

KOLLAGEN DOKU HASTALIKLARINDAN JÜVENİL ROMATOİD

ARTRİTTE

OKSİDATİF STRES FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Türkan GÜNEY

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

2008

KOLLAGEN DOKU HASTALIKLARINDAN JÜVENİL ROMATOİD ARTRİTTE
OKSİDATİF STRES FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Türkan GÜNEY

Dumlupınar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Kimya Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Sayit ALTIKAT

Şubat- 2008

KABUL VE ONAY SAYFASI

Türkan GÜNEY'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Kollagen doku hastalıklarından juvenil romatoid artritte oksidatif stres faktörlerinin araştırılması" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

/ / 2008

İmza:

Üye : Prof. Dr. Yunus ERDOĞAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Sayit ALTIKAT

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa YÖNTEM

Fen Bilimleri Enstitüsün Yönetim Kurulu'nun ... / ... / 2008 gün ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. M. Sabri ÖZYURT
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KOLLAGEN DOKU HASTALIKLARINDAN JÜVENİL ROMATOİD ARTRİTTE OKSİDATİF STRES FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Türkan GÜNEY

Kimya, Yüksek Lisans Tezi, 2007

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Sait ALTİKAT

ÖZET

Bu çalışmada, kollagen doku hastalıklarından olan Jüvenil Romatoid Artrit (JRA)' li çocuklarda, oksidatif enzim aktiviteleri araştırıldı. Kontrol grubu ve Jüvenil Romatoid Artrit' li çocukların oluşturduğu grup olmak üzere iki grup üzerinde çalışmalar yapıldı. Bu çalışmada iki gruptan kan numuneleri alınarak, bu numunelerin plazmalarında lipit peroksidasyon düzeyi belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyesi, antioksidan enzimlerinden katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin düzeyi araştırıldı. Jüvenil Romatoid Artrit (JRA)' li hastalarda, kontrol grubuna göre MDA düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olarak arttığı, CAT ve SOD aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) olarak azaldığı tespit edildi.

Sonuç olarak, Jüvenil Romatoid Artrit hastalığının, lipit peroksidasyonunu arttırarak ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek oksidatif stres oluşturduğu kararına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Jüvenil Romatoid Artrit (JRA), Katalaz (CAT), Süperoksit Dismutaz (SOD), Malondialdehit (MDA), Lipit peroksidasyonu, Oksidatif Stres.

RESEARCHİNG JUVENİLE ROMATOİD ARTHRİTİS OF STRES FACTORS İN THE AİLMENT OF KOLLAGEN İSSUE

Türkan GÜNEY

Chemistry, M. S. Thesis, 2008

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Sait ALTIKAT

SUMMARY

In this study, Juvenile Romatoid Arhtritis (JRA), which is in the kollagen issue illness, found with children oxidatif enzyme activities have been investigated. Studies has been done into groups consisting of control group and Juvenile Romatoid Artrit (JRA). In this study, taking blood samples from two groups, level of malondialdehyte (MDA) the measurement of lipid peroxidation from the plasma of these samples, level of one of the antioxidant enzymes, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activities, have been investigated. Patients with JRA acording to control group, the level of MDA has increased sigificantly ($p<0,05$) statically, catalase and superoxide dismutase activities decreased significantly ($p<0,001$) statically.

As a result, it is decided that Juvenile Romatoid Artrit (JRA) of ailment by increasing lipid peroxidation and inhibating activities of antioxidant enzymes.

Key Words : Juvenile Romatoid Artrit (JRA), Catalase (CAT), Superoxide Dismutase (SOD), Malondialdehyde (MDA), Lipid peroxidation, Oxidative Stress.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım esnasında beni yönlendiren, benden desteğini ve ilgisini esirgemeyen, bilgi ve hoşgörülerinden yararlandığım danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Sayın Sayit ALTIKAT 'a ve çalışmalarım için Jüvenil Romatoit Artrit'li hastalardan ve kontrol grubundan plazma temin eden, bilgi ve hoşgörülerinden yararlandığım, benden desteğini esirgemeyen Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesinden hocalarım Prof. Dr. Sayın Nurdan KURAL ve Yrd. Doç. Dr. Sayın Bilal YILDIZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında bana bu çalışma olanağını sağlayan Kimya Bölüm Başkanı Prof. Dr. Sayın Yunus ERDOĞAN' a, çalışmam sırasında yakın ilgi ve alakalarını gördüğüm, Kimya Bölümünün değerli hocalarıma, araştırma görevlisi ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Analizlerin yapılmasında yardımcı olan Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinden Yrd. Doç. Dr. Sayın Ahmet MAVİ' ye, istatistiksel analizlerin yapılması sırasında büyük emeği geçen Osmangazi Üniversitesi Biyoistatistik Bölümünden Arş. Gör. Sayın Ahmet MUSMUL' a, çalışmalarım boyunca yardım aldığım Arş. Gör. Sayın Halil İLKİMEN' e ve çalışmalarım sırasında yardım aldığım Sayın Halil İsa KURU'ya teşekkür ederim.

Ayrıca tüm hayatım boyunca yanımda olup beni her zaman destekleyen aileme saygı ve sevgilerimi sunarım.

Türkan GÜNEY

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. JRA' in Tanı Kriterleri ve Sınıflandırılması.....	3
2.2. JRA' in Tarihçesi.....	4
2.3. JRA' in Epidemiyoloji.....	5
2.3.1. JRA' in başlangıç yaşı.....	5
2.3.2. Cinsiyet oranı.....	5
2.3.3. Irk.....	5
2.4. Etyoloji.....	5
2.4.1. Enfeksiyonlar.....	6
2.4.2. Kalıtım.....	6
2.4.3. Travma-stres.....	6
2.4.4. Otoimmün bozukluklar.....	6
2.5. Patogenez.....	7
2.6. JRA' in Alt Grupları.....	9
2.6.1. Sistemik Başlangıçlı JRA (Still Hastalığı).....	9
2.6.2. Oligoartiküler JİA.....	10
2.6.3. Poliartiküler JİA.....	11
2.6.4. Jüvenil psoriatik artrit.....	11
2.7. Laboratuvar Bulguları.....	12
2.7.1. Kan Bulguları.....	12
2.7.2. Kompleman.....	14
2.7.3. Romatoid faktör.....	14
2.7.4. ANA.....	15
2.7.5. İmmuglobulinler.....	15
2.7.6. Sinovial sıvı.....	15
2.7.7. Kemik metabolizması.....	15
2.8. Ekstraartiküler Bulgular.....	16
2.8.1 Deri ve Derialtı Nodülleri.....	16
2.8.2. Lenfödem.....	16
2.8.3. Kas Hastalıkları.....	16
2.8.4. Kardiak Tutulum.....	16

İÇİNDEKİLER (Devamı)	Sayfa
2.8.4.1. Perikardit.....	16
2.8.4.2. Lenfadenopati ve Splenomegali.....	16
2.8.4.3. Hepatomegali.....	17
2.8.5. Gastrointestinal Tutulum.....	17
2.8.6. Nörolojik Tutulum.....	17
2.8.7. Endokrin ve Otoimmün Hastalık.....	17
2.8.8. Renal Tutulum.....	17
2.8.9. Amiloidoz.....	17
2.8.10. Üveit.....	17
2.9. Radyolojik Bulgular.....	18
2.10. Ayırıcı Tanı.....	18
2.10.1. Sistemik Başlangıçlı JRA' in Ayırıcı Tanısı.....	18
2.10.2. Oligoartiküler JRA'nın Ayırıcı Tanısı.....	19
2.10.3. Poliartiküler JRA'nın Ayırıcı Tanısı.....	19
2.11. Tedavi.....	20
2.11.1. NSAİİ.....	20
2.11.2. Aspirin.....	23
2.11.3. Kortikosteroidler.....	23
2.11.4. İntravenöz İmmüoglobulin (İVİG).....	24
2.11.5. Monoklonal Antikorlar.....	24
2.11.6. Metotreksat.....	24
2.12. Prognoz.....	25
3. SERBEST RADİKALLER.....	26
3.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Oluşumu.....	26
3.2. Serbest Radikallerinin Etkileri ve JRA Patogenezindeki Yeri.....	27
3.3. Serbest Oksijen Radikalleri.....	29
3.3.1. Süperoksit Radikali (O_2^-).....	30
3.3.2. Hidroksil Radikali (HO^{\cdot}).....	31
3.3.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2).....	31
3.3.4. Singlet oksijen (1O_2).....	32
3.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Rollerini.....	32
3.5. Serbest radikallerin membran lipidlerine etkileri.....	32
3.6. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri.....	35
3.7. DNA hasarı.....	35
3.8. Oksidatif Stres.....	35
3.8.1. Oksidatif stres kaynakları.....	36
3.9. ROS ve Diğer Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri.....	36
3.9.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar.....	38
3.9.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	38
3.9.1.2. Katalaz (CAT).....	39
3.9.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).....	40

İÇİNDEKİLER (Devamı)	Sayfa
3.9.1.4. Tiyoredoksin redüktaz.....	40
3.9.1.5. Glutasyon Redüktaz.....	40
3.9.1.6. Glutasyon-S-Transferaz (GST)	40
3.9.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Sistemleri.....	41
3.9.2.1. Glutasyon (GSH)	41
3.9.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)	41
3.9.2.3. Vitamin E (Tokoferol)	42
3.9.2.4. Vitamin A (Retinol) ve β -Karoten.....	43
3.9.2.5. Melatonin.....	44
3.9.2.6. Ürik Asit.....	44
3.9.2.7. Albümin.....	44
3.9.2.8. Sistein.....	44
3.9.2.9. Bilirubin.....	45
3.9.2.10. Seruloplazmin.....	45
3.9.2.11. Ferritin, Transferrin ve Laktoferrin.....	45
3.9.2.12. Haptoglobin ve Hemopeksin.....	45
3.9.2.13. Mannitol.....	46
3.9.2.14. Oksipurinol.....	45
3.9.2.15. Probukol.....	45
3.9.2.16. Desferroksamin (DFO)	45
3.9.2.17. Lipoik Asit.....	46
3.9.2.18. Flavonoidler.....	46
4. MATERYAL VE METOD.....	47
4.1. Denejde Kullanılan Materyaller.....	47
4.1.1. Kullanılan cihazlar.....	47
4.1.2. Kullanılan kimyasallar.....	47
4.1.3. Denejlerde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı.....	48
4.2. Plazmada Yapılan İncelemeler.....	49
4.2.1 SOD aktivite tayini.....	49
4.2.1.1. Prensip.....	49
4.2.1.2. Metot.....	50
4.2.2. Lipid peroksidasyonu tayini.....	51
4.2.2.1. Prensip.....	51
4.2.2.2. Metot	51
4.2.3. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini	52
4.2.3.1. Prensip.....	52
4.2.3.2 Metot	52
4.2.3.3. Katalaz aktivitesi hesaplanması	53
4.2.4. Total Protein Tayini.....	53
4.2.5. İstatistiksel Analiz.....	54
5. BULGULAR.....	55
6. TARTIŞMA.....	60
KAYNAKLAR.....	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. JRA' da patogenezi ve immünolojik değişiklikler	8
2.2. Prostaglandin biyosentezi	22
2.3. Enflamasyon Mekanizması	22
3.1. Vücuttaki serbest radikallerin etkileri ve kaynakları	26
3.2. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu	30
3.3. Lipid peroksidasyonu	33
3.4. LPO aracılığı ile oluşan hücre hasarı	34
3.5. Oksidatif stres belirteçleri havuzunu etkileyen faktörler	37
3.6. Oksijenin suya dönüşümü.....	39
4.1. Protein standart grafiği	53
5.1. Kontrol ve JRA' lı hasta grubu MDA düzeyi Ortalama ve standart sapma değerleri	58
5.2. Kontrol ve JRA' lı hasta grubu CAT düzeyi Ortalama ve standart sapma değerleri	59
5.3. Kontrol ve JRA' lı hasta grubu SOD düzeyi Ortalama ve standart sapma değerleri	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Jüvenil Romatoid Artrit olarak teşhis edilme kriterleri	3
2.2. Jüvenil Kronik Artrit olarak teşhis edilme kriterleri	4
2.3. Jüvenil İdiopatik Artrit olarak teşhis edilme kriterleri	4
3.1. Reaktif oksijen türlerinin simgeleri ve elektron yapıları	29
4.1. 50 µl'lik numune hacmi göz önünde bulundurularak hazırlanmış SOD aktivitesi ölçüm prosedürü	51
4.2. MDA ölçümünde işlem basamakları	52
4.3. Katalaz (CAT) aktivitesi ölçme yöntemi	52
4.4. Total protein ölçümünde işlem basamakları	53
5.1. Jüvenil romatoid artritli hastalarının MDA, CAT, SOD değerleri	55
5.2. Kontrol grubu MDA, CAT, SOD değerleri	57
5.3. Gruplar arasında değerlerin karşılaştırılması	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
CO ₂	Karbondioksit
HO·	Hidroksil radikali
HO ₂ ·	Hidroperoksi radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
6-OHDA	6-hidroksi dopamin
LOO·	Lipit peroksit radikali
O ₂	Moleküler oksijen
ONOO·	Peroksinitrit radikali
NO·	Nitrikoksit radikali
NO ₂	Azot dioksit
NO ₂ ·	Azot dioksit radikali
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
GP-x	Glutasyon peroksidaz
GSH	Redükte glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
GST	Glutasyon -S- transferaz
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
NADP ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat
NOS	Nitrit oksit sentetaz
OS	Oksidatif stres
JRA	Jüvenil Romatoid Artrit
RA	Romatoid Artrit
JIA	Jüvenil İdiopatik Artrit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devamı)**Kısaltmalar****Açıklama**

JKA	Jüvenil Kronik Artrit
ACR	Amerikan Romatoloji Cemiyeti
EULAR	Avrupa Romatizma Birliği
ILAR	Uluslar Arası Romatizma Birliği
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
NSAİİ	Non Steroid Anti İnflamatuvar İlaç
TBA	Tiyobarbütirik asit
SLE	Sistemik Lupus Eritamatoz
ANA	Anti Nükleer Antikor

1.GİRİŞ

Jüvenil İdiopatik Artrit (JIA); çocukluk çağında başlayan (=jüvenil), primer olarak en az 6 haftadır süren ve o zamana dek nedeni ortaya konamamış (idiopatik) artrit ile karakterli bir hastalıktır.

JRA' in etiopatogenezi tam olarak bilinmemektedir. Kronik sinovyal inflamasyonun ve devamında rolü olduğu belirtilen birçok faktör vardır. Bunlardan biride serbest oksijen radikalleridir.

Serbest oksijen radikalleri, hücrede mitokondriyal solunum ve bazı enzim aktiviteleri sırasında fizyolojik olarak oluşan moleküllerdir. İmmün sistemin sağlıklı çalışması, hücre savunması ve mikroorganizmaların öldürülmesinde serbest oksijen radikallerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle, serbest oksijen radikallerini değerlendirirken doğal olarak da oluştuğu ve reaksiyonlarda fonksiyon aldıkları bilinmektedir. Ama bazı patolojik durumlarda bu dengenin bozulduğu unutulmamalıdır [1].

Normal koşullarda süperoksit dismütaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) gibi enzimlerle veya E, A, C vitamini, β -karoten, selenyum gibi enzim olmayan antioksidan maddelerin içine girdiği mekanizmalarla serbest oksijen radikalleri ortamdan uzaklaştırılır.

Artmış serbest radikal yapımı eğer antioksidan mekanizmalar yetersiz kalırsa vücudumuza zarar verir. Buna oksidatif stres denilmektedir. Eğer bu hafif bir artışta doku antioksidan savunmasını artırarak yanıt verir, ancak ağır bir oksidatif stres mevcutsa hücre hasarı meydana gelir ve hücre ölür. Ateroskleroz, RA, diabet, miyokard enfaktüsü, sepsis, erişkin tip respiratuvar distres sendromu, bronkopulmoner displazi ve prematüre retinopatisi gibi pek çok hastalıkta serbest radikaller suçlanmaktadır [2].

Romatoid artrit RA ile serbest oksijen radikalleri arasındaki ilişki ilk defa 1974'te Mc Cord'un çalışmasından sonra dikkati çekmiştir. Bu çalışmada RA' lı hastalarda hem serumda hemde sinovyal sıvıda viskozitenin azaldığı ve aynı etkinin süperoksit radikali ile karşılaşan sinovyal sıvı ya da hyalüronik asit solüsyonlarında da ortaya çıktığı gösterilmiştir [3].

Romatoid artrit patogenezinde serbest oksijen radikallerinin önemli bir yer tuttuğu konusunda çok sayıda çalışma vardır. JRA' da az sayıda çalışma olmakla birlikte giderek artmaktadır [4].

Serbest radikaller oldukça kısa yarı ömre sahiptir. Bu özellik laboratuvar şartlarında ölçümlerini zorlaştırmaktadır. Radikaller direk olarak elektron spin rezonans ve spin trapping metotlarla ölçülebilir [5-7]. Ancak bu metotlar yapılması güç metotlardır. Bu metotlardan ziyade serbest radikallere bağlı oluşan ürünlerin ölçümü daha pratik ve daha kolaydır. Serbest radikallerin en iyi bilinen etkileri lipid peroksidasyonudur. Yağ asitleri peroksidasyona uğradığında aldehitlere dönüşür ve bu aldehitler çeşitli yollardan vücuttan atılır. Thiobarbituricasit reacting substance (TBARS), gibi aldehitler günümüzde serbest radikal ölçümünün en kabul gören ve en yaygın kullanılan belirteçidir [8]. En sık ölçülen TBARS ise MDA'dır.

JRA tedavisinde kullanılan Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçların (NSAİİ) ortak özelliği, araşidonik asit metabolizmasına olan etkileridir. Prostaglandinler, hücre membranında bulunan fosfolipidlerden fosfolipaz A'nın etkisiyle oluşan araşidonik asitten meydana gelir. Araşidonik asit siklo-oksijenaz ve lipo-oksijenaz yoluyla metabolize edilir. Siklo-oksijenaz yoluyla prostasiklin, prostaglandin ve tromboksan (prostanoidler) oluşur. NSAİİ'ler siklo-oksijenaz enzimini inhibe ederek prostanoidlerin oluşumunu ve bunların oluşturduğu inflamasyon bulgularını engeller [9]. Sonuçta siklooksijenazın inhibisyonu inflamasyona neden olan prostanoidlerin ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunu önler.

Bu çalışma, kollagen doku hastalıklarından olan Jüvenil Romatoid Artrit (JRA) in akut dönemlerinde, oksidatif enzim aktivitelerinin araştırılması, sonuçta bu dönemlerin tanı ve takibinde bu enzimlerin ve biyokimyasal parametrelerin işlevsellik kazanılmasının teminini sağlamak amacıyla yapıldı. Bu amaçla, JRA'lı hastalarda ve kontrol grubunda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), ve malondialdehit (MDA) aktivitelerinin ölçülerek, karşılaştırılması hedeflendi.

2.GENEL BİLGİLER

Jüvenil romatoid artrit çocuklarda en sık görülen romatolojik hastalıktır. Birçok sistemdeki klinik bulguların yanı sıra en önemli özelliği kronik inflamatuvar sinovittir. Sinovyal inflamasyon, erken dönemde tanınmazsa kıkırdak dokusunda harabiyet, kemik erazyonlarına ve sonuçta eklem deformitesine kadar giden sakatlıklara neden olabilir [10,11].

2.1 JRA' in Tam Kriterleri ve Sınıflandırılması

Çocukluk çağıının en çok görülen ve en sık sakatlık nedeni olan romatizmal hastalığı jüvenil idiopatik artrit (JIA). Bu hastalığın ismi konusunda yıllarca süren tartışma günümüzde de halen devam etmektedir. Amerikan Romatoloji Cemiyeti'ne (ACR) göre Jüvenil Romatoid Artrit (JRA) [12] , Avrupa Romatizma Birliği'ne (EULAR) göre Jüvenil Kronik Artrit (JKA) [13], Pediatrik Daimi Komitesinin Sınıflandırma Toplantısında Uluslar Arası Romatizma Birliği'ne (ILAR) göre Jüvenil İdiopatik Artrit (JIA) [14] terimi kabul edilmiştir.

Çizelge 2.1: Jüvenil Romatoid Artrit olarak teşhis edilme kriterleri

1. Başlangıç yaşı < 16
2. Artrit: Şişlik veya efüzyon veya ağrılı veya kısıtlı eklem hareket, duyarlılık ve sıcaklık artışı
3. Hastalık 6 hafta veya daha fazla sürer.
4. Tip tayini ilk 6 aydaki eklem tutulumu ve diğer bulgulara göre yapılır.
 - a. Poliartiküler : 5 veya daha fazla eklem tutulumu
 - b. Oligoartiküler : 5 eklemden daha az tutulum
 - c. Sistemik : Tipik ateş ile birlikte artrit
5. Artrit yapan diğer hastalıkları dışlama [15].

Çizelge 2.2 Jüvenil Kronik Artrit olarak teşhis edilme kriterleri

1. Başlangıç yaşı < 16
2. Artrit bir veya daha fazla eklemi kapsar
3. Hastalık 3 ay veya daha fazla sürer.
4. Alt grupları
 - a. Poziartiküler : 5 eklemden daha az tutulum
 - b. Poliartiküler : 4 eklemden daha fazla tutulum
 - c. Sistemik : Tipik ateş ile birlikte artrit
 - d. Jüvenil romatoid artrit tutulum 4 eklemden fazla ise romatoid faktör pozitif
 - e. Jüvenil ankilozan spondilit
 - f. Jüvenil psoriatik artrit [16].

Çizelge 2.3 Jüvenil İdiopatik Artrit olarak teşhis edilme kriterleri

1. Sistemik
2. Oligoartrit
3. Poliartrit (Romatoid faktör pozitif)
4. Poliartrit (Romatoid faktör negatif)
5. Psoriatik artrit
6. Entezit bağlantılı artrit
7. Ayırt edilmemiş artrit [17].

2.2 JRA' in Tarihçesi

Kronik inflamatuvar artrit ilk defa 1864 yılında 12 yaşından beri artritli olan 29 yaşında bir kadında tanımlanmıştır. 1890 yılında kronik artritli çocuklarda büyüme bozuklukları ilk kez Cronil ve Diamestberg tarafından bildirilmiştir. Bunu izleyerek 1897'de Dr. George F. Stil tarafından yapılan titiz çalışma ile çocuklardaki artritinin yetişkinlerdeki romatoid artritinden oldukça farklı olduğu gösterilmiştir [11,18,19].

2.3 JRA'in Epidemiyoloji

Hastalıkların epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi genetik ve çevresel faktörlerin hastalık üzerindeki etkisini saptamada, tedaviye yaklaşımda ve koruyucu halk sağlığının geliştirilmesinde önemlidir. Çocukların % 7-8'i eklem ağrısından yakınırken bunların ancak %1' inde süregen artrit gelişir [19-30].

Jüvenil idiyopatik artrit görülme sıklığı ülkeden ülkeye farklılıklar göstermektedir. Bu konuda birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen hastalığın net bir insidans ve prevalans değeri bulunamamıştır. Yapılan çalışmalarda çeşitli ülkelerde saptanan ortalama insidans 9,2-25/100.000, ortalama prevalans ise 12-113/100.000 olarak bulunmuştur [31].

2.3.1 JRA'in başlangıç yaşı:

JRA 'in 16 yaşından önce başladığı tanımlanmıştır. Belirgin olarak 6 aylıktan önce başlaması alışılmış değildir. Bununla birlikte çeşitli başlangıç yaşları olduğu düşünülmesine rağmen, en sık 1-3 yaşları arasında ortaya çıkmaktadır [32-42].

2.3.2 Cinsiyet oranı:

JRA ile ilgili olarak yapılan epidemiyolojik çalışmalarda saptanan önemli bulgulardan birisi de hastalığın dağılımının ve alt gruplarının özellikle farklı etnik gruplarda ve sosyoekonomik düzeylerde değişiklik göstermesidir. JRA gelişmiş ülkelerde özellikle kızlarda, gelişmekte olan ülkelerde ise erkeklerde daha sık görülmektedir [18-27,43-46].

Genel olarak JRA, kızlarda erkeklerden iki kat daha fazla görülmektedir. Oligoartiküler tipte kız/erkek oranı daha da artarak 3:1 olur; eğer üveit ile birlikteyse bu oran 5:1'e kadar çıkmaktadır. Poliartiküler tip kızlarda 2.8 kat daha fazla görülmektedir. Sistemik başlangıçlı JRA'da ise cinsiyet farkı yoktur [10].

2.3.3 Irk:

JRA beyaz ırkta zencilerden daha fazla görülmektedir. Fakat bu konuda yapılmış istatistiksel bir çalışma yoktur.

2.4 Etyoloji

Jüvenil romatoid artrit başlığı altında toplanan klinik tabloların etyopatogenezi tam olarak bilinmemektedir. Fakat iki ana neden üzerinde durulmaktadır. Bunlardan birincisi hastalarda bulunan immünolojik yatkınlık, ikincisi ise çevresel nedenlerdir. Çevresel nedenler

içinde en çok suçlanan enfeksiyonlar olmakla birlikte stres ve travma da etyolojide önemli rol oynamaktadır.

Hastalığın olası nedenleri şunlardır:

2.4.1 Enfeksiyonlar:

Bazı araştırmacılar, hastaların %19-57 'sinde çocuğun JRA'e yakalanmadan önce bir enfeksiyon geçirdiğini savunmaktadır. Streptokoklarla ilişkili kuşular JRA'lı hastaların %30'unda saptanan yüksek ASO bulgularından kaynaklanmaktadır. Bu bulgular, her çocukta olabilen, öbür çocukluk hastalıklarında görülebilen ve özgül olmayan değişikliklerdir [47].

