

33189

T. C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

Prof.. Dr. Gürbüz GÜMÜŞDİŞ

**DERİ ve İDRAR HİDROKSİPROLİN
DÜZEYLERİNİN SEKONDER RAYNAUD
FENOMENİ OLGULARINDA
PROGNOSTİK DEĞERİ**

UZMANLIK TEZİ

TEZ SORUMLUSU

Prof. Dr. Eker DOĞANAVŞARGİL

Dr. Ayhan DÖNMEZ

İZMİR - 1993

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Ö N S Ö Z

11 yıl önce başlayan Tıp fakültesi ve sonrasında uzmanlık öğrenciliğim dönemimde örnek aldığım, eğitimimde büyük katkıları bulunan, başta iç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Gürbüz Gümüşdiş olmak üzere tüm değerli hocalarıma; tezimin hazırlanmasında, her aşamada yardım ve desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Eker Doğanavşargil'e minnetlerimi sunar, Uzm. Dr. Fahrettin Oksel'e yardımları için teşekkür ederim.

Hidroksiprolin düzeylerinin tayini yanı sıra, tezimin hazırlanmasında büyük desteğini gördüğüm Biyokimya Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Fatma Kutay'a, Uzman Dr.Tijen Tanyalçın ve Uzm.Dr.Mustafa Altınışik'a teşekkür ederim.

Dr.Ayhan DÖNMEZ

İ Ç İ N D E K İ L E R

KISALTMALAR	: 2
GİRİŞ	: 3
GENEL BİLGİLER	: 8
Kollajenin yapısı	: 9
Kollajen biyosentezi	: 11
Kollajen yıkılımı	: 15
Kollajen metabolizması ve hidroksiprolin atılımı	: 18
Hidroksiprolin atılımını etkileyen faktörler	: 19
Hormonların hidroksiprolin atılımına etkisi	: 24
Hastalıklarda hidroksiprolin atılımı...	: 26
Bağ dokusu hastalıklarında hidroksiprolin atılımı	: 27
Deri kollajen metabolizması	: 31
Bağ dokusu hastalıklarında deri kollajen metabolizması	: 32
D-Penisilamin ve deri kollajeni üzerindeki etkileri	: 37
GEREÇ ve YÖNTEM	: 41
BULGULAR	: 48
TARTIŞMA	: 60
ÖZET	: 68
KAYNAKLAR	: 69

K I S A L T M A L A R

ABD	: Ana Bilim Dalı
ANA	: Antinükleer antikor
BDH	: Bağ dokusu hastalığı
DPA	: D-penisilamin
GGT	: Galaktozilhidroksilzil glukozil transferaz
Hpr	: Hidroksiprolin
MBDH	: Miskt bağ dokusu hastalığı
P1	: Laminin P1 fragmanı
PAN	: Poliarteritis nodosa
PPH	: Prokollajen prolin hidroksilaz
PIIINP	: Tip III prokollajen aminoterminal propeptid
RA	: Romatoid artrit
RF	: Raynaud fenomeni
Sc	: Skleroderma
SLE	: Sistemik lupus eritematozus
ÜHY	: Üçlü helix yapı
7S	: Tip IV kollajen 7 S domain

G İ R İ Ş

Maurice Raynaud, 1862'de 25 olguda ekstremitelerin lokal asfiksi ve simetrik gangrenini tanımlayarak, Raynaud fenomeni (RF) olarak bilinen klasik renk değişikliklerini ve presipite edici faktörleri özetledi. M. Raynaud, parmak arteriollerinin vazospazmı sonrası gelişen bu olayın, sempatetik motor aktivitelerde bir artışa bağlı olduğunu düşünmüştür. Sir Thomas Levis, 1929'da, primer faktörün dijital arter ve arteriollerin soğuğa anormal duyarlılığı olduğunu ve bu lokal yanıtın, sempatetik nervöz impulslardan bağımsız geliştiğine değindi. Daha sonra Morton ve Scott, psikik ve nervöz kanallardan gelen vasokonstriktör etkilerin de önemli başlatıcı faktörler olduğunu eklediler. 1932'de Allen ve Brown, RF ve Raynaud hastalığı arasındaki ayrımı yaptılar. Bu otörler, Raynaud hastalığını; soğuk ve emasyonlarla presipite edilen, genellikle iki taraflı ve gangranöz değişikliklerle sonuçlanamayan ve en azından iki yıl süre ile altta yatan primer bir hastalığın klinik belirtelerinin olmadığı, vasospastik bir epizod olarak tanımladılar (Tablo-1) (1).

Tablo-1: Raynaud Hastalığının (Primer RF) tanı kriterleri

- * Soğuk ve emosyonlar ile presipite olan bilateral vazospastik epizotlar
- * Palpabl arterlerde normal nabız atışı
- * Gangrenin olmayışı
- * Neden olan herhangi bir hastalığın olmayışı
- * Semptomların iki yıl ya da daha uzun süre devam etmesi

Diğer taraftan RF'nini, çok çeşitli patolojilerin bir belirleyicisi olarak sıklıkla asimetrik ve daha az sayıda parmakta gözlenen ve gangren geliştirme riski daha fazla olan bir belirti olarak tanımlamışlardır (Tablo-11). DeTakats ve Fowler, 25 yıl süreyle izledikleri 66 Raynaud semptomlu olguların yaklaşık yarısında bir bağ dokusu hastalığı (BDH) belirlediler. Bu olguların, Raynaud semptomu başlangıcı ile BDH tanısı arasındaki süre 3-16 yıl arasında değişmiştir. Öte yandan, Priollet'in 73 olgusunda bu süre ortalama 11.5 yıl olarak bulunmuştur (1).

Tablo-11: RF'ne neden olan patolojilerin sınıflaması

-
- * **Bağ Dokusu Hastalıkları;**
 - Skleroderma (Sc)
 - Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)
 - Romatoid artrit (RA)
 - Dermatomyozit ve polimiyozit
 - Mikst Bağ Dokusu Hastalığı (MBDH)
 - Vaskülit
 - Poliarteritis nodosa (PAN)

 - * **Hematolojik Bozukluklar;**
 - Krioglobulinemi
 - Soğuk hemaglutininler
 - Paraproteinemi
 - Polisitemi
 - Trombositoz
 - Tromboembolik hastalıklar

 - * **Arteriyal hastalıklar;**
 - Tromboangiitis obliterans (Buerger hastalığı)
 - Arteriosklerozis obliterans
 - Arteritis
 - Variant angina

 - * **Nörovasküler bası;**
 - Torosik çıkış sendromu
 - Omuz kemeri bası sendromu
 - Karpal tünel sendromu
 - Koltuk değneği basısı
-

Tablo-II: RF'ne neden olan patolojilerin sınıflaması (Devam)

*** Meslek ile ilişkili;**

- Vurucu ve titretilici el aleti ile çalışanlar, madenciler ve ağaç kesiciler.
- Doğrudan arterial travma.
- Polivinil klorid nedeniyle acro-osteolizis.

*** İlaçlar;**

- Ergot bileşikleri
- Metiserjit
- β adrenerjik blokerler
- Sempatomimetikler
- Ağır metaller
- Östrojen ve progesteron
- Sitotoksik ajanlar
- Nikotin
- Kafein

*** Neoplaziler;**

*** Nörojenik;**

- Poliomyelit
- Siringomyeli
- Hemipleji

*** Çeşitli Hastalıklar;**

- Hipotiroidi
 - Primer pulmoner hipertansiyon
 - Kronik böbrek yetmezliği
-

En yaygın olarak kullanılan terminoloji, Primer RF'ni altta yatan bir patolojisi olmayan olguları tanımlamak için kullanmıştır(Raynaud hastalığı veya Idiopatik Raynaud). Kallenberg ve ark.ları ise, kesin bir etyolojik tanısı olmayan Raynaud semptomunun sınıflanmasını iki gruba ayırmışlardır; 1)Primer RF, 2) Kesin bir tanı için gerekli tüm kriterleri taşımayan, ama BDH kriterlerini gösteren hastalardaki kuşkulu Sekonder RF (1).

Sc,SLE ve MBDH gibi bağ dokusu hastalıkları,klinik olarak yaygın arter tutuluşları ve immunolojik olarak çeşit-

li nükleer antijenlere karşı otoantikorların ortaya çıkması ile karakterizedir. Etiolojileri iyi bilinmez, hatta patogenezi de iyi anlaşılamamıştır.

Çoğu olguda hastalık sinsi bir başlangıca sahiptir ve başlangıçlarında klinik sunum, mono veya oligosemptomatik olabilir. BDH'lerinde, en sık görülen erken semptomlardan birisi RF'dir. RF,Sc'li olguların % 95'inde, MBDH olan olguların %91'inde ve SLE'li olguların %40'ında bulunur. Dahada nemlisi, RF Sc'li olguların %70'de ilk semptom olarak görülebilir ve bu hastalığın gelişmesine yıllarca öncelik edebilir (2). RF,SLE'li olguların %8-10'nunda ilk semptom olarak görülebilmektedir(1,2). Yani BDH'ları,RF ile başlayabilmekte yada, RF bir BDH'nın belirtisi olabilmektedir.

RF'nin bu denli önemli bir ipucu oluşu yanında, Raynaud semptomlarının genel papulasyonda %10 sıklığında görüldüğünü de belirtmek gerekir (2). Maricg ve arkadaşları, bir çalışmalarında; erkeklerin %4, kadınların %5 inde, Olsen ve Nielsen, 21-50 yaşları arasındaki 85 sağlıklı kadının % 22'sinde Raynaud semptomu saptamışlardır.Leppert ve ark.ise, 3000 isveli kadının yaklaşık %15-16'sında bu semptomları belirlemişlerdir (1). Sc'nin genel popülasyonda kabul edilen 1/100.000 sıklığını göz önüne alırsak, RF'ne sahip olguların çok azının spesifik bir BDH geliştirebileceğini söyleyebiliriz. Klinik açıdan, bir BDH geliştirecek RF'li olguların belirlenmesi hekim için büyük önem taşımaktadır.Raynaud semptomunun şiddeti ve antinkleer antikor (ANA) titresinin, gelişecek bir BDH belirtisi olarak ele alınabileceği, granüler

ANA immunofluorescence örneğinin RF'li bir olguda, büyük olasılıkla Sc gelişeceğine işaret edeceği belirtilmiştir(1,2,3)

RF'li Sc olgularında erken kütanöz belirti diffuz ya da perivascüler T lenfosit ve monosit infiltrasyonudur. Oysa primer RF olgularında parmak derisi biyopsisi, erken devrede normal, daha geç devrede ise digital arterlerin kon-santrik intimal kalınlaşmasını gösterir (2).

Başta Sc olmak üzere çeşitli BDH'nda, kollagen metabolizmasında, biyokimyasal ve immunolojik olaylara ikincil bile olsa, bir takım değişiklik olduğu ve özellikle Sc'da çeşitli nedenlerle oluşan ve bir belirtisi de RF olan mikro-vasculer patolojinin, fibroblastların aşırı ve anormal kollajen üretimine neden olduğu bilinmektedir. SC'de, normalin %20'sine kadar azalabilen kapillerler ve buna bağlı olarak dokulara oksijen sağlanmasında azalmanın, aşırı miktarda laktik asit birikimi ile sonuçlandığı ve sonuçta laktik asidin de kollajen üretimini stimüle ettiği ileri sürülmektedir(4).

Bu çalışmamızda, bütün bu bilgilerin ışığında; *primer RF'li, RF gösteren kesin tanıılı Sc ve SLE olgularında ve RF ve olası bir BDH belirtileri gösteren ama kesin BDH tanısı için yeteri kadar kritere sahip olmayan, yani belirlemeyen BDH tanıılı olgu gruplarında*, bağ dokusunun bir komponenti olan kollajenin önemli bir ögesi Hidroksiprolinin (Hpr), doku içeriği ve idrar atılımının özellik gösterip göstermeyeceğini ve sonucun RF'li bir olguda gelişebilecek bir BDH'na ipucu olup olmayacağını araştırmak istedik.

GENEL BİLGİLER

Bağ dokusunun en önemli komponentini oluşturan kollajen, vücut proteinlerinin yaklaşık 1/3'ünü (%30) oluşturur. Bu miktarın yaklaşık yarısı kemikte yer alır. Sistein ve triptofandan fakir olması, %30'dan fazla glisin içermesi ve Hpr, hidrosilizil gibi amino asitleri içermesi ile tüm hayvan proteinlerinden farklıdır. Kollajenin amino asit içeriğinin %14'ünü Hpr oluşturur (5,6).

Başlangıçta, kollajenden başka sadece elastinde (%1-2) bulunduğu bilinmekteydi. Daha sonraki çalışmalarda, C1q supkomponentinde ve asitilkolin esterazın yapısında da Hpr varlığı ortaya kondu (7,8).

1973 yılında, kollajenin üçlü helix yapısının (ÜHY) korunması için Hpr'in gerekliliği ortaya kondu (7).

Neuverger ve Slack 1953 yılında, in vivo olarak yapılan ilk çalışmalarda, kollajen metabolizmasının oldukça yavaş olduğunu ortaya koymuşlardır. Daha sonraki çalışmalar, vücut kollajeninin, en azından bir kısmının, hızlı bir sentez ve yıkıma uğradığını göstermiştir (Prockop 1964). 1964 yılında Ziff ve 1965 yılında Sjoerdsma, idrar Hpr atılımındaki değişikliklerin, birçok klinik durum ile ilişkili olduğunu ortaya koydular. Ayrıca bazı hastalıkların tanısında ve bu hastalıkların tedaviye verdiği yanıtın izlenmesinde kullanılabileceğini gösterdiler (9).

Kollajen doku hastalıklarında, özellikle Sc'da, deride Hpr ile ilgili ilk çalışmalar 1964 yılında

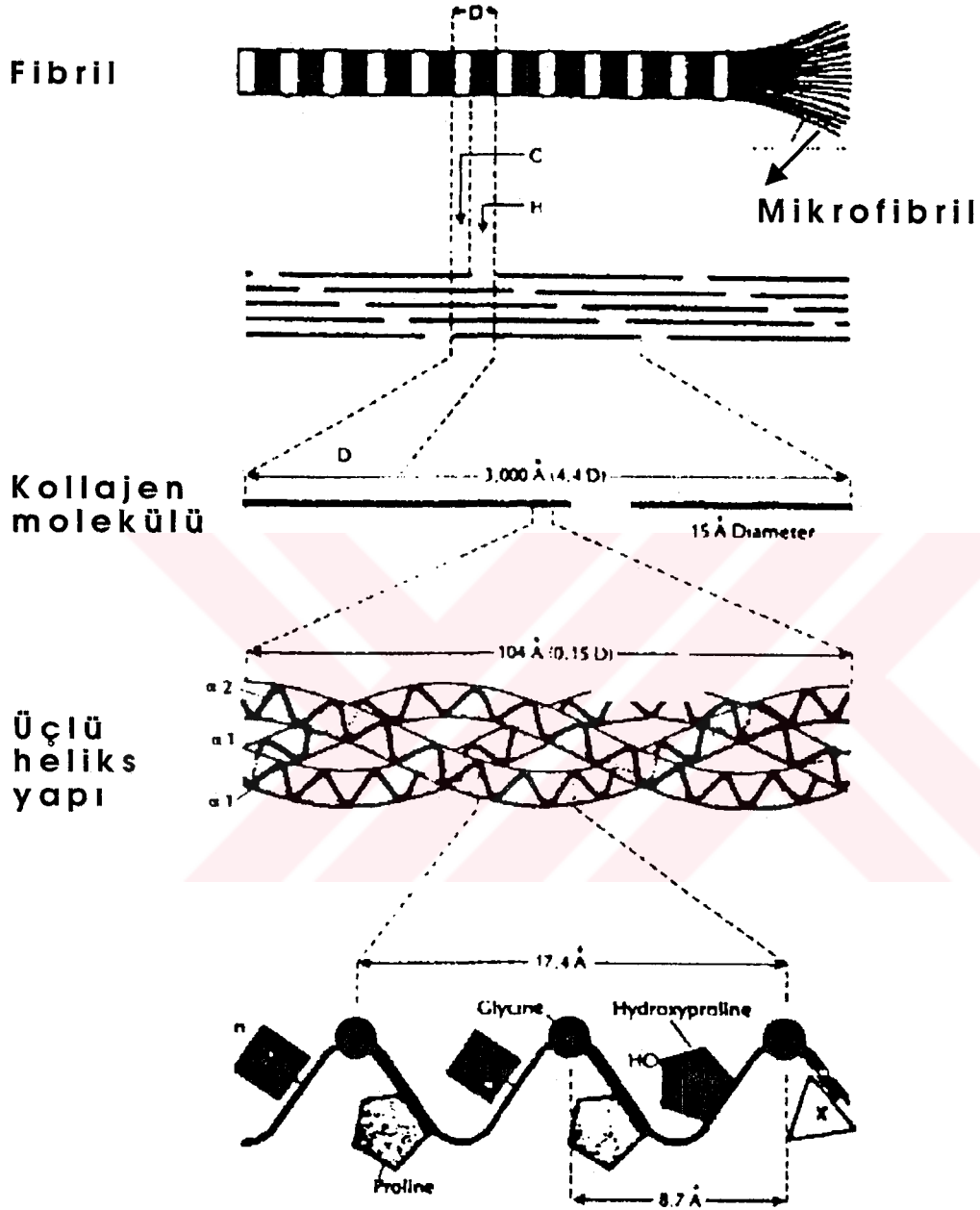
Fleischmajer tarafından başlatılmıştır. Daha sonraki yıllarda diğer bağ dokusu hastalıkları üzerine de çalışmaların yapıldığı izlenmektedir. 1960'lı yılların sonunda, deri biyopsi örneklerinde soluble kollojen miktarları, radyoaktif prolin ve protokollajen prolin hidroksilaz (PPH) enzim düzeyleri ile ilgili çalışmalar dikkati çekmektedir.

