudineau Y. Anti-endothelial cell antibodies in systemic sclerosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6:156-160.
41. Ahmed SS, Tan FK, Arnett FC, Jin L, Geng YJ. Induction of apoptosis and fibrillin 1 expression in human dermal endothelial cells by scleroderma sera containing anti-endothelial cell antibodies. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2250-2257.
42. Denton CP, Black CM. Scleroderma - clinical and pathological advances. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004;18:271-290.
43. Tan EM, Rodnan GP, Garcia I. Diversity of antinuclear antibodies in progressive systemic sclereosis: anticentromere antibody and its relationship to CREST syndrome. *Arthritis Rheum.* 1980;23:617-625.
44. Earnshaw W, Bordwell B, Marino C, Rothfield N. Three human chromosomal autoantigens are recognized by sera from patients with anticentromere antibodies. *J Clin Invest.* 1986;77:426-430.

45. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1994;37:75-83.
46. Satoh M, Kuwana M, Ogasawara T, Ajmani AK, Longdan JJ, Kimpel D. Association of autoantibodies to topoisomerase I and the phosphorylated (IIO) form of RNA polymerase II in Japanese scleroderma patients. *J Immunol.* 1994;153:5838-5848.
47. Sacks DG, Okano Y, Steen VD, Curtiss E, Shapiro LS, Medsger TA. Isolated pulmonary hypertension in systemic sclerosis with diffuse cutaneous involvement association with serum anti-U3RNP antibody. *J Rheumatol.* 1996;23:639-642.
48. Casciola-Rosen L, Wigley F, Rosen A. Scleroderma autoantigens are uniquely fragmented by metal-catalyzed oxidation reactions: Implications for pathogenesis. *J Exp Med.* 1997;185:71-79.
49. Lunardi C, Bason C, Navone R, Millo E, Damonte G, Corrocher R, Puccetti A. Systemic sclerosis immunoglobulin G autoantibodies bind the human cytomegalovirus late protein UL94 and induce apoptosis in human endothelial cells. *Nat Med.* 2000;6:1183-1186.
50. Chizzolini C, Raschi E, Rezzonico R. Autoantibodies to fibroblasts induce a proadhesive and proinflammatory fibroblast phenotype in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1602-1613.
51. Valentini G, Della Rossa A, Bombardieri S, Bencivelli W, Silman AJ, D'Angelo S. European multicentre study to define disease activity criteria for systemic scleroderma. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:592-598.

52. Medsger TA Jr, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J Rheumatol.* 1999;26:2159-2167.
53. Medsger TA Jr. Systemic sclerosis (scleroderma): clinical aspects. In: Koopman WJ, Mc Carty DJ (eds). *Arthritis and Allied Conditions.* 13<sup>th</sup> ed. William and Wilkins; 1993: p.1433-1464.
54. Chung L, Lin J, Furst DE, Fiorentino D. Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol.* 2006;24:374-392.
55. Frankel L. Raynaud's phenomenon: epidemiology and risk factors. *Current Rheumatology Reports.* 2002;4:123-128.
56. Medsger TA Jr. Progressive systemic sclerosis: skeletal muscle involvement. *Clin Rheum Dis.* 1979;5:103-113.
57. Mittag M, Haustein UF. Die progressiv systemische sklerodermie prognosebestimmender befall innerer organsysteme. *Hautarzt.* 1998;49:545-551.
58. Steen VD, Graham G, Conte C, Owens G, Medsger TA Jr. Isolated diffusing capacity reduction in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1992;35:765-770.
59. Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1994;37:1283-1289.
60. Rossi GA, Bitterman PB, Rennard SI, Ferrans VJ, Crystal RG. Evidence for chronic inflammation as a component of the interstitial lung disease associated with progressive systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis.* 1985;131(6):12-17.
61. Allanore Y, Meune C, Kahan A. Systemic sclerosis and cardiac dysfunction: evolving concepts and diagnostic methodologies. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:697-702.

62. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am.* 1996;22:861-878.
63. Shor R, Halabe A. New trends in the treatment of scleroderma renal crisis. *Nephron.* 2002;92:716-718.
64. Weiner SR. Organ involvement: sexual function and pregnancy. In: Clements PJ, Furst DE. *Systemic sclerosis.* Maryland: Williams andWilkins; 1996: p.483-499.
65. Fox RI, Saito I. Criteria for diagnosis of Sjögren's syndrome. *Rheum Dis Clin North Am.* 1994;20:391-407.
66. Roca RP, Wigley FM, White B. Depressive symptoms associated with scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1035-1940.
67. Steen VD, Medsger TA. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum.* 2000;11:2437-2444.
68. Abu-Shakra M, Guillemain F, Lee P. Cancer in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1993;36:460-464.
69. Medsger TA, Steen VD. Classification, prognosis. In: Clements PJ, Furst DE (eds). *Systemic sclerosis.* Maryland: Williams&Wilkins; 1996: p.57-64.
70. Czirjak L, Nagy Z, Szegedi G. Systemic sclerosis in the elderly. *Clin Rheumatol.* 1992;11:483-485.
71. Kowal-Bielecka O, Landewe R, Avouac J, Chwiesko S, Miniati I, Czirjak L. EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis.* 2009;68:620-628.

72. Gabrielli A, Svegliati S, Moroncini G, Pomponio G, Santillo M, Avvedimento EV. Oxidative stress and the pathogenesis of scleroderma: the Murrell's hypothesis revisited. *Semin Immunopathol.* 2008;30:329-337.
73. Balbir-Gurman A, Braun-Moscovici Y, Livshitz V. Antioxidant status after iloprost treatment in patients with Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis. *Clin Rheumatol.* 2007;26:1517-1521.
74. Distler JH, Jünger A, Pilecky M. Hypoxia-induced increase in the production of extracellular matrix proteins in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:4203-4215.
75. Murrell DF. A radical proposal for the pathogenesis of scleroderma. *J Am Acad Dermatol.* 1993;28:78-85.
76. Peng SL, Fatenejad S, Craft J. Scleroderma: a disease related to damaged proteins? *Nat Med.* 1997;3:276-278.
77. Bulkley GB. Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: Aberrant triggering of reticuloendothelial function. *Lancet.* 1994;344:934-936.
78. Herrick AL, Cerinic M. The emerging problem of oxidative stress and the role of antioxidants in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheum.* 2001;19:4-8.
79. Solans R, Motta C, Sola R. Abnormalities of erythrocyte membrane fluidity, lipid composition, and lipid peroxidation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2000;43:894-900.
80. Prof. Dr. G. İliçin, Prof. Dr. K.Biberoğlu, Prof. Dr. G. Süleymanlar. *Temel İç Hastalıkları, Romatoid Artrit.* Ertem Matbaası, 2003: p.2702-2713.
81. Krane S.M, Simon L. Rheumatoid arthritis: Clinical features and pathogenic mechanism, *The Medical Clinics of North America.* 1986;30:263-283.

82. Silman AJ, Hochberg MC. Epidemiology of the rheumatic diseases. 2<sup>th</sup> ed. Oxford: Oxford University Press; 2001
83. Harris ED. Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. In: Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB, eds. Textbook of Rheumatology. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 1997: p.833-873.
84. Maini RN, Feldmann M. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Maddison P, Isenberg D, Woo P, Glass D (eds). Oxford Textbook of Rheumatology, Oxford University Press, 1998: p.983-1004.
85. Ergin S. Romatoid artrit ve sjögren sendromu. Beyazova M, Kutsal YG (ed). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Güneş Kitapevi, 2000: p.1549-1576.
86. Harris ED, Budd RC, Firestein GS. Romatoid Artrit Klinik Özellikleri. Kelley Romatoloji, 7. Baskı, Arasıl T, Güneş Kitapevi, Ankara, 2006: 1043-1078.
87. Barile MF, Yoshida H, Roth H. Rheumatoid arthritis: New findings on the failure to isolate or detect mycoplasmas by multiple cultivation or serologic procedures and a review of the literature. Rev Infect Dis. 1991;13:571-582.
88. Zvaifler NJ. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis: Arthritis and allied conditions. In: McCarty DJ, Koopman WJ (eds.). Lea and Febiger, 12<sup>th</sup> ed. Pennsylvania: 1993: p.723-736.
89. Gümüşdiş G. Romatoid artrit. Gümüşdiş G, Doğanavşargil, E (eds). Klinik Romatoloji, İstanbul: Deniz Matbaası, 1999: p.269-278.
90. Kingsley G, Panayi GS. Joint destruction in rheumatoid arthritis: biological basis. Clin and Exp Rheumatol. 1997;15:3-14.
91. Göksoy T. Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi. İstanbul: Yüce Yayın, 2002; p.420-476.