T hücre lenfotropik virüs, sitomegalovirüs, herpes virüs ve mikoplazma etyolojik ajan olarak suçlanmaktadır. Parvovirüs B19 ve persistan rubella enfeksiyonu ile kronik artrit arasında ilişki olduğu bilinmektedir. B-hemolitik streptokoklar ve enterik çomaklar Salmonella, (Shigella, Campylobacter ve Yersinia) reaktif artrit nedenleridir [48-50].

2.4.2 Kalıtım:

JRA' e tek ve çift yumurta ikizlerinde anne, baba ve çocuklarda yapılan çok yönlü çalışmalar sonucu genetik predispozisyon saptanmıştır. Ancak kesin bir ilişki kanıtlanmamıştır [51-53].

2.4.3 Travma-stres:

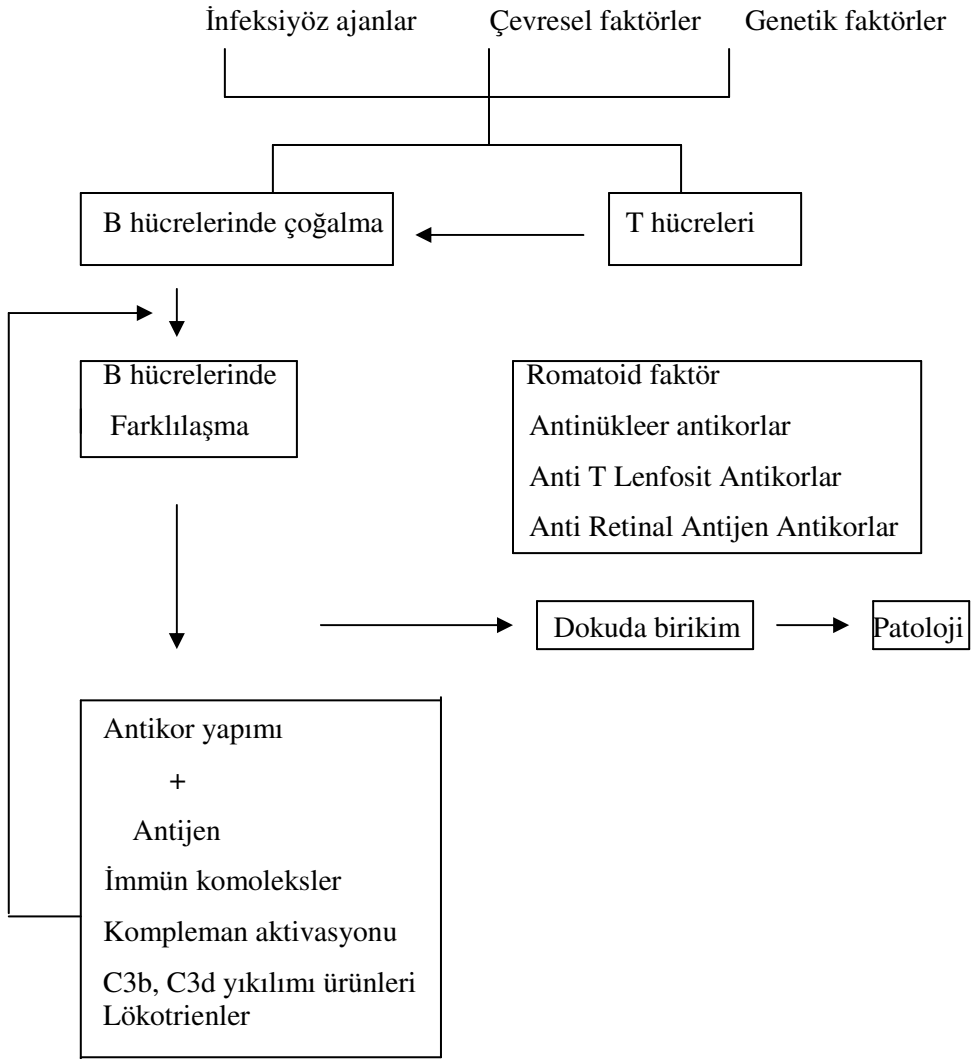
JRA'in ortaya çıkmasını kolaylaştıran etkenler arasında travmaların rolü de düşünülmüştür. Bazı araştırmacılar JRA' i psikosomatik bir hastalık olarak değerlendirme eğilimindedirler. Ancak eklemlerde sakatlığa kadar götürebilecek patolojik değişiklikler yapan kronik bir hastalıkta, hastalarda ruhsal bozukluklar olması çok normaldir. Yani ruhsal bozukluklar bir neden değil bir sonuçtur [47].

2.4.4 Otoimmün bozukluklar:

Aktif lenfosit ve makrofajların sinovyaya infiltrasyonu ve bu hücrelerden salınan sitokinlerin JRA'de rol oynadığı düşünülmektedir [48]. Makrofajlardan salınan sitokinlerin arasında TNF- α lokal (Tümör Nekroz Faktör- α lokal) inflamasyon ve doku hasarının gelişiminde önemli rol oynamaktadır [54]. TNF- α etkisini hücre yüzeyindeki iki reseptörü ile göstermektedir. Bunlar, TNFR1 (p55) ve TNFR2 (P75) dir [55].

2.5 Patogenez

RA sinoviumda kronik nonsüpüratif inflamasyonla karakterizedir. Mikroskopik olarak sinovial dokular ödemli hiperemik, lenfosit ve plazma hücreleri ile infiltridir. Eklem sıvısının gittikçe artan bir şekilde salgılanması eklemden efizyona sebep olur. Kalınlaşan sinovial membran villusları oluşturarak eklem aralıklarına doğru akıntı yapar. Hiperplastik ramotoid sinovium üstünü örten artiküler kıkırdağa yapışır (Pannus farmasyonu). Sinovitin devamıyla artiküler kıkırdak erezyona uğrar. Progressif bir şekilde yıkılır. Artiküler kıkırdağın ve diğer eklem yapılarının kronik proliferatif sinoviumla birlikteki yıkımındaki mekanizma bilinmemektedir. Eklem yıkımına neden olan sinovitten önceki süre hastadan hastaya değişmektedir. Genellikle JRA seyrinde artiküler kıkırdağa devamlı zarar erişkin tip hastalığa oranla daha geç meydana gelir ve birçok JRA'lı çocukta uzayan sinovite rağmen devamlı eklem hasarı hiçbir zaman olmaz. Bir defa eklem yıkımı başlayınca, subkondrol kemikte erezyonlar, eklem aralarında daralma (artiküler kıkırdağın kaybı) kemik yıkımı veya füzyonu ve deformite , eklem subluksasyonu(yarı çıkma hali) ve ankilozu (birbirine kaynaşma) meydana gelebilir. Tenosinovit ve myozit olabilir, osteoporos, periostit, epifiziel büyümenin hızlanması ve epifizin erken kapanması gibi fenomenler tutulan eklem ek olarak oluşabilir. Romatoid nodüller çocuklarda erişkinlere oranla daha sık görülüp; kronik inflamatuvar hücreler ile çevrili fibronoid madde ile, karakterizedir. Hücrelerin çit tarzında kuşatma göstermesi ve nekroz, erişkinlerdeki romatoid nodüllere oranla daha az belirgindir. Pleura, perikard ve peritonda spesifik olmayan fibrinoz serozit olabilir, nadiren de ilerlemesi söz konusu olabilir. Romatoid döküntü histolojik olarak subepitelyal ufak damarları kuşatan birkaç inflamatuvar hücre ile ortaya çıkan orta derecede bir vaskülitir [56].



Şekil 2.1 JRA' da patogenez ve immünolojik değişiklikler

2.6 JRA' in Alt Grupları

1. Sistemik artritler
2. Oligoartritler
3. Poliartritler
4. Psöriatik artrit.

2.6.1. Sistemik Başlangıçlı JRA (Still Hastalığı)

Gelişmiş ülkelerdeki JİA'lı hastaların yaklaşık %10-20'sini sistemik JİA oluşturmasına karşın ülkemizdeki en büyük JİA alt grubudur. Aralıklı karakterli yüksek ateş ve diğer eklem dışı bulgularla karakterizedir. Kız-erkek görülme oranı eşittir. Etkilenen çocuklar genellikle 4 yaşından küçük olmakla birlikte herhangi bir yaşta da hastalık görülebilir. Ateş karakteristik olarak günde bir ya da iki kez 39.5 dereceye kadar yükselir. Daha sonra normale hatta normalin altına bile iner. Ateş gün içinde sabah ve akşam olmak üzere 2 kez pik yapar. Hastaların çoğunda ateşle beraber vücudun herhangi bir bölümünde, çoğunlukla gövde ve proksimal ekstremitelerde pembe renkli, ateşin düşmesi ile beraber kendiliğinden sönen; bazen kaşıntılı olabilen tipik olarak maküler, ortası soluk, bir santimetreden küçük döküntüler ortaya çıkar. Koebner işareti pozitif olabilir. Ateş pikleri hastalığın başlangıç dönemlerinde tipik olmayabilir. Çoğunlukla tedavi başladıktan sonra da karakteristik ateş pikleri görülebilir. Diğer sistemik bulgular yorgunluk, iritabilite, uykuya eğilim ve kas ağrılarıdır. Bu belirtiler genellikle ateşin yükselme döneminde görülür. Ateşin düşmesi ile birlikte bu yakınmalar kaybolur. Hastaların çoğuna yakın bölümünde belirgin miyalji, artralji veya geçici artrit özellikle ateşli atak sırasında görülebilir. Bu belirtiler ateşin düşmesi ile geriler. Bazen hastalık sırasında, bir kısmında persistan artrit görüldüğü multipl eklem tutulumun olduğu hem küçük hem de büyük eklemlerin tutulduğu poliartiküler tip gelişebilir. Eklem tutulumu başlangıçta oligoartitiküler olmasına karşın zaman içinde hastalık çoğunlukla poliartiküler tipe dönüşür. Tutulan eklemler, çoğunlukta diz, dirsek, el-ayak bileği ve kalça eklemleri olmakla birlikte herhangi bir küçük eklem de tutulabilir. Hastaların yaklaşık üçte birinde belirgin lenfadenopati ve / veya hepatosplenomegali görülür. Yangısal sürece bağlı olarak karaciğer enzimlerinde hastalığın aktif döneminde hafif yükseklik saptanabilir. Plörezi ve özellikle de perikardit hastaların yaklaşık % 50 sinde görülür. Buna rağmen hastaların çoğu asemptomatiktir. Perikardit ve miyokardit steroid tedavisine çok hızlı yanıt verir. Artrit ise bu semptomlara eşlik edebilir, ya da haftalar veya aylar sonra ortaya çıkabilir ve tanıyı zorlaştırabilir. Sistemik artriti olan hastalarda genellikle semptomların şiddeti daha belirgindir. Ancak nadiren ciddi ağrıları olur. Bu durumda malignite şüphesi dışlanmalıdır. Sistemik artriti olan hastaların çoğu serözit

ile başvurabilirler. Bunların % 33'ü perikardittir. Ateş ve diğer semptomlar nadiren aylarca sürebilir ancak 6 aydan daha fazla sürekli olması nadirdir [18-27, 43-45].

2.6.2 Oligoartiküler JİA

Gelişmiş ülkelerde en sık görülen JİA alt grubudur. Hastaların üçte ikisini kızlar oluşturur. Hastalık genellikle 1 ve 4 yaşları arasında başlar. Oligoartiküler tip, hastalığın seyri süresinde yeni eklem tutulumu olup olmamasına göre iki alt grupta değerlendirilir:

a. Persistan oligoartiküler JİA : 6 aydan sonra da tutulan eklem sayısı 4 veya daha az ise hasta bu kategoride değerlendirilir.

b. Uzamış (extended) oligoartiküler JİA : 6 aydan sonra tutulan eklem sayısı giderek 5'i aşarsa hasta bu gruba alınır [18-27, 43-45].

Oligoartiküler tutulum genellikle 6 yaşından önce başlar ve özellikle kız çocuklarında görülür (5:1). Nadiren başlangıç yaşı 7 yaşını geçer. Hastaların tümünde RF negatiftir, % 70 kadarında ise ANA pozitif bulunur. Daha çok alt taraf eklemleri asimetrik olarak tutulur. En sık diz, ayak bileği hastalığa katılırken kalça tutulumu çok nadirdir. Küçük eklemlerde de artrit nadiren görülebilir. Erken dönemde ufak eklem tutulumu hastalık seyriinde tutulan eklem sayısının artabileceğini ya da sedef artropatisi gelişebileceğinin habercisi olabilir. Bazen sadece tek eklem tutulumu da olabilir (monoartrit). Eklem bulguları genellikle geriler, ciddi bir fonksiyon kaybına yol açmaz. Yakınmalar sinsi veya ani başlangıçlı olabilir. İlk yakınma genellikle dinlenme sonrası topallamadır. Hasta genellikle başlangıçta bunun farkında değildir. Sabah sertliği geçtikten sonra hasta koştuğunda topallama daha belirgin hale gelir. Eklemde şişlik , kızarıklık, ısı artışı da görülebilir. Ateş, yorgunluk ve kilo kaybı gibi genel hastalık belirtileri nadiren görülür [18-27, 43-45].

Bu grupta temel sakatlık nedeni eklemde çok göz tutulumudur. Çocukların ortalama dörtte birinde sinsi olarak başlayan kronik ön üveit (iridosiklit) ortaya çıkmaktadır. Erken tanı konmaz ve tedavi edilmezse band keratopati, katarakt ve giderek körlük gelişebilir. Ancak elimizde göz tutulma riski taşıyan çocukları önceden belirleme olanağı vardır. Bu çocukların %95'inde antinükleer antikor (ANA) pozitif olarak bulunmaktadır. Özetlersek, 6 yaşından küçük bir çocukta, özellikle kız çocuğunda, 1-4 eklemde artrit saptanırsa ve bu çocuk ANA pozitif ise onda kronik ön üveit riski % 80 civarındadır. Bu nedenle bu çocukta yakınma olsun olmasın 3 ayda bir biomikroskop yardımıyla üveit taraması yapılması ana koşuldur. Bu ilişki gösterildiğinden beri bu hastalarda üveite bağlı ciddi görme kaybı sıklığı anlamlı olarak

azalmıştır. Türk JİA'lı hastalarda üveit sıklığı ve ANA pozitifliği Batı ülkelerinden bildirilen serilere göre daha azdır [19-23, 46].

Oligoartiküler erken başlangıçlı hastaların %70 'inde antinükleer antikor pozitifliği ile birlikte romatoid faktör genellikle negatiftir. Hastalığın akut epizodik dönemi dışında akut faz yanıtı genellikle belirgin değildir. Aktif artrit durumunda hafif anemi ve hafif lökositoz görülebilir [18-27, 43-45].

2.6.3 Poliartiküler JİA

Poliartrit JİA'lı hastaların yaklaşık %30-40'ında görülür. Bu grupta 5 ve/veya daha fazla eklem tutulumu vardır. Hastaların yaklaşık %75'i kızdır. Hastalık 1-3 ve 8-10 yaşlarında yoğun olarak görülür. Hastalık RF pozitif veya negatif olmak üzere 2 alt gruba ayrılır. RF negatif hastalık tüm JİA'luların % 20-30'unu, RF pozitif hastalık ise tüm JİA'luların % 5-10'nunu oluşturur. RF negatif poliartrit herhangi bir yaşta görülebilir. Ancak çoğunlukla erken çocukluk yaşlarında ortaya çıkar. Ancak RF pozitif hastalık 8 yaşından önce nadiren görülür. Her iki grupta da kızlar daha çok etkilenir. RF pozitif olan hastaların % 80 'i erişkin tip romatoid artrite benzer. Bununla beraber RF negatif olan hastaların ancak %20 'si erişkin romatoid artrite benzer. Her iki gruptan hastaların tipik olarak yorgunluk hafif ateş, hafif kilo kaybı ve anemiye ait bulgu ve semptomları vardır. Ayrıca hastalarda orta derecede hepatosplenomegali ve hafif düzeyde büyüme geriliği görülebilir. Herhangi bir sinovyal eklem tutulumu olabilir. Ancak lumbotorasik eklem tutulumu çoğunlukla yoktur. Artrit başlangıçta simetrik olabilir, bazen de asimetrik poliartrit görülebilir. Başlangıçta bir kaç eklem tutulumu şeklinde başlayıp zamanla poliartrit şeklini alır. Elin küçük eklem tutulumu (özellikle proksimal küçük eklemler ve metakarpofalengeal eklemler) ve el bileği eklemlerinin simetrik olarak tutulumu tipiktir. Aynı zamanda ayakların küçük eklem tutulumu, daha az sıklıkta olsa bile görülebilir. Daha büyük eklem tutulumu, kalça, boyun, omuz, temporomandibuler eklem tutulumu hastaların yaklaşık % 50'sinde görülebilir. Zamanla servikal spinal eklem tutulumu füzyonlara, C1 ve C2 subluksasyonlarına ve buna bağlı spinal kord basısına yol açabilir ve buna bağlı bağlı semptomlar görülebilir. Kalça tutulumu özellikle ağır olabilir ve 20 yaşından önce eklem replasmanına ihtiyaç duyulabilir. Başlangıçta üveit olmamakla birlikte hastaların %5'inde sonradan üveit gelişebilir [18-27, 43-45].

2.6.4 Jüvenil psoriatik artrit

Sedef artropatisi daha önce seronegatif spondilartritler grubunda ele alınmaktaydı. Giderek daha iyi tanımlanması sonucu, kendi ismi ile anılabilecek kadar belirleyici özellikleri

olduğu kararına varıldı. Sadece spondilit ve sakroileit ile seyreden tipi yine jüvenil spondilartritler arasında değerlendirilmektedir. Genellikle 9-12 yaşları arasında başlar ve kız çocuklarında erkeklere oranla biraz daha sık görülür (3:2). Southwood'un önerdiği jüvenil psöriatik artrit (JPsA) tanı ölçütleri şöyledir: Majör olanlar artrit ve tipik sedef plakları, minörler ise daktilit, yüksük tırnak, sedefe benzer döküntü, ailede sedef öyküsünün bulunmasıdır. Kesin JPsA için 1 majör artı 3 minör ya da 2 majör kriter gerekmekte, olası tanı içinse 1 majör artı 2 minör yetmektedir (Southwood) . Artrit %50 olguda cilt lezyonlarından önce ortaya çıkar. Eklem tutulumu değişik klinik tablolar gösterir. Tipik olarak küçük eklemleri tutan asimetrik bir oligo- veya poliartrit olarak başlar. Distal interfalangeal (DİF) eklem tutulumu sedef artritini düşündürür. Genellikle bir ya da birkaç parmağın hem MCF, hem PİF hem de DİF eklemi birden tutulur ve sosis parmak denen görüntü ortaya çıkar. Bu görüntü artrit yanında fleksör tenosinovit ile de oluşur. Hastaların %20-40 kadarında bu klinik tablo vardır. Etkilenen parmakta tırnaklarda çukurcuklar görülür (nail pitting). Bazı hastalarda ise sero-pozitif poliartiküler JİA'dakine benzer simetrik poliartrit ile karşımıza gelebilir. Hastaların bir bölümünde ise sakroileit ve spondilit tipi tutulum olabilir. Sakroileit genellikle tek taraflıdır. Jüvenil psöriatik artrit'te aksiyel tutulum erişkinlere oranla daha azdır ve yaşamlarının daha ileri dönemlerinde ortaya çıkar. Erişkinlerden bir farkı da artroplasti gerektiren kalça tutulumunun çocuklarda daha fazla olmasıdır[18-27, 43-45, 57, 58].

2.7 Laboratuvar Bulguları

2.7.1 Kan Bulguları:

Romatooid artritli çocukların yaklaşık %40'ının Hb düzeyi %10 gm'ın altında bulunmuştur. [59, 60] Anemi sıklıkla normokrom, normosterdir. Fakat orta derecede hpokromik ve mikrositik olabilir. Kronik enfeksiyon anemisinde olduğu gibi serum demiri nispeten düşüktür. Hb konsantrasyonu ile sedimentasyon arasında ilişki vardır. Eritrosit yaşam süresi orta derecede kısalmıştır. Fakat anemiye belirlemede ana faktör tek başına hemolizden çok kemik iliği yanıtının bozuk oluşudur. Bu hastalıkta anemi durumunda eritropoetin salgısının bozuk oluşu kemik iliği yanıtının yetersizliğine yol açmaktadır. Retiküloendotelial demir bloğu dahil hemotolojik bulguların patenenezindeki benzerlik romatooid artrit ve kronik enfeksiyon anemilerini son yıllarda kronik hastalık anemisi altında gruplamaya yol açmıştır. Akut romatooid artritli çocuklarda anemiye katkıda bulunan ek faktörler arasında steroid veya salisilat tedavisinin yol açtığı barsaklardan gizli kanama veya folat azalması sayılabilir. Folat azalmasına bağlı kemik iliğinde erken megolablastik değişiklikler göstermiştir. Bu bulgular

hücre proliferasyonu sonucu folat gereksiniminin artışı yanında demir eksikliğinin folat eksikliğini belirginleştirici ve yaşlı eritrositlerden folat verilisinin azalışına bağlanmaktadır [60].

Hastalığın henüz aktif olduğu dönemde oral demire nadiren, parenteral demire ise bazen kısmen hematolojik yanıt alınır. Hastalığın aktif fazında çocuklar 1/3 yaş grubunda ise , transferin saturasyonu %16'dan az ise demir tedavisi denenmesi uygun olur. Kortikosteroid ve ACTH ile hastalığın kontrol altına alınması, serum demirinde ve kemik iliğine demir taşınmasında artışa neden olur [60, 61].

Anemi sistemik JRA'da diğer formlardan daha sıktır.

Akut sistemik formda nötrofilik bir lökositoz görülür (15.000-50.000). Bazen lösemiye düşündürecek kadar yüksek sayıda olabilir. Oligo ve poliartikuler formda değişkenlik gösterir [62].

Trombositler genellikle normaldir. Bazen özellikle poliartiküler formda ani yükselmeler olur. Tedavide (altın tuzları gibi) bağlı trombositopeni görülebilir.

Sedimentasyon hızı artmıştır. Bazen çok yüksek olabilir. Eklemlerin hastalığa katılması ile sedimentasyon hızı arasında bir ilişki kurulamamıştır [63, 64]. Akut sistemik formda oligoartikulare göre daha hızlıdır. Oligoartikuler form normal olabilir. Sedimentasyon hızında artma sistemik formda %95, oligoartikuler formda ise %66 dır [65]. Aktif romatoid artritli olguların %5-10'da sedimentasyon hızında artma saptanmamıştır [66].

ASO; Hastaların yarısından fazlasında yükselmiştir. ASO titre , yüksekliği hastalığın şiddeti ile ilişkili değildir. Daha çok boğaz kültüründe üreme olmadığı zaman yüksek değerler elde edilmişse ve klinik bulgular uygunluk gösteriyor ise önemli olabilir. Akut sistemik formda yaş grubunun küçük olması nedeni ile ASO artışının daha düşük oranda görüldüğü bildirilmiştir. Ancak gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır [67].

CRP mol. ağırlığı 230.000 dalton olan globulindir. Nonspesifik akut faz reaktanıdır. Olguların %30-50 sinde (+) lık bildirilmiştir. Varlığı doku yıkımının göstergesi olduğundan pozitifliği önemlidir [67].

Protein elektroforezinde albuminde azalma, alfa-2 ve gama globulinde artma saptanır. Total serum proteini yüksek olabilir. Özellikle alfa-2 globulinde artış kesindir. Bu artış C₃ , haptaglobulin ve alfa-2 makroglobulin artışının delili olarak değerlendirilebilir. Alfa-2 globulinlerin üçüncü komponenti olan alfa-2 makroglobulin romatoid artritte incelenmiş ve normal bulunmuştur. Haptaglobulin düzeyi ise sıklıkla yüksektir. Yine Romatoid artritli

olgularda oldukça çok miktarda karışık krioglobulinlerin bulunduğu ve hastalığın aktivitesinin bir belirtisi olduğu saptanmıştır [47].

2.7.2 Kompleman:

Romatoid artritli serum kompleman düzeyi genellikle normal veya hafif artmıştır. İmmunodiffüzyon tekniği ile yapılan çalışmalarda %20 arasında yüksek C₃ değeri saptanmıştır. Bu artış ve poliartikuler gruplarda anlamlı ve hastalığın aktivitesi ile ilişkilidir [68]. Aktif JRA'li olguların sinovial sıvılarında komplemanların düşük bulunmasına karşın (ki bu komplemanın sinoviumda aktive olduğunu gösterir) serum kompleman komponentlerini genellikle artmış buluruz. C₃ yıkılma ürünü olan C₃dg %37 oranında, terminal kompleman kompleksi (TCC) %44 oranında yüksek bulunmuştur [68].