Bugün için kollajenin 15'in üzerinde tipi tanımlanmıştır. Bunlardan deri ile ilişkili olanları Tip I, Tip III, Tip IV ve Tip VII'dir (10, 11).

K O L L A J E N İ N Y A P I S I

Kollajen molekülünün üç polipeptid zinciri α zinciri olarak isimlendirilir. Her bir zincir 1014 amino asit içerir. Her üç amino asitten biri glisin'dir. Bundan dolayı her bir zincirin yapısı $(Gly-X-Y)_{338}$ olarak tanımlanabilir. X pozisyonunda prolin, Y pozisyonunda ise Hpr sıklıkla saptanır. Glisinin üç amino asitte bir yer alması, ÜHY için esastır. Hpr ve prolin her ikisi birlikte rijit olduğu için polipeptid yapının rotasyonunu sınırlar; ve böylece ÜHY'nin stabilleşmesini sağlar (şekil-1). 1973 yılında Hpr'in, hidroksil grubunun ÜHY'nin korunmasında asıl rolü oynadığı saptandı. Hpr'ini kaybeden kollajen polipeptidleri düşük sıcaklıklarda ÜHY geçebilirler. Fakat oluşan bu yapı vücut sıcaklığında stabil değildir (7,10).

Tüm kollajen tiplerinde α zinciri bulunur. Deri kollajeni, tüm vücut kollajeninin 1/3'ünü oluşturur (9). Deride bulunan kollajen tipleri ve bunların başlıca bulun-



Şekil - 1 : Tip - I Kollajenin yapısının şematik görünümü

duğu diğer dokular aşağıda belirtilmiştir (11).

Tip I Kollajen: Derideki kollajenin %85'ini oluşturur.

($\alpha_1 (I)$)₂, α_2 Kemik, deri, tendon, ligament, dentin

Tip III Kollajen: Derideki kollajenin %10-15'ini oluştu-

$\alpha_1 (III)$ ₃ rur. Büyük damarlar, kemik haricinde

Tip I'in bulunduğu diğer dokular.

Tip IV Kollajen: Bütün bazal membranlarda bulunur.

($\alpha_1 (IV)$)₂ $\alpha_2 (IV)$

Tip VII Kollajen: Deride bazal membran ve dermisin üst

katları arasında köprüler yapan kollaj-

jendir. Derideki kollajenin %1'inden

azını oluşturur.

K O L L A J E N B İ Y O S E N T E Z İ

Tip I kollajen sentezini örnek alarak, sentez basamaklarını aşağıdaki gibi özetleyebiliriz (7).

Tip I prokollajen genleri



Pro $\alpha_1 (I)$ + Pro α_2



Tip I prokollajen [$\alpha_1 (I)$]₂.Pro α_2



Tip I kollajen [$\alpha_1 (I)$]₂. α_2

Kollajen sentezinin transkripsiyon ve translasyonu hakkındaki elimizdeki bilgiler nispeten azdır. Ancak bu proçesler, diğer protein sentezindekilere benzemektedir.

Kollajen sentezini iki basamakta incelemek yerinde olacaktır.

1) intrasellüler basamak: Yeni sentezlerin pro α zincirlerinin amino terminal uçları, granüler endoplazmik retikulumun sisterna'sına katılırlar. Burada proteazlar ile işlem görürler. Daha sonra üç hidrosilleyici enzim tarafından etkilenirler. Bunlardan ikisi prolin rezidülerini dört yada üç Hpr'e, diğeri lizil rezidülerini hidrosilizile çevirirler. Hidrosilasyonda kofaktör olarak Fe^{++} , moleküler oksijen, α ketoglutarat ve askorbik asid rol oynamaktadır (5,7,10).

Şekil-2'de kollajen sentezinin intrasellüler basamağı şematik olarak özetlenmiştir.

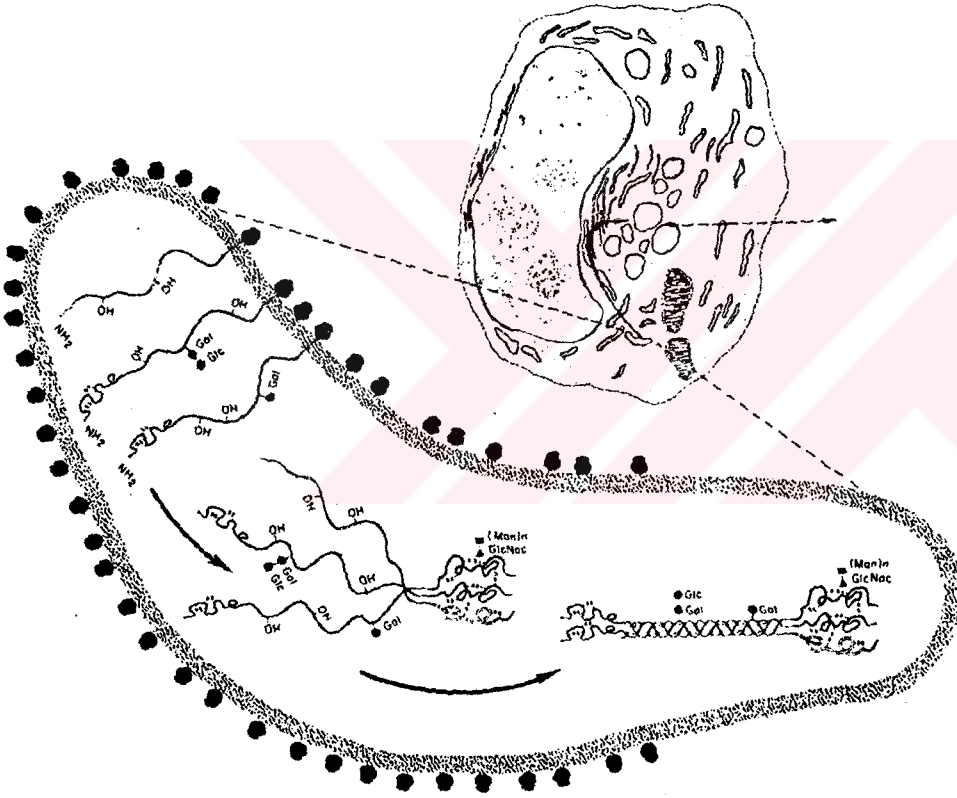
Her üç hidrosilazda sadece nonhelikal substratlara etki ederler. ÜHY etki etmezler. 37'C de stabil olan ÜHY'nın her bir zincirinde yaklaşık 90-100 Hpr bulunur.

Zincirlerin hidrosilasyondan sonra zincirin kendi içinde ve diğer zincirler ile arasında disülfid bağları oluşur. Pro α zincirlerinin hidrosilasyonu, disülfid bağlarının oluşması ve ÜHY'nın gerçekleşmesi birbirini izleyen ardışık olaylardır.

Granüler endoplazmik retikülümde oluşan ÜHY yani prokollajen, golgi kompleksi aracılığıyla hücreden salınır(7).

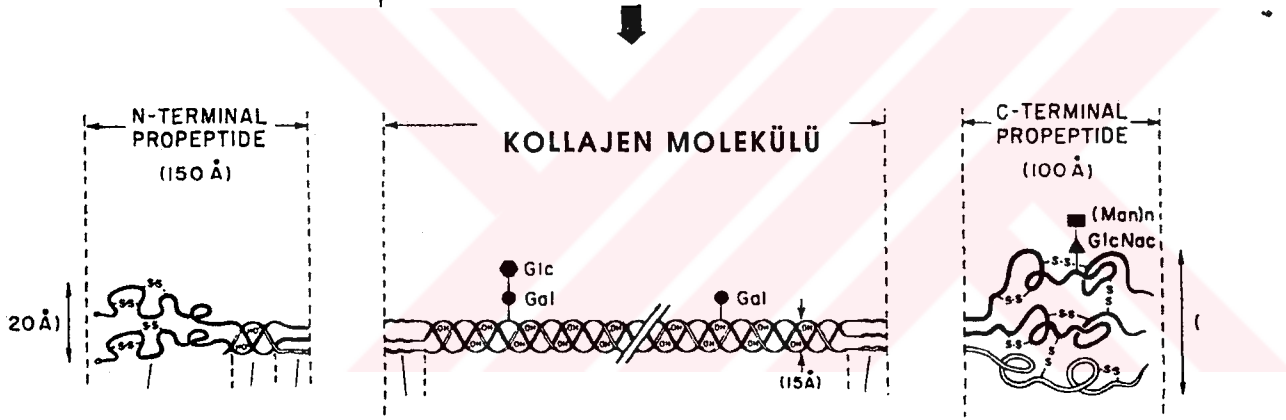
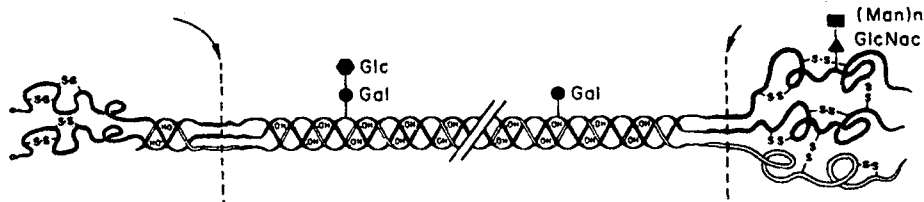
2) Ekstrasellüler basamak: Prokollajenin, kollajene dönüşümü için aminopropeptidleri uzaklaştıran (prokollajen aminoproteaz) ve karboksipeptidleri uzaklaştıran (prokollajen karboksipeptidaz) iki enzime ihtiyaç vardır (7)(Şekil-3).

Yeni sentezlenen kollajende intramoleküler çapraz bağlar yoktur. Bu yapıya α tropokollajen adı verilir. Intra-



Şekil - 2 : Prokollajen moleküllerinin granüler endoplazmik retikülümde sentezi ve fibroblastlardan salınımı

PROKOLLAJEN MOLEKÜLÜ



Şekil - 3 : Prokollajen molekülünün enzimatik olarak kollajen molekülüne dönüşümü ve terminal propeptidlerin yapısı

moleküler çapraz bağlanma gerçekleştikçe, kollajenin solubülitesini ve metabolik aktivitesi giderek azalır. Molekülde bir çapraz bağ gelişince β , iki çapraz bağ gelişince τ tropokollajen oluşur (12) (Şekil-4).

Daha sonra, matür kollajen molekülleri ile intermoleküler çapraz bağlanma gerçekleşir. Intermoleküler çapraz bağlanma kollajen liflerinin stabilitesini sağlar. Bu bağ, başlangıçta labil (indirgenabilir-aldimine bağlı) olarak belirtilmektedir. Büyüme periodu boyunca yüksek konsantrasyonlarda bulunur. 18-20 yaşından sonra oldukça az miktarlarda saptanır. Kollajen molekülünün maturasyonu ile birlikte bu bağlarda daha stabil olan (indirgenemiyen) formuna dönerler. Labil bağların fazlalığı artmış kollajen sentezini gösterecektir (13).

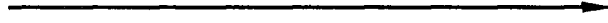
Çapraz bağlar, lizil ve hidrosilizilin çeşitli enzimatik olayları sonucunda kazanılmaktadır. Burada rol alan en önemli enzim lizil oksidazdır. Bakıra bağlı bir enzimdir (7).

Şekil-5'de prokollajenin sentezi, fibroblastlardan salınımı, kollajene dönüşümü ve kollajen molekülünün matür kollajen molekülleri ile intermoleküler çapraz bağlanması şematize edilerek gösterilmiştir.

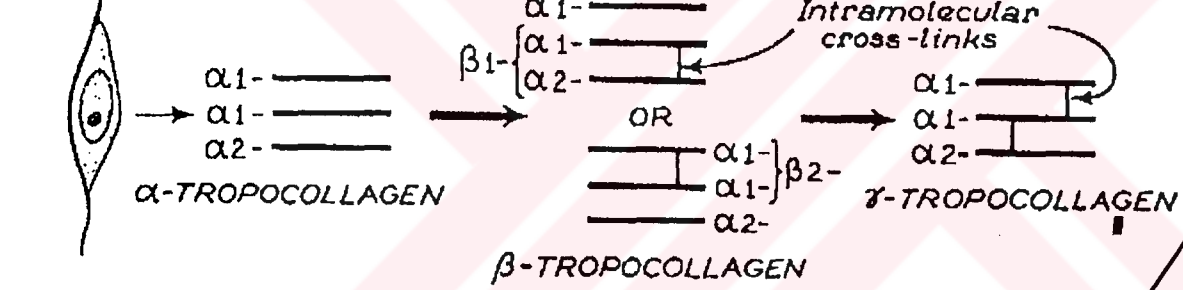
K O L L A J E N Y I K I L I M I

Genellikle spesifik kollajenazlar ile fibrillerden kollajen molekülünün ayrılması ile başlar. Daha sonra kollajen molekülü uzunluğunun 3/4 ve 1/4'üne bölünür. Bundan son-

AZALAN SOLUBİLİTE



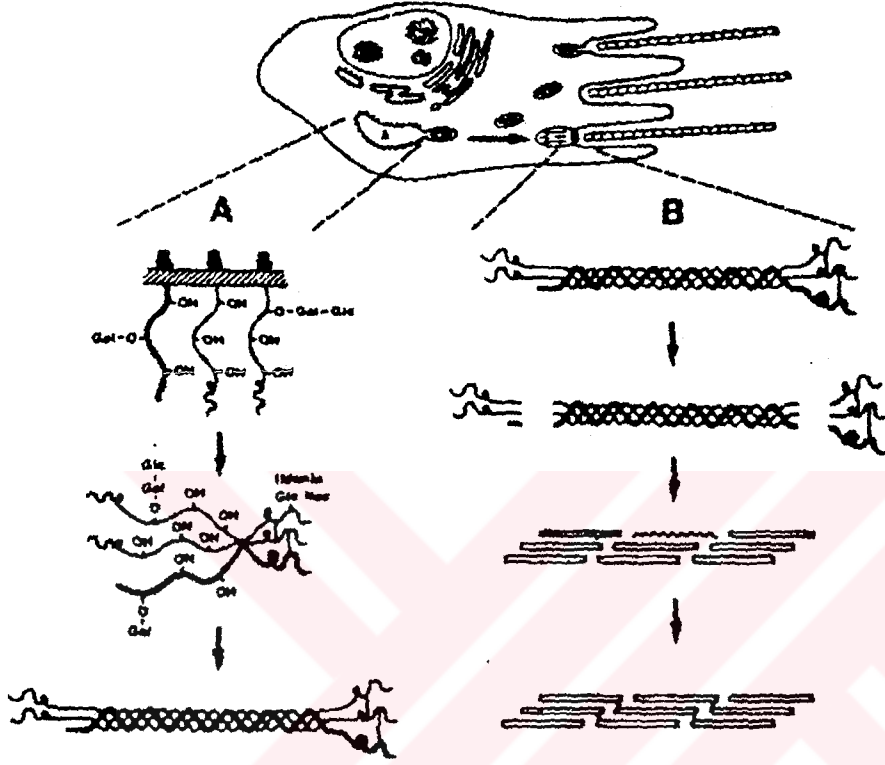
FIBROBLAST



AZALAN METABOLİK AKTİVİTE

MATÜR KOLLAJEN FİBRİLLERİ İLE
İNTERMOLEKÜLER ÇAPRAZ BAĞLANMA

Şekil - 4 : Kollajen fibrillerinin intra ve inter moleküler çapraz bağlanmasının şematik görünümü



Şekil - 5 : A : Pro α zincirlerinin sentezi ve prokollajenin oluşumu
 B : Prokollajenin enzimatik olarak kollajene dönüşümü,
 kollajen fibrilleri içinde yer alması ve intermoleküler
 çapraz bağlanmanın gerçekleşmesi.

ra,nispeten nonspesifik olan proteazlar ile yıkım tamamlanır (10). Ayrıca, yeni sentezlenen pro α zincirlerinin %10-40'ı, lizozimal enzimlerin etkisiyle hücre içinde yıkılır. Belki de,bu şekilde defektif sentezlenen kollajenin yıkımı sağlanmaktadır (10,14).