92. Direskeneli H. Romatoid artrit etyopatogezi. Hamuryudan V (ed). Romatoid Artrit, Ankara: Fersa Matbaasi, 2002: s.8-15.
93. Tüzün F EM, Akarırmak Ü. Hareket sistemi hastalıkları. Koniçe M EM (ed). Romatoid Artrit, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 1997: p.85-98.
94. Firestein GS, Xu W, Townsend K. Cytokines in chronic inflammatory arthritis. I. Failure to detect T cell lymphokines (interleukin 2 and interleukin 3) and presence of macrophage colony-stimulating factor (CSF-1) and a novel mast cell growth factor in rheumatoid synovitis. J Exp Med. 1988;168(5):1573-1586.
95. Gümüşdis G, Doganavsargil E. Bağ Dokusu Hastalıkları Romatoloji El Kitabı. İzmir: Güven Matbası, 2003; p.209-227.
96. Gümüşdis G, Doganavsargil E. Romatoid Artrit. Kitap: Gümüşdis G (yazar), Klinik Romatoloji. İstanbul: Deniz Matbaası, 1999; p.269-279.
97. Ribeiro J, Leao A, Novaes AB. Periodontal infection as a possible severity factor for rheumatoid arthritis. J Clin Periodontol. 2005;32:412-416.
98. Hurd ER. Extraarticular manifestations of RA. Semin Arthritis Rheum. 1979;8(3):151-176.
99. Cobb S, Anderson F, Bauer W. Length of life and cause of death in rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 1953;249:553-556.
100. Yazıcı Y, Erkan D. Romatoid Artrit: Tanı ve Tedavisi. Karaaslan Y, Oksel F (eds). Romatizmal Hastalıklar Tedavi El Kitabı, Ankara: MD Yayıncılık, 2003: p.53-64.
101. Halla JT, Schrohenloher RE, Koopman WJ. Local immune responses in certain extraarticular manifestations of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 1992;51(5): 698-701.

102. Emery P, Symmons DPM. What is early rheumatoid arthritis?: definition and diagnosis. *Bailliere's Clin Rheum.* 1997;11:13-26.
103. Fauci AS, Langford CA, Braunwald E. *Harrison's Principles of Internal Medicine. Harrison Romatoloji*, 16<sup>th</sup> ed, Soy M, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2007; p.85-104.
104. Akdoğan M, Akkuş S, Akkuş F, Koyu A. Romatoid artrit ve osteoartrozlu hastalarda eritrosit süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim düzeyleri. *Van Tıp Dergisi.* 1998;5:68-71.
105. Mercado FB, Marshall RI, Bartold PM. Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2003;30:761-772.
106. Edwards CRW, Bouchier IAD (Eds). *Davidson's Principles and Practice of Medicine.* 16<sup>th</sup> ed. Chirchill Livingstone UK, 1994.
107. Windrow VR, Winyard PG, Morris CJ. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. In: Cheeseman KH, SlaterTF (eds), *Free Radicals In Medicine.* Churchill Living Stone, New York: 1993; p.506-522.
108. Greenwold R.A, Moak S.A. Degradation of hyaluronic acid by polymorphonuclear leukocytes. *Inflammation.* 1986;10:15-30.
109. Chorazy PA, Schumacher HR, Edling TD. Role of glutathione peroxidase in rheumatoid arthritis analysis of enzyme activity and DNA polymorphism. *DNA and cell Biology.* 1992;11(3):221-225.
110. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;91:31-38.
111. Floyd RA. DNA damage and repair in oxidative damage and repair. In: Davies KJA (ed). *Pergamon Press.* 1992;32:175-180.