2.7.3 Romatoid faktör:

JRA'te erişkin RA'de olduğu gibi taniya en çok yardımcı olabileceği düşünülen fakat aslında yalnızca romatoid artrite özgü olmayıp diğer kollegen doku hastalıklarında pozitif bulunabilen, romatoid faktör (RF) bir antigamaglobulindir. İmmunglobulinlerin Fc parçasına bağlanma özelliği gösteren otoantikordlardır. Laboratuvar teknikleri genellikle 19 S IgM RF'ü tayin eder. Romatoid faktörler 7S IgM, 7S IgG, IgA ve IgD yapısında olabilirler [69, 70]. RF'ü saptamak amacıyla değişik metodlar kullanılır. Bunlar Lateks fiksasyon testi, koyun eritrosit hücresi ile aglutinasyon (SCAT), Rose-Waaler testi ve immunodiffüzyon ve radyoimmünassey'dir. Son iki yöntem RF'ün (+) bulunması taniya yardımcıdır. JRA'li olgular da Waaler Rose tekniği ile %7-15 arasında (+) lik saptanmıştır [63, 66, 69, 70, 71]. Cassidy SCAT Yöntemi ile poliartikuler formda %20, oligoartikuler formda %7, sistemik formda %4 (+) lik saptanmıştır [71]. Buna karşın erişkin tipi RA'te %80 arasında pozitiflik bulunmaktadır. RF'un negatif bulunması tanıdan uzaklaştırılmaz. Seronegatif hastalarda 7S IgG veya IgM veya dolaşan IgG anti IgG kompleksleri bulunabilir. Ayrıca RF'ler RA için spesifik değildir. SLE %30 oranında, S jögren sendro %90 ve daha az sıklıkla skleroderma ve poliomyozitte bulunabilir. Pozitif lateks testi kollejen doku hastalığı dışında hipergamaglobulinemi ile seyreden karaciğer hastalığında, kalazar, sarkoidoz ve sifilizde pozitif test gösterir. Bu durumlarda Rose-Waaler testi negatiftir. Nadiren normal kişilerde de Lateks pozitifliği bulunabilir (%2) [72].

7 yaş altında RF pozitif ise bu hastalığın hızla gelişmekte olduğunu ve prognozun iyi olmadığını gösterir. Ansell RF (+) 81 olguda hastalığın aktivitesinin devam ettiğini ve radyolojik bulguların erken geliştiğini bildirmiştir [73]. Romatoid nodülleri ve artikuler

erezyonu olan çocuklarda romatoid faktörün pozitif bulunma şansı daha yüksektir. SLE'da (sistemik lupus eritamatoz) oldukça yüksek oranlarda pozitif olan RF'in çocuklarda bir sebepten çok hastalığın ilerlemesi ile ortaya çıkan bir sonuç olduğu düşünülmektedir [73].

2.7.4 ANA

JRA için romatoid faktörlerden daha hassas olduğu kanısını vermektedir. JRA'te %14-38 arasında pozitiflik bildirilmiştir. Sağlıklı çocuklarda nadiren pozitif bulunabilir. Daha çok kızlarda 7 yaşından küçük çocuklarda iridosiklit ile birlikte giden monoartikuler form ve poliartikuler form ve poliartikuler formda pozitif seyretmektedir. RF'ü pozitif olan olguların %56 sında ANA pozitif bulunurken RF (-) olanların %9'unda negatif bulunmuştur. ANA pozitif bulunan olguların çoğunda iridosiklit görüldüğünden dikkatli olmalıdır [66, 69, 71, 74].

2.7.5 İmmuglobulinler:

JRA'te hipergamaglobulinemi vardır. En çok yükselen fraksiyonlar, başta IgM olmak üzere IgA'dır. Özellikle IgM artışı JRA için karakteristiktir. Poliartikuler ve sistemik formda immunglobulin düzeyi en yüksektir. IgM ve IgA artışının hastalığın aktivitesi ile ilişkisi vardır. Remisyonlarda normale döner. RF pozitifliği ile immunglobulin artışı arasında ilişki yoktur [75].

2.7.6 Sinovial sıvı:

Romatoid artrit hastalığının kesin tanısında ve izlenecek en önemli laboratuvar tetkiklerinden biri eklem aralığını dolduran sıvının analizidir. Ancak sinovial effüzyonu elde etmek erişkindeki kadar kolay değildir. Sinovial sıvının rengi, olağan rengi olan açık sarı olup viskozitesi ve glikoz oranı azalmıştır. Lökosit bazen artmış bazen azalmış bulunabilir. Romatoid hücre adı verilen ve içinde inklüzyon cisimcikleri bulunan bazı lökositlerin saptanması tanı için önemlidir.

2.7.7 Kemik metabolizması:

JRA' li çocuklarda kemik ve mineral metabolizması hakkındaki çalışmalar sınırlıdır. Bir çoğunda geçici serum alkali fosfataz yüksekliği saptanmıştır [76, 77].

2.8 Ekstraartiküler Bulgular

2.8.1 Deri ve Derialtı Nodülleri :

Romatoid nodüller JRA'lı %5-10'unda görülür ve her zaman poliartritle birlikte dir [78]. Nodüller en sık olekrenonun (dirsek çıkıntısı) altında bulunurlar ve genellikle basınç noktaları üzerinde örneğin, tendon kılıfları, aşil tendonu, oksiputta ve gözlük takan çocuklarda burun kökü üzerinde görülür. Bu nodüller her zaman RF pozitiflerde olur ve prognoz işaretidir [45].

2.8.2 Lenfödem :

JRA'lı birçok çocukta bir ya da daha fazla ekstremitede subkütan asimetrik lenfödem olabilir. Nedeni bilinmemektedir, eklem şişliğinin neden olduğu lokal obstrüksiyon sorumlu tutulmaktadır. Bugüne kadar tanımlanmış 35 lenfödemli JRA vardır, çocuklarda özellikle alt ekstremitelerde erişkinlerde ise üst ekstremitelerde ve ellerde görülmektedir [79].

2.8.3 Kas Hastalıkları :

JRA'da tutulan eklem etrafındaki kasların atrofi ve güçsüzlüğü ve bunun sonucunda kasların kasılması ve fleksiyon kontraktürleri karakteristiktir. Bunun belirgin bir dağılım özelliği yoktur ve histolojik çalışmalar yetersizdir. Erişkin RA'dan edinilen çalışmalarda, bunların perivaskülit ve lenfositik infiltrasyon olduğu anlaşılmıştır, ancak kas enzimleri artmaz [80].

2.8.4 Kardiak Tutulum

2.8.4.1 Perikardit

JRA'da perikardial tutulum %3-9 arasında değişir. Perikardit ve perikardiyal efüzyon özellikle sistemik başlangıçlı JRA'larda sıktır. Perikardit artrit gelişiminden daha önce ya da hastalığın herhangi bir döneminde karşımıza çıkabilir. Birçok vakada perikardiyal efüzyon sinsice gelişir. Kardiyomegali, elektrokardiyografik değişiklikler olmaz, sadece ekokardiyografide görülür. Nadiren miyokardit ve endokardit görülebilir [81].

2.8.4.2 Lenfadenopati ve Splenomegali (Lenf nodlarının büyümesi ve dalağın büyümesi)

Lenf nodlarının ve dalağın büyümesi tek başına veya birlikte olması sistemik JRA'nın karakteristik özelliğidir. Belirgin simetrik lenfadenopati özellikle anterior servikal, aksiler, inguinal bölgelerde olabilir ve lenfoma ile karışabilir.

2.8.4.3 Hepatomegali (Karaciğer büyümesi)

Splenomegaliden daha azdır. Orta-ileri derecede hepatomegali, sıklıkla orta derecede fonksiyonel bozukluğa yol açar ve bu nonspesifik histopatolojik değişikliklerle birlikte olur. Kronik hepatit gelişmez [10].

2.8.5 Gastrointestinal Tutulum

Kullanılan tedavinin yan etkileri dışında gastrointestinal semptomların ortaya çıkması çok nadirdir.

2.8.6 Nörolojik Tutulum

JRA'da santral sinir sistemine ait bulgular genellikle metabolik bozukluklar örneğin salisilat toksisitesi, yüksek ateş, emboli ve diğer sistemik hastalıklar gibi faktörler varlığında olmaktadır. Ancak nadir de olsa serebral infarkt olabilir [82].

2.8.7 Endokrin ve Otoimmün Hastalık

Myastenia gravis, Tip I diabetes mellitus ve otoimmün tiroidit gibi hastalıklar JRA ile birlikte olabilir [83].

2.8.8 Renal Tutulum

JRA'nın tedavisi sırasında intermitan hematüri yada proteinüri meydana çıkabilir. JRA'lı çocuklarda hematüriye neden olabilecek nedenlerden biri de hiperkalsüridir [84]. JRA'lı iki vakada kresentrik glomerülonefrit bildirilmiştir [85].

2.8.9 Amiloidoz (Dokularda amiloid maddesinin birikmesi)

Sekonder amiloidoz JRA'nın nadir komplikasyonlarından biridir.

2.8.10 Üveit

Kronik nongranülatöz anterior üveit iris ve silier cismi etkileyen bir inflamasyondur. Özellikle erken yaşlarda başlayan ANA pozitifliği gösteren oligoartritli kız çocuklarda görülmektedir. Üveit oligoartritli çocukların %20'sinde görülür [86]. Kronik üveitin başlangıcı sinsidir bazen tamamen asemptomatiktir. Hastaların yarısında ağrı, kızarıklık, baş ağrısı, fotofobi, görme değişikliği şeklinde semptomlar olur. JRA'lı ve üveitli çocuklarda üveitojenik proteinler olarak tanımlanan çözünebilir retinal antijen (S antijeni) %10 ve nükleer histon antijeni %45 oranında pozitif bulunmaktadır [87].

2.9 Radyolojik Bulgular

Düz radyografik inceleme birçok vakada en iyi başlangıç incelemesidir. Ultrasonografi (USG), omuz, kalça gibi klinik olarak intraartiküler sıvının görülmesi zor olan yerlerde kullanılabilir. Bilgisayarlı tomografi (BT) özellikle sakroiliak, temporomandibüler ya da ayak eklemleri gibi belirlenmesi zor lezyonların gösterilmesinde yararlı olur. Radyonüklid incelemelerden rheumatoid arthritis ^{99m}Tc duyarlı ancak özgüllüğü az olan bir uygulamadır. İzotopun artmış tutulumu eklem inflamasyonunun erken bulgusudur. Ancak JRA' i septik artrit veya diğer eklem hastalıklarından ayırt ettiremez. Manyetik rezonans (MR), intraartiküler patolojilerin gösterilmesinde diğer bütün görüntüleme yöntemlerinden daha iyidir. İntravenöz gadolinium sinovyal sıvı tarafından tutulduğu için MR ile birlikte sinovyal sıvı ve sinovyanın ayırt edilmesinde kullanılabilir [88].

Erken radyografik değişiklikler inflamasyonu gösterir. Yine erken dönemlerde el ve ayakların tarak ve parmak kemiklerinde periostlarında değişiklikler dikkati çeker. Bu değişiklikler daha çok el parmakları, metakarp ve metatarslar çevresinde, nadiren de uzun kemik periostları boyunca görülür. Bundan dolayı el parmaklarının orta kısımları genişlemiş olarak görülür. Bu radyolojik bulgu JRA için tipiktir [10, 73].

Geç bulgular için en az 2 yıllık hastalık döneminin olması gerekir. JRA' te özellikler 10 yaş üzeri çocuklarda erişkinlerden daha fazla ankiloz gelişebilir. Bu özellikle el bilek ve ayak bileklerinde olabilir. Ansell bir araştırmasında 5 yıl içinde el bilekte %20, ayak bileklerinde %4 oranında füzyon görüldüğünü bildirmiştir [73].

Uzun süre ağır sistemik hastalıkla yatağa bağlı olarak hareketsiz kalan ve çok iyi kontrol edilmemiş kortikosteroid tedavisi gören çocukta yaygın osteoporoz görülebilir. Manipulasyonlar femur metafizinde ve suprakondiler sahalarda fraktür oluşumuna yol açabilir [39].

2.10 Ayırıcı Tanı

Sağlıklı ayırıcı tanı için önce hastalığın hangi tipte başladığına dikkat edilmelidir [47].

2.10.1 Sistemik Başlangıçlı JRA' in Ayırıcı Tanısı

Tanısı özellikle başlangıçta zordur. Bu dönemde yüksek ateş atakları ve sistemik enfeksiyon bulguları vardır. Eklem bulguları olmayabilir. Böyle çocuklarda malignite, inflamatuvar barsak hastalığı, vaskülit ve SLE gibi diğer doku hastalıkları düşünülebilir.

Ağır mukoza lezyonları, böbrek bozuklukları, ANA (+) liği, trombositopeni, lökopeni SLE'yi akla getirir. Ancak ANA (-) liği SLE tanısından uzaklaştırabilir. ANA pozitifliği hem SLE, hem de JRA'te olursa, oran SLE'de daha yüksektir [62].

Akut lösemiler ve diğer neoplazmalarda (neuroblastamo gibi) bir veya daha fazla eklemdede şişlikler, devam eden yüksek ateş, terlemeler, halsizlik, kemiklerde ve diğer periartiküler sahalarda aşırı hassasiyet, anemi, trombositopeni, lökosit sayısında ve yapısında anomali göze çarpar [47, 66].

İmmün yetersizlik hastalıkları, genellikle kronik artritile seyretmez, fakat klinik tablo bazen JRA'i hatırlatabilir.

2.10.2 Oligoartiküler JRA'nın Ayırıcı Tanısı:

Başlangıçta bir veya iki eklem tutulmuşsa özellikle tek eklem tutulduğu hastalarda septik artrit ayırt edebilmek için sinovial sıvı analizleri gerekli olabilir. Bu yöntem tüberküloz ve travmatik artritlerde ayırt edilmiş olur. Tüberküloz artrit tanısı ağır basıyor ise sinovial zardan biopsi yapılmalıdır [66].

Çocuklarda mono ve oligoartiküler tutuluşların ankilozan spondilitin ön bulgusu olduğunu ileri sürenlerde vardır. ANA (-) liği, HLAB₂₇ doku tipinin saptanması klinik tablonun ankilozan spondilitin başlangıç dönemi olabileceği savını destekler [89].

2.10.3 Poliartiküler JRA'nın Ayırıcı Tanısı

Akut romatizmal ateş ile ayırıcı tanı yapmak bazen zor olabilir. ARA'te büyük eklemler asimetrik ve gezici olarak tutulur. Artrit 1-2 günde geçer. JRA'te monoartiküler tutuluş olabilir. Ancak bulgular 4 haftadan fazla sürer. ARA'te ateş çok yükselmez. Yine ARA'te eklemeye yönelik yakınmalar fazladır, hassasiyet belirgindir. JRA'te belirgin artrite karşın yakınmalar daha azdır. Perikardit, abdominal ağrı yanı sıra, her ikisinde de ASO titresi yüksek bulunabilir. Hasta çocuk 4 yaşından küçükse, boyun omurlarında tutukluk varsa, sinovial sıvıda hafif musin pıhtılaşması gösteriyorsa ve iki ay geçmesine karşın poliartrit devam ediyorsa, kesinlikle ARA'ten uzaklaşılır. Poliartritin tabloya egemen olduğu bağ dokusu hastalıklarında (SLE, Dermatomyozit gibi) uzaklaşılmalıdır [66].

Serum hastalığı ve ilaç reaksiyonlarında poliartrit ateş gözlenir. Deri döküntüsü, ateş ve kompleman düzeyinde düşme vardır.

2.11 Tedavi

Tüm romatizmal hastalıklarda olduğu gibi JRA tedavisinde bir ekip işidir. Bu ekipte pediatrik romatolog, fizyoterapist, ortopedist, pediyatrist ve hasta ailesi aktif olarak yer almalıdır [19-26].

JRA tedavisinde klasik yaklaşım basit ve güvenli ilaçlarla tedaviye başlamaktır. Bu nedenle nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar tedavinin başlangıç ve idamesinde en çok kullanılan ilaçlardır. Genellikle eklemlerdeki inflamasyon bu ilaçlarla hastaların yarısında kontrol altına alınabilmektedir. Ancak bu hastalığın ait olduğu alt gruba bağlı olarak değişir. Son 10 yıldır klasik tedavi değişmeye başlamış ve agresif tedaviler daha erken dönemde kullanılmaya başlanmıştır. Hastalığın hangi dönemde agresif tedavi indikasyonu olduğu belirlenmiş kriterler yoktur. Ancak RF pozitif olan poliartiküler JRA'lılarda, sistemik başlangıçlı olup hızla poliartiküler gidiş gösterenlerde ve oligoartiküler başlangıçlı olup poliartiküler forma doğru hızlıca ilerleyenlerden kaçınılmamalıdır [90]. Tedavinin amacı; kıkırdak dokusundaki harabiyeti azaltmak ve sinoviti kontrol altına alarak deformiteleri önlemektir [91].

2.11.1 NSAİİ (Non Steroid Anti İnflamatuvar İlaç)

NSAİİ' ların prostaglandin sentezini inhibe ettiği ilk defa 1971 yılında John Vane tarafından bildirilmiştir. [92] Şekil 2.2 de görüldüğü gibi prostaglandinler, hücre membranında bulunan fosfolipidlerden fosfolipaz A'nın etkisiyle oluşan araşidonik asitten meydana gelir. Araşidonik asit siklo-oksijenaz ve lipo-oksijenaz yoluyla metabolize edilir. Siklo-oksijenaz yoluyla prostasiklin, prostaglandin ve tromboksan (prostanoidler) oluşur. NSAİİ'ler siklo-oksijenaz enzimini inhibe ederek prostanoidlerin oluşumunu ve bunların oluşturduğu inflamasyon bulgularını engeller [9].

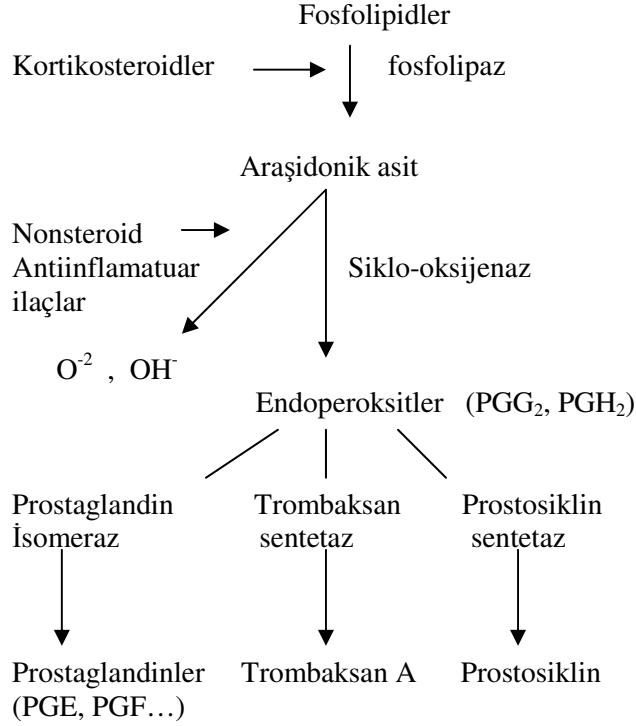
Siklik endoperoksit olan PGG₂ ve PGH₂ oluşumu sırasında süperoksit anyon radikali ve hidroksil radikali oluşur. Her iki molekül doku hasarı ve inflamasyon şiddetlenmesinde önemli rol oynar [9].

JRA'lı hastaların sinovyal sıvısında çok sayıda polimorf nüveli lökosit (PNL) bulunmaktadır. Bu hücreler bir uyarı ile karşılaştıklarında (Ör: İmmün kompleks veya bakteri peptidleri) fagositoz sırasında kollejenaz, elastaz, katepsin vb. periartiküler kemik ve kıkırdak yapısını bozan lizozomal enzimler salgılar ve bu sırada süperoksit anyon radikali ve hidroksil radikalide salgılanır [92].

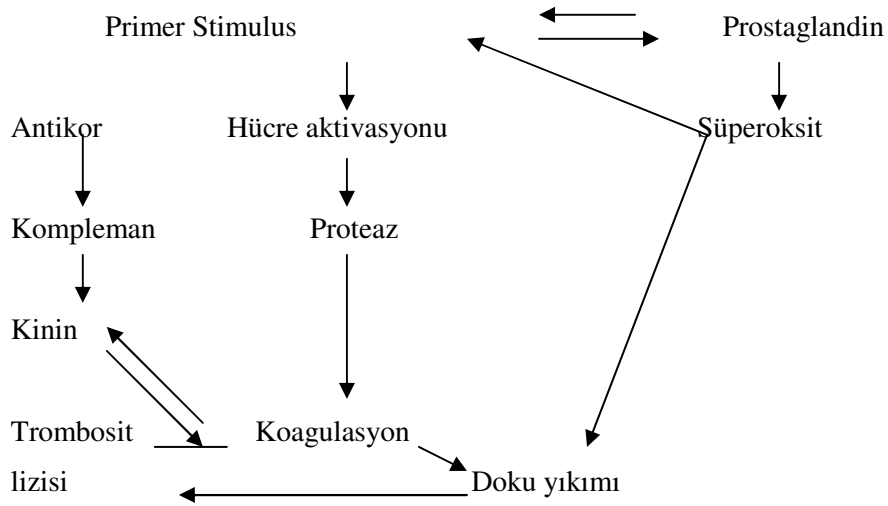
1979 yılında NSAİİ' ların süperoksit anyon radikali yapımını inhibe ettiği gösterilmiştir. Nötrofiller in vitro olarak NSAİİ ile 37 °C' de inkübe edildiklerinde yabancı antijen

stimulasyonuna %50 daha az süperoksit anyon radikali oluşturarak yanıt vermiştir. NSAİİ' ler nötrofil aktivasyonunu azaltmaktadırlar [93].

NSAİİ' ler NADPH oksidazı inhibe ederek PNL' leri inaktivite eder ve buna bağlı olarak lizozomal enzimlerin ve süperoksit anyon radikallerinin salgılanmasını engeller [94].



Şekil 2.2 Prostaglandin biyosentezi [75]



Şekil 2.3 Enflamasyon Mekanizması [75]

Çocuklarda en sıklıkla kullanılan nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ibuprofen, endometazin, tolmetin veya naproksen sodyumdur. Bu ilaçlar öncelikle 12 yaş altında çocuklarda kullanılmaktadır. Çoğu oligoartrit yalnızca NSAİİ tedavisine dramatik yanıt verir. Bu ilaçlar düşük dozlarda analjezik etki ile ağrıyı azaltırlar, ancak yüksek dozlarda antiinflamatuvar etki gösterirler. Yüksek dozlarda siklo-oksijenaz enzimini inhibe ederek prostaglandin oluşumunu engellerler. Ayrıca fosfolipaz C inhibisyonu, oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ve yaygısal sitokinlerin haberci RNA' larının transkripsiyonunu engelleyerek antiinflamatuvar etkinlik gösterirler [19-26].

2.11.2 Aspirin

Aspirin ilk kez 1876 yılında akut romatizmal ateşin tedavisinde kullanılmıştır [91].

İmmün yanıt üzerine çözünebilir immün kompleklerin matrikslerinin formasyonu, hücre membranlarının stabilizasyonu ve siklooksijenazın aktif enzim bölümünde asetilasyonu ile prostaglandin sentezinin irreversibl inhibisyonudur. [95, 96] Aspirin' in merkezi sinir sistemi ve hipotalamus üzerine etkisi ile ateş düşürücü, ağrı kesici etkisi vardır. JRA' li çocukların %70-90' ında aspirin tedavisi hastalığı durdurmak için yeterlidir. Fakat ilaç aktivite bulguları ortadan kalkar kalkmaz kesilmelidir. Bir süre daha idame dozda verilmelidir. Bütün aktivite bulguları kaybolduktan sonra 6ay- 1 yıl süreyle kullanılması önerilir. Doz 70-120 mg/kg, şeklinde 4-6 saatte bir verilir. [63, 66, 97, 98]

2.11.3 Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, fosfolipaz A enzimini inhibe ederek membran fosfolipidlerinden araşidonik asit oluşumunu engeller. Böylece prostaglandin, trombaksan ve prostasiklin oluşumunu önleyerek inflamasyonu baskılar. Bu şekilde, araşidonik asit metabolizması sırasında meydana gelen serbest oksijen radikallerinin oluşumunu da engeller [91].

Kortikosteroidler antiinflamatuvar ilaçlar içinde en etkili olanıdır. Ancak yan etkilerinin fazla olması ve destrüktif (tahrip edici) eklem hasarını belirgin olarak önlenememeleri nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Oligoartiküler tip hastalıkta özellikle monoartrit olarak kendisini gösteren büyük eklem tutulumunda intraartiküler steroid kullanımı oldukça yararlıdır. [99] Bu amaçla metil prednizolon asetat ya da triamnisolon heksasetonoid kullanılmaktadır. Bu şekilde steroidlerin sistemik yan etkilerinden korunmuş olunur. Tedaviye yanıt genellikle yavaş olarak gelişir; ancak zamanla hastaların klinik bulguları düzelir. Aynı ekleme yineleyen intraartiküler steroid injeksiyonu gerektiğinde aradan 3-4 ay geçmesi gereklidir [18-27, 43-45, 99-102].

2.11.4 İntravenöz İmmüoglobulin (İVİG)

Kawasaki hastalığı, idiopatik trombositopenik purpura ve myastenia gravis gibi otoimmün hastalıklarda İVİG tedavisinin başarıyla uygulanması nedeniyle son yıllarda JRA'da İVİG tedavisinin yeri tartışılmaya başlanmıştır [85]. Çalışmalarda İVİG'in ağır JRA'larda tedaviye yanıt vermeyen sistemik semptomların kontrol altına alınmasında yarar sağladığı gösterilmiştir [104, 105].

Otoimmün hastalıklarda İVİG tedavisinin etki mekanizması halen açık değildir. Egsojen IgG'lerin fagositer hücrelerin Fc reseptörlerini bloke ettiği, böylece otoimmün komplekslerin bağlanması engel olduğu düşünülmektedir [104, 106, 107].