KOLLAJEN METABOLİZMASI ve İDRAR

HİDROKSİPROLİN ATILIMI

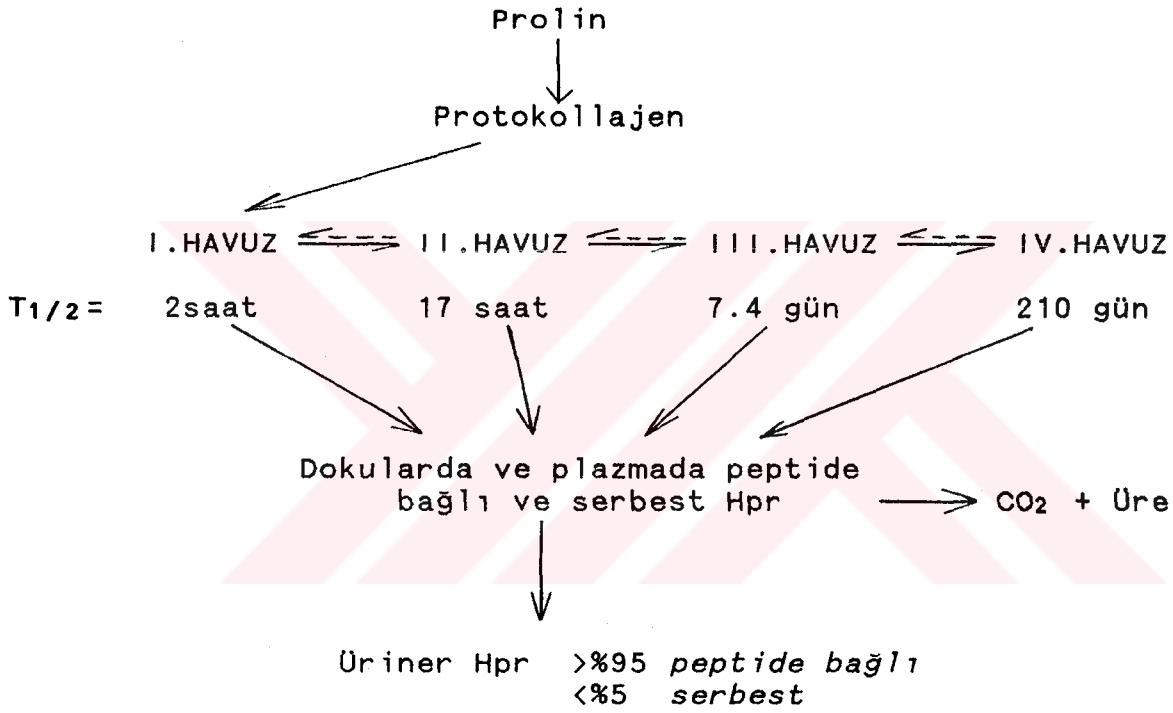
Radyoaktif prolinin insan ve hayvanlara verilmesinden sonra idrar ile atılan Hpr'in,yeni oluşan kollajenden geldiği ortaya konmuştur. Lindstedt ve Prockop,genç farelere radyoaktif prolin verdikten sonra radyoaktif Hpr atılım eğrisini çizdirmişlerdir. Atılım eğrisi üç evre şeklinde ortaya çıkmıştır(6). Buna dayanarak, üriner Hpr'in doku prekürsörlerinin yarı ömürleri 1 gün, 5 gün ve 50-300 gün olan, en az üç farklı havuzu olduğu söylenebilir. Daha sonra Laitinen yaptığı çalışmalarda; yarı ömrü 1 gün olan havuzun aslında yarı ömürleri 2 saat ve 15-17 saat olan iki farklı havuzdan oluştuğunu ortaya koydu (Şekil-6)(6).

Bu havuzların yarı ömürlerine bakarak dört nolu havuzun matür-insolubl kollajenden, diğer havuzların ise solubl kollajenden kaynaklandığı söylenebilir.

Genç farelerde idrar Hpr'in 1/3'ü 4.havuzdan,1/3'ü havuz 2+3'den ve 1/3'ü havuz birden kaynaklanır. Bu sonuç genç hayvanlarda kollajen metabolizma hızının, kemikte diğer dokulardan daha fazla olduğunun saptanması ile desteklenmiştir. İlerleyen yaşla kemiğin metabolik aktivitesi, diğer

dokulara göre daha çabuk azalır. Bu nedenle yaş ile Hpr atılımının azalması, özellikle kemik kökenli Hpr'in atılımının azalmasına bağlıdır (6).

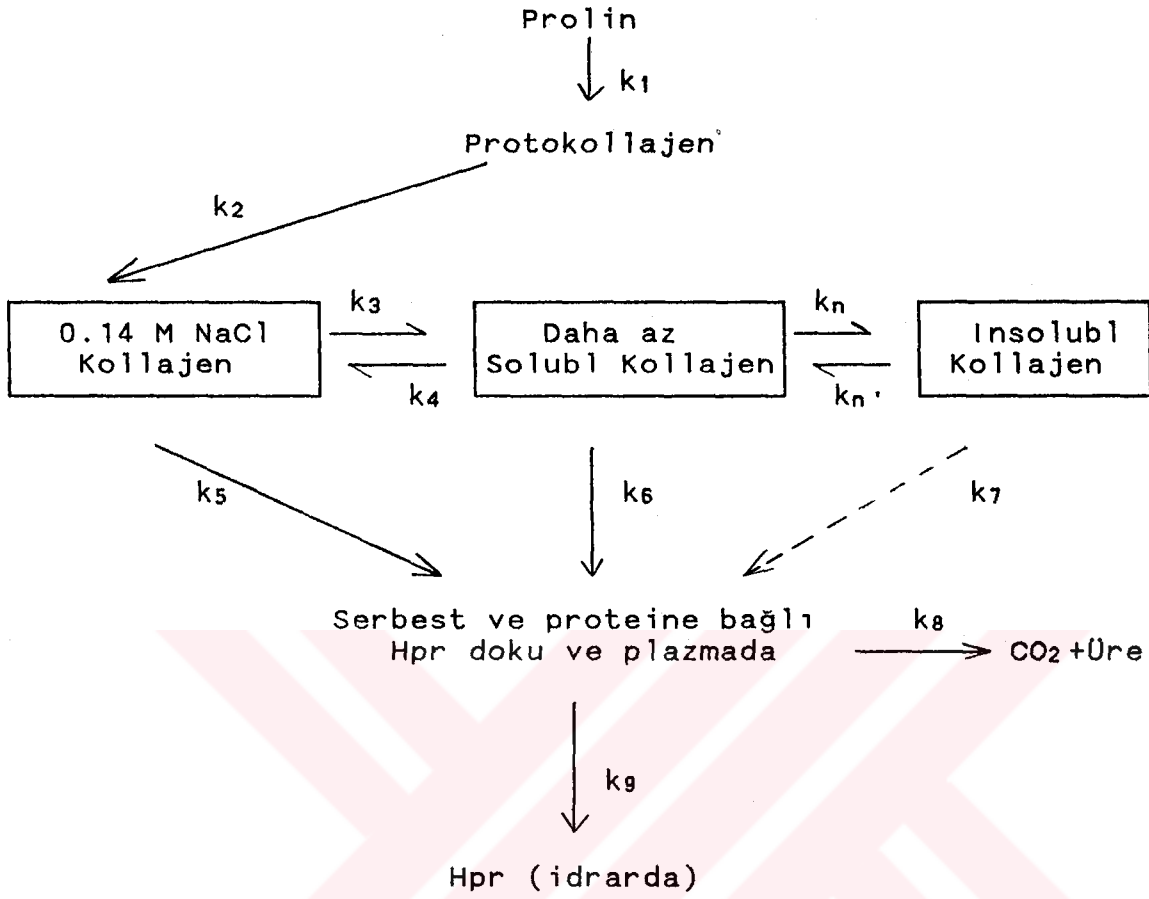
Prockop 1964 yılında yaptığı izotop çalışmalarında, insolubl kollajenin yıkımından ortaya çıkan Hpr'in sadece %5-10'unun idrarda Hpr olarak atıldığını ortaya koydu (6).



Şekil-6: Üriner Hpr kaynakları (6).

HİDROKSİPROLİN ATILIMINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Şekil-7'de görüldüğü gibi kollajen sentez hızındaki, bir kollajen formundan diğerine geçişteki yada herhangi bir kollajen formunun yıkım hızındaki değişikliklere bağlı olarak idrar hidrokosiprolin miktarı etkilenmektedir.



Şekil-7: İdrar Hpr atılımını etkileyen faktörler

İdrar Hpr miktarındaki artma, kollajen yıkım hızındaki artmayı her zaman gerektirmez. Çünkü spesifik kollajen havuzunda artma olmasına rağmen bunun yıkımı normal hızda devam edebilir. Artmış Hpr atılımı; kollajen sentezinde artmaya ($k_1 - k_2 \uparrow$), solubl kollajenin daha az solubl kollajen formlarına dönüşmesindeki azalmaya ($k_3 - k_n \downarrow$), insolubl kollajenin daha solubl formlara yıkımındaki artmaya ($k_n' \uparrow$) yada çeşitli kollajen formlarının yıkımındaki artmaya ($k_5 - k_6 - k_7 \uparrow$) bağlı olabilir. Ayrıca Hpr içeren peptidlerin, serbest Hpr'e ve sonuçta karbondioksit ve üreye dönüşümün-

deki azalma ($k_8 \downarrow$) sonucunda Hpr atılımı artabilir (15).

Hidroksiprolinemi: Hidroksiprolin oksidaz eksikliğine bağlı olarak gelişir. Bu enzim serbest Hpr'i yıkan reaksiyonları başlatır. Nadir bir hastalıktır (6,15).

Hidroksiprolinin atılımı: Erişkin ve çocuklarda idrar ile atılan Hpr'in %95'inden fazlası peptide bağlı olarak bulunur. Normalde ve birçok patolojik durumda, Hpr peptidlerinin klirensi çok hızlıdır. Atılan Hpr peptidlerinin miktarları, böbrek yoluyla transport değişikliklerinden çok kollajen metabolizmasındaki değişiklikleri yansıtmaktadır. Hpr peptidlerinin transportu glomerüler filtrasyon ve muhtemelen tubüler reabsorpsiyon şeklinde gerçekleşmektedir. Benoit ve Watten, glomerüler yada tubüler hastalıklarda dahil çeşitli hastalıklarda, Hpr peptid atılımında değişiklik olmadığını saptamışlardır. Hatta belirgin olarak arttığı hipertiroidide, tubüler sekresyonu göstermişlerdir (6).

Serbest Hpr'in atılımı diğer amino asitler gibidir. Yani tama yakın tubüler reabsorpsiyona uğrar (6,15).

Woolf, yeni doğanlarda idrar serbest Hpr'i yüksek değerlerde bulmuş ve başlangıçta immatür böbrek fonksiyonlarıyla açıklamıştır. Prockop, aynı zamanda plazma değerlerindeki yüksek olduğunu saptamıştır. Farelerde yapılan deneylerde serbest Hpr'i okside eden enzimatik sistemlerin fetusta bulunmadığı ve doğumdan sonrada yavaşça ortaya çıktığı gözlenmiştir. İdrar Hpr'inin %45'ini oluşturan serbest Hpr değerleri, yeni doğanda bu mekanizmayla açıklanmaktadır (15).

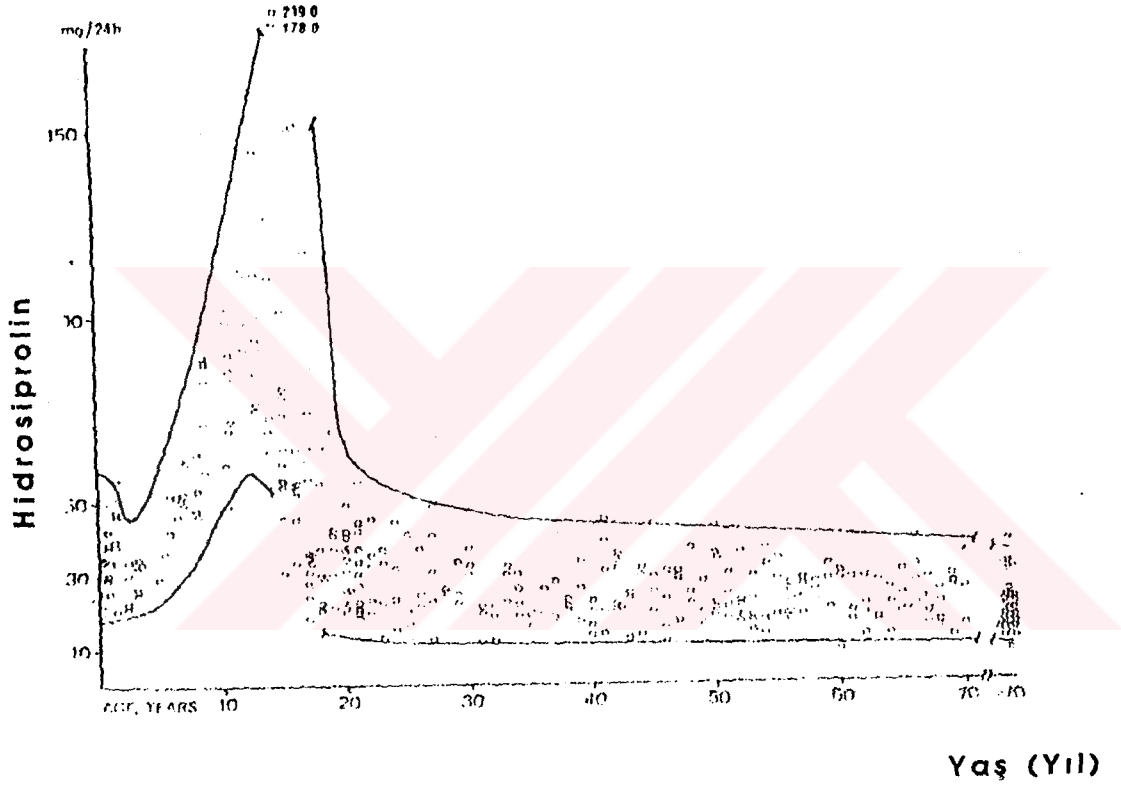
Absorpsiyon: Ziff, 1956 yılında düşük Hpr diyeti alan kişilere, Hpr ve prolin eklenmesi ile 24 saatlik idrar Hpr atılımında değişiklik olmadığını saptadı. Buna karşın 4 gr. Hpr'e eş değer olan 28 gr. jelatin verdiğinde, Hpr atılımınının 4-5 kat arttığını izledi (8).

Daha sonra jelatindeki Hpr'in %8'inin peptid formda absorbe olduğu ve bu peptidin serbest amino asitlerine hidrolize olmaksızın idrarla atıldığı gösterildi. Jelatindeki Hpr'in peptid formda absorpsiyonu ve bu şekilde atılımı hakkında kesin bir açıklama yoktur. Ancak jelatindeki amino asit dizilimleri gastroentestinal sistemde yada başka dokulardaki proteolitik enzimlerden etkilenmemekte olabilir. Belkide bu peptidler doku ve intestinal enzimler ile hidrolize olabilmekte fakat bunların absorpsiyonu, dolaşıma katılması ve renal klirensleri, enzimatik hidrolizlerinin tamamlanmasından çok daha hızlı olmaktadır (15).

1965 yılında Sjoerdsma, düşük jelatinli diyet olanlarda, idrar Hpr'inin yaklaşık %30 düşük olduğunu gösterdi. Jelatinden kısıtlı diyetle günlük idrar Hpr atılımındaki değişiklikler minimaldir (6).

Yaşın Etkisi:Çocuklarda ve adolosanlarda idrar Hpr atılımı, erişkinlerden daha fazladır. 18-21 yaş gurubundaki genç erişkinlerde de, daha yaşlılara göre idrar Hpr atılımı fazladır. İlerliyen yaş ile birlikte Hpr atılımı bir miktar daha düşme eğilimi gösterir (6, 16) (Şekil-8).

Hızla büyüyen genç farelerde, kollajen sentez hızı buna paraleldir. Ayrıca solubl/insolubl kollajen oranı yaşlı



Şekil - 8 : Hidroksiprolin atılımında yaşın etkisi.

farelere göre daha fazladır. Bakerman, 1962'de asit solubl kollajen içeriğini ve Uitto, 1969 yılında kollajen sentez hızının, insanlarda yaş ile azaldığını, deri biyopsi örneklerinde gösterdiler (6, 17, 18).