112. Halliwell B, Gutteridge, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Clarendon Press, Oxford. 1992;12(1):93-5.
113. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med. 1991;91:14-22.
114. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull. 1993;49(3):481-493.
115. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J. 1984;219:1-14.
116. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995;41:1819-28.
117. İdris Akkuş. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri (ed 1). Konya, Mimoza Yayınları. 1995:3-25.
118. Karabulut N. Sigara içen Kronik Periodontitisli Bireylerde Diseti Olugu Sıvısında Total Antioksidan Seviyelerinin Belirlenmesi.2009, Baskent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 73 sayfa, Doktora tezi, Ankara, (Doç. Dr. Emine Elif ALAADDİNOĞLU).
119. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. Am J Med. 2000;108:652-659.
120. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. 2004; 13:120-130.
121. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biology and Medicine. 2001;31(11):1287-1317.

122. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Derg.* 1997;3(4):92-95.
123. Volko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:44-84.
124. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilimleri.* 1997;17:115-119.
125. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocr Rev.* 2004;25(4):612-628.
126. Stichtenoth D.O, Frolich J.C. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *British Journal of Rheumatology.* 1998;37(3):246-257.
127. Özkan M, Yüksekol İ. Nitrik oksit ve akciğer. *Toraks Dergisi.* 2003;4(1):88-94.
128. Cedergren J, Forslund T, Sundqvist T, Skogh T. Inducible Nitric oxide synthase is expressed in synovial fluid granulocytes. *Clinical and Experimental Immunology.* 2002;130(1):150-155.
129. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43:109-142.
130. Mabley J.G, Liaudet L, Pacher P, Southan G.J, Salzman A.L, Szabo C. Part II: beneficial effects of the peroxynitrite decomposition catalyst FP15 in murine models of arthritis and colitis. *Molecular Medicine.* 2002;8(10):581-590.
131. Onat T, Emerk K. Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri Temel Biyokimya. Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 1996:520-528.

132. Moslen M.T. Reactive oxygen species in normal physiology cell injury and phagocytosis: Edit by Armstrong D. Free Radicals in Diagnostic Medicine. NewYork. 1994.
133. Sun Y. Free radicals antioxidant enzymes and carcinogenesis. Free Radic. Biol. Med.1990;8:583-599.
134. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab Invest. 1982;47(5):412-426.
135. Rice-Evans C.A, Burdon R.H. Free radicals and antioxidants in normal and pathological processes. In Free Radical Damage and Its Control. Elsevier Science Press (England). 1994;1-31.
136. Rice-Evans CA, Burdon RH. Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. In Free Radical Damage and Its Controls. Elsevier Science Press (England). 1994;131-153.
137. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology. 2003;189:41-54.
138. Olinski R, Siomek A, Rozalski R, Gackowski D, Foksinski M, Guz J, Dziraman T, Szpila A, Tudek B. Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age related diseases. Acta Biochim Pol. 2007;54:11-26.
139. Çam H. Sıçanlarda aspirin ile uyarılan gastritin önlenmesinde kafeik asit fenetil esterinin etkinliğinin araştırılması. 2007, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 46 sayfa, Tıpta Uzmanlık Tezi, Isparta, (Prof. Dr. Mehmet İŞLER).
140. Seven A, Candan G. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyon. Klinik Gelisim 8. 1995;3906-3911.
141. Dundar Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolu. Hayvancılık Araştırma Dergisi. 1999;9(1-2):32-39.

142. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol.* 1980;492:153-168.
143. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta.* 2001;306:1-17.
144. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working?. *Critical Reviews in Food Sci. Nutrition.* 2000;32:21-39.
145. Yiyenoglu ÖB. Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi: Prospektif Kontrollü Klinik Çalışma. 2010, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Gaziantep.
146. Wheatley R.A. Some recent trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. *Trac Trends in Analytical Chemistry.* 2000;19(10):617-628.
147. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S and Safadi A. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J Biochem.* 1992;286(35):607-611.
148. Allen RG, Tresını M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology & Medicine.* 2000;28(3): 463-499.
149. Niki E. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids.* 1987;44(2-4):227-253.
150. Agrawal A, Chandra D, Kale R.K. Radiation induced oxidative stress: II Studies in liver as adistant organ of tumor bearing mice. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2001;224:1-2.
151. Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet.* 1984;1:1396-1397.