2.11.5 Monoklonal Antikorlar

TNF-a'ya karşı oluşturulmuş monoklonal antikorların (cA2) konvansiyonel tedaviye yanıtızsız ağır hastalarda kullanımı ateş, anoreksi, serozit (seröz zar iltihabı) gibi klinik bulguları ve IL-6, TNFR ve IL-1Ra ve diğer akut faz reaktanlarını kontrol altına almaktadır, ancak bu konuyla ilgili çalışmalar henüz yeterli değildir [108].

2.11.6 Metotreksat

Metotreksat, folikasit analogu olup dihidrofolikasit redüktaz inhibitörüdür [91]. Metotreksat 1951' de kullanıma girmiştir [98].

Yukarıda anlatılan ilaçlara yanıt alınmadığı sistemik, destrüktif poliartrit ve psöriatik artrit durumlarında tedaviye metotreksat eklenebilir. Düşük dozlarda interlökin-1 yapımını ve bir çok hücrel fonksiyonları inhibe ederek antienflamatuar etkinlik göstermektedir. Çoğu hasta tedaviye başlangıcın ilk 2-3 haftasında yanıt verir. Ancak tedaviye yanıt bazen uzun sürebilir [11-27, 43-45, 102]. Bazı yan etkileri vardır. Bunlar: Transamilazlarda yükselme %21, bulantı %18, diare %12 oranında görülür. İmmunosuppresif ajan olması nedeniyle özellikle tekrarlayan akciğer fonksiyonları gözlenebilir. Ayrıca stomatit (ağız iltihabı), abdominal ağrı, karaciğer enzimlerinde artış ortaya çıkabilir. Bunlar genellikle kendi kendini sınırlar ve folat depleksiyonuna bağlıdır. Nadiren kemik iliği depresyonu ve folik asit eksikliğine bağlı megaloblastik anemi ortaya çıkabilir. En önemli etki karaciğer fibrozudur. Yan etkileri altın tuzları ve penisilamine göre daha azdır [98, 103].

Daha önce kullanılmakta olan altın tuzları, Dpenisilamin ve hidrosiklorokin gibi uzun etkili ilaçlar şimdi kullanılmamaktadır. Özellikle metotreksata yanıt vermeyen olgularda yeni tedavi seçenekleri ortaya konulmaktadır. Bu konuda en çok dile getirilenler TNF bağlayıcısı

etanersept ve infliksimabdır. Bu iki ilacın etkinliği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [18-27, 43-45, 101].

Juvenil idyopatik artrit tedavisinde ilaç tedavisi tek başına yeterli olmamaktadır. Medikal tedavi ile eř zamanlı olarak mutlaka fizyoterapi de uygulanmalıdır. Hastanın etkilenen eklemlerine uygulanan aktif ve pasif egzersizler yanında deformatelerin oluşmasını engellemek ya da oluşanları düzeltmek amacı ile atelleme yapılır [18-27, 43-45].

2.12 Prognoz

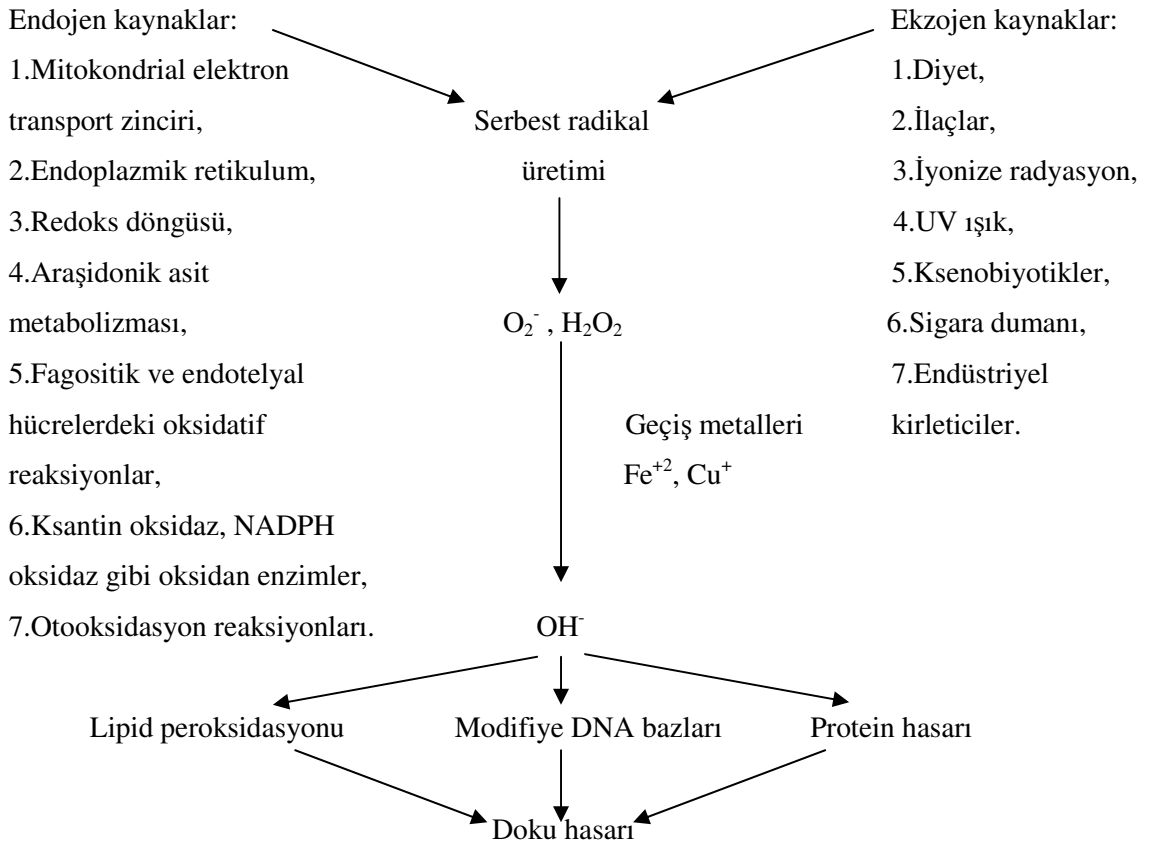
JRA' te prognoz genellikle iyidir. Hastaların %60' ı erişkin yaşlara ulaşır. %20-30' unda orta, %10-20' sinde ağır fonksiyon kaybı ortaya çıkar. Mortalite 1-4 arasında değişmektedir. Erken dönemde infeksiyon, geç dönemde sekonder amiloidoz sonucu gelişen renal yetmezlik en önemli ölüm nedenleridir [103].

JRA' te lm: Kardiak, pulmoner, renal komplikasyonlar veya ilaç toksisiteleri, kullanılan ilaçlara bağlı araya giren enfeksiyonlar nedeniyledir. Ölüm oranı %4-9' dur [66, 67, 70].

3. SERBEST RADİKALLER

3.1 Serbest Radikallerin Tanımı ve Oluşumu

Serbest radikaller, dış yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan biyokimyasal ürünlerdir. Atomların çoğu moleküllerde zıt yönlerde dönmekte ve yapılarında birbirlerinin fizikokimyasal aktivitesini engelleyen elektron çiftleriyle dolu yörüngeler bulunmaktadır. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla veya bir elektron ilavesiyle oluşurlar. Bu durumda radikal çok reaktif ve kararsız yapıdadır. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden dolayı vücutta indirgeyici veya yükseltgeyici olarak davranırlar. Bu özellikleri nedeniyle çok kısa bir yarı ömre (10^{-6} saniyeden daha kısa) sahiptirler. İnorganik ve organik kimyasal maddelere özellikle membran molekülleri ve nükleik asitler için anahtar özellikteki moleküllere girerek hücre reaksiyonlarını etkilerler [109-111].



Şekil 3.1 Vücuttaki serbest radikallerin etkileri ve kaynakları [111].

Serbest radikaller metabolizmada üretildikleri gibi, sigara içimi, uçucu madde solunumu, UV ışınları, radyasyon ve hava kirliliği gibi dış ve çevresel faktörler ile vücuttaki konsantrasyonları artmaktadır [112]. .

Hücrelerdeki oksidatif hasarların oluşumunda ilk sırada yer alan serbest radikaller normal hücresel bileşenleri bağlayarak, membran lipidlerinin doymamış bağları ile reaksiyona girerler, proteinlerini denatüre ederler ve nükleik asitlerine saldırırlar. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ilk hedefleri hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitleri olup, bunun sonucunda zarlarda lipid peroksidasyon sonucu hücre yapı ve fonksiyonunda önemli hasarlara neden olurlar [113]. Ayrıca DNA ve nükleik asitler üzerine serbest radikallerinin etkisiyle DNA zincirinde kopmalar ve bazlarda kırılmalar meydana gelmektedir [114]. Proteinler açısından bakıldığında ise Triptofan, Tirozin, Fenilalanin, Histidin, Metiyonin gibi sülfür içeren aminoasitlere sahip proteinler serbest radikaller ile reaksiyonları daha hızlı gerçekleşmektedir [115]. Oluşan bu hasarları belirlemek için ksenobiyotiğin toksisitesini, hastalığın patojenezini ve birçok biyogöstergenin bulunması gereklidir [116]. Birçok molekül elektron kazanarak veya kaybederek serbest radikal haline gelebilirken, sadece sınırlı bir kısmı patolojik olaylarda yer alırlar [117].

Bu serbest radikallerin üretiminin artması iki şekilde gerçekleşebilir [118]. Serbest radikallerin endojenik üretimi normal aerobik metabolizma sonucu gerçekleşir [119]. Bunun sonucunda ise; sitokrom oksidasyonunun, peroksizomların etkisi, organik matriyallerin ısı etkisiyle bozulmasının ve metal iyonlarının etkisi sonucunda da serbest radikaller oluşur veya üretimi artar [120]. Çevresel kaynaklı etkenler; sigara dumanı, inflamasyon, tütün içimi, radyasyon, ilaçlar, hiperoksit, fotokimyasal, hava kirliliği, organik çözücüler, anestezikler, pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, alkol ve çevre kirleticiler olarak özetlenebilir [118].

3.2 Serbest Radikallerinin Etkileri ve JRA Patogenezindeki Yeri

Serbest radikaller, hem indirgen, hem yükseltgen olarak ve bazen de her iki etkiyi bir arada göstererek hücre hasarına neden olurlar. DNA, hücresel proteinler ve lipidler üzerinde zararlı etkileri vardır. Aynı zamanda kalsiyum metabolizmasına etki ederek hücre içi serbest kalsiyumun kontrolsüz yükselmesine ve dolayısıyla hücrenin zarar görmesine ya da ölmesine sebep olmaktadır [121].

Fizyolojik koşullarda, organizmada oksidan etkenler ve antioksidan mekanizmalar bir denge halinde bulunmaktadır. Serbest radikallerin artması veya antioksidanların azalması sonucu serbest radikallerle antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması

oksidatif strese ve oksidatif hasara neden olmaktadır. Oksidatif stres ve oksidatif hasarın inflamasyon, yaşlanma, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenez, mutajenez, immünolojik, nörolojik, ürolojik hastalıklar ve sindirim sistemi, göz, deri, akciğer ve karaciğer hastalıklarının patogeneğinde ve ilerlemesinde rolü olduğu kanıtlanmıştır [122].

Serbest radikallerin en iyi bilinen zararlı etkisi; hücre membranı yağ asitlerine ve lipoproteinlere saldırması ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen bir zincir reaksiyonunu başlatmalarıdır. Lipid peroksidasyonunun ürünleri ileri ki aşamalarda membran proteinlerinde hasara yol açarak yapısal ve fonksiyonel bozuklukların ortaya çıkmasına sebep olur [123].

RA' nın serbest radikal reaksiyonları ile olan ilişkisi Mc Cord' un çalışmasından sonra ilgisini çekmiştir. Bu çalışmada RA' lı hastalarda sinovyal sıvıda viskozitenin azaldığı ve aynı etkinin O_2^- ile karşılaşılan sinovyal sıvı ya da hyalüronik asit solüsyonlarında da ortaya çıktığı gösterilmiştir [3].

RA, serbest radikal artışı ile giden hastalıkların karakteristik özelliklerine sahiptir. RA' lı hastalarda hem serumda hem de sinovyal sıvıda artmış düzeyde lipid peroksidasyon ürünleri bulunmaktadır [4].

Serbest radikallerin eklemde meydana getirdiği hasarın başlangıç noktası nötrofillerdir. Doku hasarına bağlı ortama gelen nötrofillere ve nötrofillerden salınan H_2O_2 , HOCl, NO ve O_2^- inflamasyonun şiddetlenmesine neden olur. Nötrofillerden açığa çıkan serbest oksijen radikalleri mitokondrideki elektron trnsport sistemini bozar. Böylece meydana gelen elektron sızıntısı oksijenin süperoksit anyon radikaline dönüşmesini sağlar [3].

Ölü hücrelerden ve eklemdeki mikrotravmaya bağlı oluşan kanamadan dolayı hemoglobin açığa çıkar. H_2O_2 hemoglobinin yıkılımına neden olarak serbest radikal reaksiyonları için katalitik rol oynayan Fe iyonunun serbest kalmasını sağlar. Sinovyal sıvıdaki diğer Fe kaynağı süperoksit anyon radikalinin ferritine etkisidir [124]. Süperoksit anyon radikali Fe varlığında $OH\cdot$ radikaline dönüşür ve bu da hyalüronatın parçalanmasına neden olur [125, 126].

HOCl, elastaz inhibitörü olan α_1 -1 antiproteinazı inhibe eder ve kollejenazı uyarır. Böylece elastin ve kollajen yıkılımına neden olur. H_2O_2 , kolayca kıkırdak dokusuna difüze olarak proteoglikan sentezini inhibe eder. Kondrositlere ve osteoklastları uyararak kemik dokusuna zarar verir [3].

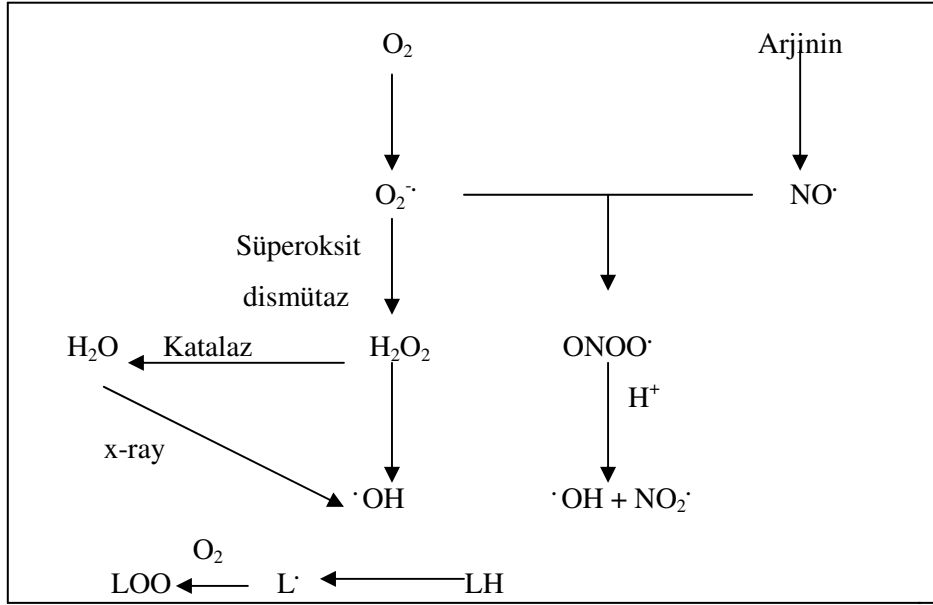
3.3 Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri hidroksil radikali, peroksi radikali, singlet oksijen radikali, peroksinitrit ve hidrojen peroksit olup, bu radikaller oksijenli solunum metabolizması esnasında oluşurlar. Bu radikallerin yarılanma ömürleri dakika, saniye, hatta birkaç milisaniye arasında değişmektedir [127].

Çizelge 3.1 Reaktif oksijen türlerinin simgeleri ve elektron yapıları [128]

Reaktif oksijen türleri	Simgesi	Elektron yapısı
Süperoksit radikali	$O_2^- \cdot$	$[\cdot\ddot{O}::\ddot{O}]^-$
Hidroksit radikali	$\cdot OH$	$\cdot\ddot{O}:H$
Peroksit radikali	$O_2^{-2} \cdot$	$[\cdot\ddot{O}::\ddot{O}]^{-2}$
Hidrojen peroksit	H_2O_2	$H:\ddot{O}::\ddot{O}:H$
Singlet oksijen	1O_2	$\cdot\ddot{O}::\ddot{O}\cdot$

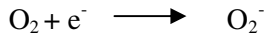
Moleküler oksijen, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle hayati bir öneme sahiptir. Moleküler oksijenin toksik etkisi yoktur, ancak aerobik hücre metabolizması sırasında moleküler oksijen, serbest oksijen radikallerine dönüşür. Ayrıca enzim reaksiyonları da ROS oluşumuna neden olmaktadır [128]. Örneğin nitrojen fiksasyonunu katalizleyen nitrojenaz enzimleri ve CO_2 fiksasyonunu katalizleyen ribüloz bifosfat karboksilaz oksijen tarafından kompetitif olarak inhibe edilir [129].



Şekil 3.2 Serbest oksijen radikallerinin oluşumu [128].

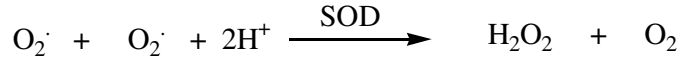
3.3.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijene (O_2) bir elektron transfer edilmesi sonucu kararsız bir yapı olan $O_2^{\cdot-}$ (süperoksit) radikali oluşur. *In vivo* olarak adrenalın, flavin nükleotidleri, tiyol içeren bileşikler, glukoz ile demir ve bakır gibi geçiş metallere oksijene etkisiyle $O_2^{\cdot-}$ oluşur. İç mitokondri membranındaki elektron transport zinciri esnasında oksijen suya dönüştürülmekte ve bu esnada elektron transport zinciri komponentlerine bağlanabilen serbest radikal bileşikleri meydana gelmektedir. Ayrıca mitokondri matriksine birkaç elektron sızarak süperoksitde meydana getirebilmektedir. Karaciğerde sitokrom P_{450} ile adrenal medullada hormonların sentezinde yer alan bazı enzimler de sitoplamaya elektron sızıntısına yol açarak süperoksit meydana getirmektedir. Damar endotelinde nitrik oksitlerin elimine edilmesinde, hücre büyümesi ve farklılaşması esnasında hücreler tarafından ve fagositik hücrelerce de süperoksit oluşturulmaktadır [111].



$O_2^{\cdot-}$ radikalleri, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılığı ile hücre hasarında rol oynayabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve oksijen üretirler. Dismutasyon

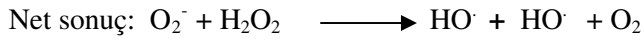
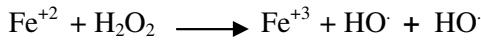
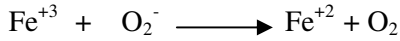
reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir.



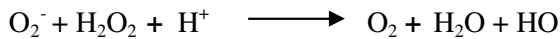
3.3.2 Hidroksil Radikali (HO \cdot)

Moleküler oksijene üç elektron transferi ile meydana gelir. Serbest radikallerinin çoğunun zararlı etkilerine hidoksil radikaline dönüşmeleri sebep olmaktadır. ROS arasında en reaktif olanıdır ve yaşayan hücrelerde bulunan şeker, aminoasit, lipid ve nükleotid gibi tüm bileşiklerle reaksiyona girebilir. Hidrojen peroksit ve süperoksit, elemental halde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron taşıyan ve bu nedenle serbest radikal özelliği kazanan geçiş metalleri ile reaksiyona girerek ya da diğer etkilerle hidroksil radikalini oluşturur [109, 111]. Hidroksil radikalleri aşağıdaki şekilde üretilir:

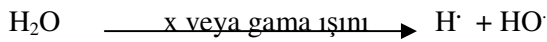
1. Fenton reaksiyonu: Hidrojen peroksidin, Fe $^{+2}$ ve diğer geçiş metalleri (Cu $^{+1}$, Mn $^{+2}$, Cr $^{+2}$, Co $^{+2}$, Ni $^{+2}$, Mo $^{+2}$) varlığında indirgenmesi ile \cdot OH radikali oluşur:



2. Haber- Weiss reaksiyonu: Hidrojen peroksit O $_2^{\cdot -}$ ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur (Bu reaksiyon bakır ve demir tarafından katalizlenir).



3. Suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz kalmasıyla da OH \cdot oluşur.



4. H $_2$ O $_2$ ' nin UV ışığına maruz kalması ile de OH \cdot oluşabilir.



3.3.3 Hidrojen peroksit (H $_2$ O $_2$)

O $_2^{\cdot -}$ ' e bir elektron transfer edilir (süperoksit dismütasyonu) ya da O $_2$ ' e iki elektronun eklenmesi sonucu indirgenmesi ile hidrojen peroksit oluşur. Ayrıca glukolat oksidaz ile D-

amino asit oksidaz direk olarak H₂O₂ meydana getirirler. Dismutasyon spontan olarak veya SOD enziminin katalizlenmesi ile oluşur [109, 111].



3.3.4 Singlet oksijen (¹O₂)

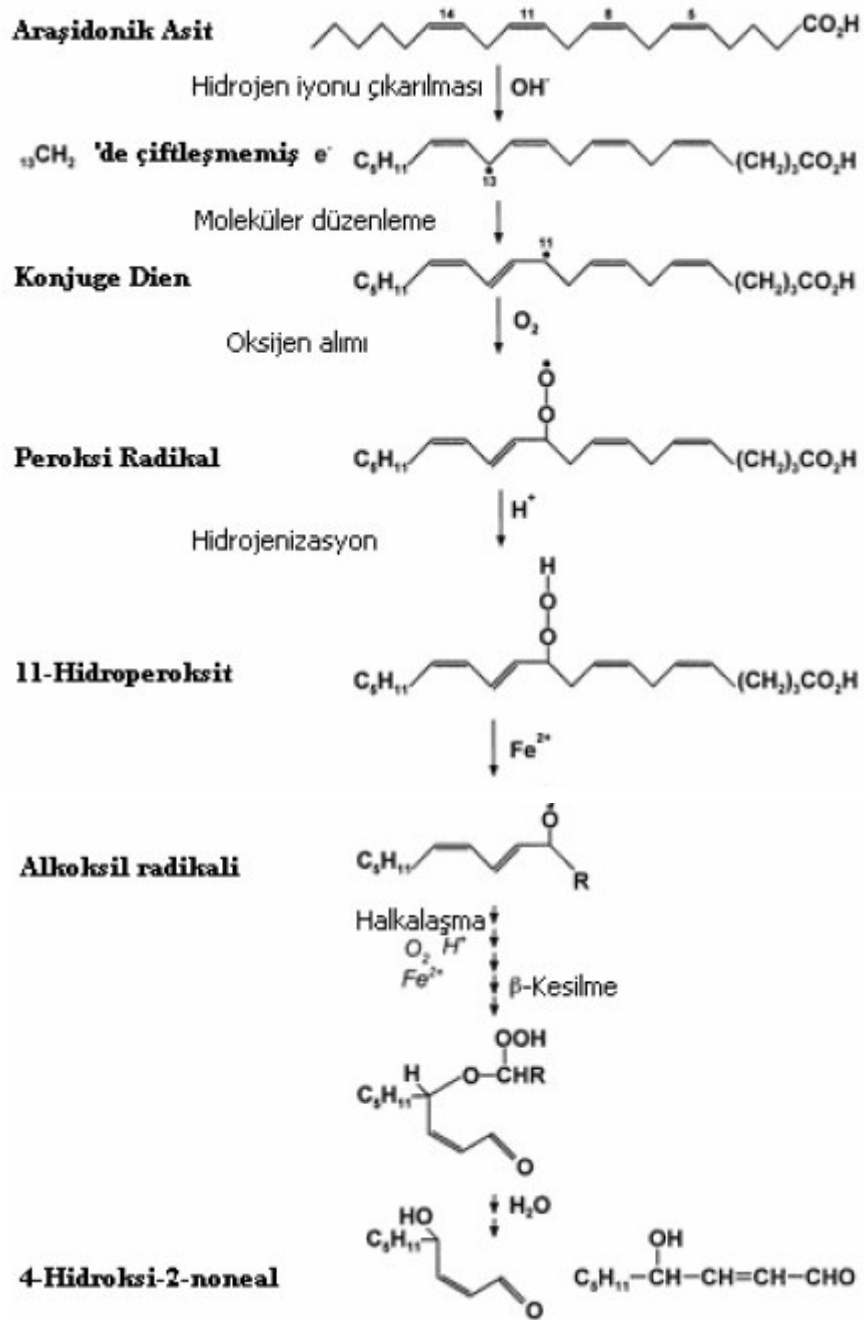
Singlet oksijen, moleküler oksijenin yüksek enerji ile uyarılmış formu olup biyolojik sistemlerde fotosentez reaksiyonları sırasında oluşmaktadır. Oksijenin enerjetik olarak uyarılan bu formunun reaktivitesi çok yüksektir. İhtiva ettiği yüksek enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde vererek yeniden oksijene dönebilir veya kovalent tepkimelere girer. Singlet oksijenin yarılanma ömrü 10⁻⁶ ile 10⁻⁵ saniye arasında olup karbon- karbon çift bağları ile tepkimeye girme eğilimleri yüksektir [128].