Genç hayvanlarda kollajen yıkım hızında arttığı saptanmıştır. Büyüme ile ilişkili olarak, kemiğin ve diğer dokuların remodülasyonunun hızlı olması şeklindeki görüşlerle açıklanmaya çalışılmaktadır (15).

Büyümenin etkilerini iki şekilde özetleyebiliriz;

1-Artmış kollajen sentezi ($k_1-k_2 \uparrow$)

2-Artmış kollajen (bütün formlarda) yıkımı ($k_5-k_6-k_7 \uparrow$)

Kemik kollajenin metabolik aktivitesi, yaş ile diğer dokulardaki kollajenin aktivitesinden, çok daha hızlı olarak azalır. Vücuttaki total kollajenin yaklaşık yarısının kemikte olduğu göz önüne alınırsa, yaş ile Hpr'in atılımının azalması, büyük bir oranda kemik kollajeninin metabolik aktivasyonunun azalmasına bağlıdır (8).

H O R M O N L A R I N E T K İ S İ

Büyüme Hormonu: Scow, 1961 yılında büyüme hormonunun, fibroblastlardan kollajen sentezini stimüle ettiğini gösterdi. Aer ve arkadaşları 1968 yılında, kollajen yıkımını da arttırdığını gösterdiler. Yani Hpr atılımını, $k_1-k_5-k_6-k_7 \uparrow$ yoluyla arttırırlar. Akromegalinin klinik aktivitesi ile Hpr atılımı arasında tam bir korelasyon mevcuttur. Bu nedenle akromegalili hastaların takibinde kullanılabilir. Tedaviden sonra, başlangıçtaki yüksek Hpr değerleri normale döner.

Ayrıca hipopitüitar dwarfizmin büyüme hormonu tedavisine verdiği yanıtı izlemek içinde kullanılabilir. Bu hastalarda, hormon tedavisinin etkinliğinin belkide ilk göstergesi, idrar Hpr miktarının artmasıdır (6,9,12,15,16).

Parat Hormon: Hipoparatiroidide normal değerler saptanırken, hiperparatiroidide normal yada yüksek değerler saptanır. Normal Hpr atılımı gösteren hiperparatiroidik hastalar, genelde normal kemik grafilerine ve alkalin fosfataz değerlerine sahiptirler. Hpr atılımının artması, kemik kollajen metabolizması değişiklikleri sonucunda gelişir.

İzotop çalışmalarda kollajen sentezini arttırdığı ($k_1 \uparrow$) gibi solubl ve insolubl kollajenin yıkımında ($k_5-k_6-k_7 \uparrow$) arttırdığı ortaya konmuştur. Fakat Kream ve arkadaşları 1980 yılında parathormonun Tip I prokollajen mRNA sentezinin azalttığını gösterdiler (5, 14, 15, 16).

Tiroid Hormonları: Hipertiroidide ve tiroid hormonu verildikten sonra idrar Hpr atılımı artar. Hipotiroidili hastalarda düşük değerler saptanmaktadır.

Hipotiroidide kollajen sentezi ($k_1 \downarrow$), solubl ve insolubl kollajen yıkımı ($k_5-k_6-k_7 \downarrow$) azalır.

Hipertiroidide kollajen sentezi ($k_1 \downarrow$) azalır. Fakat majör etkisi solubl ve insolubl kollajenin yıkımının ($k_5-k_6-k_7 \uparrow$) artmasıdır. Tiroksin verilen hastalarda deri solubl kollajende azalma saptanmıştır.

Tiroid fonksiyonu ile Hpr atılımı arasında tam bir korelasyon mevcuttur. Hipotiroidide atılım genellikle azalır. Bu özellikle çocuklarda belirgindir. Hipertiroidili tüm

hastalarda atılım artmıştır (6,9,15).

Kortikosteroidler: Normal kişilerde kortizon kullanıldığında yada Cushinglilerde Hpr atılımı normal veya hafifçe azalmıştır.

Kortizon uygulanan genç farelerde, idrar Hpr atılımında %50'ye yakın azalma saptanmasına karşın, erişkin farelerde hafifçe düşük değerler saptanmıştır. Genç farelerde ¹⁴C-prolin ile yapılan çalışmalar; kortizonun kollajenin yıkımını arttırmadığını, buna karşın kollajen sentezini ve bunun sonucunda dokulardaki solubl kollajen miktarını azalttığını göstermiştir. Yani kollajen sentezini (kı ↓) azaltarak etkisini gösterir.

Oikarinen, 1981 yılında kortizolün Tip I prokollajen mRNA sentezini azalttığını göstermiştir. Panec, 1979 yılında kortikosteroidlerin kollajenaz salınımını azalttığını göstermiştir.

Erişkinlerde kortizon kullanıldığında, dokular az miktarda solubl kollajen içerdiğinden dolayı idrar Hpr atılımında belirgin bir azalma izlenmez. Buna karşın, solubl kollajen havuzunun fazla olduğu çocuklarda ve bağ dokusu hastalıklarında, kortizon kullanıldığında idrar Hpr atılımında belirgin düşme izlenecektir (6,14,15,19).

HİDROKSİPROLİN ATILIMINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER ve HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

Belirgin artmış Hpr değerleri, endokrin hastalıklar gibi tüm vücut kollajen metabolizmasını etkileyen ve kemik

kollajeninde geniş tutulumlara sebep olan hastalıklarda izlenir. Myokard infarktüsü ve bacak ülserleri gibi konnektif dokunun lokal değişikliklerinde Hpr atılımında anlamlı bir artma olmaz.

İdrar Hpr değerlerinin akromegali, hiperparatiroidi, hipertiroidi, kemiği etkileyen bazı hastalıklar ve Morfan sendromu tanılarında ve tedavilerinin takiplerinde pratik değeri olduğu, bir çok yazar tarafından kabul edilmektedir (6).

Kemiğin tümünü tutan osteolitik yada osteoblastik lezyonlar Hpr atılımını anlamlı derecede yükseltir. Metastatik lezyonlar ise tuttuğu alan ile orantılı olarak, Hpr atılımında artmaya sebep olurlar. Paget hastalığı, kemiğin neoplastik hastalıkları, osteomalazi, multipl myelom ve osteogenezis imperfecta gibi anormal kemik metabolizmasına sahip hastalıklarda artmış Hpr değerleri saptanır. Kemik metabolizmasının genelde normal hatta hafifçe azalmış olduğu osteoporozda Hpr atılımı normal sınırlardadır (6).

Marfan sendromu: %32'de artmış Hpr atılımı saptanır. Laitinen, Hpr atılımı normal olan hastaların deri biyopsi örneklerinde, kollajen metabolizmasında bozukluk saptamıştır. Bu nedenle normal Hpr atılımı tanıyı ekarte ettirmez. Buna karşın yükselmiş Hpr atılımı tanıyı destekler (6,9,20).

IDRAR HİDROKSİPROLİNİ ve BAĞ DOKU HASTALIKLARI

İdrar Hpr atılımı ile ilgili ilk yayınlanmış klinik araştırma 1956 yılında Ziff ve arkadaşları tarafından

yapılmıştır. Bu çalışmada, bağı dokusu hastalıklarında, idrar Hpr atılımının normal yada hafifçe yükseldiği gösterilmiştir. Sonuç olarak, kollajen yıkımında artma olmadığını, olsa bile idrar Hpr atılımını etkilemeyecek miktarlarda olduğunu belirtmiştir. Aynı çalışmada 2 RA'li, 1 Sc'lı ve 1 normal kişiye 200 mg/gün oral kortizon verdiğinde idrar Hpr değerlerinde bir değişiklik saptamamıştır (8).

Cammarata, 1963 yılında 16 Sc'lı hastanın 3'ünde belirgin yükselmiş idrar Hpr değerleri saptadı. Her 3 hastada aktif dönemdeydi (21).

Laitinen, 1966 yılında akut romatizmal ateşte ve PAN'da idrar Hpr atılımını yüksek buldu. Buna karşın SLE, RA ve Sc'da, normal idrar Hpr değerleri saptadı (16).

Smith ve arkadaşları, 1968 yılında Juvenil RA'li hastalar üzerinde çalıştılar. Kortikosteroid almayan grupta idrar Hpr atılımı normaldi. Kortikoterapi alan grupta idrar Hpr atılımında belirgin bir azalma izlendi. Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaç alan grupta, kortikoterapi alanlar kadar olmasada, idrar Hpr atılımının azaldığı izlendi. İdrar Hpr atılımı ile boy gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koydular. 3 mg/gün yada daha düşük dozlarda prednizolon kullanıldığında, idrar Hpr atılımı ve çocuğun gelişimi normal sınırlarda kalmaktadır (19).

Hartmann, 1969 yılında idrar Hpr atılımının, romatizmal inflamatuvar sürecin süresi ve aktivitesi ile tam bir ilişki içinde olduğunu gösterdi. RA'li hastalarda prednizon ve oksifenbutazon ile Hpr atılımını araştırdı. Bu ilaç-

ların teropatik etkilerinin, idrar Hpr atılımının azalması ile kolaylıkla ortaya konabileceğini belirtti (22).

Krel, 1972 yılında BDH'larında, tedavi süresince idrar ve plazma Hpr miktarlarındaki değişiklikleri inceledi. Hpr miktarları ile hastalığın süresi ve romatizmal aktivitesi arasındaki ilişkiyi ortaya koydu. Etkili bir tedavi ile plazma ve idrar Hpr düzeylerinde düşme saptadı. Hpr düzeylerinde en belirgin düşme kortikoterapi sırasında izlendi. Sonuç olarak, romatizmal hastalıklarda, konnektif doku harabiyeti ile plazma ve idrar Hpr miktarları tam bir ilişki içinde olduğunu belirtti (22).

Tiselius, 1973 yılında romatizmal hastalığı olanlarda naproksenin, idrar Hpr atılımına etkileri üzerinde çalıştı. Çalışmaya alınan 8 hastanın 5'inde idrar Hpr atılımı yüksekti. Naproksen tedavisi ile Hpr atılımının azaldığını gösterdi. Özellikle tedavinin altıncı haftasından itibaren, Hpr atılımının normal değerlere inmeye başladığını gösterdi (22).

Nusgens, 1973 yılında Sc'lı ve psoriasisli 6 hastada üriner Hpr atılımını normal buldu. Aynı zamanda prolin/Hpr oranı ve prolin düzeyleride normal sınırlardaydı (23).

1956 yılında Ziff tarafından yapılan ilk çalışmadan sonra, yapılan çalışmaların ortak sonucunu şu şekilde özetleyebiliriz; Aktif fazda Sc'da, SLE'da, PAN'da, dermatomyozitde, RA'de ve romatizmal ateşde bazen belirgin olarak yükselmiş Hpr düzeyleri saptanır. Artmış Hpr atılımı, her hangi bir BDH'na spesifik değildir. Hastaların yaklaşık

1/3'ünde Hpr atılımı artmıştır. Belirgin yükselmiş değerler, sadece aktif hastalığı olanlarda izlenmektedir (6).

Aktif dönemde Sc, PAN, SLE, dermatomyozit ve RA'li hastaların deri biyopsilerinde yapılan çalışmalarda, kollajen sentezinin arttığı gösterilmiştir (24).

Aktif hastalığı olan ve deri biyopsilerinde artmış kollajen hastalığı saptanan bazı hastalarda ve Marfan sendromunda Hpr atılımı normal bulunabilir. Belkide, Hpr atılımında değişiklik meydana gelmeden önce kollajen metabolizmasındaki bozukluk belirgin olabilmektedir (6).

İdrar Hpr analizleri, en azından, tedavinin etkisini değerlendirmek için kullanılabilir. Başlangıçtaki yüksek Hpr atılımının tedavi ile normale dönmesi, hiç şüphesiz kollajen metabolizmasının normale döndüğünü gösteren bir bulgudur (6).

İDRAR SERBEST HİDROKSİPROLİN VE HASTALIKLAR İLE İLİŞKİSİ

Renal atılımlarındaki farklıklara rağmen idrar serbest Hpr değişiklikleri, peptide bağlı Hpr değişikliklerine paraleldir. Serbest Hpr miktarını arttıran başlıca hastalıklar şunlardır; * Hiperparatiroidi

* Kronik böbrek yetmezliği

* Hidroksiprolinemi

Bunlardan sadece hiperparatiroidide pratik değeri mevcuttur (6).

DERİ KOLLAJEN METABOLİZMASI

Harkness, 1954 yılında tavşanlarda yaptığı çalışmalarda, kollajenin %4'ünü alkali solubl kollajenin oluşturduğunu belirtti. Radyoizotop çalışmalar ile insolubl kollajene dönüştüğünü ortaya koydu (25).

Gross (1959) ve Jackson (1960), 0.14 M NaCl solüsyonu ile yaptıkları çalışmalarda, kollajenin yeni sentezlenen formunu elde ettiler. Solüsyonun iyon içeriği arttıkça, kollajenin daha matür formları sentezlenmekteydi. Sonradan 0.14 M NaCl solubl kollajenin başlıca α tropokollajenden oluştuğu ortaya kondu. Bilindiği gibi α tropokollajen, kollajenin matür formlarının prekürsörüdür. Bu nedenle 0.14 M NaCl solubl kollajen, kollajen sentez hızını gösteren bir parametre olarak kullanılabilir (26).

Hayvan çalışmalarında, 0.14 M NaCl solubl kollajen miktarlarının büyüme döneminde yüksek miktarlarda olduğu ve ilerleyen yaş ile azaldığı ortaya kondu. Aynı bulgular diğer solubl kollajen formları içinde gerek insanlarda, gerekse hayvanlarda saptandı. Ancak, Uitto 1971 yılında insan derisinde 0.14 M NaCl solubl kollajen miktarları ile yaş arasında bir ilişki saptamadı. Bu nedenle 0.14 M NaCl solubl kollajenin, en azından büyüme sürecinde, kollajen biyosentezi ile ilişkili olmadığını belirtti (26).

Tip III kollajen derinin normal gerginliğini sağlar. Yaş ile uyumlu olarak miktarı giderek azalır (11, 27).

Deri biyopsi örneklerinde kollajen sentezini direk olarak gösterebilen iki yöntem aşağıda özetlenmiştir;

1- ¹⁴C Hidroksiprolin oluşumu: İnsan derisi ve radyoaktif (¹⁴C) prolinin uygun ortamlarda enkübe edilmesi esasına dayanır. Oluşan ¹⁴C Hpr kollajen sentezinin ölçüsü olarak kullanılır. Bu yöntemle gençlerde, kollajen sentez hızının fazla olduğu ve ilerliyen yaş ile azaldığı ortaya konmuştur (17).

2- Protokollajen prolin hidroksilaz aktivitesi:Enzim,derinin solubl protein fraksiyonundan elde edilmektedir. Atmosferik oksijene, askorbik aside, Fe⁺⁺ ve α ketoglutarata ihtiyaç göstermektedir. Enzimin aktivitesi yaşa bağımlı bulunmuştur. 26 yaşına kadar azalma eğilimindedir.Daha sonraki yaşlarda enzim aktivitesi stabildir. Enzimin aktivitesi ve kollajen sentez hızı arasında paralellik mevcuttur (17,28, 29,30).

BAĞ DOKUSU HASTALIKLARINDA DERİ KOLLAJEN

METABOLİZMASI

Kollajen hastalıkları değimi, ışık mikroskobu ile saptanabilen değişikliklere dayanılarak kullanılmıştır. Bu değişiklikler kollajen liflerinin kalınlaşması, homojenizasyonu ve artmış asidik boyanma özellikleridir (31).

Gale (1951) ve Gross (1952), elektron mikroskop çalışmalarında Sc'da, SLE'da, akut romatizmal ateşte ve romatoid artritde kollajen liflerinde patoloji saptamadılar (8).

Wolpers 1950 yılında, romatoid nodüllerde nekrotik bölgede çapraz bağların kaybolduğunu gösterdi.Leary 1957 yılında,Sc'da mukopolisakkaridlerin arttığını gösterdi.Fishcer

1960 yılında, Sc'lı hastaların elektron mikroskop tetkiklerinde patoloji saptamadı (32).

Fleischmajer 1964 yılında, 8 Sc'lı hastada derinin H₂O konsantrasyonu, Hpr miktarı, amino asid dağılımı ve kollajen liflerinin X ışınını kırma derecelerini ölçtü. Sc'lı deride su içeriği ve Hpr değerleri normaldi. Ayrıca sklerodermatoz kollajenin X ışınını kırma derecesi ve amino asid dağılımıda normal saptandı. Hansen'ne göre Sc'nın erken döneminde, mukopolisakkaridlerin suyu tutması nedeniyle ödem meydana gelmektedir (32).

