

T.C
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞI AKTİVİTESİNDE ADMA, NO
VE HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. MURAT AYDIN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. M. RAMAZAN YİĞİTOĞLU

Bu uzmanlık tezi Fatih Üniversitesi tarafından P53010733 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA- 2008

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimine başladığım günden, bu güne kadar beni yetiştiren ve her konuda destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. M. Ramazan Yiğitoğlu ve Yrd. Doç. Dr. Cemile Koca'ya teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Tezimi hazırlarken ilgi ve desteklerini gördüğüm Doç. Dr. Yüksel Totan, Yrd. Doç. Dr. Ayşe Çarlıoğlu'na ve Uzm. Dr. Ramazan Yağcı'ya,

Laboratuvarda beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum hocamlarım Doç. Dr. Ferah Armutçu ve Doç. Dr. Mustafa Ulukanlıgil'e, Dr. Sema Uysal'a, ve diğer asistan arkadaşlarıma, baş teknisyenimiz Nazan Nar'a ve tüm laboratuvar personeline teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren, her türlü zorluğu aşmamda maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, aileme ve eşime gösterdikleri fedakarlık için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER.....	viii
TABLolar.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Behçet Hastalığı	2
2.1.1 Epidemiyoloji.....	2
2.1.2 Etiyoloji.....	3
2.1.2.1. Genetik Faktörler.....	3
2.1.2.2 Enfeksiyöz ajanlar.....	3
2.1.2.3 Isı Şok Proteinleri (HSP)	4
2.1.2.4 Self antijenler.....	4
2.1.2.5 Hücresel ve humoral immunoloji.....	5
2.1.2.6 Nötrofil, Monosit, Kompleman Sistem.....	5
2.1.2.7 Nitrik Oksit ve Endotel Fonksiyonları.....	6
2.1.2.8 Oksidatif Stres.....	6
2.1.2.9 Koagulasyon ve fibrinoliz.....	7
2.1.3 İmmunohistopatoloji.....	7
2.1.4 Klinik Özellikler.....	7
2.1.4.1. Oral Aft	8
2.1.4.2 Genital Ülserler.....	8
2.1.4.3 Deri Lezyonları	8
2.1.4.4 Göz Tutulumu.....	9
2.1.4.5 Kas İskelet Sistemi Tutulumu.....	10
2.1.4.6 Vasküler Tutulum.....	10
2.1.4.7 Sinir Sistemi Tutulumu.....	10
2.1.4.8 Gastrointestinal Sistem Tutulumu.....	11
2.1.5 Teşhis.....	11

2.1.5.1 Tanı Kriterleri.....	:11
2.1.5.2 Paterji Testi.....	:12
2.1.5.3. Laboratuvar Testleri.....	:12
2.1.5.4 Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri	:13
2.1.5.5. Ayırıcı tanı.....	:13
2.1.6 Prognoz.....	:13
2.2 Nitrik Oksit.....	:14
2.2.1. Nitrik Oksitin Yapısı ve Özellikleri	:14
2.2.2 Nitrik Oksit Sentaz İzoenzimleri.....	:16
2.2.2.1 Yapısal NOS (cNOS).....	:16
2.2.2.1.1 nNOS	:16
2.2.2.1.2 eNOS.....	:17
2.2.2.2. Uyarılabilir NOS (iNOS).....	:17
2.2.3 Nitrik Oksit Fonksiyonları.....	:18
2.2.3.1 Kardiyovasküler Sistem.....	:18
2.2.3.2 Sinir Sistemi.....	:18
2.2.3.3. İmmün Sistem ve İnflamasyon.....	:19
2.3 Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA).....	:21
2.3.1 ADMA Sentezi.....	:21
2.3.2 ADMA'nın Metabolizması.....	:22
2.3.2 ADMA Yüksekliği ile seyreden klinik durumlar.....	:23
2.4 Homosistein.....	:26
2.4.1. Homosistein Sentezi.....	:26
2.4.2 Homosistein metabolizması.....	:27
2.4.2.1 Transsülfürasyon Yolu.....	:27
2.4.2.2 Remetilasyon Yolu.....	:28
2.4.3. Böbreklerin Homosistein Metabolizmasındaki Önemi.....	:28
2.4.4 Kan Homosisteinin düzeyleri.....	:29
2.4.5 Kan Homosistein düzeylerini yükselten bazı klinik durumlar.....	:29
2.4.5.1. Vitamin Yetersizliği.....	:29
2.4.5.2. Yaş.....	:30
2.4.5.3. Cinsiyet	:30