152. Jerry P, Liu L, Zeng M, Stamler J.S. An apoptotic model for nitrosative stres. *Biochemistry*. 2000;39:1040-1047.
153. Szasz T, Thakalı K, Frink GD, Watts SW. A Comparison of arteries and veins in oxidative stress:producers, destroyers, function, and disease. *Biol Med*. 2007;232:27-37.
154. Lakari E. Expression of oxidant and antioxidant enzymes in human lung and interstitial lung diseases. *Oulu University Pres*. 2002;1-86.
155. Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2004;84(4):1381-1478.
156. Aebi H.E. Catalase. In Bergmeyer H.U(ed). *Methods of Enzymatics Analysis*. 1987;3:273-285.
157. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Inter*. 1994;91:133-140.
158. Yazıcıoğlu Ç. Fetal Hidrosefali ve Nöral Tüp Defekti Olan Gebelerde Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite, Oksidatif Stres İndeksinin Değerlendirilmesi: Prospektif Kontrollü Klinik Çalışma. 2008, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 56 sayfa, Tıpta Uzmanlık Tezi, Gaziantep (Prof. Dr. Özcan BALAT).
159. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterr Health J*. 1998;4(2):350-360.
160. Cochrane C.G. Cellular injury by oxidants. *Am J Med*. 1991;56:23-30.
161. Chen H, Huang G, Su T, Gao H, Attieh ZK, Mackie AT. Decreased hephaestin activity in the intestine of copper-deficient mice causes systemic iron deficiency. *J Nutr*. 2006;136:1236-1241.

162. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipidperoxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Bio Med.* 1990;9(6):515-540.
163. Condezo- Hoyos L, Abderrahim F, Conde VM, Susin C, Diaz-Gil JJ, Gonzales MC. Antioxidant activity of liver growth factor, a bilirubin covalently bound to albumin. *Free Radic Biol Med.* 2009;46:656-662.
164. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 1988;34:497-500.
165. Durak I, Canbolat O, Kacmaz M, Ozgen G, Ozturk HS. Antioxidant interferences in superoxide dismutase activity methods using superoxide radical as substrate. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36(6):407-408.
166. Jain SK. Evidence for membrane lipid peroxidation during the in vivo aging of human erythrocytes. *Biochem Biophys Acta.* 1988;937:205-210.
167. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: Decreased xanthine oxidase activity in hepatomas. *FEBS Lett.* 1975;59:245-249.
168. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 1990;36:1440-1443.
169. Kourie JI. Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. *Am J Physiol.* 1998;275:1-24.
170. Opie LH. Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation.* 1989;80:1049-1062.
171. Taysi S, Polat F, Gul M. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheum Int.* 2002;21:200-204.

172. Kamanlı A, Nazıroğlu M, Aydilek N, Hacıevliyagil C. Plazma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Biochem Funct.* 2004;22:53-57.
173. Karatas F, Ozates I, Canatan H, Halifeoglu I, Karatepe M, Colak R. Antioxidant status & lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res.* 2003;118:178-181.
174. Sarban S, Kocyigit A, Yazar M, Isikan UE. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin Biochem.* 2005;38:981-986.
175. Kiziltunc A, Cogalgil S, Cerrahoglu L. Carnitine and antioxidants levels in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 1998;27:441-445.
176. Olivieri O, Girelli D, Trevisan MT, Bassi A, Zorzan P, Bambara LM. Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition and antioxidant enzymes in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1991;18:1263-4.
177. Musellim B, Ikitimur H, Uzun H, Ongen G. The oxidant- antioxidant balance in systemic sclerosis cases with interstitial lung involvement. *Rheumatol Int.* 2006;27:163-167.
178. Devrim E, Erten Ş, Ergüder İ, Namuslu M, Turgay M, Durak İ. Malondialdehyde and nitric oxide levels in erythrocytes from patients with systemic sclerosis. *Med Princ Pract.* 2008;17:349-350.
179. Kocabaş H, Kocabaş V, Büyükbaş S, Sallı A, Uğurlu H. Relationship of cellular oxidant and antioxidant status with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Turk J Rheumatol.* 2010;25:141-146.
180. Banford JC, Brown DH, Hazelton RA. Serum copper and erythrocyte superoxide dismutase in rheumatoid disease. *Ann Rheum Dis.* 1982;41:454-462.