3.4 Serbest Radikallerin Biyolojik Rollerleri

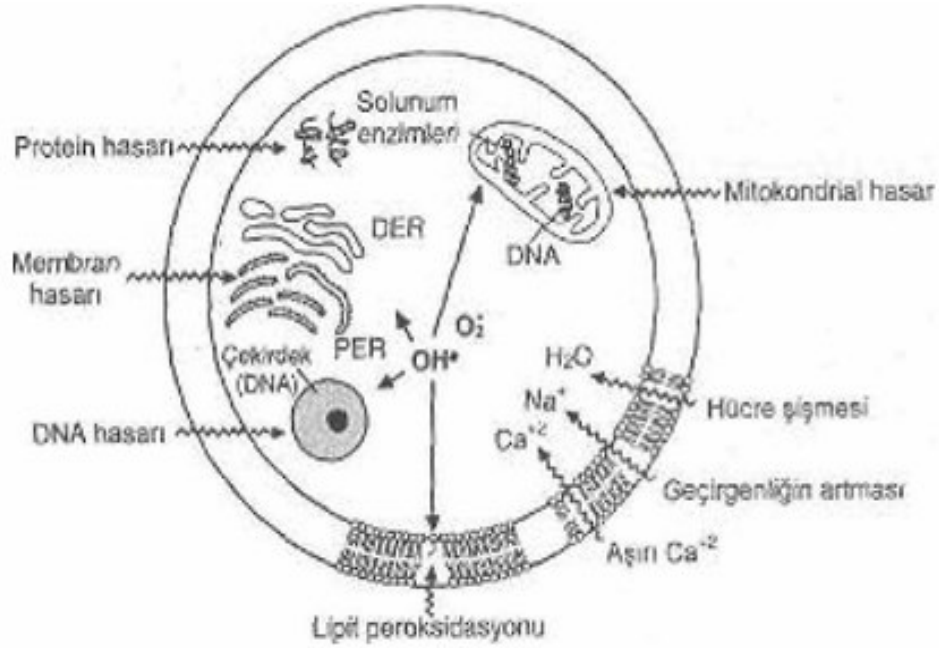
Hücre membranları serbest radikallere karşı oldukça duyarlıdır. Özellikle, membranın lipid yapısı içinde kolaylıkla yer değiştiren hidroksil radikali, protein ve lipid yapısında oksidasyonlara yol açarak membran akışkanlığının bozulması ve permeabilite artışı gibi hücre yaşlanması ve ölümü ile sonuçlanan olaylara neden olur [130]. Serbest radikaller birçok hastalığın patogenezine aracılık eder, ama bunun yanında immün sistemde aktif fagositik hücreler tarafından patojenlerin öldürülmesinde de görev alırlar. Bu nedenle serbest radikaller biyolojide iki yüzü keskin bıçak gibidir. Fizyolojik seviyelerde koruyucu molekül olarak görev yaparken, patolojik seviyelerde organizma için zararlıdırlar [109, 130].

3.5 Serbest radikallerin membran lipidlerine etkileri

Lipid peroksidasyonu (LPO); membranda bulunan fosfolipid, glikolipit, gliserid ve sterol yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (şekil 3.3). Membrandaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır. Membran geçirgenliğinin bozulması ise; protein sentezi için çok önemli olan K⁺ ve Mg⁺² konsantrasyonlarının değişmesine, kalsiyum gibi iyonların hücre içine geçişinin kolaylaşmasına ve buna bağlı olarak protein sentezinin inhibisyonuna neden olmaktadır [130-132].



Şekil 3.3 Lipid peroksidasyonu [133].



Şekil 3. 4. LPO aracılığı ile oluşan hücre hasarı

Hücre içi serbest Ca^{+2} artışına bağlı olarak artan fosforilaz aktivitesi fosfolipit kaybının artmasına, membran geçirgenliğinde değişiklik ve potansiyel kaybına bağlı toksik etkiye artışa, proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkinin şiddetlenmesine, katabolik enzimlerin aktivitesinde artışa ve endonükleaz aktivitesi ile DNA kırılmalarına yol açmaktadır [134].

Lipit peroksidasyonu, biyolojik zarların özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparak hastalık patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Yaşlanma, kronik kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta lipit peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir. LPO sırasında oluşan; lipit hidroperoksitleri doğrudan DNA zincirlerini kırabilmekte, lipit peroksil ve alkoksil radikalleri ise DNA'da oksidasyona sebep olabilmektedirler [135].

Lipit peroksidasyonunun önlenmesinde vitamin E'nin selenyum ile de ilişkisi vardır. Selenyum, glutatyon peroksidaz (GPx) enziminin ayrılmaz bir parçasıdır. Çünkü GPx hücre membranında peroksidasyon olayını önler, böylece lezyon hücre duvarındaki yapılarda görülen bozukluklar engellenmiş olur [136].

3.6 Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Proteinler serbest radikal etkisine karşı, çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Metiyonin, sistein gibi –SH (tiyol grubu) içeren amino asitler ile triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi aromatik gibi amino asitler oksidasyona en fazla derecede maruz kalmaktadırlar. Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Enzim veya reseptör olan membran proteinleri, özellikle serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı oldukları için önemli hücresel fonksiyonlarını kaybetmektedirler [137, 138].

3.7 DNA hasarı

ROS' un hücrede haber verdiği bir diğer makromolekül nükleik asitlerdir. Serbest oksijen radikalleri etkilerini DNA' nın temel taşı olan nükleotidin yapısı içinde yer alan pürin ve pirimidin bazları üzerinde gösterirler. Radikaller aracılığı ile özellikle guanin bazının hidroksilasyonu sonucunda DNA molekülünün yapısı değişmekte ve mutasyonlar ortaya çıkmaktadır [137, 138].

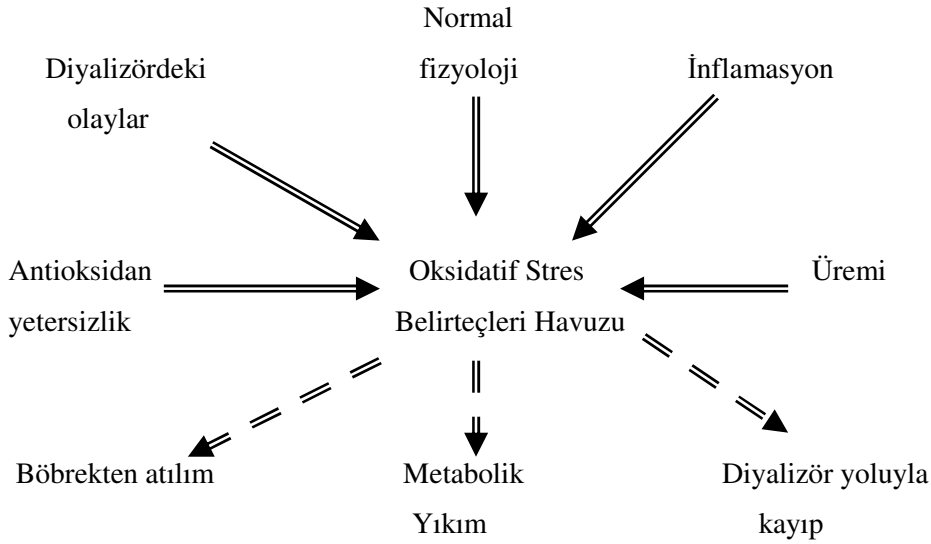
3.8 Oksidatif Stres

Oksidatif stres (OS), pro-oksidan bileşiklerin oluşumuyla birlikte, yetersiz antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin oksidan bileşiklerin lehine artması sonucu ortaya çıkan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır [139]. Pro-oksidanlar reaktif ürünler olup, reaktif nitrojen ürünleri (RNS) ve reaktif oksijen türleri (ROT) olarak iki gruba ayrılırlar. ROT; süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO), peroksit radikalleri (ROO^\cdot), hidroksil radikalleri (OH^\cdot) ve hipoklor radikallerini kapsar ve bunlar hücrede normal bir metabolik bir olayın ürünüdürler [140].

Oksidatif bileşiklerin oluşumu, fizyolojik şartlarda inflamasyon ve doku tamiri sürecinde önemli bir basamaktır. Bu oluşum doku iyileşmesi ve yeniden oluşumuna katkısı yanında malin hücrelere ve vücuda giren mikroorganizmalara karşı savunma mekanizmasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. OS; ateroskleroz, hipertansiyon, nörodejeneratif değişiklikler, yaşlanma ve malinite gelişmesi ile ilişkisi bulunmuştur. Diğer taraftan, uygunsuz veya uyumsuz bir şekilde oksidatif süreç başlamasına, hücre ve doku hasarına neden olan üremi gibi bir takım kronik patolojik durumlar da söz konusu olabilir [141]. Oksidatif stresi etkileyen faktörler şekil 3.5 de gösterilmiştir.

3.8.1 Oksidatif stres kaynakları

Hidrojen peroksit veya hipoklorik asit gibi ROT ve O_2^- , hidroksil radikal ve NO gibi serbest radikallerin in vivo olarak oluştuğu kabul edilmektedir. Ancak OS varlığını yalnız OS ile açıklamak mümkün değildir. OS, antioksidan savunma mekanizmasının zayıflaması ile birlikte ROT' nin oluşumu ile antioksidan sistemi arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkar. Böbrekten kaynaklanan ROT makrofajları, vasküler hücreleri çeşitli glomerüler hücreleri harekete geçirir. ROT' nin oluşumu ile antioksidan savunma merkezleri arasındaki denge; süperoksit dismütaz (SOD), katalaz (KAT), NO sentaz (NOS) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi bazı enzimlere bağlı olarak gerçekleşir. Bu denge kırılgan olduğu gibi aynı zamanda çevresel olaylarla da sıkı bir ilişki içerisinde [142].



Şekil 3.5 Oksidatif stres belirteçleri havuzunu etkileyen faktörler [141].

3.9 ROS ve Diğer Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri

Aerobik organizmalar metabolizmaları esnasında oksijen kaynaklı radikalleri oluştururlar. Bununla beraber, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri bulunur. Sağlıklı bireylerde oluşan ROS'lar ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge söz konusudur. Bu dengenin bozulması, oksidatif stresle sonuçlanmaktadır [3]. Antioksidanların ilk belirlenen etkileri membranların

yapısında bulunan lipitlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Günümüzde ise, antioksidanların koruyucu etkilerinin lipitlerin yanı sıra proteinleri, nükleik asitleri ve karbonhidratları da kapsadığı gösterilmiştir. Böylece, antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmıştır ve bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir [4].

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

1- Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:

- a) Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırıcı etki,
- b) Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki,
- c) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

2- Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

- a) Toplayıcı etki: ROS'u tutma ve çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme (Ör: Enzimler).
- b) Bastırıcı etki: ROS ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma (Ör: Flavonoidler, vitaminler).
- c) Onarıcı (repair) etki.
- d) Zincir kırıcı etki: ROS ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp fonksiyonlarını önleyici etki (Ör: Hemoglobin, seruloplazmin, mineraller) [124].

Fizyolojik koşullarda, hücreler serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler şu şekilde sınıflandırılabilir:

A)Enzimatik Antioksidanlar

1)Primer Enzimatik Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR)'dir.

2)Enzimatik Antioksidanlarla İlişkili Olanlar: NADPH-kinolon oksidoredüktaz, epoksit hidrolaz, UDP-glukuronil transferaz, sülfonil transferaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve α -fosfolukonat dehidrojenazdır [4].

B) Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Bunlar glutatyon (GSH), vitamin A, C ve E ile flavonoidler, melatonin, ürik asit, albümin, haptoglobulin, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, ferritin, oksipurinol, ubiquinon, bilirubin, mannitol, lipoik asit ve hemopeksindir.

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir (istisna olarak; GSH hücre içi güçlü bir antioksidandır. [4].

3.9.1 Enzim Yapısındaki Antioksidanlar

3.9.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksidi hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir [4, 125, 126].



Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücresel bölümlerdeki O_2^- düzeyleri kontrol altında tutulur. Oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikalinin zararlı etkisine karşı koruyan SOD enzimi; ayrıca fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de rol oynamaktadır [124]. Oksijen kullanımının yüksek olduğu dokularda enzimin aktivitesi yüksek iken; ekstraselüler alanda enzim aktivitesi oldukça düşüktür. SOD’ın farklı izoenzimleri mevcuttur [4, 125]:

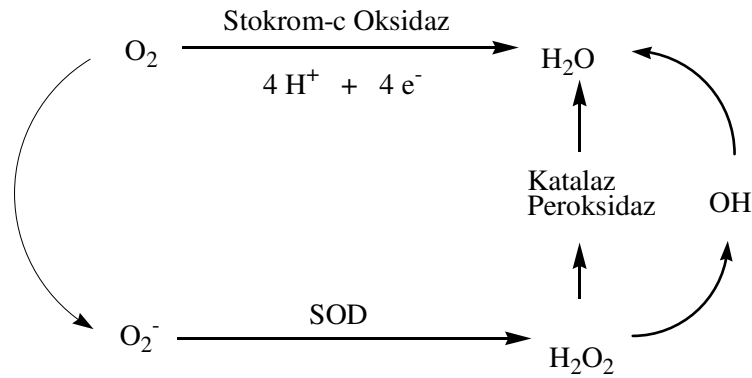
a) CuZn-SOD; ökaryotların sitozolunda, gram (-) bakterilerin periplazmasında, bitkilerin plastidlerinde ve memelilerin ekstraselüler kısımları ile olgun eritrositlerinde bulunmaktadır. Kofaktörleri çinko ve bakırdır. Enzimin aktivitesinden bakır, stabilitesinden çinko sorumludur. Çinko ile bakır arasında protonu tutan bir imidazol köprüsü bulunur. Cu^{+2} -imidazolün süperoksit ile indirgenmesi ile Cu-imidazol bağı kırılmakta ve imidazol protonlanmaktadır. Daha sonra diğer süperoksit molekülünün Cu^{+1} e indirgenmesi ile Cu-imidazol bağı yeniden oluşmakta, bu arada süperoksit proton ile HO_2^- ‘ya dönüştürülmektedir. Aktif bölgeden ayrılan bu bileşiğe ikinci proton tutunarak H_2O_2 ’yi meydana getirmektedir.

b) Mn-SOD; prokaryot ve ökaryotların mitokondrisinde bulunmakta, kofaktör olarak mangan içermektedir.

c) Fe-SOD; *E. Coli*, *Bacteroides fragilis* ve *Propionibacterium shermanii* bakterilerinde anaerobik ortamda Fe içeren, aerobik ortamda ise Mn içeren SOD enziminin kullanıldığı özel bir sistem şeklinde bulunmaktadır.

d) Ni-SOD; *Streptomyces griseus* bakterinde tanımlanan homotetramerik yapıli nikel içeren bir izoenzimdir [111,125].

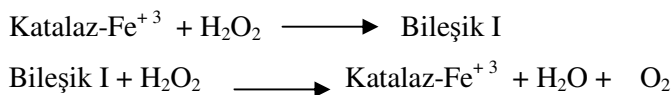
SOD bir metalloenzimdir (Stoplazmik SOD Cu^{+2} ve Zn^{+2} içeriirken, mitekondrideki enzim Mn^{+2} içeriir) ve aerobik hücrelerde her tarafa yayılmıştır. Mitokondriyal SOD, intramitokondriyal süper oksit anyonunu çok düşük veya sabit konsantrasyonlarda kalmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte oksijen toksisitesini engelleyen SOD'ın rolü halen tartışılmaktadır. Şekil 3.6 da görüldüğü gibi aerobik hücrelerdeki oksijenin çoğunluğu solunum zincirinde, oksijen radikallerinin toksisitesini engelleyen stokrom-c oksidaz enzimi varlığında indirgenerek su oluşur [143].



Şekil 3. 6. Oksijenin Suya Dönüşümü

3.9.1.2 Katalaz (CAT).

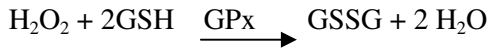
Katalaz, peroksidomlarda lokalize olmuş ve her birinin yapısında “Hem” grubu ile bir molekül NADPH bulunan 4 alt üiteden meydana gelmiş bir antioksidan enzimdir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. SOD aracılığıyla oluşmuş olan hidrojen peroksit, OH^- radikalinin öncüsü olması nedeniyle vücudun antioksidan savunma sistemi için önemli bir tehdittir. Bu nedenle birçok ROS'dan daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz ortamda yüksek konsantrasyonlarda hidrojen peroksit bulunduğunda (K_m 'si milimolar değerlerdedir), onu iki aşamada su ve moleküler oksijene parçalar [4, 111]:



Böylece katalaz hücreyi kendi solunum patlamasına karşı korumaktadır. Katalazın peroksidaz aktivitesi hidrojen peroksidin yanı sıra, küçük molekülü lipit hidroperoksitleri ve kendi yapısına demir katmak amacıyla metanol, etanol, nitrit ve formik asidi de içine alır [111].

3.9.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük molekülü lipit hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondride yerleşmiş, 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. Karaciğerde en yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta düşük aktivitede bulunur. GSH-Px'in plazma formu böbrek tarafından sentezlenmektedir. GSH-Px, düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında GSH'nın okside glutatyona (GSSG, glutasyon disülfid) oksidasyonunu katalize eder; bu arada H₂O₂ de suya dönüştürülerek detoksifiye edilmiş olur [111, 126]:

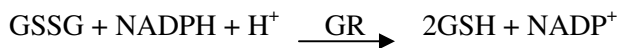


3.9.1.4 Tiyoredoksin redüktaz

Tiyoredoksin redüktaz, piridin nükleotidleri ile disülfid/tiyol bileşikleri arasında elektronların transferini, FAD ve redoks aktif disülfid ile uyarılarak katalize eden, dimerik flavoenzim ailesinin bir üyesidir. Enzim ailesi, mekanizma ve yapı bakımından benzer lipoamit dehidrojenaz, glutasyon redüktaz ve merkürük redüktazı da içine alır. Bunlar tek basamakta katalizlerini gerçekleştirirken, tiyoredoksin redüktaz iki basamakta reaksiyonu başarmaktadır. Tiyoredoksin redüktaz iki tiptedir: Prokaryotlarda 70 ve ökaryotlarda 112-130 kDa ağırlığında alt formlardadır [144, 145].

3.9.1.5 Glutasyon Redüktaz (GR)

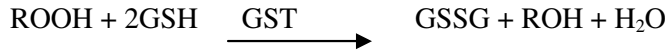
GSH-Px tarafından H₂O₂ ve diğer lipit peroksitlerin redüksiyonu sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüştürülür. Bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar redükte GSH'ya dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın glutasyon deposu sınırlıdır. Flavin nükleotidlere bağımlı bir enzim olan GR, pentoz fosfat yolundan elde edilen NADPH varlığında, glutasyon disülfiti tekrar redükte glutatyona (GSH) çevirir [111, 126]:



3.9.1.6 Glutasyon-S-Transferaz (GST)

GST'ler iki protein alt biriminden oluşan bir enzim ailesidir. 20 adet sitozolik formu

bulunur ve bunlardan beşi membrana bağlı enzimdir. Membrana bağlı enzimler arasında lökotrien-C4 sentetaz; mikrozomal GST 1, 2, 3 ve prostaglandin E sentetaz bulunur. GST 1 sadece GSH-Px aktivitesi; GST 2 ve 3 ise hem GSH-Px hem de lökotrien-C4 sentetaz aktivitesi göstermektedir. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Ayrıca GSH-Px aktivitesi de gösterirler. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitleri (ROOH), Se-bağımsız olarak etkisizleştirirler:



GST' in antioksidan aktivitelerinin yanısıra çok önemli fonksiyonları da vardır. Ağrı, ateş, yangı, kanser, apopitoz, alerji ve astım gibi süreçlerde yer alırlar. Bilirubin ve kortikosteroidler gibi endojen maddeleri geri dönüşümlü olarak bağlayarak; bunların hücre içi transportunda görev alırlar. Bazı güçlü alkilleyici ajanlara doğrudan kovalent bağlanarak hücrenel proteinler ve makromolekülleri bu ajanların etkisinden korurlar. GST'ler lökotrien B₄ ve prostaglandin sentezinde rol oynarlar [146].

3.9.2 Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Sistemleri

3.9.2.1 Glutatyon (GSH)

Önemli bir intrasellüler antioksidandır ve ekstrasellüler alanda çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelmiş bir tripeptittir. GSH'ya antioksidan özelliğini, sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutatyon, OH⁻ ve singlet O₂ gibi ROS'ların temizleyicisidir. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Ayrıca proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Demirin, Fe⁺² (ferröz) halde tutulmasını sağlar. Böylece; protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller, hatta rejenere olmalarını sağlar. GSH birçok enzimin kofaktörüdür (Ör: HMGCoA Redüktaz). Tiroid hormon sentezinde rol oynar. Bazı moleküllerin hücre içi taşınmasına aracılık eder. Birçok kimyasalın karaciğerde detoksifikasyonunda rol oynar [111, 124].

3.9.2.2 Vitamin C (Askorbik Asit)

Vitamin C (askorbat), bir ketolaktondur. Suda eriyen vitaminlerden olan askorbik asit özellikle taze yeşil sebze ile meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. İnsanlarda askorbat hidroksilasyon reaksiyonlarını katalize eden enzimlerin kofaktörü olarak görev alır. Burada enzimlerin enzimatik aktivitelerini tam olarak kazanmaları için prostetik metal iyonlarına elektron sağlar. Örneğin kollajen sentezinde görevli prolil ve lizil oksidazlar için kofaktör

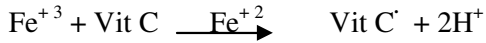
olarak davranır. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan vitamin C; sulu fazlarda zincir kırıcı antioksidan olarak süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, hipoklöröz asit, aküöz peroksil radikalleri ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Antioksidan etkisi esnasında, askorbat iki elektron ile indirgenerek semidehidroaskorbil radikaline ve sonra da dehidroaskorbata dönüşür. Dehidroaskorbat stabil değildir ve kolayca okzalik aside dönüşen diketogulonik aside hidrolize olur. Vücutta dehidroaskorbatın tekrar askorbata indirgendiği iki mekanizma vardır: Selenoenzim tiyoredoksin redüktaz ve redükte GSH. Ayrıca, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. Yine vitamin C, tokoferoksil radikalinin tokoferole redüklenmesini de sağlar [111, 147].

C vitamininin antioksidan etkisinin yanında oksidan etkisi de söz konusudur. Çünkü vitamin C ferrik demiri (Fe^{+3}), ferröz demire (Fe^{+2}) indirgeyen süperoksit dışındaki tek hücrel ajandır:



Bu yolla askorbik asit, proteine bağlı ferrik demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek Fenton reaksiyonunda H_2O_2 ile etkileşmeye uygun olan ferröz demire dönüştürür. Yani O_2^- üretimine katkıda bulunur.

Vitamin C'nin Fe^{+3} ile doğrudan reaksiyonunda C vitamini radikali (Vit C') de oluşur:



Vit C' çok reaktif değildir. Ya NADH redüktaz tarafından indirgenir ya da iki proton alıp serbest radikal reaksiyonlarının ilerlemesini durdurur:



Bundan başka vitamin C oksidasyonundan H_2O_2 de meydana gelebilir [126, 147]:

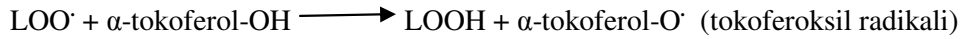


3.9.2.3 Vitamin E (Tokoferol)

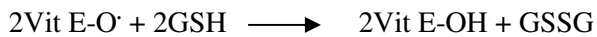
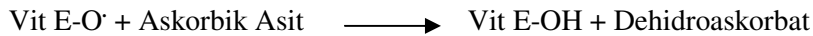
Vitamin E, tokoferol biyolojik etkisi taşıyan 8 farklı bileşiğin ortak ismidir. Bunlar α -, β -, γ - ve δ -tokoferol ile α -, β -, γ - ve δ -tokotrienoldür. α -tokoferol biyolojik olarak en yüksek aktiviteye sahiptir. Diğer tokoferoller ve tokotrienoller ise daha az aktiviteye sahip iken gıdalarda daha bol olarak bulunmaktadır. Tokoferoller bir kromonal halka ile bir -fitil kuyruktan oluşur ve birbirlerinden bu kromonal halkada değişik sayı ve pozisyonlarda metil gruplarının bulunması ile ayrılmışlardır. Tokotrienoller yapı olarak α -tokoferollere benzerler;

fakat doymamış yapıda bir -fitil kuyruk taşımaktadırlar. Antioksidan etkisi en fazla olanı da α -tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır [111, 124, 126, 148, 149].

En yüksek vitamin E konsantrasyonu, mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyan bir savunma elemanıdır. Bir molekül vitamin E, 100 molekül yağ asidinin peroksidasyonunu önleyebilir. Vitamin E; O_2^- , OH^\cdot , singlet O_2 , lipit peroksil radikallerini (LOO^\cdot) ve diğer radikalleri temizler. Lipit peroksil radikallerini yıkarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığından yağlı fazlar için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir [111, 124, 126, 148]



Sonuçta oluşan stabil özellikteki tokoferoksil radikalinde kromonal halkada fazladan bir elektron vardır ve kendi kendine lipit peroksidasyonu başlatmak için yeterince reaktif değildir. Glukuronik asitle oksidasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. E vitamini ve GSH-Px, serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini sentezlerini engeller. Ayrıca GSH-Px'in yapısına katılan Se^{+2} 'un organizmadan kaybını önler ve enzimi aktif şekilde tutar. İnsan eritrositlerinin hidrojen peroksit ile *in vitro* ortamdaki hemolizi, E vitamini tarafından önlenir. E vitamini, okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce sulu fazlarda askorbik asit ve GSH tarafından yeniden indirgenebilir. Alternatif olarak iki α -tokoferol radikali birleşerek stabil bir dimer oluşturur ya da tamamen okside olarak tokoferol quinon oluşturur [111, 124, 126, 149].