Fleischmajer 1967 yılında, Sc'da solubl dermal proteinlerde anlamlı bir değişiklik saptamadı. Bu proteinlerin elektroferezinde farklı bir komponent bulamadı. Ancak biyopsi örneklerinde ve serumda kollajene bağlı heksozamin düzeylerini yüksek miktarlarda saptadı. Bu çalışmanın sonucunda, Sc'da ana bozukluğun muhtemelen "ground substance"da olduğunu ifade etti (32,33).

Gerlach 1965 yılında, radyoaktif prolin kullanarak, RA ve PAN'lı hastalarda kollajen sentez hızının arttığını gösterdi (17).

Neldner 1966 yılında, Sc'lı hastalarda Hpr düzeylerini düşük saptadı. Hpr düzeyleri ile hastalığın aktivitesi arasında bir korelasyon ortaya koyamadı (34).

Harris ve Sjoerdsma 1966 yılında, Sc'da asid solubl kollajen miktarını düşük saptadılar. Ayrıca bu solubl kollajende α/β oranının arttığını gösterdiler. Bu bulgu kollajen sentez hızının arttığını ve/veya kollajenin maturasyonundaki

parsiyel bir bozukluğu göstermektedir (9).

Laitinen ve Uitto 1969 yılında, Sc, SLE, RA, PAN ve dermatomyozitden oluşan 35 hastada solubl kollajen miktarlarını ölçtü. Ayrıca ^{14}C Hpr yöntemini kullanarak kollajen sentez hızlarını saptadı. Çalışmanın sonuçları 3 ana grupta toplanabilir (24). Bu hastalarda;

1- Insolubl kollajen ve total kollajen düzeyleri normaldi. Bu hastalarda kollajen sentez hızı artmasına rağmen total ve insolubl kollajenin normal kalması bize aynı zamanda kollajenin yıkımının da arttığını göstermektedir.

2- 0.45 M NaCl solubl kollajen miktarlarında artma saptandı. Benzer sonuçlar hastaların normal görünümlü derilerinde de bulundu.

3- In vivo ortamda ^{14}C Hpr oluşumu yüksek saptandı. Bu şekilde değerlendirilen hastaların %50'sinde normal görünümlü deride yüksek değerler saptandı.

Saptanan ^{14}C Hpr değerleri, hastalığın aktivitesi ile tam bir korelasyon göstermekteydi. Bu şekilde gösterilen artmış kollajen sentezi NaCl solubl kollajende saptanır.

PAN haricindeki diğer hastalarda, solubl ve insolubl kollajende izotop aktivitesi saptandı. Yani kollajenin maturasyonunda belirgin bir değişiklik gözlenmedi. PAN'lı hastada ise sadece solubl kollajen'de izotop aktivitesi saptandı. Belkide, solubl kollajenin maturasyonunda kısmi bir blok buna sebep olabilmektedir.

Bu bulguların ilginç yönlerini şu şekilde sıralayabiliriz;

a) Kollajen metabolizması, en azından bağ dokusu hastalıklarının bir kısmında bozulmuştur.

b) Normal görünümlü deride kollajen sentez hızının artması bağ dokusu tutulumunun yaygın olduğunu göstermiştir.

c) Aktif hastalığı olan ve kollajen sentezi anlamlı şekilde artmış olan hastaların bazılarında idrar Hpr atılımı normal olabilir.

Uitto 1969 yılında, 5 Sc'lı hastada PPH enzim aktivitelerini çalıştı. 3 hastada hafifçe yüksek değerler saptadı (28). Daha sonra aktif hastalığı olan 21 Sc ve 8 SLE'lu hastada enzim aktivitelerini çalıştı. Hastaların 1/3'ünde enzim aktivitesi yüksekti. Yüksek değerler normal görünümlü deri biyopsilerinde de saptandı (29).

Uitto 1972 yılında, RA'de, sinoviumda ¹⁴C prolin kullanarak kollajen sentezinin arttığını gösterdi (6).

Black ve arkadaşları 1971 yılında, Sc'da ön kol deri kalınlığı ve kollajen içeriğini ölçtüler. Klinik olarak etkilenmiş deride kalınlık ve kollajen içeriği azalmıştı. Normal görünümlü deride ise sadece kalınlık azalmış olarak bulundu. Kollajen dansitesi (deri kollajeni/deri kalınlığı) normal görünümlü deride hafifçe artmış olarak bulundu. Klinik olarak etkilenmiş deride ise normaldi. Derideki gerginlik ve sertliğin, deri ve daha derin yapılar arasında gelişen bağlanmalar nedeniyle geliştiği sonucuna vardılar (35).

Herbert ve arkadaşları 1974 yılında, aktif Sc'lı hastaların deri kollajeninde indirgenebilir çapraz bağların yüksek oranda bulunduğunu saptadılar. İnaktif hastalarda bu

bağların varlığı gösterilemedi. Aktif hastalarda yüksek miktarlarda saptanan, indirgenebilir çapraz bağlar artmış kollajen sentezini de gösteren direk bir bulgudur. Bu bağların parçalanması ile derinin yumşadığını ve semptomların gerilediğini belirttiler (13).

Kollajen ve yıkım ürünleri fibroblast ve monositler üzerinde kemotaktik etkiye sahiptirler. Sc ve RA'de kronik inflamasyonun patogeneğinde kollajen yada yıkım ürünlerinin etkisi mevcuttur. Konnektif dokuda yaygın monosit ve lenfosit infiltrasyonu, hücreyel immun yanıt aracılığı ile oluşan inflamasyon ile uyumludur. Ayrıca RA'in patogeneğinde, tip II kollajene karşı humoral immunitenin varlığı rol oynayabilir. Tip II kollajen ile immunize edilen kemirici hayvanlarda kronik poliartrit gelişmesi ilgi çekicidir(11).

Sc'lı hastaların fibroblast kültürlerinde fibroektin, Tip I ve Tip III kollajen dahil olmak üzere tüm matris proteinlerinin artmış m RNA düzeyleri gösterilmiştir. Böbrek ve deri biyopsilerinde Tip III / Tip I kollajen oranı yüksek saptanmıştır (36, 37).

Granzim bir, aktif T hücreleri tarafından sentezlenen ve sitolitik T hücre granüllerinde saptanan enzimdir. Sc'lı hastaların serumunda serbest granzim bir saptanmıştır. Tip IV kollajenaz olan bu enzim, bazal laminayı bozarak endotel hasarı meydana getirir. Granzim bir aracılığı ile serbest kalan laminin ve Tip IV kollajen fragmanları, bu hastalarda bazal laminaya karşı gelişen otoimmüniteyi açıklar (37).

Kivirikko ve arkadaşları 1991 yılında, 84 Sc'lı hasta serumunda Tip III prokollajen aminoterminal propeptid (PIIINP), Tip IV kollajenin 7 S domain'i (7S), lamininin P1 fragmanı (P1) ve galaktozilhidriksilizil glukozil transferaz (GGT) düzeylerini çalıştılar (36).

GGT yeni sentezlenen pro α zincirlerinde oluşan hidroksilizil gruplarına şeker ekler. Yani kollajen sentezinde aktif olarak rol oynar. Aktivitesini serumda da devam ettirir. Aktivitenin artması kollajen sentezinin arttığını gösterecektir (7,36).

PIII NP, kollajen sentezinin artmış olduğu durumlarda yüksek saptanır. Fibrotik karaciğer hastalıklarında ve myelofibrozdada yüksek değerleri saptanmıştır (11,36).

Bu çalışmada, PIII NP ve P1 özellikle hastalığın aktif döneminde yüksek saptandı. PIII NP immün komplekslerin, RF ve artrit varlığı ile ilişkili olduğu saptandı. GGT immün komplekslerin ve artrit varlığı ile ilişkili olduğu ortaya kondu. Buna karşın 7S'i Sc'da normal düzeylerde bulundu(36).

D-PENİSİLAMİN VE DERİ KOLLAJENİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Kokulu bezelye çiçeğinden (*Lathyrus odoratus*) zengin diyet ile beslenen hayvanlarda çeşitli bağ dokusu anomalileri izlenmiş, bu hayvanlara latiritik denmiştir. 1950'li yıllarda β aminopropionitril ile deneysel latirizm geliştirilmiştir. β aminopropionitril bakırı bağlayarak, lizil oksis-

dazın aktivitesini azaltmaktadır. Lizil oksidazın aktivitesi azalınca kollajenin çapraz bağlanması inhibe olmaktadır (9,27).

Marfan sendromu ile deneysel latiritik hayvanlarda benzer bulgular izlenmektedir. Marfan sendromlu hastaların, fibroblast kültürlerinde solubl kollajen miktarı yüksek saptanmıştır. Radyoaktif prolin ile yapılan çalışmalar kollajen metabolizmasının arttığını göstermektedir. Fakat latiritiklerden farklı olarak, kollajenin maturasyonunda bozulma izlenmemiştir (6).

Nimni 1965 yılında, farelerde D-penisilamin (DPA) kullanarak yaptığı incelemelerde solubl kollajenin arttığını gösterdi. Bunu, ilaç ile gelişmiş deneysel latirizm olarak yorumladı. Aynı çalışmada kollajen sentezinde azaldığını gösterdi (38).

Harris ve Sjoerdsma 1966 yılında insanlarda DPA ile çalıştılar. Oluşan değişiklikleri ilaç aracılığı ile geliştirilmiş deneysel latirizm olarak yorumladılar (9).

Homosistinüri, sistationin sentetaz yetmezliği nedeniyle ortaya çıkan konjenital bir hastalıktır. Dokularda, dolaşımda ve idrarda sülfür içeren amino asit miktarları artmıştır. Bu hastaların deri kollajeninde yapılan tetkiklerde çapraz bağlanma defekti izlenmiştir. Homosistein ile DPA'nın birbirlerine olan yapısal benzerliği ilgi çekicidir. Belkide bu hastalarda endojen homosistein, latirojen olarak rol oynamaktadır (9).

Harris ve Sjoerdsma 1966 yılında DPA ile tedavi

edilen Wilson hastalığı, sistinüri ve RA'li 13 hastada şu sonuçları saptadılar. Hastaların 10'unda solubl kollajen ve bununla ilişkili olarak $\alpha:\beta$ oranında artma saptadılar. $\alpha:\beta$ oranındaki artma, intramoleküler çaprazlaşmanın gerçekleşmesi yani α subünitteki artma nedeniyledir. DPA'in etkisi tedavinin süresi ve dozu ile uyumlu bulundu. Üç hastada solubl kollajen miktarı düşük bulundu. Ancak bunlar ilacı ya yeterli süre almamışlardı yada düzensiz kullanmışlardı (20).

DPA ile tedavi edilen üç Sc'lı hastada, %112'ye varan solubl kollajen miktarında artma saptadılar. Tedavinin ikinci haftasında, deri biyopsi örneklerinde belirgin bir değişiklik yoktu. Altıncı haftada ise etki belirgindi. Aynı zamanda DPA tedavisi sırasında, idrar Hpr atılımında değişiklik saptamadılar(20).

Herbert ve arkadaşları 1974 yılında, aktif Sc'lı hastalarda yüksek oranda bulunan indirgenebilir çapraz bağların, DPA'e oldukça duyarlı olduğunu gösterdiler. Bu bağlar hastalığın yaşından ziyade aktifliği ile orantılıydı. DPA yeni oluşan bağları parçalamakta, liflerin daha sonraki stabilizasyonunu ve deriye oturmasını engellemektedir. Bu nedenle, hastalığın sadece aktif döneminde etki etmektedir (13).

Aynı çalışmada DPA'in, kollajen sentezi üzerine etkilerini doku kültürlerinde araştırdılar. Aktif Sc'lı 4 hastanın 3'de kollajen sentezinin azaldığını gösterdiler. İnaktif dönemde hastalığı olan 5 hastada ise kollajen sentez hızında değişiklik saptamadılar (13).

Lindberg 'in yayınlanmamış bir çalışmasında fare

deri kültürlerinde, DPA tedavisi alan ve almayan gruplarda, kollajen sentez hızında bir fark saptanmadı. Buna karşın kollajen sentez hızının fazla olduğu embriyoner farelerin kemik ve derilerinde, DPA ile kollajen sentezinin azaldığını gösterdi. Gerek kendi çalışmaları, gerekse de Lindberg'in çalışmalarını değerlendirdiklerinde, DPA artmış kollajen sentez hızını azaltmakta olduğunu belirttiler (13).

Uitto ve arkadaşları DPA tedavisi alan hastaların doku kültürlerinde, PPH aktivitesinin düşük olduğunu saptadılar (15). DPA'in immünosupresif etkisi olduğuda bu gün kabul edilmektedir (39).

G E R E Ç v e Y Ö N T E M

Kasım 1991 ve Temmuz 1993 tarihleri arasında, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalı tarafından izlenen, Raynaud semptomlu 43 hasta, rastgele bir seçimle çalışmaya alındı. Bunların 15'i Sc, 4'ü kesin SLE tanısıyla izlenen olgulardır (Tablo-III ve Tablo-IV). Tablo 1'de belirtilen kriterlere göre primer RF'ne uyan, ancak RF yaşı 2 yılın altında olan olgular, çalışma süresince kontrollere çağrıldılar ve yine primer RF olarak değerlendirildiler. Bu grup ta 12 olgudan oluştu. Hastaların 3'ü erkek, diğerleri ise kadındı (Tablo-V). BDH belirtileri gösteren ve spesifik bir tanı için yeterli kriteri olmayan 12 RF'li olgu belirlenemeyen BDH grubuna alındı (Tablo-VI).

İç Hastalıkları polikliniğine baş vuran, sorgu, fizik muayene ve laboratuvar sonuçları ile inflamatuvar patoloji saptanamayan toplam 10 olgu; deri Hpr düzeyleri için, Biyokimya A.B.D. laboratuvarında, 21-60 yaşları arasında 15 olgu ise idrar ortalama Hpr değerleri yönünden, kontrol grubu olarak kabul edildi (40).

CRP, romatoid faktör ve ANA İmmunoloji laboratuvarında çalışılmıştır. CRP ve romatoid faktör Behring firmasının Nephelometer-100 Analyzer aygıtında, aynı firmanın kitleri kullanılarak; ANA insan epitelial hücre substratı (HEp2) içeren lamalar kullanılarak, indirekt flörosan antikor yöntemi ile değerlendirildi.

Üre, kreatinin, albumin, globulin, tam idrar ve

protein elektroforezi Biyokimya A.B.D. Laboratuvarında çalışılmış; üre, kreatinin, albumin ve globulin Hitachi-704 otoanalizatör, protein elektroforezi Helena aygıtıyla ve sedimantasyon Westergreen yöntemi ile tayin edilmiştir.

Deri Biyopsisi: El üçüncü parmağın orta falanksından alınan deri biyopsisinin küçük bir bölümü ayrıldı. Tampon çözelti içine alınan materyal Patoloji A.B.D'nda histolojik ve immün flöresan yöntemle değerlendirildi.

Deri hidroksiprolin düzeyi tayini: Deri biyopsi materyali, serum fizyolojik ile yıkanarak, biyopsi sırasında bulaşan kandan temizlendi. Daha sonra derin dondurucu içinde saklandı (50-LOW, Environmental Equip Co-Parazitoloji A.B.D.). Yeteri kadar deri örneği biriktiğinde, Biyokimya A.B.D'nda Hpr düzeyleri ölçüldü.

Deri Hpr düzeyi tayininde Bergman ve Loxley tarafından tanımlanan yöntemin, Haury tarafından yapılmış bir modifikasyonu kısmen değiştirilerek uygulanmıştır(41,42,43).

Tartılan deri örnekleri, vidalı teflon kapaklı hidroliz tüplerine konduktan sonra hidroklorik asid eklenecek, 110° C'de 6 saat hidrolize edildi. Hidrolizat, soğuduktan sonra cam yünü ile süzüldü ve nötralize edildi. Nötralize hidrolizattaki Hpr konsantrasyonları, optik dansite ile okundu. Bulunan mg/L Hpr değerlerinden, gram/yaş doku ağırlığı başına düşen Hpr değeri hesaplandı.

İdrar hidroksiprolin düzeyi tayini: Daha önce yapılan bir çalışmada, 24 saatlik ve 1 gecelik açlıktan sonra alınan ikinci idrar örneklerinde, Hpr/kreatinin oranları

arasında anlamlı bir fark olmadığı ortaya konmuş olduğundan, spot idrar örneklerinde çalışılmış ve idrar Hpr düzeyleri Bergman ve Loxley'in yöntemi ile ölçülmüştür. Bu yöntemde, peptid yapıların hidrolizi ile tüm Hpr serbest hale getirildikten sonra pirol'e okside edilmekte ve p-dimetil amino benzaldehit ile renkli bir bileşiğe çevrilmektedir. Renkli bileşik spektrofotometrik olarak ölçülerek, Hpr düzeyi Hpr/kreatinin (mg/gr) oranı şeklinde verilmiştir (40,41,42).