181. Comstock GW, Burke AE, Hoffman SC. Serum concentrations of alpha tocopherol, beta carotene, and retinol preceding the diagnosis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:323-325.
182. Abella A, Clarc D, Chalos J, Baret A, Leluc R, Lindenbaum A. Concentrations of superoxide dismutase (copper, manganese) catalase and glutathion peroxidase in red cells, platelets and Plasma of patients with rheumatoid polyarthritis. *Ann. Biol. Clin.* 1987;45:152-155.
183. Peretz A, Neve J, Vertangen F, Famaey JP, Molle L. Selenium status in relation to clinical variables and corticosteroid treatment in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1987;14:1104-7.
184. Gambhir JK, Lali P, Jain AK. Correlation between blood antioxidant levels and lipid peroxidation in rheumatoid arthritis. *Clin Biochem.* 1997;30:351-355.
185. Igari T, Kaneda H, Houriuchi S, Ono S. A remarkable increase of superoxide dismutase activity in synovial fluid of patient with rheumatoid arthritis. *Clin Orthop and Related Research.* 1982;162:282-287.
186. Morita A, Minami H, Sakakibara N, Sato K, Tsuji TAD. Elevated Plasma superoxide dismutase activity in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci.* 1996;11:196-201.
187. Cannon GW, Openshaw SJ. Nitric oxide production during adjuvant-induced and collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1677-1684.
188. Farrell AJ, Blake DR, Palmer RM, Moncada S. Increased concentration of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric Oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 1992;51:1219-1222.
189. Choi J.W. Nitric oxide production is increased in patients with rheumatoid arthritis but does not correlate with laboratory parameters of disease activity. *Clinica Chimica Acta.* 2003;336(1-2): 83-87.

190. Daneshtalab N, Lewanczuk R.Z, Russell A, Jamali F. Rheumatoid arthritis does not reduce the pharmacodynamic response to valsartan. *Journal of Clinical Pharmacology*. 2004;44(3):245-252.
191. Kashanian G.R.M. Nitrite level of serum as a diagnostic and prognostic tool in patients with rheumatoid arthritis. *Archives of Iranian Medicine*. 1999;2(4):1-6.
192. Doğruel D. Juvenil Romatoid Artrit'li Olguların Serum ve Solunum Havası Örneklerinde Nitrik Oksit Düzeyi. 2008, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 70 sayfa, Adana, (Doç. Dr. Mustafa YILMAZ).
193. Şentürk T, Çiçek C, Serter M, Yenisey Ç. Romatoid artritli hastalarda serum nitrik oksit seviyesi ve hastalık aktivasyonu ile korelasyonu. *Ulusal Romatoloji Kongresi*. 2002;18.
194. Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K. NO production and inducible NO synthase expression in SS. *J Rheumatol*. 1998;25:314-317.
195. Andersen GN, Caidahl K, Kazam E. Correlation between increased nitric oxide production and markers of endothelial activation in systemic sclerosis: findings with the soluble adhesion molecules eselectin, intercellular adhesion molecule 1, and vascular cell adhesion molecule 1. *Arthritis Rheum*. 2000;43:1085-1093.
196. Kahaleh BM, Pan-Sheng F, Cerinic MM, Stefanovic Racic M, Ignarro L. Study of endothelial dependent relaxation in scleroderma. *Arthritis Rheum*. 1993;36:180.
197. Allanore Y, Borderie D, Hilliquin P. Low levels of nitric oxide (NO) in systemic sclerosis: inducible NO synthase production is decreased in cultured peripheral blood monocyte/macrophage cells. *Rheumatology*. 2001;40:1089-1096.
198. Takagi K, Kawaguchi Y, Hara M, Sugiura T, Harigai M, Kamatani N. Serum Nitric oxide (NO) levels in systemic sclerosis patients: correlation between NO level and clinical features. *Clin Exp Immunol*. 2003;134:538-544.

## 8.ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve liseyi Şanlıurfa'da tamamladı. 2009 yılında Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2009-2010'da Mersin Üniversitesinde 1 yıl İngilizce hazırlık eğitimi aldı. 2010 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı ve halen aynı bölümde devam etmektedir. Yabancı dili İngilizcedir.