3.9.2.4 Vitamin A (Retinol) ve β -Karoten

Karotenoidler, izoprenoid karbon iskeletine sahip lipitlerde çözünebilir antioksidanlardır. Membran ve lipoproteinlerde 20 farklı tipi görülse de bunlardan en önemlisi β -karotendir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karoten son derece güçlü singlet O_2 temizleyicisi olup; ayrıca düşük oksijen basıncında α -tokoferol gibi hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyona girerek, lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonunu

kırabilir. Ayrıca karotenoidler A vitamini (retinol) prekürsörüdür. A vitamini, oksijen etkisi ile kolayca oksitlenir. Görme, üreme, büyüme, epitel hücre sağlamlığında rol oynar [111, 126].

3.9.2.5 Melatonin

Melatonin, pineal bez tarafından üretilen ana indolamin bileşimidir. Lipofilik olması nedeniyle seruma göre safrada daha çok bulunur; safra kesesi ve ince barsağı oksidatif strese karşı korur. OH[•] radikalini temizleyen ve GSH sentezini uyaran çok güçlü bir antioksidandır. Bunun yanı sıra SOD, GSH-Px ve GR enzimlerinin aktivitelerini de arttırmaktadır. HO[•] ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür. Bu radikal de O₂⁻ radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir. Lipofilik olması nedeniyle hücrenin tüm organellerine ve birçok dokuya rahatça girerek antioksidan etkisini geniş bir alanda kolayca gösterir. Hücre çekirdeğine girebilmesi nedeniyle DNA'yı oksidatif hasara karşı korur. Melatonin çok yüksek dozlarda, uzun süreli kullanımında bile toksik bir etki göstermez ve prooksidan aktiviteye sahip değildir. Yaşlılıkta melatonin de azaldığı için yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı bazı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği bildirilmiştir. Sonuç olarak, melatoninin klinik açıdan etkili bir antioksidan ve antikanserojen olduğuna inanılmaktadır [150, 151].

3.9.2.6 Ürik Asit

Pürin metabolizmasının son ürünü olan ürik asit, allantoina dönüşerek normal plazma konsantrasyonlarında lipit radikalleri dışında tüm serbest radikalleri temizler. Özellikle ozon gibi okside edici ajanlara karşı koruyucu etki sağlar. Demir ile stabil reaktif olmayan bileşikler oluşturarak ve C vitamini oksidasyonunu engelleyici etkisi ile antioksidatif etki gösterir [111,124].

3.9.2.7 Albümin

Albümin, yapısında bulunan 17 tiyol grubu aracılığıyla bakır iyonlarını sıkıca bağlar ve bakır bağımlı lipit peroksidasyonu ile OH[•] oluşumunu inhibe eder. Albümine bağlı bakır bazı oksidan oluşumlarda bulunabilirse de, oluşan radikaller biyolojik olarak önemsizdirler. Albümin aynı zamanda yapısındaki sisteinden dolayı etkin bir fagositik HOCl temizleyicisidir. Bu özelliği kanda serbest yağ asitlerini taşıması açısından önemlidir. Albumine bağlı bilirübinin antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir. Özellikle yenidoğanlarda diğer zincir kırıcı antioksidanların olmaması nedeniyle hayati rolü vardır [4, 111, 124].

3.9.2.8 Sistein

O₂⁻ ve HO[•] radikallerinin temizleyicisidir [124, 152].

3.9.2.9 Bilirubin

“Hem” katabolizmasının sonucunda oluşan safra pigmenti bilirubin, lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği ve OH[•] ve H₂O₂ radikallerinin temizleyicisi olduğu bilinmektedir [4, 124].

3.9.2.10 Seruloplazmin

Plazmada major bakır içeren proteindir. Seruloplazmin, ferro-oksidad aktivitesi ile Fe⁺²,yi Fe⁺³,e okside eder. Böylece Fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder. Demir ve bakır bağımlı lipit peroksidasyonunu önleyici etki gösterir. Aynı zamanda bir akut faz reaktandır ve yangısal hadiselerde seviyesi artar [4, 111, 124].

3.9.2.11 Ferritin, Transferrin ve Laktoferrin

Ferritin dokulardaki, transferrin dolaşımdaki, laktoferrin lökositlerdeki serbest demiri bağlar ve serbest radikal oluşumunu önler [4, 111, 124].

3.9.2.12 Haptogloblin ve Hemopeksin

Hemoglobin, gerek dekompozisyonla ortama demir vererek; gerekse doğrudan peroksitlerle etkileşerek lipit peroksidasyonunu uyarabilir. Haptogloblin hemoglobini, hemopeksin “Hem”i bağlayarak, bu demir bileşiklerinin lipit peroksidasyonunu uyarmasını engeller [4, 124].

3.9.2.13 Mannitol

OH[•] radikalini temizleyici etki gösterir [4, 124].

3.9.2.14 Oksipurinol

Allopurinol metaboliti olup, doğrudan OH[•] ve HOCl radikallerini azaltıcı etki gösterir [4, 124].

3.9.2.15 Probukol

Kan kolesterolünü düşürmede kullanılan bir ilaç olup, güçlü antioksidan özelliği vardır. Lipit peroksidasyon zincirini kırıcı özellik taşır [4, 124].

3.9.2.16 Desferroksamin (DFO)

DFO, Fe⁺³,ü bağlar ve oluşan bu bileşikteki demirin indirgenmesi son derece zordur. Bu sayede demir serbest radikal oluşumuna katılamaz [4, 130].

3.9.2.17 Lipoik Asit

Lipit peroksidasyonunu önler. OH⁻ ve singlet O₂ toplayıcısıdır. H₂O₂'yi indirger. Vitamin E tüketimine karşı koruyucudur [4, 124].

3.9.2.18 Flavonoidler

Çay, şarap ile birçok meyve ve sebzede bulunan flavonoidler polifenolik antioksidanlardır. 4000'den fazla çeşidi bulunan flavonoidler; flavonollar (quersetin, kaimferol), flavanoller (kateşinler), flavonlar (apigenin) ve izoflavonlara (genistein) ayrılmışlardır. Epidemiyolojik çalışmalar flavonoid alımının koroner kalp rahatsızlıkları gibi çeşitli kronik hastalıkların insidensini azalttığını göstermiştir. Farklı mekanizmalarla lipit peroksidasyonunu engellerler [4, 111, 124].

4. MATERYAL VE METOD

4.1 Denejde Kullanılan Materyaller

Denejde kullanılan hasta ve kontrol grubu plazmaları Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, diğer materyaller Dumlupınar Üniversitesi kimya bölümü laboratuarından temin edilmiştir.

4.1.1 Kullanılan cihazlar

U.V. Spektrofotometresi (Shimadzu U.V. mini 1240)

Santrifüj (Hettich D- 78522)

Elektronik terazi Ohaus (AR 2140)

Karıştırıcı ve ısıtıcı (Heipolph MR 3001)

Otomatik pipetler (Biotic Proline)

4.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Bakır Sülfat Penta Hidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	Sigma
Sodyum Sitrat	Sigma
Sodyum Karbonat (Na_2CO_3)	Sigma
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma
Sodyum Wolframmat Dihidrat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Sigma
Sodyum Molibdat Dihidrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Sigma
Fosforik Asit (H_3PO_4)	Merck
Hidroklorik Asit (HCl)	Merck
Lityum Sülfat (Li_2SO_4)	Sigma
Sodyum hidrojen Fosfat (Na_2HPO_4)	Sigma
SodyumDihidrojen Fosfat (NaH_2PO_4)	Sigma
Hidrojen Peroksit (% 30 v/v'lik H_2O_2)	Merck
Potasyum Klorür (KCl)	Sigma

6-Hidroksi Dopamin (6-OHDA)	Sigma
Triklor Asetik Asit (TCA)	Sigma
Tiyobarbütirik Asit (TBA)	Sigma
Sığır serum albumin (BSA)	Sigma
Malondialdehit bis (1, 1, 3, 3, tetraetoksi propan)	Sigma

4.1.3. Deneyleerde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

1. 1 mM KCl çözeltilisi (0,01 M HCl içeren) (6-OHDA'in çözücüsü): 0,0149 g KCl saf suda çözüldü ve 0,176 ml derişik HCl (% 35'lik, d=1,184 g/ml) ilave edildi, hacmi suyla 200 ml'ye tamamlandı.
2. 0,05 M pH 7,4 fosfat tamponu (SOD aktivite tayini için kullanılan tampon): 0,284 g Na₂HPO₄ ve 0,24 g NaH₂PO₄ saf suda çözüldü ve hacmi saf suyla 40 ml' ye tamamlandı.
3. 0,01 M 6-OHDA çözeltilisi (SOD aktivite tayini için kullanılan çözeltili): 0,005 g 6-OHDA 2 ml 1 mM'lık KCl çözeltilisinde çözüldü.
4. 1 M NaOH çözeltilisi: 40 g NaOH 1 litre distile suda çözüldü. (TBA çözeltilisi hazırlamak için kullanılan çözeltili.)
5. TBA çözeltilisi: 500 mg TBA, 6 mL 1 M NaOH içinde çözüldü ve 75 mL'ye distile su ile tamamlandı (MDA tayininde kullanılan çözeltili).
6. 1.22 M TCA çözeltilisi 0.6 mol/L HCl içinde hazırlandı (MDA tayininde kullanılan çözeltili).
7. Fosfat tamponu (pH:7 ; 50mM) hazırlamak için; 4,2g Na₂HPO₄ ve 2,72 g NaH₂PO₄ tartılıp suda çözüldü ve hacmi damıtık su ile 1L'ye tamamlandı (CAT tayininde kullanılan çözeltili).
8. H₂O₂ çözeltilisi hazırlamak için; % 30 v/v'lik H₂O₂ çözeltilisinden 0,2mL alınarak 100mL'lik ölçülü balona konuldu ve fosfat tamponu ile hacim 100mL'ye tamamlandı. Bu karışımın 240 nm'deki absorbansı 0,45-0,50 arasında olmalıdır (CAT tayininde

kullanılan çözelti).

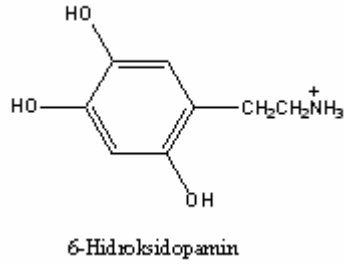
9. A Reaktifi: 0.5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve 1 g sodyum sitrat 100 mL bidistile suda çözülür.
10. B Reaktifi: 20 g Na_2CO_3 ve 4 g NaOH 1 L bidistile suda çözülür.
11. C Reaktifi: 50 mL B çözeltisine 1 mL A çözeltisi ilave edilir (Taze hazırlanmalıdır).
12. D Reaktifi (Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifi): 1500 mL'lik bir balona 100 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 25 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 700 mL bidistile su, 50 mL % 85 H_3PO_4 ve 100 mL HCl konulur. 10 saat geri soğutucu altında yavaşça ısıtılır. Soğuduktan sonra üzerine 100 g Li_2SO_4 , 50 mL bidistile su ve 5 damla brom ilave edilir. 15 dk kaynatılarak bromun fazlası uçurulur. Bu kaynatma geri soğutucusuz olarak yapılır. Muhteviyat soğutulur ve 1 L'lik balonjoje aktarılır. Distile su ile 1 litreye tamamlanır. Koyu renkli şişede muhafaza edilir. Uygun şartlarda reaktifin rengi sarıdır. Yeşil renk, reaktifin bozulduğunu gösterir. Kullanılacağı zaman 1 mL D reaktifinden alınıp, üzerine 1 mL bidistile su ilave edilir (1/1).
13. BSA standart çözeltisi (10 g/L): 100 mg BSA bidistile suda çözülerek 10 mL'ye tamamlandı. Diğer standartlar bu çözeltiden seyreltilerek hazırlandı.

4.2 Plazmada Yapılan İncelemeler

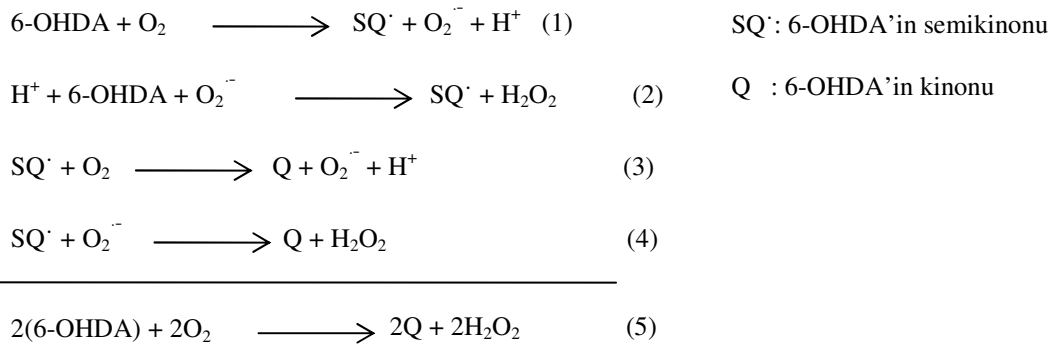
4.2.1 SOD aktivite tayini

4.2.1.1 Prensip

Aktivite tayin metodu, 6-hidroksidopaminin (6-OHDA) otooksidasyonuna, SOD'nin inhibisyon etkisinin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır [153-156]. SOD için 1 E.Ü., "bir dakikada, 6-OHDA'in otooksidasyon başlangıç hızını % 50 azaltan enzim miktarı" olarak kabul edilmiş ve spektrofotometrik ölçümler 490 nm'de oksidasyonun 60. saniyesine kadar yapılmıştır. Çünkü 60. saniyeye kadar otooksidasyon hızı, eğimin sabit olmasından dolayı sabittir.



6-OHDA'in otooksidasyon reaksiyonu aşağıdaki şekildedir [157].



6-OHDA ile oksijen arasında yukarıdaki şekilde bir yükseltgenme-indirgenme (redoks) reaksiyonu olur. Bu reaksiyon sonucunda, 6-OHDA'in semikinonu, süperoksit anyonu ve proton meydana gelir (1). Bu reaksiyonun ürünlerinden süperoksit anyonu ve proton, 6-OHDA ile reaksiyona girerek semikinon (6-OHDA'in yükseltgenmesi ile oluşur) ve hidrojen peroksit (süperoksitin indirgenmesi ile oluşur) oluşumuna sebep olurlar (2). Daha sonra semikinon da oksijen ile reaksiyona girerek kinona yükseltgenir ve oksijen süperoksit anyonuna indirgenir (3). Bu sırada oluşan süperoksit, semikinonları kinona yükseltirken hidrojen peroksite indirgenir. Reaksiyonlardan da görüleceği gibi 6-OHDA'in oksijen ile yükseltgenmesi sırasında oluşan süperoksit anyonu (1 ve 3) yükseltgenme olayının devamına katkıda bulunmakta (2 ve 4) ve böylece reaksiyonu hızlandırmaktadır. Reaksiyon ortamında SOD mevcut olması durumunda süperoksit anyonu uzaklaştırılacağı için, süperoksitten gelen reaksiyon hızına etki ortadan kalkacak ve reaksiyon hızı azalacaktır. Bu azalma oranının, reaksiyonda oluşan oksidasyon ürünlerinin 490 nm'de absorbans vermeleri nedeni ile takip edilebilmekte ve enzim ünitesi (E.Ü.) tanımı yapılabilmektedir.

4.2.1.2 Metot

Kontrolde (6-OHDA'in otooksidasyonu) numune yerine fosfat tamponu (0,05 M, pH 7,4) kullanılmıştır. Numune miktarının azaltılması gerektiği durumlarda azaltılan numune miktarı kadar tampon çözelti küvetlere ilave edilmiştir.

Örnek hesaplama :

Örnekte, 6-OHDA otooksidasyona bırakıldığında, 60. saniye sonunda 0,17 birimlik bir absorbands farkı oluşmaktadır. Bunun % 50'si 0,085 birimdir. E.Ü. tanımına göre, 0,085 birimlik absorbands azalmasına sebep olacak enzim miktarı 1 E.Ü.'dir. 10 µL numunenin mevcudiyetinde ise absorbands artış hızında (reaksiyon hızı) azalma olmuştur ve ΔA 0,047 birimdir. Bu durumda aktivite aşağıdaki gibi hesaplanmıştır [129].

Çizelge 4.1 50 µl'lik numune hacmi göz önünde bulundurularak hazırlanmış SOD aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör Küveti	Numune Küveti
0,05 M fosfat tamponu (pH 7,4)	670 µl	670 µl
Numune	50 µl	50 µl
Oksijen gazı uzaklaştırılmış 1mM KCl çözeltisi (0,01 M HCl içeriyor)	30 µl	-
0,01 M 6-OHDA çözeltisi ilavesi		30 µl
<i>Toplam</i>	<i>750 µl</i>	<i>750 µl</i>

Aktivite (E.Ü.)=(0,17-0,047)/(0,17/2)=1,45 E.Ü. Yani 10 µL numunede 1,45 E.Ü. vardır.

4.2.2 Lipid peroksidasyonu tayini

4.2.2.1 Prensip

Lipid peroksidasyonunun ürünleri ile (başlıca MDA) TBA arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorbandsı spektrofotometrik olarak değerlendirilir [158].

4.2.2.2 Metot

Numune ve kör tüpleri Çizelge 3.2'ye göre hazırlandıktan sonra vorteksle iyice karıştırıldı. 30 dakika kaynar su banyosunda ağızları kapatılarak bekletilir. Daha sonra musluk suyu altında soğutulup üzerine 2 ml n-bütanol eklenip karıştırıldı ve 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. 532 nm'de n-bütanole karşı okundu [158].

Çizelge 4.2 MDA ölçümünde işlem basamakları

		TÜPLER	
		Numune	Kör
R E A K T İ F L E R	Numune (ml)	0.5	–
	TCA (ml)	2.5	2.5
	Tüpler vorteksle karıştırılıp oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir.		
	Standart çözelti (ml)	–	–
	Distile su (ml)	–	0.5
	TBA (ml)	0.75	0.75

Hesaplama; körün absorbansı numunenin absorbansından çıkartılarak net absorbanslar bulunur. MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki molar ekstinksiyon katsayısı olan $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 'den faydalanılarak ve dilüsyon faktörü de dikkate alınarak nmol/ml cinsinden MDA konsantrasyonu hesaplanır.

4.2.3 Katalaz (CAT) aktivitesi tayini

4.2.3.1. Prensip

Bu yöntem, 240 nm dalga boyunda hidrojen peroksidin (H_2O_2) verdiği absorbans değerinin katalaz enzimi aktivitesi sebebiyle zaman içerisinde azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır [159]. H_2O_2 ' in spektrofotometrik olarak 240 nm dalga boyunda absorbansındaki düşmenin 1 dakika ($\Delta A/t$ dakika) izlenmesi ile katalaz aktivitesi belirlenir.

4.2.3.2. Metot

Çizelge 4.3 Katalaz (CAT) aktivitesi ölçme yöntemi

	Deney	Tanık deney
Fosfat tamponu	–	0.01
H_2O_2 çözeltisi	3.00	3.00
Numune (homojenat)	0.01	–

Deney ve tanık çözeltilerinin absorbanslarındaki değişim ($\Delta A/t$ dakika); damıttık suya karşı 240 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca spektrofotometrik olarak izlenerek okundu.

4.2.3.3. Katalaz aktivitesi hesaplanması

Bir dakika sonundaki absorbans değışimLeri arasındaki fark($\Delta A / t$ dakika), H_2O_2 'nin molar absorpsiyon katsayısı (ϵ) ve 10 μL numune alınarak yapılan deneylerde katalaz aktivitesi aşağıdaki bağıntıyla hesaplandı.

$$H_2O_2 \text{ 'in molar absorpsiyon katsayısı} (\epsilon_{H_2O_2}) = 40,98 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\text{CAT akt.} = ((\Delta A_D / t \text{ dakika}) - (\Delta A_{T_{amkD}} / t \text{ dakika})) \times (1 / \epsilon_{H_2O_2}) \times (1 / \epsilon) \times (V_T / V_{NM})$$

$$\text{CAT akt.} = (\Delta A / t \text{ dakika}) \times (1 / 0,04098 \text{ L} / \text{mmol.cm}) \times (1 / \text{cm}) \times (3,01 \text{ mL} / 0,01 \text{ mL})$$

$$\text{CAT aktivitesi} = (\Delta A / t \text{ dakika}) \times 7345 (\mu\text{mol/mL.dakika})$$

$\mu\text{mol/dakika} = \text{EÜ}$ olduğundan;

$$\text{CAT(EÜ/mL)} = (\Delta A / t \text{ dakika}) \times 7345$$

$$\text{CAT(EÜ/mg protein)} = ((\Delta A / t \text{ dakika}) \times 7345) / \text{Protein derişimi(mg/mL)}$$

4.2.2. 4. Total Protein Tayini

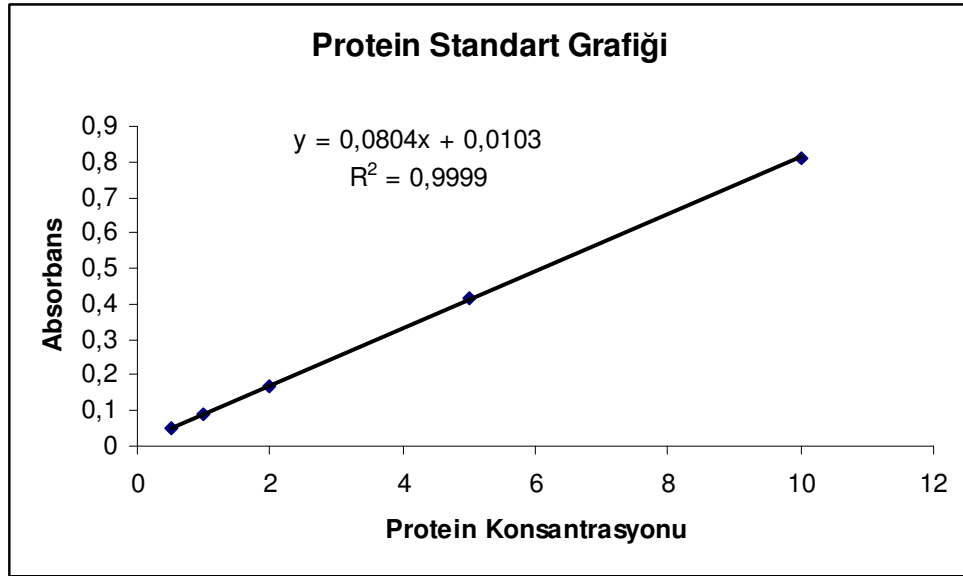
Alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşur. Bu kompleks fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini redükler ve koyu mavi bir renk oluşur. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır [131]. Folin reaktifinin ilavesinde şu önemli kaideye dikkat etmek gerekir ki bu reaktif yalnız asidik ortamda dayanıklıdır. Tarif edilen bu redüklenme ise pH 10'da gerçekteşmektedir. Bundan dolayı folin reaktifi alkali bakır-protein çözeltisine hemen ilave edilmeli ve derhal şiddetle karıştırılmalıdır. Bu suretle fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifi parçalanmadan önce indirgenme olayı gerçekteşir.

Çizelge 4. 4. Total protein ölçümünde işlem basamakları

	Kör	Numune	Standart
Numune (μL)	—	10	10
Saf su(μL)	500	490	490
C Reaktifi (mL)	2.5	2.5	2.5
Tüpler vortekslenir ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.			
D Reaktifi (mL)	0.25	0.25	0.25

Tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak 25 °C'da 20-30 dakika beklenir ve 700 nm'de distile suya karşı okunur [131].

Standart çözelti olarak sığır serum albümin (BSA) kullanıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartların absorbanslarına göre protein standart grafiği elde edildi.



Şekil 4. 1. Protein standart grafiği

Hesaplama, standart grafiğinden numunelerin konsantrasyonları belirlendi

4. 2. 5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulgular istatistiki olarak değerlendirilerek, aritmetik ortalamaları (X) ve standart sapmaları (SD) bulundu. Gruplar arasındaki farkın karşılaştırılmasında Normality testi yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki ise Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildi ve anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi. Bu istatistiki işlemler SPSS 13.0 (Chicago, IL, USA) paket programı ile gerçekleştirildi.

5. BULGULAR

Çalışmaya alınan $8,1 \pm 2,9$ yaş arasındaki JRA'lı hastaların 10' u erkek, 15' i kız idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması $8,0 \pm 1,7$ idi. Kontrol grubunun ise 11'i erkek, 9' u kız idi.

Çalışmamızda kontrol ve juvenil romatoid hastaları olmak üzere iki grup oluşturuldu. Bu iki grupta oksidatif stres belirteçlerinden lipit peroksidasyon düzeyi belirlenmesi için MDA değerleri ile oksidatif enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) belirtilen metotlara göre çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.1. ve Çizelge 5.2. de gösterilmiştir.