Olgu gruplarının sonuçlarının istatistiksel değerlendirmeleri, student T ve Mann-Whitney testleri kullanılarak yapılmıştır.

Tablo-III: Sc'lı hastaların laboratuvar ve klinik bulguları

OLGU	YAŞ (yıl)	Raynaud yaşı(yıl)	Sedim mm/saat	CRP mg/L	Latex i.U/ml	ANA Titre Tip
1) Z.A.	51	7	16	---	Menfi	1/80 granüler
2) N.Ç.	35	4	11	---	Menfi	1/60 granüler
*3) E.K.	35	5	40	8	Menfi	Menfi
4) M.D.	31	1	5	3	Menfi	Menfi
5) Ş.T.	40	7	33	0.5	Menfi	1/160granüler
*6) K.Y.	48	1.5	34	0.5	Menfi	1/80 granüler
7) S.Ü.	48	10	12	0.5	Menfi	Menfi
8) M.Y.	61	2	32	0.6	Menfi	1/20 granüler
9) N.K.	36	5/6	17	0.5	Menfi	1/20 granüler
10)M.C.	46	5	4	---	Menfi	Menfi
11)Z.A.	56	1	14	---	-----	-----
*12)D.Y.	35	3	30	38.0	Menfi	1/320granüler
13)M.G.	40	11	15	---	-----	-----
*14)E.Y.	61	1.5	16	---	Menfi	1/20 granüler
*15)M.T.	71	2	15	<2.7	Menfi	1/20 granüler

Ortalama hasta yaşı: 46

Ortalama RF yaşı: 47/12

*= Aktif skleroderma

3- Klinik olarak progresif seyir.

6- Klinik olarak progresif seyir.

12- PIF ve MCF'larda ağrı, şişlik, sabah tutukluğu.

14- Yeni başlamış, aktif seyreden hastalık.

15- 2 yıldır RF, yeni gelişen deri sertliği ve yutma güçlüğü.

Tablo-IV: SLE'li hastaların laboratuvar ve klinik bulguları

OLGU	YAŞ (yıl)	Raynaud yaşı(yıl)	Sedim mm/saat	CRP mg/L	Latex I.U/ml	ANA Titre	Tip
*1)B.D.	29	5/6	30	0.5	80	1/40	periferik
2)S.K.	35	5	35	9	Menfi	1/20	granüler
3)N.G.	20	1	55	41	Menfi	1/20	granüler
*4)G.K.	25	5/12	88	11	35	1/40	granüler

Ortalama hasta yaşı: 27

Ortalama RF süresi : 21/12

* Aktif dönemdeki SLE olguları

1- Her iki el bileğinde artrit. Sert damakta ülser.

Sistemik belirtiler.

4- Sol 4.PIF'de artrit

Tablo-V: Primer RF grubunun yaş ve RF süreleri

OLGU	YAŞ	Raynaud yaşı* (yıl)
1) C.A.	32	14
2) N.P.	50	10
3) L.S.	33	1/12
4) M.Ö.	19	2/12
5) A.Ö.	23	1
6) N.K.	16	3/12
7) N.E.	38	5
8) D.G.	17	3
9) N.T.	19	1
10)M.G.	28	2
11)J.T.	23	1.5
12)N.D.	50	1

Ortalama hasta yaşı: 30

Ortalama RF yaşı : 39/12

* Biyopsi sırasındaki RF süreleri.

Tablo-VI: Belirlenemeyen BDH grubunun laboratuvar ve klinik özellikleri

OLGU	YAŞ (yıl)	Raynaud yaşı(yıl)	Sedim mm/saat	CRP mg/L	Latex I.U/ml	ANA Titre Tip
1) K.Y.	39	2	12	0.5	Menfi	1/20 granül
2) S.K.	40	5/12	10	5.6	Menfi	Menfi
3) M.C.	16	2	--	--	--	--
4) S.K.	33	16.5	14	<2.7	Menfi	Menfi
5) B.A.	23	5/12	50	0.5	Menfi	Menfi
6) S.A.	30	10	8	Menfi	Menfi	Menfi
7) A.B.	28	7	23	0.5	160	1/20 granüler
8) Ş.P.	30	1.5	20	0.5	Menfi	1/160granüler
9) F.A.	37	8	15	0.5	Menfi	Menfi
10)P.K.	35	1	15	0.5	Menfi	Menfi
11)L.S.	43	2	22	3.8	Menfi	Menfi
12)F.S.	21	1	39	2.9	Menfi	1/640granüler

Ortalama hasta yaşı: 33
Ortalama RF yaşı : 5

- 1- Livedo retikülaris, genital ülser?
- 2- PIF'ler şiş, sağ 5.PIF hareketleri ağrılı ve kısıtlı.
- 3- Sol el 5.PIF şiş ve ağrılı kontrolde fotosensivite.
- 4- Dirsek, diz, el ve ayak bileğinde artralji.
- 5- Eritema nodosum.
- 6- 10 yıl önce PIF'larda artrit.
- 8- Sol el bileğinde artralji.
- 9- 6 yıl önce el ve ayaklarda yumşak dokuda şişlik ve hareket kısıtlılığı, ayak bileğinde ve ellerde MCP ve PIF'larda ağrı, şişlik ve hareket kısıtlılığı.
- 10- El MCF, el bileği ve PIF'de artrit.
- 11- Daha önce 1.IP eklemde artrit.
- 12- Her iki el bileğinde artrit, 1 saat süren sabah tutukluğu.

B U L G U L A R

Çalışma grubu, RF bulunan 43 hastadan oluştu. Olguların yaşları 16-71 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 36 ± 12.8 olarak bulundu. RF süreleri 1-200 ay arasında değişmekteydi. Deri biyopsi ve idrar örnekleri alındığı zaman ortalama RF süresi 44.4 ay olarak saptandı.

Tablo VII'de görüldüğü gibi, 21 yaş üzerindeki RF olan olguların idrar Hpr düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatinin	± Standart sapma
Raynaud	33	36.79 *	35.52
Kontrol	15	16.68	4.36

Tablo-VII: 21 yaş üzerindeki olguların, idrar Hpr değerleri ortalaması ve standart sapması. * $p < 0.05$.

Tablo VIII'de görüldüğü gibi, 21 yaş üzerindeki RF'li olguların deri Hpr düzeyleri, kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Bununla birlikte istatistiksel açıdan aralarındaki fark anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
Raynaud	34	20.12	5.96
Kontrol	10	17.39	4.20

Tablo-VIII: 21 yaş üzerindeki olguların, deri Hpr değerleri ortalama ve standart sapması.

Sc grubunda yer alan 15 hastanın biri erkek diğeri kadındı. Ortalama yaş 46, ortalama RF süresi 47 ay olarak bulundu. Hastaların 5'i, laboratuvar yada klinik yönden aktif dönem olarak değerlendirildi. Ayrıca 5 hasta D-Penisilamin (DPA) kullanmaktaydı.

Tablo IX'da görüldüğü gibi, *Sc*'li hastaların idrar Hpr değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatin	± Standart sapma
Sklero-derma	13	52.27 *	42.61
Kontrol	15	16.68	4.36

Tablo-IX: *Sc*'li hastaların, idrar Hpr değerleri ortalama ve standart sapması. * $p < 0.05$.

Tablo X'da görüldüğü gibi, *Sc*'li hastaların deri Hpr düzeyleri kontrol grubuna çok yakın değerlerdeydi. Anlamlı bir fark izlenmedi ($p > 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
Sklero-derma	14	18.25	4.69
Kontrol	10	17.39	4.20

Tablo-X: *Sc*'li hastaların, deri Hpr değerleri ortalama ve standart sapması.

Tablo XI'de görüldüğü gibi, aktif dönemdeki *Sc*'li hastaların idrar Hpr değerleri, hem inaktif dönemdeki hasta-

lardan, hem de kontrol grubundan belirgin yüksekti. Hem kontrol hem de inaktif grup ile aradaki fark anlamlı idi ($p < 0.05$). İnaktif Sc'lı hastaların idrar Hpr değerleri de, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatin	± Standart sapma
Aktif (a)	5	91.78	20.63
İnaktif (b)	8	27.57	9.19
Kontrol (c)	15	16.68	4.36

Tablo-XI: Aktif ve inaktif dönemdeki Sc'lı hastaların, idrar Hpr değerleri ortalaması ve standart sapması. ab,ac,bc. $p < 0.05$.

Tablo XII'den izlendiği gibi, gerek aktif gerekse inaktif dönemdeki Sc'lı hastaların deri Hpr değerleri, kontrol grubuna yakın düzeydeydi. Anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). Benzer şekilde, aktif ve inaktif dönemdeki hastaların deri Hpr düzeyleri arasında da anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
Aktif	4	19.86	4.72
İnaktif	10	17.60	4.76
Kontrol	10	17.39	4.20

Tablo-XII: Aktif ve inaktif dönemdeki Sc'lı hastaların, deri Hpr değerleri ortalaması ve standart sapması.

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatinin	± Standart sapma
DPA (+)	5	46.63	47.25
DPA (-)	8	55.79	50.09

Tablo-XIII: DPA alan ve almayan Sc'lı hastaların, idrar değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.

Tablo-XIII'de izlendiği gibi, DPA alan ve almayan hastaların idrar Hpr düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
DPA (+)	5	15.80	3.40
DPA (-)	9	19.61	4.56

Tablo-XIV: DPA alan ve almayan Sc'lı hastaların deri Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.

Tablo XIV'de izlendiği gibi, DPA almayan hastaların deri Hpr düzeyleri, DPA alanlara göre yüksek bulundu. Bununla birlikte aralarındaki fark, istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p > 0.05$).

4 hastadan oluşan *SLE grubunda*, ortalama yaş 27 ve ortalama RF süresi 21 ay olarak saptandı. Hastaların 2'si aktif, 2'si inaktif dönemdeydi. İnaktif dönemdeki hastalardan 1'i 20 yaşında olup, idrar Hpr atılımı, kendi yaş grubu içinde normal sınırlardaydı. Bu hastanın deri Hpr düzeyi, kontrol grubu ortalamasına çok yakın bir değerde bulundu.

(hasta deri Hpr=17.69 mg/gr yaş doku, kontrol deri Hpr ortalaması=17.39 mg/gr yaş doku).

21 yaşın üzerindeki diğer 3 hastanın idrar Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmalar Tablo-XV'de verilmiştir.

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatinin	± Standart sapma
SLE	3	54.65 *	12.48
Kontrol	15	16.68	4.36

Tablo-XV: 21 yaşın üzerindeki 3 hastanın idrar, Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.* p<0.05.

Tablo-XV'de görüldüğü gibi, SLE'lu 21 yaşın üzerindeki 3 hastanın, idrar Hpr değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.05).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
SLE	3	18.96	6.16
Kontrol	15	17.39	4.20

Tablo-XVI: 21 yaşın üzerindeki 3 hastanın, deri Hpr düzeyleri ortalamaları ve standart sapmaları.

Tablo-XVI'da görüldüğü gibi SLE'li hastalarda kontrol grubuna çok yakın Hpr değerleri saptandı (p>0.05).

Primer RF grubundaki 12 hastanın 2'si erkek, diğerleri kadındı. Olguların ortalama yaşı 30 ve ortalama RF süresi 39 ay olarak saptandı. Hastaların 4'ü 21 yaşın altında

olup, kendi yaş gruplarına göre normal idrar Hpr değerlerine sahipti. Diğer 8 hastanın idrar Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo-XVII'de verilmiştir.

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatinin	± Standart sapma
Primer RF	8	21.89	5.90
Kontrol	15	16.68	4.36

Tablo-XVII: Primer RF'lu hastaların, idrar Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.

Tablo-XVII'de görüldüğü gibi, primer RF'lu hastaların idrar Hpr düzeyleri, kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Her iki grubun arasındaki fark istatistiksel açıdan sınırdan anlamlı bulundu ($p=0.05$).

21 yaşın altında, deri Hpr kontrol grubumuz olmadığından, bu yaşın üzerindeki 8 hastanın değerlerinin ortalaması alındı. 21 yaşın altındaki hastaların deri Hpr düzeyleri sırasıyla; 19.63, 14.90, 19.57, 23.07 mg/gr yaş doku olarak bulundu. Bu dört olgunun ortalaması, 19.29 mg/gr yaş doku idi. Saptanan değer, 21 yaş üstünde saptanan 8 hastanın ortalamasının (21.66) altında ve kontrol grubuna yakındı. 21 yaşın üzerindeki olguların deri Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo-XVIII'de verilmiştir.

Primer RF ve kontrol grubu deri Hpr düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
Primer RF	8	21.66	8.00
Kontrol	10	17.39	4.20

Tablo-XVIII: Primer RF'lu hastaların, deri Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.

Olası BDH grubunda yer alan 12 hastanın tümü kadındı. Ortalama yaş 33 ve ortalama RF süresi 50 ay olarak saptandı. 1 hasta 16 yaşında olup, idrar Hpr düzeyi kendi yaş grubu içinde normal sınırlarda bulundu. Bu hastanın deri Hpr düzeyi 18.35 mg/gr yaş doku olup, kontrol grubu ortalamasına çok yakındı (Kontrol deri Hpr 17.39 mg/gr yaş doku).

Grup	Olgu Sayısı (n)	İdrar Hpr mg/gr kreatinin	± Standart sapma
BDH	10	21.08	13.38
Kontrol	15	16.68	4.36

Tablo-XIX: BDH olan hastaların, idrar Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.

Tablo-XIX'da izlendiği gibi, BDH hastalığı idrar Hpr değerleri ortalaması, kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık taşımamaktaydı ($p > 0.05$).

Tablo-XX'de izlendiği gibi, BDH hastalığı grubunda deri Hpr değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Grup	Olgu Sayısı (n)	Deri Hpr mg/gr yaş doku	± Standart sapma
BDH	11	22.10	5.10
Kontrol	10	17.39	4.20

Tablo-XX: BDH olan hastaların, deri Hpr değerleri ortalamaları ve standart sapmaları.

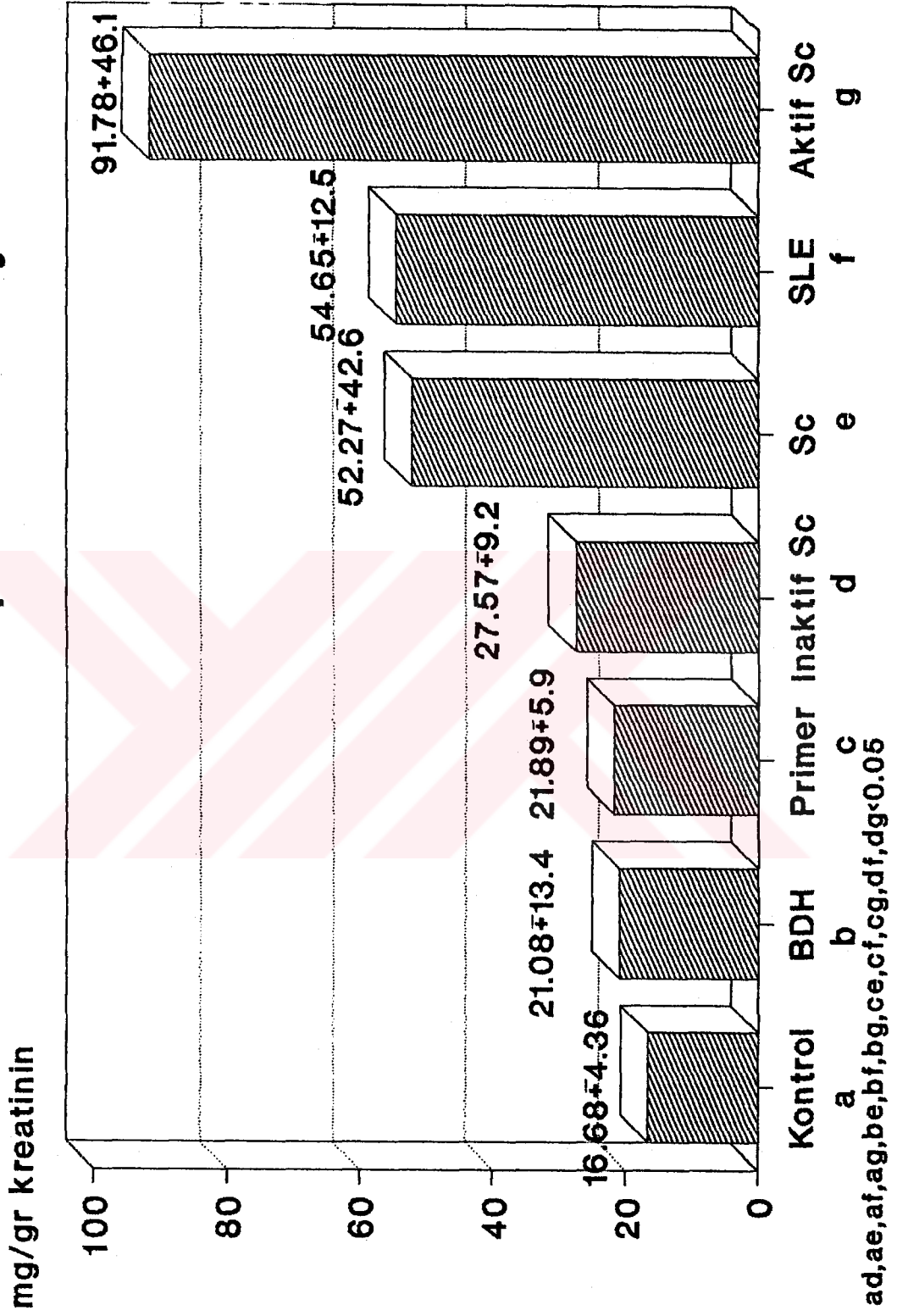
Grafik 1'de, idrar Hpr düzeylerinin kontrol ve hastalık gruplarına göre dağılımı verilmiştir. Her bir grubun, kontrol grubu ile karşılaştırmaları ve istatistiksel anlamları daha önce belirtilmişti.

Olası BDH idrar Hpr düzeyleri tüm Sc'lı hastaların, aktif dönemdeki Sc'lı hastaların ve SLE'lu hastaların idrar Hpr düzeylerinden, istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.05$).

Primer RF olguların idrar Hpr düzeyleri, olası BDH grubuna benzer şekilde, tüm Sc'lı hastaların, aktif dönemdeki Sc'lı hastaların ve SLE'lu hastaların idrar Hpr düzeylerinden, istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0.05$).

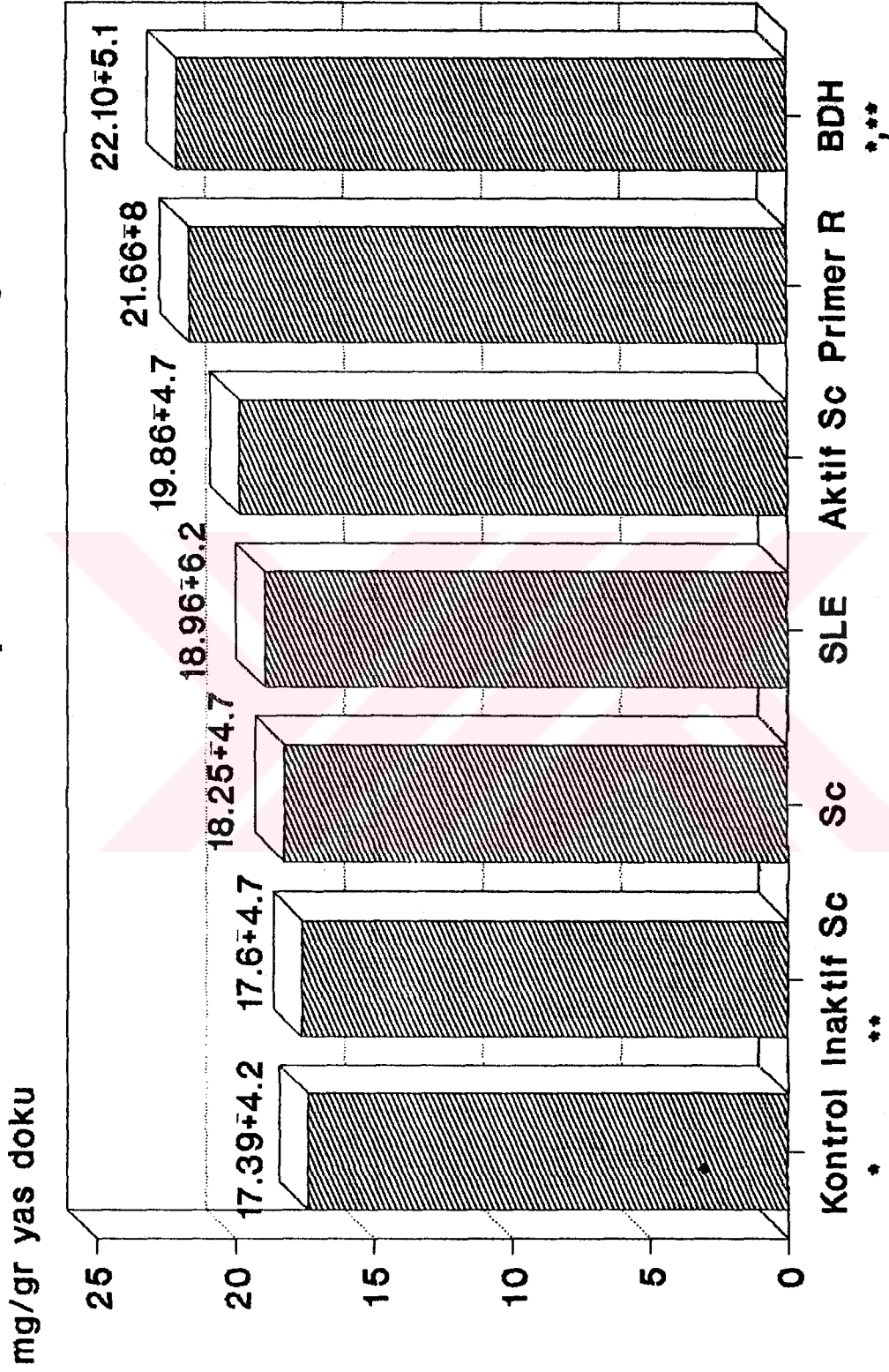
Grafik 2'de, deri Hpr düzeylerinin kontrol ve hastalık gruplarına göre dağılımı verilmiştir. Her iki grubun kontrol grubu ile karşılaştırılmaları ve istatistiksel anlamları daha önce belirtilmişti. Hastalık grupları Hpr düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı. Buna karşın, inaktif Sc'lı hastaların deri Hpr düzeyleri, BDH deri Hpr düzeylerinden istatistiksel olarak

İdrar Hidroksiprolin Düzeyleri



Grafik-1

Deri Hidroksiprolin Düzeyleri



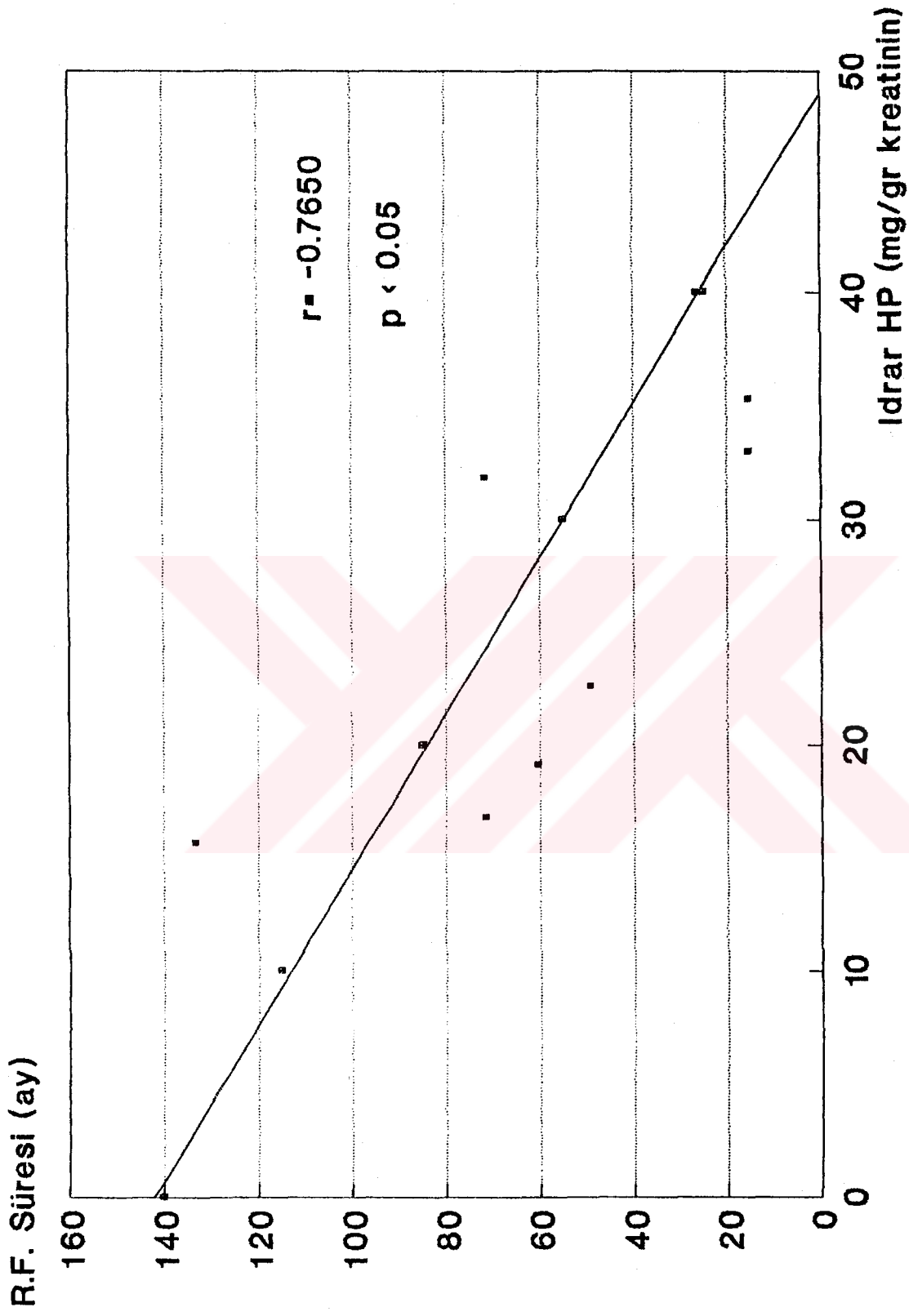
Grafik-2

sınırdaki düşük saptandı ($p=0.051$).

Tüm hasta gruplarında deri ve idrar Hpr değerleri arasında korelasyon saptanmadı.

İnaktif Sc'lı hastalarda, RF süresi ile Hpr atılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptandı ($n=8$, $r=-0.765$, $p<0.05$) (şekil-9). Diğer gruplarda, RF süresi ile idrar Hpr atılımı arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Tüm hasta gruplarında RF süresi ile deri Hpr içeriği arasında korelasyon saptanmadı.



Sekil-9

T A R T I Ő M A

BDH'da idrar Hpr atılımı ile ilgili ilk çalışmanın, 1956 yılında Ziff ve arkadaşları tarafından yayınlanmasından sonra yapılan araştırmalarda, ya normal ya da bazen belirgin olarak artmış değerler saptanmıştır. Örneğin Ziff ve arkadaşları, BDH'da idrar Hpr atılımını normal düzeylerde bulmuşlar, Cammarata, 16 Sc'li hastanın sadece aktif dönemde olan üçünde artmış Hpr değerleri saptamıştır. Laitinen ise, akut romatizmal ateş ve PAN'da idrar Hpr atılımının arttığını, buna karşın SLE, RA ve Sc'da normal sınırlarda kaldığını göstermiştir. Smith ve arkadaşları, Juvenil RA'li hastalarda, idrar Hpr atılımının normal düzeylerde olduğunu, ancak, özellikle kortikoterapi başta olmak üzere, tedavi ile atılımının azaldığını ortaya koymuşlardır (8,16,19,21).

Hartman, Krel ve Tiselius yaptıkları çalışmalarda, romatizmal inflamatuvar proçesin süresi ve aktivitesi ile idrar Hpr atılımı arasında tam bir ilişki olduğunu gösterip, tedavi ile, özellikle kortikoterapi sırasında belirgin olmak üzere, artmış Hpr atılımının normale döndüğünü belirlemişlerdir (22).

Laitenin, bu konuyla ilgili çeşitli çalışmaları yorumladığı yazısında; belirgin olarak artmış Hpr değerlerinin, BDH'nın özellikle aktif döneminde izlendiğine dikkat çekmiş, daha da önemlisi, başlangıçta yüksek değerlere sahip olan hastalarda, tedavi ile Hpr atılımının normale dönmesinin, kollajen metabolizmasının normale döndüğüne işaret eden

bir gösterge olarak kullanılabileceğini belirtmiştir (6).

Çalışma grubumuzda yer alan hastaların 6'sı, 21 yaşın altında olup idrar Hpr atılımı, kendi yaş gruplarına göre normal sınırlar içinde kalmış, 21 yaş üzerindeki RF bulunan hastaların idrar Hpr değerleri ise, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu anlamlı yüksek değerlerin başlıca nedeni, SLE ve Sc'lı hastalarda saptanan yüksek idrar Hpr atılımından kaynaklanmıştır.

Daha önce, Sc ve SLE'de yapılan idrar Hpr atılımı ile ilgili çalışmalardan farklı olarak, biz her iki hastalık grubunda da yüksek değerler elde ettik. Sc'lı hastaların tümünde, aktif ve inaktif dönemde, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek değerler saptandı (52.27 mg/gr kreatinin'e karşı 16.68 mg/gr kreatinin). Benzer şekilde, olgu sayısı az olmasına karşın, biri inaktif dönemde olan 3 SLE'lu hastanın da idrar Hpr atılımı, kontrol grubuna göre yüksek saptandı (54.65 mg/gr kreatinin'e karşı 16.68 mg/gr kreatinin).

Harris ve Sjoerdsma, Sc'lı hastalarda asit solubl kollajende artmış $\alpha:\beta$ tropokollajen oranını saptamış, Laitenin ve Uitto, SLE ve Sc'lı olguların da yer aldığı 35 hastada solubl kollajen ve ^{14}C -Hpr oluşumunun arttığını göstermişlerdir. Hastaların yarısında, klinik olarak normal görünümlü deride bile, ^{14}C -Hpr oluşumunu yüksek bulmuşlar, ayrıca artmış solubl kollajen oranına rağmen, insolubl ve total kollajenin normal sınırlar içinde kaldığını belirtmişlerdir. Uitto, önce 5 Sc'lı, daha sonra 21 Sc ve 8 SLE'li hastada, artmış PPH aktivitesine dikkat çekmiştir. Herbert

ise, aktif Sc'li hastaların deri kollajeninde indirgenebilir çapraz bağların yüksek oranda bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmaların ortak sonucu, BDH'da kollajen sentezinin arttığını ve bağ dokusu tutulumunun yaygın olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Laitinen ve Uitto'nun çalışmasında artmış kollajen sentez hızına rağmen insolubl ve total kollajenin normal kalması, kollajen yıkımının da arttığını göstermektedir (9,13,24,28,29).

Bizim sonuçlarımız bu bulgular ile uyumludur. SLE ve Sc grubunda, deri Hpr değerleri normal olmasına karşın artmış idrar Hpr değerleri mevcuttur. Yani SLE ve Sc'de artmış idrar Hpr atılımına rağmen, deri Hpr düzeylerinin normal bulunması, bu hastalarda kollajen yıkımının arttığını göstermektedir. Ayrıca aktif dönemdeki Sc'li hastalarda, inaktif dönemde olanlara göre anlamlı yüksek değerler de, aktif hastalarda kollajen yıkımının daha fazla olduğunu göstermektedir.

Laitinen'in "Deri kollajen sentezi belirgin artmış hastaların bazılarında, normal idrar Hpr atılımı saptanabilmektedir" görüşüne karşın, olgularımızda idrar Hpr sonuçları, inaktif Sc'li olgular dahil tüm Sc olgularında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (6).

Grafik-1'de izlendiği gibi, 21 yaşındaki primer RF'li olgular ile kontrol grubu arasında, istatistiksel olarak sınırdan anlamlı değerler elde edilmiştir. Ancak bu grupta yer alan, 21 yaşın altındaki 4 olgunun idrar Hpr değerleri, kendi yaş gruplarında, normal sınırlarda bulunduğundan, tüm grubu göz önüne aldığımızda, bu *sınırdan istatistiksel*

anlamlılılık kaybolmaktadır.

Olası BDH grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamış, ayrıca olası BDH, primer RF ve inaktif Sc'lı hastaların idrar Hpr değerleri arasında da anlamlı bir fark ortaya konamamıştır.

RF gösteren olgulardaki idrar Hpr değerleri, SLE veya aktif Sc'yı işaret eder şekilde, diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada, elde edilen ve yaklaşık olarak normalin 10 katına kadar ulaşabilen en yüksek iki değer aktif Sc'lı hastalara aitti. SLE'lu hasta sayısı az olduğundan, bu grupta aktif ve inaktif ayırımına gidilmedi. Ancak, biri inaktif olan 21 yaş üzerindeki 3 hastanın idrar Hpr atılımı belirgin olarak yüksek bulundu. İnaktif dönemde olan 21 yaş altındaki 1 SLE'li hastada ise, kendi yaş grubuna göre normal sınırlarda idrar Hpr değerleri saptandı. RF bulunan SLE'li hastalar ile ilgili çalışmamız halen devam etmektedir.