Çizelge 5. 1. Juvenil romatoid artritli hastalarının MDA, CAT, SOD değerleri

Hasta no	MDA (nmol/ml)	CAT (U/mg)	SOD (U/mg)
1	1,8429	4,55	0,906
2	2,9166	8,161	1,026
3	3,1730	7,787	0,904
4	4,4870	6,039	0,658
5	7,8843	2,022	1,060
6	4,4229	2,920	0,873
7	2,9166	5,650	0,798
8	3,0127	5,325	0,831
9	4,6953	4,580	0,826
10	2,5640	2,663	0,948
11	3,6056	9,884	0,855
12	3,1249	2,938	0,850
13	12,066	16,526	0,737
14	2,4929	11,192	0,772

Çizelge 5. 1. Jüvenil romatoid artritli hastalarının MDA, CAT, SOD değerleri (Devamı)

15	0,3365	6,539	0,733
16	15,080	4,436	0,895
17	1,1378	3,889	0,778
18	3,9582	1,612	0,778
19	1,1218	1,546	0,850
20	3,0287	11,0175	0,580
21	2,3557	11,680	0,446
22	3,7018	8,753	0,573
23	2,1313	7,0625	0,458
24	4,4870	9,161	0,377
25	1,9069	10,124	0,513

Çizelge 5. 2. Kontrol grubu MDA, CAT, SOD değerleri

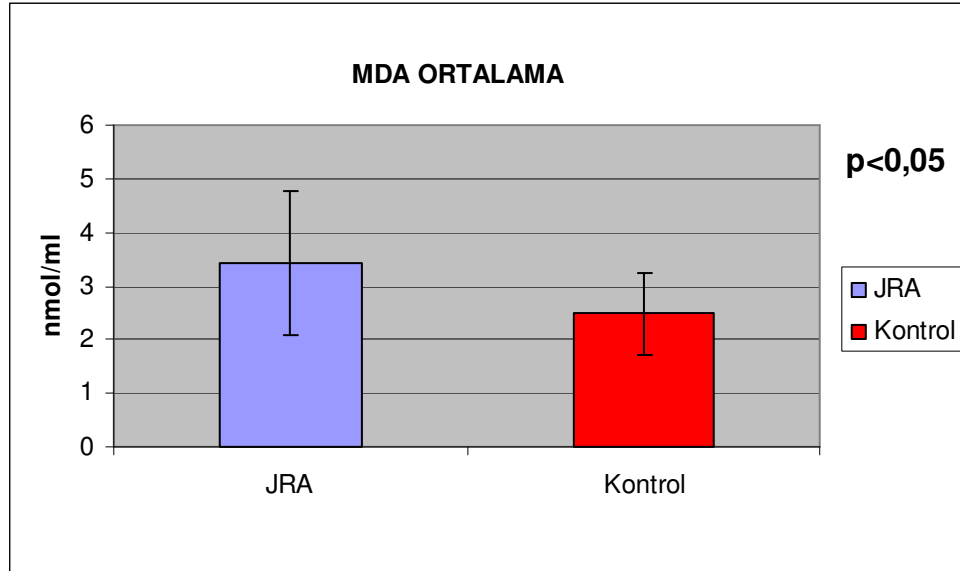
Hasta no	MDA (nmol/ml)	CAT (U/mg)	SOD (U/mg)
1	2,6922	19,620	0,932
2	1,3301	17,879	0,885
3	4,6953	7,639	0,936
4	2,6281	25,441	1,0
5	7,7561	17,851	0,933
6	4,3909	2,448	0,840
7	4,6793	27,421	0,986
8	2,9967	5,085	0,898
9	3,1249	10,283	0,825
10	3,8620	25,095	0,840
11	2,6281	17,138	0,982
12	2,8364	11,584	0,821
13	1,4743	11,125	0,967
14	2,8845	8,394	0,968
15	1,2820	18,464	0,972
16	2,0512	6,475	0,894
17	1,6025	11,109	0,847
18	2,4999	10,413	0,881
19	3,3973	9,067	0,828
20	1,9871	15,594	1,009

Çizelge 5. 1. ve Çizelge 5. 2.'deki değerlere göre her iki grubun ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. Kontrol grubu ortalama ve standart sapma değerleri; MDA (2.4750 ± 0.74646), CAT (13.8717 ± 7.04076) ve SOD (0.9099 ± 0.06385) olarak hesaplandı. Jüvenil romatoid artritli hastaların ortalama ve standart sapma değerleri ise; MDA (3.4385 ± 1.34100), CAT (6.8305 ± 3.87447) ve SOD (0.7827 ± 0.17918) olarak hesaplandı.

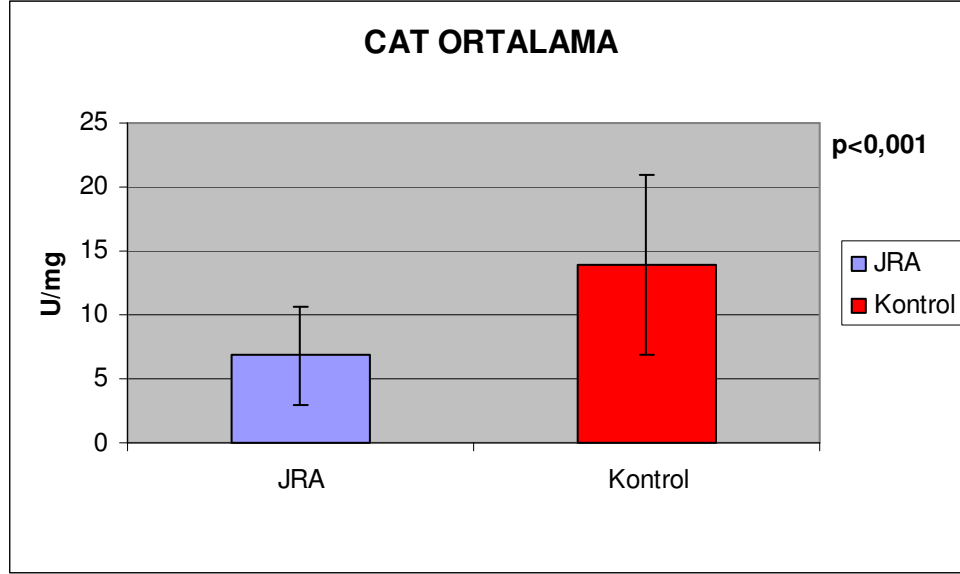
Çizelge 5. 3. Gruplar arasında değerlerin karşılaştırılması

	Kontrol (n = 20) Ortalama + S.D.	JRA (n = 25) Ortalama + S.D.	p
MDA	2.4750 ± 0.74646	3.4385 ± 1.34100	<0,05
CAT	13.8717 ± 7.04076	6.8305 ± 3.87447	<0,001
SOD	0.9099 ± 0.06385	0.7827 ± 0.17918	<0,001

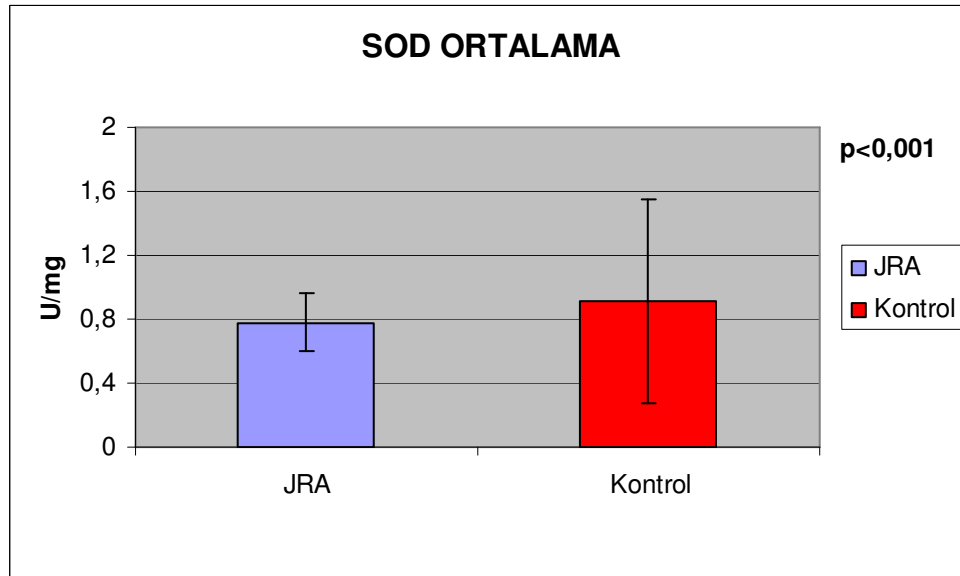
Yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında değerler karşılaştırılarak iki grup arasındaki ilişki tespit edilmiştir. JRA'lı hastaların MDA düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) arttıkları tespit edildi. Bunun yanında antioksidan enzimlerden katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) olarak azaldıkları bulundu.



Şekil 5. 1. Kontrol ve JRA'lı hasta grubu MDA düzeyi Ortalama ve standart sapma değerleri



Şekil 5. 2. Kontrol ve JRA' lı hasta grubu CAT düzeyi Ortalama ve standart sapma değerleri.



Şekil 5. 3. Kontrol ve JRA' lı hasta grubu SOD düzeyi Ortalama ve standart sapma değerleri.

6. TARTIŞMA

JRA, etiyojisi tam olarak bilinmeyen kronik sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Tipik özelliği, devam eden kronik inflamatuvar sinovittir. Bu sinovyal inflamasyon eklem deformitelerine kadar giden ağır hasara, hatta sakatlığa neden olur. Bu nedenle JRA'nın tedavisi hastalığın seyri ve prognozu üzerinde oldukça etkili olmaktadır. Bazı JRA'lı hastalarda klasik tedavi yetersiz kaldığı için son yıllarda tedavi protokolleri değişmekte ve yeni tedavi yaklaşımları denenmektedir. Daha etkili bir tedavi için etiopatogenezin karanlık noktalarının aydınlatılması gerekmektedir. Böylece, hem daha etkili tedavi yöntemleri hem de meydana gelecek komplikasyonlar önenebilir [160].

JRA'nın etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte birçok faktörün rolü olduğu düşünölmektedir. Bu faktörlerden biri de serbest oksijen radikalleridir. JRA'nın etiopatogenezinde serbest oksijen radikallerinin yeri son yirmi yıldır tartışılmaktadır [161]. RA'nın serbest radikal reaksiyonları ile olan ilişkisi Mc Cord'un çalışmasından sonra ilgisini çekmiştir. Bu çalışmada RA'lı hastalarda sinovyal sıvıda viskozitenin azaldığı ve aynı etkinin O_2^- ile karşılaşılan sinovyal sıvı ya da hyalüronik asit solüsyonlarında da ortaya çıktığı gösterilmiştir [3].

Serbest radikaller, dış yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan biyokimyasal ürünlerdir. Atomların çoğu moleküllerde zıt yönlerde dönmekte ve yapılarında birbirlerinin fizikokimyasal aktivitesini engelleyen elektron çiftleriyle dolu yörüngeler bulunmaktadır. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla veya bir elektron ilavesiyle oluşurlar. Bu durumda radikal çok reaktif ve kararsız yapıdadır. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden dolayı vücutta indirgeyici veya yükseltgeyici olarak davranırlar. Bu özellikleri nedeniyle çok kısa bir yarı ömre (10^{-6} saniyeden daha kısa) sahiptirler. İnorganik ve organik kimyasal maddelere özellikle membran molekülüleri ve nükleik asitler için anahtar özellikteki moleküllere girerek hücre reaksiyonlarını etkilerler [109-111].

Serbest oksijen radikalleri, hücrede mitokondriyal solunum ve bazı enzim aktiviteleri sırasında fizyolojik olarak oluşan molekülülerdir. İmmün sistemin sağlıklı çalışması, hücre savunması ve mikroorganizmaların öldürülmesinde serbest oksijen radikallerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle, serbest oksijen radikallerini değerlendirirken doğal olarak da oluştuğu ve reaksiyonlarda fonksiyon aldıkları bilinmektedir. Ama bazı patolojik durumlarda bu dengenin bozulduğu unutulmamalıdır [1].

Normal koşullarda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) gibi enzimlerle veya E, A, C vitamini, β -karoten, selenyum gibi enzim olmayan antioksidan maddelerin içine girdiği mekanizmalarla serbest oksijen radikalleri ortamdan uzaklaştırılır.

Artmış serbest radikal yapımı eğer antioksidan mekanizmalar yetersiz kalırsa vücudumuza zarar verir. Buna oksidatif stres denilmektedir. Eğer bu hafif bir artışta doku antioksidan savunmasını artırarak yanıt verir, ancak ağır bir oksidatif stres mevcutsa hücre hasarı meydana gelir ve hücre ölür. Ateroskleroz, RA, diabet, miyokard enfaktüsü, sepsis, erişkin tip respiratuvar distres sendromu, bronkopulmoner displazi ve prematüre retinopatisi gibi pek çok hastalıkta serbest radikaller suçlanmaktadır [2].

Organizmadaki aşırı serbest radikal üretimi, özellikle hücre membranlarındaki lipidleri etkileyerek lipid peroksidasyonuna neden olur. Ayrıca proteinler, karbohidratlar ve DNA da serbest radikallere hedef olur. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, kimyasal olarak aktif bir moleküldür, çevre hücre ve dokulara kolayca difuze olarak moleküler düzeyde, özellikle proteinler üzerinde zararlı etkiler gösterebilir [162].

Hücre membranının peroksidasyon hasarının ölçüsü olan lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyi ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz dolaylı olarak hücredeki prooksidasyon ve oksidasyona etki etmektedir [163].

Biz bu çalışmada; JRA'li hastalarda serbest radikallerin ve antioksidan sistemlerin durumunu değerlendirmek amacıyla lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA' i, oksidatif strese karşı savunma sağlayan SOD aktivitesi ile CAT aktivitesini ölçtük.

SOD bir metalloenzimdir (Stoplazmik SOD Cu^{+2} ve Zn^{+2} içerirken, mitokondrideki enzim Mn^{+2} içerir) ve aerobik hücrelerde her tarafa yayılmıştır. Mitokondriyal SOD, intramitokondriyal süper oksit anyonunu çok düşük veya sabit konsantrasyonlarda kalmasını sağlamaktadır [143].

SOD, oksijeni metabolize eden bütün canlılarda yaşam için gerekli olan bir enzimdir [164, 165]. Günümüze kadar RA' da SOD aktivitesi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. JRA' da ise daha az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmaların çoğu sinovyal sıvıdaki SOD aktivitesi ile ilgilidir. Sinovyal sıvı ve serumdaki SOD aktivitesi hakkında değerşik görüşler vardır.

Blake ve ark. insan sinovyal sıvısında oksijen radikallerinin yarattığı hasara karşı koruma sağlayacak SOD olmadığını, önemsiz miktarda katalaz bulunduğunu göstermişlerdir [166].

Igari ve ark. RA' lı ve osteoartrozlu hastaları karşılaştırdıkları bir çalışmada, sinovyal sıvıda SOD aktivitesini değerlendirmişler ve osteoartrozlu hastalarınkine oranla RA' lı hastaların sinovyal sıvısında SOD aktivitesinin dört kat arttığını, serumda ise anlamlı bir değişiklik olmadığını ileri sürmüşlerdir. Sinovyal sıvıdaki SOD aktivitesindeki artışın hastalığın klinik evresiyle ve CRP ile korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir [167].

Marlund ve ark. RA' lı hastalar ile kontrol grubunu karşılaştırmışlar ve RA' lı hastalarda sinovyal sıvıda SOD aktivitesinin belirgin olarak düşük olduğunu bildirmişlerdir [168].

SOD' nin bazı hayvan deneylerinde oksidatif hasara karşı etkili olduğu gösterilmiştir [145]. Sığırdan elde edilen orgotein adlı SOD preparatı veterinerlikte anti-inflamatuvar olarak kullanılmakta olup RA' da ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak bu konuda plasebo kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır [169].

Yukarıdaki çalışmalara baktığımızda RA' da ve JRA' da SOD aktivitesi ile ilgili değişik sonuçlar bildirilmektedir. Bu farklılığın nedeni çalışmaya alınan hastaların klinik aktiviteleri ile ilgili olabilir.

Yaptığımız çalışma, JRA' lı hastalardaki SOD aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşüklük göstermektedir. Bu sonuç; JRA' lı hastalarda serbest radikal artışı olmadığını, hatta kontrol grubuna göre baskılanmış olduğunu göstermektedir.

JRA' lı hastalarda serbest radikal ölçümü için en çok tercih edilen yol lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin ölçümüdür [4, 170].

Otooksidasyon sonucu veya daha farklı yollardan oluşan serbest radikallerin oranı, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranda olursa organizmalarda biyomolekülleri etkilemektedirler. Bu etkiye en duyarlı olan moleküller lipitlerdir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyon vererek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu (LPO) olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür [130].

MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipit peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir. Bu sebeple organizmada oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. MDA, tiyobarbitürik asit ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve oluşan bu çözeltinin absorpsiyon değerlerinden LPO'nun derecesi saptanmaktadır [135].

Peroksidasyonla oluşan ve son aldehit ürünlerinden olan MDA, membran bileşenlerine çarpaz bağlanarak polimerizasyonuna yol açmaktadır. Bununda, hücre membranının şekil değiştirebilme, iyon transportu, enzim aktivitesi, hücre yüzey bileşenlerinin bütünlüğünün korunması gibi intrinsik özellikleri değiştirdiği, protein sentezini inhibe ettiği, makrofaj hareketlerini durdurduğu ve kemotaksise neden olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca MDA'nın difüzyon özelliğine sahip olduğu için DNA'nın azot bazları ile de reaksiyon verdiği ve bütün bu özelliklerinden dolayı lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA'nın ölçümünün biyolojik olarak önemli olduğu bilinmektedir [130].

RA'lı hastalarda MDA ölçümü hakkında yapılmış çok sayıda çalışma vardır. Rowley ve ark. RA'lı hastaların plazma ve sinovyal sıvılarında MDA'nın artmış olduğunu ve bunun hastalığın aktivitesiyle korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir [171].

Merry ve ark. ise RA'lı hastaların sinovyal sıvılarındaki MDA'nın egzersiz öncesi normal değerlerde bulduklarını, egzersiz sonrası arttığını ve bunun hipoksik-reperfüzyon hasarına bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir [172].

Skłowska ve ark. 74 JRA'lı hastada kontrol grubuna göre MDA'nın belirgin artış gösterdiğini bildirmiştir [173].

RA ve SLE'li hastalarda yapılan bir çalışmada ise, MDA'nın artmamış olduğu bildirilmiştir [174].

Yaptığımız çalışma, JRA'lı hastalardaki MDA düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu göstermektedir. MDA düzeyinin yüksek olması çalışmamızda JRA'lı hastalarda serbest radikal artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonunun olduğunu göstermektedir.

JRA'lı hastalarda CAT aktivitesi ile ilgili çok fazla çalışma olmamasına rağmen, RA'lı hastalarda farklı çalışmalar mevcuttur.

İmadaya ark. RA'lı ve OA'lı (osteoartroz) hastalar üzerinde SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerini çalışmışlar, buna göre RA'lı hastaların enzim aktivitelerini OA'lı hastalara göre anlamlı şekilde düşük bulmuşlardır [175].

Yaptığımız çalışma, JRA'lı hastalardaki CAT aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşüklük göstermektedir. Bu sonuç; JRA'lı hastalarda serbest radikal artışı olmadığını, hatta kontrol grubuna göre baskılanmış olduğunu göstermektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada SOD ile CAT arasında istatistiksel yönden önemli negatif bir korelasyon vardır.

Buna göre, JRA' li hastalarda süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerindeki azalmanın, inflamasyonun oluşturduğu DNA hasarı ile bu enzimlerin sentezlenmesinde ve aktivitelerini göstermesinde inhibisyona uğradıklarını düşünebiliriz. Serbest radikallerin etkisiyle oluşan inflamasyonun hem DNA üzerinde oluşturdukları hasar hem de proteinlere yaptıkları etki göz önüne alındığında katalaz ve süperoksit dismutaz enzimlerinin aktivitelerindeki azalma ve MDA' daki artış açıklanabilir.

Serbest radikallerin eklemde meydana getirdiği hasarın başlangıç noktası nötrofillerdir. Doku hasarına bağlı ortama gelen nötrofillere ve nötrofillerden salınan H_2O_2 , $HOCl$, NO ve O_2^- inflamasyonun şiddetlenmesine neden olur.

Sonuç olarak; inflamasyonun çok çeşitli olduğu JRA' lı hastalarda oksidatif stres faktörlerinden olan SOD ve CAT aktivitelerinde önemli bir azalma tesbit edilmiştir. (SOD için $p<0,001$, CAT için $p<0,001$) Ayrıca inflamasyon sırasında meydana gelen ve hücre membranlarındaki dejenerasyonu göz önüne seren lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA' daki artışta bu oksidatif stresin diğer bir göstergesi olarak bulunmuştur ($p<0,05$). Biz bu hastalarda oksidatif enzimlerin artırılması yönünde tedavilerin düzenlenmesinin, ayrıca doku hasarını yani lipid peroksidasyonunu engelleyici tedavilerin yapılmasının JRA' te daha hızlı iyileşmeyi sağlayacağını ve remisyonu uzatacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- [1] Kremer, J.M., 1993, Nutrition and rheumatic disease. In: Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, eds. Textbook of Rheumatology. Fourth ed. Pennsylvania: WB Saunders, 484-97 p.
- [2] Southorn, P.A., Powis, G., 1988, Free radicals medicine II: Involvement in human disease. Mayo Clin Proc, 63: 390-408 p.
- [3] Yalçın, A.S., 1998, Antioksidanlar. Klinik gelişim 11: 342-346 s.
- [4] Mayes, P., 2000, Abiologic Oxidation. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. (editors). Harper's Biochemistry. 25. Baskı. Stamford: Appleton&Lange, 130-137 p.
- [5] Nilges, M.J., Swartz, H.M., Riley, P.A., 1984, Identification by electron spin resonance of free radicals formed during the oxidation of 4-hydroxyanisole catalyzed by tyrosinase. J Biol Chem, 259(4):2446-51 p.
- [6] Traverse, J.H., Nesmelov, Y.E., Crampton, M., Lindstrom, P, Thomas, D.D. and Bache, R.J., 2006, Measurement of myocardial free radical production during exercise using EPR spectroscopy. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 290(6): H2453 - H2458 p.
- [7] Jay, L., 1988, Zweier and Periannan Kuppusamy. Electron Paramagnetic Resonance Measurements of Free Radicals in the Intact Beating Heart: A Technique for Detection and Characterization of Free Radicals in Whole Biological Tissues. PNAS, 85: 5703 – 5707 p.
- [8] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999, Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd edition. Oxford; Oxford Science Publications.
- [9] Simon, L.S., Mills, J.A., 1980, Nonsteroidal antiinflammatory drugs. N Eng J Med, 302: 1179-85 p.
- [10] Cassidy, T.J., Patten, R.E., 1995, Juvenile rheumatoid arthritis. In: Textbook of Pediatric Rheumatology. Third ed. Philadelphia: WB Saunders, 133-223 p.
- [11] Lipnick, R.N., Tsokos, G.C., Magilavy, D.B., 1991, Immune abnormalities in the pathogenesis of juvenile rheumatoid arthritis. Rheum Dis Clin North Am 17: 859-70 p.
- [12] Brewer, E.J., Bass, J.C., Cassidy, J.T., 1972, Criteria for the classification of juvenile rheumatoid arthritis. Bull Rheum Dis 23: 712-719 p.
- [13] European League Against Rheumatism: EULAR Bulletin No. 4: Nomenclature and Classification of Arthritis in Children. Basel, National Zeitung AG, 1977.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [14] Fink, C.W., 1995, Proposal for the development of classification criteria for idiopathic arthritides of childhood. *J Rheumatol* 22: 1566-1569 p.
- [15] Modified from Cassidy J.T., Levinson, J.E., Bass, J.C., 1986, et al.: A study of classification criteria for a diagnosis of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 29: 274-281 p.
- [16] From European League Against Rheumatism (EULAR) Bulletin 4. Nomenclature and Classification of Arthritis in children. Basel, National Zeitung AG, 1977
- [17] From Petty RE, Southwood TR, Baum J, et al: Revision of the proposed classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: Durban, 1997. *J Rheumatol* 25: 1991-1994, 1998.
- [18] Kulas, D.T., Schanberg, L, 2001, Juvenile idiopathic arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 13:392-8 p.
- [19] Petty, R.E., Cassidy, J.T., 2001, Juvenile idiopathic arthritis. In: Cassidy JT, Petty RE (eds) *Textbook of Pediatric Rheumatology*. WB Saunders Company 214 – 7 p.
- [20] Cassidy, J.T., Petty, R.E., 2001, Juvenile rheumatoid arthritis. In: Cassidy, J.T., Petty, R.E., (eds) *Textbook of Pediatric Rheumatology*. WB Saunders Company 218-319 p.
- [21] Martin, K., Woo, O., 1999, Juvenile idiopathic arthritis. In: Isenberg DA, Miller JJ (eds). *Adolescent Rheumatology*. Martin Dunitz 71-94 p.
- [22] Arısoy, N., Kasapçopur, Ö., 1996, Çocuklarda romatizmal hastalıklar. In: Onat T (ed). *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları*. İstanbul: Eksen yayınları, 969-93 s.
- [23] Kasapçopur, Ö., 2000, Çocukluk çağı romatizmal hastalıkları. Hamuryudan V (editör): *Modern Tıp Seminerleri (13): Artritler*, Günefi Kitabevi Yayınları, 126-137 s.
- [24] Priour, A.M., Dougados, M., 1998, *Pediatric Rheumatology*. Baillieres Clinical Rheumatology. 12:181-374 p.
- [25] Maddison, P.J., Isenberg, D.A., Woo, P., Glass, D.N., 1998, Oxford University Pres.
- [26] Maini, R.N., Zvaifler, N.J., 1998, Rheumatoid Arthritis and other synovial disorders. In: Klippel JH, Dieppe PA (ed) *Rheumatology* Mosby-Wolfe.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [27] Warren, R.W., Perez, M.D., Curry, M.R., Wilking, A.P., Myones, L.B., 2001, Juvenile idiopathic arthritis (Juvenile rheumatoid arthritis). In: Arthritis and Allied Conditions Ed. Kopman WJ, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia.
- [28] Denardo, B.A., Tucker, L.B., Miller, L.C., 1994, Demography of a regional pediatric rheumatology patient population. *J Rheumatol* 21:1553-61 p.
- [29] Fink, C.W., Fernandez-Vina, M., Stastny, P., 1995, Clinical and genetic evidence that juvenile arthritis is not a single disease. *Pediatr Clin North America* 42:1155-69 p.
- [30] Graham, T.B., Glass, G.N., 1997, Juvenile rheumatoid arthritis: ethnic differences in diagnostic types. *J Rheumatol* 24:1677-9 p.
- [31] Özen, S., Karaaslan, Y., Özdemir, O., 1998, et al. Prevalence of JCA and familial Mediterranean fever in Turkey: A field study. *J Rheumatol* 25:2445-9 p.
- [32] Edstrom, G., 1947, Rheumatoid arthritis in children. *Acta Paediatr Scand* 34:334 p.
- [33] Coss, J.A., Boots, R.H., 1946, Juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr* 29:143 p.
- [34] Lockie, L.M., Norcross, B.M., 1948, Juvenile rheumatoid arthritis. *Pediatrics* 2:694 p.
- [35] Sury, B., 1952, Rheumatoid Arthritis in Children. A Clinical Study. Copenhagen, Munksgaard.
- [36] Laaksonen, A.L., 1966, A prognostic study of juvenile rheumatoid arthritis. Analysis of 544 cases. *Avta Paediatr Scand* 1-163 p.
- [37] Sullivan, D.B., Cassidy, J.T., Petty, R.E., 1975, Pathogenic implications of age of onset in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 18:251-255 p.
- [38] Edstrom, G., 1958, Rheumatoid arthritis and Still's Disease in children. A survey of 161 cases. *Arthritis Rheum* 1:497 p.
- [39] Sairanen, E., 1958, On rheumatoid in children. A clinico-roentgenological study. *Acta Rheum Scand Suppl*
- [40] Schesinger, B.E., Forsyth, C.C., White, R.H., 1961, Observations on the clinical course and treatment of one hundred cases of Still's disease. *Arch Dis Child* 36:65 p.
- [41] Grokoest, A.W., Snyder, A.L., Schlaeger, R., 1962, Juvenile Rheumatoid Arthritis. Boston, Little, Brown

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [42] Ansell, B.M., Heberden, Oration, 1978, Chronic arthritis in childhood. *Ann Rheum Dis* 37:107-120 p.
- [43] Schaller, J.G., 1997, Juvenile rheumatoid arthritis *Pediatr Rev* 18:337-49 p.
- [44] Gallagher, K.T., Bernstien, B., 1999, Juvenile rheumatoid arthritis. *Curr Opinion Rheumatol* 11:372-6 p.
- [45] Falcini, F., Cimaz, R., 2000, Juvenile rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 12:415-9 p.
- [46] Özdoğan, H., Kasapçopur, Ö., Dede, H., 1991, et al. Juvenile chronic arthritis in a Turkish population. *Clin Exp Rheumatol* 9:431-5 p.
- [47] Yücel, K., 1982, Juvenil romatoid artrit, Tuna N. Romatizmal Hastalıklar. Hacettepe Taş. Kit. Ltd. Şti. Ankara, 356-85 p.
- [48] Harris, E.D., 1985, Rheumatoid arthritis: Pathophysiology and implications for therapy. *E Engl J Med*, 313:1277-86 p.
- [49] Chantler, J.K., Tingle, A.J., Petty, R.E., 1990, Persistent rubella virus infections associated with chronic arthritis in children. *E Engl J Med*, 322:1277-86 p.
- [50] Inman, R.D., 1991, Infections etiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 17:859-70 p.
- [51] Ewerbeck, H., 1980, *Differential Diagnosis in Pediatrics* Springer-Verlag, New York, 62 s.
- [52] Miller, M., Aaton, S., Jackson, et al: HLA gene frequencies in children and adults with systemic onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 28:146, 195 p.
- [53] Schuchman, L., Michels, H., Morthart, R., Renz, K., 1986, Prospektive Beobachtungsstudie zum klinischen Verlauf der juvenilen chronischen Arthritis. *Monatsschr Kinderheilkd* 134:164 p.
- [54] Sato, M., Miyazaki, T., Nagaya, T., 1996, Antioksidants inhibit TNF- α mediated stimulation of interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and collagenase expression in cultured human sinovial cells. *J Rheumatol*, 23:432-8 p.
- [55] Benedetti, F.D., Pignatti, P., Massa, M., 1997, et al. Soluble tumour necrosis factor receptor levels reflect coagulation abnormalities in systemic juvenile chronic arthritis. *Br J Rheum*, 36:581-8 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [56] Vaughan and Mckay, M.D., 1975, Texbook of Pediatrics. W.B.Sounders Company Philadelphia, 522 p.
- [57] Southwood, T.R., Petty, R.E., Malleson, P.N., 1989, Psoriatic arthritis in children. Arthritis Rheumatism, 32: 1007-13 p.
- [58] Hafner, R., Michels, H., 1996, Psoriatic arthritis in children Cur Opin Rheumatol, 8:467-72.
- [59] Kelly, V.C., 1960, Rheumatoid Diseases in childhood. Ped. Clinic N. Am 7:435 p.
- [60] Willoughby, M.L.N., Ulukutlu, L., Yıldız, I., 1982, Pediatrik Hematoloji. İst. Üniv. Tıp Fak. İstanbul, 329 s.
- [61] Hoffmeister, R.T., 1983, Methotrexate therapy in rheumatoid arthritis 15 years experince. Am. J. Med. 31:69 p
- [62] Suantessen, A., 1983, Gold in Rheumatoid arthritis therapy today pediatrics 125 p.
- [63] Boone, J.E., Richard, S.P., 1974, et al: Immunologic Studies of Juvenile rheumatoid arthritis. The Ped. Clin. N. Amer. 21:4, 855 p.
- [64] Amos, R. S. , Constable, T. J., Crockson, R.A., 1977, et al: Rheumatoid arthritis relation of serum C-reaktive protein and eryrocyte sedimentation rates to radiographic changes. British med. J. , 1; 195 p.
- [65] Calabro, J.J., Burnstein, S.L., Stoley, H.L., Leb, L., 1977, Laboratory Tihdings in Juvenile Rheumatoid Arthritis; Arthritis and Rheumatism, 20:268 p.
- [66] Vanace, P., 1977, Juvenile rheumatoid arthritis and other rheumatic disease of children in katz W.A. : Rheumatic Diseases Diagnosis and Management. Lippincott Co. , Philadelphia, 446 p.
- [67] Onat, T., Ahunbay, G., 1982, Juvenile rheumatoid arthrit. İst. Univ. Cer. Tıp Fak. İst.
- [68] Goel, K.M., Logan, R.V.,1974, et al: Serum immunglobulin B_{IC} / B_{IA} globulin concentrations in juvenile rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 33:35 p.
- [69] Bianco, N.E., Richard, S.P., 1971, et al: Immunologic Studies of Juvenile rheumatoid arthritis. Arthritis and Rheumatism. 6:685 p.
- [70] Goel, K.M. and Shank, A.R., 1974, Follow up study of 100 cases of juvenile rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 33:25 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [71] Cassidy, J.T., 1986, et al: A study of classification criteria for a diagnosis of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 29:274 p.
- [72] Gear, A.J., 1974, Rheumatoid arthritis, juvenile arthritis, iridocyclitis and Epstein-Barr virus. *Ann. Rheum. Dis.* 33:25 p.
- [73] Williams, R.A., Ansell, B.M., 1985, Radiological findings in seropositive juvenile chronic arthritis (juvenile rheumatoid arthritis) with particular reference to progression. *Ann. Rheum. Dis.* 44:685 p.
- [74] Petty, E.R., Cassidy, T.J., 1973, Clinical correlates of antinuclear antibodies in juvenile rheumatoid arthritis. *J. Pediatr.* 83:386 p.
- [75] Levinson, J.E., Baum, J., Brewer, E. , Finks, C. , Hanson, V., Schaller, J., 1977, Comparison of tolmetin sodium and aspirin in the treatment of juvenile rheumatoid arthritis. *J. Ped.* 91:799 p.
- [76] Jacobs, J.C., 1985, JRA and hyperphosphatemia (Letter). *J pediatr* 107:828-9 p.
- [77] Lockitch, G., Pudec, M.R., Halstead, A.C., 1984, Isolated elevation of serum alkaline phosphatase. *J Pediatr*, 105:773-5 p.
- [78] Kaye, B.R., Kaye, R.L., Bobrove, A., 1984, Rheumatoid nodules. Review of the spectrum of associated conditions and proposal of new classification with a report of four seronegative cases. *Am J Med*,76: 279-92 p.
- [79] Bardare, M., Falcini, F., Hertzberger, R., 1997, Idiopathic limb edema in children with chronic arthritis: A multicenter report of 12 cases.*J Rheumatol*, 24: 384-8 p.
- [80] Vostrejs, M., Hollister, J.R., 1988, Muscle atrophy and leg length discrepancies in pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Dis Child*, 42:343-5 p.
- [81] Alukal, M.K., Costello, P.B., Gren, F.A., 1984, Cardiac tamponade in systemic juvenile rheumatoid arthritis requiring emergency pericardiectomy. *J Rheumatol*, 11: 222-5 p.
- [82] Gururaj, A.K., Chand, R.P., Chuah, S.P., 1988, Cerebral infarction in juvenile arthritis. *Clin Neurol Neurosurg*, 90: 261-3 p.
- [83] Rudolf, M.C.J., Genel, M., Tamborlane, W.V., 1981, Juvenile rheumatoid arthritis in children with diabetes mellitus. *J pediatr*, 99: 519-24 p.
- [84] Stapleton, F.B., Hanissian, A.S., Miller, L.A., 1985, Hypercalciuria in children with juvenile rheumatoid arthritis; associated with hematuria. *J Pediatr*, 107: 235-9 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [85] Dhib M, Prieur AM, Courville S, et al. Crescentic Glomerulonephritis in juvenile chronic arthritis. *J Rheumatol* 1996; 23: 1636-40 p.
- [86] Pachman, L.M., Poznanski, A.K., 1993, Juvenile rheumatoid arthritis. In: Mc Carty DJ, Kopman WJ, eds. *Arthritis and Allied Conditions*. Pennsylvania: Lea Febiger, 1021-1038 p.
- [87] Rosenberg, A.M., Hauta, S.A., Prokopchuk, P.A., 1996, Studies on associations of ANA with to an uveitogenic peptide of retinal s antigen in children with uveitis. *J Rheumatol*, 23: 370-3 p.
- [88] Verbruggen, L.A., Shashabpour, M., Van Roy, P., 1990, Magnetic resonance imaging of articular destruction in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 33:1426-30 p.
- [89] Ansell, B. M., 1986, Juvenile arthritis. *The Practitioner*. 4:343, p.
- [90] Rosenberg, A.M., 1996, Treatment of juvenile rheumatoid arthritis: Approach to patients who fail standart therapy. *J Rheumatol*, 23:1652-6 p.
- [91] Rose, C.D., Doughty, R.A., 1992, Pharmacological management of juvenile rheumatoid arthritis. *Drugs*, 43:849-63 p.
- [92] Hochberg, M.C., 1989, NSAIDs, Mechanism and pathways of action. *Hosp Prac* 24:185-98 p.
- [93] Simchowitz, L., Mehta, J., Spilberg, I., 1979, Chemotactic factor-induced generation of superoxide radicals by human neutrophils: effect of metabolic inhibitors and antiinflammatory drugs. *Arthritis Rheum*, 22: 755-63 p.
- [94] Biemond, P., Swaak, A.J., Penders, J.M., 1986, Superoxide production by polymorphonuclear leucocytes in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: in vivo inhibition by artirheumatic drug piroxicam due to interference with the activation of the NADPH-oxidase. *Ann Rheum Dis*, 45: 249-55 p.
- [95] Weser, J.K., 1980, Nonsteroidal antiinflamatuvar drugs. *N. Eng. J. M.* 21: 1179 p.
- [96] Cassidy, J.T., Marter, W., 1977, Juvenile rheumatoid arthritis: Clinicocardiologic carrelations. *Arthritis Rheumatism* 20:207 p.
- [97] Kvien, T.K., Höyeraal, H.M., 1984, Naproxen and asetely salicylic acid in the treatment of pauciartikuler and polyartikuler juvenile rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatolgy* 13:342 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [98] Kvien, T. K., Olsson, B., Höyeraal, H. M.: Acetyl salicylic acid and juvenile rheumatoid arthritis. *Acta Paediatr. Scand.* 74:755, 1985.
- [99] Kasapçopur, Ö., Taşan, Y., Sever, L., Çalışkan, S., Arısoy, N., 1997, Jüvenil romatoid artrit tedavisinde intraartiküler steroid kullanımı. *Türk Pediatri Arşivi*, 32:31-5 p.
- [100] Giannini, E.H., Cawwel, G.D., 1995, Drug treatment in children with juvenile rheumatoid arthritis: past, present and future. *Pediatr Clin N Amer* 42:1099-1125 p.
- [101] Bloom, B.J., 2001, New drug therapies for the pediatric rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 13:410-4 p.
- [102] Woo, P., Southwood, T.R., Prieur, A.M., 2000, Randomized, placebo-controlled, crossover trial of low-dose methotrexate in children with extended oligoarticular or systemic arthritis. *Arthritis Rheum* 43:1849-57 p.
- [103] Athreya, B.H., Cassidy, J.T., 1991, Current status of medical treatment of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 17:871-889 p.
- [104] Silverman, E.D., Cawwell, G.D., Lovell, D.J., 1994, Intravenous immunoglobulin in the treatment of systemic rheumatoid arthritis: A randomized placebo controlled trial. *J Rheumatol*, 21: 2353-8.
- [105] Tumiatı, B., Casoli, P., Veneziani, M., 1992, High dose immunoglobulin therapy as an immunomodulatory treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheum*, 35: 1126-33 p.
- [106] Silverman, E.D., Laxer, R.M., Greenwald, M., 1990, Intravenous gammaglobulin therapy in systemic rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 33: 1015-22 p.
- [107] Ballou, M., 1991, Mechanism of action of intravenous immunoglobulin therapy and potential use in autoimmune connective tissue disease. *Cancer* , 68: 1430-6 p.
- [108] Eliot, M.J., Woo, P., Charles, P., 1997, Suppression of fever and the acute phase response in a patient with juvenile chronic arthritis treated with monoclonal antibody to tumour necrosis factor- α (cA2). *Br J Rheumatol*, 36: 589-93 p.
- [109] Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G., 2002, Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 18:872-879 p.
- [110] Jacson, M.J., 1999, An overview of methods for assessment of free radical activity in biology. *Proc Nutr Soc* 58:1001 p.
- [111] Young, I.S., Woodside, J.V., 2001, Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 54:176-186 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [112] Sodergen, E., 2000, Lipid peroxidation in vivo. Uppsala University. Uppsala, 61 p.
- [113] Trush, M. A. and Kensler, T. W., 1991,. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* 10: 201-9 p.
- [114] Stampfer, M. J., Osborn, J. A. and Jarakı, M., 1993, Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest;* 91: 308-318 p.
- [115] Wyllie, A. H. and Duvall, E., 1992, Cell injury and death. in: Mcgee JO'D, Isaacson PG, Wright NA. *Oxford Textbook of Pathology.* Newyork: Oxford University Press. 141-193 p.
- [116] De zwart, L. L., Meerman, J. H., Commandeur, J. N., Vermeulen, N. P., 1999 Jan., Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.* 26(1-2):202-26 p.
- [117] Ivanova, L. A., Talakin, Iun., Korshun, M. N. and Savchenko, MV., 1991, Nov. The comparative toxicity of inorganic mercury compounds for a cell culture and the whole organism. *Gig Sanit. Russian,* 11: 66-7 p.
- [118] Brent, J. A. and Rumack, B. H. 1993. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry. *Clin. Toxicol.* 31(1)-139-171 p.
- [119] Nita, D., Al., Viorica Nita, St., Spulberr, M., Moldovan, Daniela, Paula Popa and Ana-Maria Agrean, 2001, L. Zagrean Department of Physiology, Oxidative damage following cerebral ischemia depends on reperfusion - a biochemical study in rat "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania Received;; Accepted: June 18.
- [120] Hinder, R. A. and Stein, H. J. 1991, Oxygen derived free radicals. *Arch. Surg.* 126: 104-105 p.
- [121] McCormick, M., Denning, G.M., Reszka, G.M., Bilski, P., Buettner, G.R., Rasmussen, G.T., Rainsack M.A., Britigan, B.E., 2000, Biological effects of menadione photochemistry: Effects of menadione on biological systems may not involve classical oxidant production. *Biochem J,* 350:797-804 p.
- [122] Kargin, F., Fidancı, U.R., 2001, Böbrek hastalıklı köpeklerde antioksidatif metabolizma. *Turk J Vet Anim Sci,* 25:607-613 p.
- [123] Wu, D., Cederbaum, A.I., 2003, Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Alcohol Research & Health,* 27(4):277-284 p.
- [124] Nordberg, J., Arner, E.S., 2001, Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian thiol systems. *Free Radical Biol Med* 31, 1287-1312 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [125] Fridovich, I., 1998, Oxygen toxicity: a radical explanation. *J Exp Biol.* 201: 1203-1209 p.
- [126] Seven, A., Candan, G., 1996, Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa J Med*, 27: 41-50 p.
- [127] Yeh, C.C., Hou, M.F., Tsai, S.M., Lin, S.K., Hsiao, J.K., Huang, J.C., Wang, L.H., Wu S.H., Hou, L.A., Ma, H., Tsai, L.Y., 2005, Superoxide anion radical lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta*, 25:175 181 p.
- [128] Stahl, W., Sies, H. 2002, Introduction: Reactive oxygen species. *Research Monographs*, 1-2 .
- [129] Nishiyama, Y., Ikeda, H., Haramaki, N. 1998, Oxidative stress is related to exercises intolerance in patients with heart failure. *Am Heart J*, 135-115 p.
- [130] Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları*, Konya.
- [131] Girotti, A.W., 1998, Lipid hydroperoxide generation, turnover and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 39:1529-1542 p.
- [132] Köse, K., Doğan, P., 1992, Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi Ek-1:340-350 p.*
- [133] Pryor, W.A., Porter, N.A., 1990, Suggested mechanism for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Free Radical Biol Med* 8:541-543 p.
- [134] Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y., 2002, "İnsan Biyokimyası", Palme Yayıncılık, Ankara.
- [135] Yılmaz, S. and Ozan, T. S., 2003, "Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki", *Türk Biyokimya Dergisi*, 28(4), 252-256 s.
- [136] Dündar, Y. and Aslan, R., 2000, "Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar", *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, Afyon.
- [137] Machlin, L.J., Bendich, A., 1987, Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1:441-445 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [138] Marnett, L.J., Riggins, J.N., West, J.D., 2003, Endogeneous generation of reactiveoxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein. *J Clin Invest.* 111:583-593 p.
- [139] Sies H. Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 1997, 82: 291–295 p.
- [140] Annuk, M., Zilmer, M., Fellsröm, B., 2003, Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stres in chronic renal failure: Impact on cardiovascular disease. *Kidney Int*, 63 (84); 50-53 p.
- [141] Handelman, G.J., 2000, Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif*, 18(4): 343-349 p.
- [142] Jan Gale, 2001, Oxidative stres in chronic renal fialure. *Nep hrol Dial Transplant*, 16: 2135-37 p.
- [143] Bhagavan, N. V., 2002, "Medical Biochemistry", Harcourt Acedemic Press, Kanada
- [144] Arner, E.S.J., Holmgren, A., 2000, Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.* 267: 6102-6109 p.
- [145] Charles, H.W., Arscott, L.D., Muller, S., Lennon, B.W., Ludwig, M.L., Wang, P.F., 2000, Thioredoxin reductase: Two modes of catalysis have evolved. *Eur J Biochem* 267: 6110-6117 p.
- [146] Rinaldi, R., Eliasson, E., Swedmark, S., Morgenstern, R., 2002, Reactive intermediates and the dynamics of glutathione transferases. *Drug Metab Dispos* 30: 1053-1058 p.
- [147] May, J.M., 1999, Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? *Faseb J.* 13: 995-1006 p.
- [148] Burton, G.W., 1994, Vitamin E: molecular and biological function. *Pro Nutr Sco* 53: 251-262 p.
- [149] Meram, İ., Köylüoğlu, O., Tarakçıoğlu, E., 2001, E vitamini ve klinik önemi. *İbni Sina TıpDergisi.* 6: 1-5 s.
- [150] Barlas, A., Cevik, H., Arbak, S., Bangir, D., Sener, G., Yegen, C., 2004, Melatonin protects against pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats: role of neutrophils. *J Pineal Res*, 37: 267-275 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [151] Reiter, R.J., Tan, D.X., Gitto, E., Sainz, R.M., Mayo, J.C., Leon J., 2004, Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. *Pol. J Pharmacol.* 56: 159-170 p.
- [152] Baker, D.H., Czarnecki-Maulden, G.L., 1987, Pharmacologic role of cysteine in ameliorating or exacerbating mineral toxicities. *J Nutr*, 117: 1003-1010 p.
- [153] Heikkila, R.E., Cabbat, F.S., Cohen, G., 1976, *In vivo* inhibition of superoxide dismutase in mice by diethylthiocarbamate. *The Journal of Biological Chemistry*, 251 (7), 2182-2185 p.
- [154] Crosti, N., Servidei, T., Bajer J., Serra A., 1987, Modification of 6-hydroxydopamine technique for the correct determination of superoxide dismutase. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 25, 265-266 p.
- [155] Tarhan, L., Tüzmen, M.N., 2000, Some properties of Cu, Zn-superoxide dismutase from sheep erythrocyte. *Turkish Journal of Chemistry*, 24, 109-116 p.
- [156] Aydemir, T., Tarhan, L., 2001, Purification and partial characterization of superoxide dismutase from chicken erythrocytes. *Turkish Journal of Chemistry*, 24, 451-459 p.
- [157] Heikkila, R.E., Cohen, G., 1973, 6-Hydroxydopamine: Evidence for superoxide radical as an oxidative intermediate. *Science*, 181, 456-457 p.
- [158] Yagi, K. 1984, Assay for blood plasma or serum. *Methods in Enzymology*, 105:328-337 p.
- [159] Aebi, H., 1974, "Catalase", *Methods of Enzymatic Analysis* 2nd ed., Academic Press Inc., New York, 673-677 p.
- [160] Das, U., 1991, Interactions between essential fatty acids, eicosanoids, cytokines, growth factors and free radicals: Relevance to new therapeutic strategies in rheumatoid arthritis and other collagen vascular disease. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 44: 201-10 p.
- [161] Greenwald, A., 1991, Oxygen radicals, inflammations and arthritis: Pathophysiological considerations and implications for treatment. *Semin Arthritis Rheum* , 20: 219-40 p.
- [162] Parantainen, J., Vapaatalo, H., Hokkanen, E., 1986, Clinical aspects of prostaglandins and leukotrienes in migraine. *Cephalalgia*.6 Suppl 4, 95-101 p.
- [163] Cini, M., Fariello, R.Y., Bianchetti, A. and Moretti, A., 1994, Studies on lipid peroxidation in the rat brain. *Neurochem. Res.* 19, 283-288 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

- [164] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1984, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transitional metals and disease. *Biochem J*, 219: 1-14 p.
- [165] Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23: 21-48 p.
- [166] Blake, D.R., Hall, N.D., Treby, D.A., 1981, Protection against superoxide and hydrogen peroxide in sinovial fluid from rheumatoid patints. *Clin Sci*, 61 : 483-6 p.
- [167] Igari, T., Kaneda, H., Horiuchi, S.,1982, A remarkable increase of superoxide dismutase activity in sinovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Clin Orthopaedics*, 162: 282-7 p.
- [168] Marklund, S.L., Bjelle, A., Elmqvist, L.G., 1986, Superoxide dismutase isoenzymes of the sinovial fluid in the rheumatoid arthritis and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis*, 45: 847-51 p.
- [169] Goebel, K.M., Storck, U., Neurath, F., 1981, Intrasynovial orgotein therapy in rheumatoid arthritis. *Lancet*, 1: 1015-7 p.
- [170] Southorn, P.A., Powis, G., 1988, Free radicals in medicine I: Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc*, 63: 390-408 p.
- [171] Rowley DA, Gutteridge JMC, Blake DR, et al. Lipid peroxidation in rheumatoid arthritis: Thiobarbituric acid reactive meterial and catalytic iron salts in synovial fluid from rheumatoid patients. *Clin Sci* 1984; 66: 691-5
- [172] Merry, P., Grootveld, M., Lunec, J., 1991, Oxidative damage to lipids within inflamed human joint provides evidence of radical mediated hypoxicreperfusion injury. *Am J Clin Nutr*, 53: 362-9 s.
- [173] Sklowska M, Gromadzinska J, Biernacka M, et al. Vitamin E, thiobarbituric acid reactive substance concentrations and superoxide dismutase activity in the blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1996; 14: 433-9 p.
- [174] Suryaprabha, P., Das, U.N., Ramesh, G., 1991, Reactive oxygen species, lipid peroxides and essential fatty acids in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Prostaglandins leukotrienes Essential Faty Asids*, 43: 251-5 p.
- [175] Imadaya, A., Terasawa, K., Tosa, H., 1988, Erythrocyte antioxydant enzymes are reduced in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 15(11): 1628-31 p.