Bu çalışmanın temel amacı, Raynaud semptomlu ve olası bir BDH bulguları gösteren olgulardaki, deri ve idrar Hpr içeriğinin, ileride gelişecek kesin bir BDH (Sc, SLE gibi) tanısına ne ölçüde katkıda bulunabileceğini, diğer bir deyişle, bu olguların doku ve idrar Hpr düzeylerinin aktif veya inaktif Sc veya SLE'lu olgu deri ve idrar Hpr düzeylerine ne ölçüde yakın olduğunu belirlemektir. Fakat, Raynaud semptomları olan BDH tanılı olguların idrar Hpr değerlerinin, primer Raynaud semptomlu olgulardan, hatta kontrol grubundan farklı bulunmaması, bu parametrenin RF'nin prognozunu-

da belirleyici olmayacağını göstermiştir.

RF bulunan tüm hastalarda saptanan deri Hpr değerleri, kontrol grubuna göre bir miktar yüksek saptanmış, ancak aradaki fark anlamlı bulunmamıştır.

Fleischmajer, 8 Sc'lı hastada derinin su içeriği, Hpr miktarı, amino asid dağılımı ve kollajen liflerinin X ışınını kırma derecelerini normal bulmuş, daha sonra yaptığı çalışmada ise, solubl kollajen düzeylerinin normal olduğunu saptamıştır. Neldner, Sc'lu hastalarda deri Hpr düzeylerinin, Harris ise Sc'da asid solubl kollajenin düşük düzeylerde olduğunu bulmuştur. Black, Sc'da klinik olarak etkilenmiş deride, kalınlık ve kollajen içeriğinin azaldığını ve bu nedenle kollajen dansitesinin değişmediğini, buna karşın normal görümlü deride sadece kalınlığın azaldığını ve kollajen dansitesinin hafifçe arttığını göstermiştir (9,32, 33,34,35).

Bizim çalışmamızda, Sc'lı olgularımızda deri Hpr değerlerinin, kontrol grubuna çok yakın düzeylerde oluşu, literatüre uygunluk göstermiştir. Kollajen sentez hızının arttığı bilinen Sc'da, deri Hpr düzeylerinin normal bulunması şaşırtıcı değildir. Çünkü, idrar Hpr atılımı ile değerlendirildiğinde, yeni sentezlenen solubl kollajen yıkıma uğramakta ve bu şekilde idrar Hpr'i artmasına rağmen deri Hpr'i normal sınırlar içinde kalabilmektedir. Grafik-2'de görüldüğü gibi, aktif Sc'lı hastalarda inaktif olanlara göre anlamlı olmasa da, bir miktar yüksek değerler elde edilmiştir. İdrar Hpr'nin aktif hastalarda, inaktif olanlara göre anlamlı olarak arttığını daha önce belirtmiştik. Bu bilgilerin ışığı altında,

Sc'da özellikle aktif dönemde, kollajen sentez ve yıkımının belirgin olarak arttığını söyleyebiliriz. Grafik-2'de görüldüğü gibi, inaktif Sc'lı hastalarda, olası BDH grubuna göre istatistiksel olarak sınırdan anlamlı düşük değerler elde edilmiştir.

21 yaşın üzerindeki 3 hasta ve altındaki bir hastanın deri Hpr değerleri, kontrol grubuna oldukça yakın düzeylerdeydi. 21 yaşın üzerindeki 2'si aktif, 1'i inaktif olan hastaların, deri Hpr değerlerinin diğer grupların deri Hpr düzeyleri ile karşılaştırılmasında (Grafik-2) görüldüğü gibi, arada anlamlı bir farklılık görülmemiştir. SLE'li hastalarda da, Sc'ya benzer şekilde, normal deri ve artmış idrar Hpr değerleri, kollajen sentez ve yıkımında artmayı göstermektedir.

Primer RF grubunda yer alan 12 hastanın 4'ü, 21 yaşın altında olduğu için, istatistiksel değerlendirmeler 21 yaşın üzerindeki 8 hasta için yapılmıştır. Kontrol grubuna göre bir miktar yüksek değerler saptanmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. İlginç olan, 21 yaşın altındaki olgularda, 21 yaş üzerinelere göre daha düşük değerler elde edilmiş olmasıdır. Bizim 21 yaş altında kontrol grubumuz olmadığı için bu yönden sağlıklı bir değerlendirme yapmaktan yoksunuz. Primer RF'li olgulardan, 21 yaş altında olan grubun deri Hpr değerleri (19.29 mg/gr yaş doku), 21 yaş üstündeki primer RF'li grubun ortalamasından (21.66 mg/gr yaş doku) daha düşüktü. Ortalama 20.47 mg/gr yaş doku olarak bulduğumuz tüm primer RF'li olgu deri Hpr içeriği, kontrol grubuna bir miktar daha yakın değerlerde bulunmuştur.

Primer RF'li olgularda gerek deri gerekse idrar Hpr değerlerinin, kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermemesi, bu hastalarda kollajen metabolizmasında önemli bir değişikliğin olmadığını gösteren önemli bir bulgu olarak yorumlanabilir.

Olası BDH grubunda ise, deri Hpr değerleri kontrol grubuna göre, anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu hastalarda idrar Hpr değerleri normal olmasına karşın, deri Hpr değerlerinin anlamlı olarak yüksek saptanması ilgi çekicidir. Belki de, olası BDH'nda kollajen sentezi artmakta, fakat yıkımda önemli bir artma olmadığı için, idrar Hpr düzeyleri normal kalabilmektedir (BDH= 22.10 mg/gr yaş doku, kontrol= 17.39 mg/gr yaş doku). Oysa Laitinen, daha önce yaptığı çalışmalarda, deri kollajen metabolizmasında belirgin artma olmasına rağmen idrar Hpr'nin normal kalabileceğini belirtmiştir. Bu nedenle, bizim bu bulgu ve yorumumuz ileri ve daha çok olgulu çalışmalar ile desteklenmelidir (6).

Nimni, farelerde solubl kollajen miktarının, DPA kullanımı ile arttığını göstermiş, Harris ve Sjoerdsma, deri biyopsi örneklerinde benzer etkileri ortaya koymuşlardır. Intramolekler apraz bağlanmanın inhibisyonu sonucu, α tropokollojen miktarının artması nedeniyle, solubl kollojen miktarının arttığını belirten araştıracılar, DPA kullanan hastaların idrar Hpr atılımında ise herhangi bir değişiklik saptamamışlardır (20, 38).

Herbert, kollajen sentezinin artmış olduğu aktif Sc'li hastaların doku kültürlerinde DPA'nın, kollajen sente-

zini azalttığını göstermiş ve DPA'nın artmış kollajen sentezi üzerinde etkili olduğu sonucuna varmıştır (13). Lindberg ise, fare deri kültürlerinde, DPA alan ve almayan gruplar arasında, kollajen sentez hızında değişiklik saptamamış, ancak kollajen sentez hızının belirgin artmış olduğu embriyoner farelerde, DPA'nın sentez hızını azalttığını ortaya koymuştur (13).

Olgularımız içinde DPA kullanan 1'i aktif dönemde olmak üzere 5 Sc'lı olgu ile DPA kullanmayan Sc'lı 9 olguda, gerek idrar gerekse de deri Hpr değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. DPA kullanan hastalarda bir miktar düşük bulunan deri ve idrar Hpr değerleri, istatistiksel açıdan anlamsız bulunmuş, bu fark bize DPA'nın etkisinden çok, hastaların inaktif dönemde olması ile ilişkili gibi görülmüştür.

Ö Z E T

Raynaud semptomlu ve olası BDH bulguları gösteren olgulardaki, deri ve idrar Hpr içeriğinin, ileride gelişecek kesin bir BDH (Sc, SLE gibi) tanısına ne ölçüde katkıda bulunabileceğini, diğer bir deyişle, bu olguların doku ve idrar Hpr düzeylerinin, aktif veya inaktif Sc veya SLE'li olgu deri ve idrar Hpr değerlerine ne ölçüde yakın olduğunu belirlemek amacıyla başladığımız bu çalışmada, 43 hastanın deri ve idrar Hpr düzeyleri ölçülerek hastalık gruplarına göre değerlendirildi.

Sc ve SLE grubunda, kollajen sentez ve yıkımının arttığını gösteren bir bulgu olarak normal deri ve yükselmiş idrar Hpr değerleri bulmamıza karşın, olası BDH grubunda, yalnızca kollajen sentezinin arttığını gösterecek şekilde, yükselmiş deri ve normal idrar Hpr değerleri saptandı. Primer RF grubunda, deri ve idrar Hpr değerlerinin normal olması, kollajen metabolizmasında belirgin bir değişikliğin olmadığını göstermektedir.

Raynaud semptomlu olası BDH tanılı olguların, idrar ve deri Hpr değerlerinin, primer Raynaud semptomlu olgulardan, hatta idrar Hpr değerlerinin, kontrol grubundan farklı bulunmaması, bu parametrenin, RF prognozunda belirleyici olmayacağını göstermiştir. Ancak, RF gösteren ve olası BDH grubunda yer alan olgularda saptanan, kontrol ve primer RF olgularının deri Hpr değerlerine göre daha yüksek deri Hpr değerleri, kesin tanı doğrultusuna yön verecek düzeyde olmasa da, BDH tanısını güçlendirir bir parametre olarak görülmüştür.

K A Y N A K L A R

- 1-Cardelli MB, Kleinsmith DM: Raynaud's Phenomenon and Disease. Med Clin North Am. 73 (5):1127-1140, 1989.
- 2-Kallenberg CGM: Early Detection of Connective Tissue Disease in Patients with Raynaud's Phenomenon. Rheum Dis Clin North Am. 16 (1):11-30, 1990.
- 3-Lally EV: Raynaud's phenomenon. Current Opinion in Rheum. 4:825-836, 1992.
- 4-Jayson MIV: Systemic Sclerosis: a Collagen or microvascular disease?. Br Med J. 228:1855-1956, 1984.
- 5-Udenfriend S: Formation of hydroxyproline in collagen. Science. 152: 1335-1340, 1966.
- 6-Laitinen O: Clinical application of urinary hydroxyproline determination. Acta Med Scand. Suppl 1-57, 1974.
- 7-Prockop J, Kivirikko I, Tuderman L: The biosynthesis of collagen and its disorders (First of two parts). N England J Med. 301: 13-23, 1979.
- 8-Ziff M, Dresner E, Gribetz J: Excretion of hydroxyproline in patients with rheumatic and non-rheumatic diseases. J Clin Invest. 35: 579-587, 1956.
- 9-Harris A, Sjoerdsma A: Collagen profile in various clinical conditions. Lancet ii: 707-711, 1966.
- 10-Prockop J, Williams J, Wandenburg P: Collagen in Normal and Diseased Connective Tissue. Arthritis. Volume 1. (Eds: Mc Carty J, Koopman J). Lea-Febiger. Pennsylvania, 1993 USA. ss:213-227.

- 11-Seyer M, Kong H: Collagen and Elastin. Textbook of Rheumatology. Volume 1. (Eds: Kelly W, Harris E, Ruddy S, Sledge C), W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1989, USA. ss: 22-41.
- 12-Smiley J, Ziff M: Urinary hydroxyproline excretion and growth. *Physiol Rev.* 44: 30-44, 1964.
- 13-Herbert M, Lindberg A, Jayson M, Bailey A: Biosynthesis and maturation of skin collagen in scleroderma, and effect of D-Penicillamine. *Lancet* February: 187-191, 1974.
- 14-Mainardi C: Localized Fibrotic Disorders. Textbook of Rheumatology. Volume 2. (Eds: Kelly W, Harris E, Ruddy S, Sledge C) W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1989. USA. ss: 1245-1261.
- 15-Prockop J, Kivirikko I: Relationship of hydroxyproline in urine to collagen metabolism (Review). *Ann Int Med.* 66: 1243-1266, 1967.
- 16-Laitinen O, Nikkila A, Kivirikko I: Hydroxyproline in the serum and urine. *Acta Med Scand.* 179: 275-284, 1966.
- 17-Uitto J: A method for studying collagen biosynthesis in human skin biopsies in vitro. *Biochem Biophys Acta.* 201: 438-445, 1970.
- 18-Bakerman S: Quantitative extraction of acid-soluble human skin collagen with age. *Nature.* 196: 375-376, 1962.
- 19-Smith M, Ansell M, Bywaters L: Urinary hydroxyproline excretion in patients with juvenile arthritis, with and without corticosteroid therapy. *The Journal of Pediatrics.* 73: 875-881, 1968.

- 20-Harris D, Sjoerdsma A: Effect of penicillamine on human collagen and its possible application to treatment of scleroderma. *Lancet* ii: 996-999, 1966.
- 21-Cammarata J, Rodnan P: Urinary excretion of hydroxyproline in progressive systemic sclerosis (Abstract). *Clin Res.* 11: 179, 1963.
- 22-Tiselius P: Hydroxyproline excretion in the urine as a measure of anti-inflammatory effect in rheumatic patients using naproxen. *Scand J Rheum. Suppl.* 2:109-112, 1973.
- 23-Nusgens B, Lapiere M: The relationship between proline and hydroxyproline urinary excretion in human as an index of collagen catabolism. *Clinica Chemica Acta.* 48:203-211, 1973.
- 24-Laitinen O, Uitto J, Hannuksela M, Mustakallio K: Solubility and turnover of collagen in collagen diseases. *Annals of Clinical Research.* 1:64-73, 1969.
- 25-Harkness D, Marko A, Neuberger A: The metabolism of collagen and other proteins of the skin of rabbits. *Biochem J.* 56: 558-569, 1954.
- 26-Uitto J, Lorenzen IB: Solubility of skin collagen in normal human subjects and in patients with generalised scleroderma. *Clin Chem Acta.* 31: 13-18, 1971.
- 27-Prockop J, Kivirikko I, Tuderman L: The biosynthesis of collagen and its disorders (Second of two parts). *New England J Med.* 301: 77-85, 1979.
- 28-Uitto J, Hannuksela M, Kivirikko I: Protocollagen proline hydroxylase activity in the skin of normal human subjects

- and of patients with scleroderma. Scand J Clin lab Invest 23: 241-247, 1969.
- 29-Uitto J, Hannuksela M, Rasmussen D: Protocollagen proline hydroxylase activity in scleroderma and other connective tissue disorders. Annals of Clinical Research 2:235-239, 1970.
- 30-Kivirikko I, Prockop J: Hydroxylation of proline in synthetic polypeptides with purified protocollagen hydroxylase. J Biol Chem. 242: 4007-4012, 1967.
- 31-Klemperer P, Pollack D: Diffuse collagen disease JAMA. 119: 331-332, 1942.
- 32-Fleischmajer R: The collagen in scleroderma. Arch Dermatol 89: 437-441, 1964.
- 33-Fleischmajer R, Krol S: Chemical analysis of the dermis in scleroderma. Proc Soc Exptl Biol Med. 126:252-256, 1967.
- 34-Neldner H, Jones D, Winkelman K: Scleroderma: Dermal amino acid composition with particular reference to hydroxyproline. Proc Soc Exp Biol Med. 122:39-41, 1966.
- 35-Black M, Bottoms E, Shuster S: Skin collagen content and thickness in systemic sclerosis. Br J Derm. 83:552-5, 1970.
- 36-Guseva N, Risteli L, Risteli J, Kivirikko I: Markers of collagen and basement membrane metabolism in sera of patients with progressive systemic sclerosis. Annals Rheum Dis. 50: 481-486, 1991.
- 37-LeROY E: Pathogenesis of Systemic Sclerosis. Arthritis. Volume 2. (Eds: Mc Corty J, Koopman J) Lea-Febriger. Pennsylvania, 1993. USA. ss: 1293-1299.

- 38-Nimni M, Bauetta L: Collagen defect induced by penicillamine. Science. 150: 905-906, 1965.
- 39-Medsger A: Systemic Sclerosis, Localized Forms of Scleroderma and Calcinosis. Arthritis. Volume 2. (Eds: Mc Carty J, Koopman J). Lea-Febriger. Pennsylvania, 1993. USA. ss:1253-1292.
- 40-Kutay F, Mutaf I: Yaş a bağı mlı üriner hidroksiprolin düzeyleri. 1. Ege Geriatri Kongresi, 1992.
- 41-Bergman I, Loxley R: The determination of hydroxyproline in urine hydrolysates. Clin Chim Acta. 27: 347, 1970.
- 42-Bergman I, Loxley R: Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. Anal Chem. 35: 1961, 1963.
- 43-Haury VH: Zur routinemäßigen Bestimmung von Hydroxypiridin. Z Klin Chem und Klin Biochem. 1059:25, 1972.