2.4.5.4. Yaşam Tarzı.....	:30
2.4.5.5. Metabolik Hastalıklar.....	:30
2.4.5.6. İlaçlar.....	:31
2.4.5.7. Genetik Faktörler.....	:31
2.4.5.8. Homosisteinüri.....	:31
2.4.6. Homosisteinin Endotel Disfonksiyonu İlişkisi.....	:32
2.5 İnterlökin 6.....	:34
2.5.1. IL-6'nın Biyolojik ve Klinik Özellikleri.....	:34
2.5.1.1 İmmun Sistem Üzerindeki Etkileri.....	:34
2.5.1.2. Hematopoez Üzerindeki Etkileri.....	:34
2.5.1.3. Akut Faz Reaksiyonları Üzerindeki Etkileri.....	:35
2.5.1.4. İnflamatuvar Olaylar Üzerindeki Etkileri.....	:35
2.5.1.5. Diğer Hastalıklar Üzerindeki Etkileri.....	:35
2.5.1.7. Behçet hastalığı ve IL-6.....	:35
2.6 İnterlökin 8.....	:36
2.6.1. IL-8'in Biyolojik ve Klinik Özellikleri.....	:36
2.6.1.1 Anjiogenezdeki rolü.....	:36
2.6.1.2. İmmun sistem üzerindeki etkileri:.....	:36
2.6.1.3. Akut faz reaksiyonu ve inflamatuvar yanıt üzerindeki etkileri.....	:36
2.6.1.4. Allerjik Hastalıklar ve Solunum Sistemi Üzerindeki Etkileri.....	:37
2.6.1.5. IL-8 ve Behçet Hastalığı.....	:37
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	:38
3.1 Deney ve Kontrol Grupları.....	:38
3.2. Kullanılan Gereçler.....	:38
3.3.Yöntemler.....	:39
3.3.1. Nitrik Oksit'in Tayini.....	:39
3.3.2. Serum ADMA Düzeylerinin Ölçümü.....	:39
3.3.3. Homosistein Ölçümü.....	:40
3.3.4 IL-6 Ölçümü.....	:40
3.3.4 IL-8 Ölçümü.....	:41
3.4 İstatistiksel Analiz.....	:41
4. SONUÇLAR.....	:42

4.1.Sonuçların Analizi.....	:43
4.1.1 Behçet Hastaları ve Kontrol Grubu.....	:43
4.1.2 Aktif - İnaktif Behçet Hastaları ve Kontrol Grubu.....	:43
5. TARTIŞMA	:45
6. ÖZET.....	:51
7. SUMMARY.....	:52
8. KAYNAKLAR.....	:53

ŞEKİLLER

Şekil 1: Nitrik Oksit Sentezi.....	14
Şekil 2: NO hücresel boyuta etkisi.....	15
Şekil 3: Endojen metilarjininlerin yapısı.....	22
Şekil 4: ADMA'nın NO ve homosistein ile ilişkili biyokimyasal yolları.....	23
Şekil 5: ADMA'nın endotel disfonksiyonu ile ilişkisi.....	25
Şekil 6: Homosisteinin açık formülü.....	26
Şekil 7: Homosistein metabolizması	27
Şekil 8: Homosisteinin ADMA metabolizmasına etkileri	33

TABLULAR

Tablo 1: cNOS ile iNOS'ın özellikleri arasındaki bazı önemli farklılıklar.....	17
Tablo 2: NO'in Sistemlere göre rol oynadığı olaylar.....	20
Tablo 3. Grupların demografik parametrelerinin karşılaştırılması.....	42
Tablo 4: Behçet ve kontrol gruplarının ölçülen parametrelerinin karşılaştırılması...	42
Tablo 5: Aktif - inaktif Behçet ve kontrol gruplarının ölçülen parametrelerinin karşılaştırılması.....	42

1.GİRİŞ

Behçet hastalığı (BH) 1937 yılında Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından tanımlanan, kronik relaps ve remisyonlar ile seyreden, inflamatuvar bir multisistem hastalıktır. BH'nın kesin nedeni ve etiyopatogenezi günümüzde tam olarak açıklanamamış olsa da hastalığın belli genetik yapıya sahip bireylerde çeşitli çevresel faktörlerle tetiklendiğine inanılmaktadır. Genetik yatkınlık, enfeksiyöz ajanlar ve immün mekanizmalar etiyopatogenezin temelinde yer alır. Bununla beraber çeşitli hücrelerden salınan proinflamatuvar sitokinlerin BH'da görülen artmış inflamatuvar reaksiyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Etyolojide suçlanan önemli faktörlerden biri de endotel disfonksiyonu ve beraberinde gelişen vaskülit olup, Behçet hastalığının tüm damar sistemini tutabildiği bilimsel çalışmalar ile gösterilmiştir (1,2).

Nitrik Oksit (NO) endotel tarafından sentezlenen, vazodilatasyondan inflamatuvar sitokinlerin salınımına kadar önemli fonksiyonları olan bir moleküldür. Endotel disfonksiyonunda düzeyleri azalan NO ateroskleroz gelişimine zemin hazırlamaktadır (3).

Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) endojen Nitrik Oksit Sentaz enzimi (NOS) inhibitörüdür. ADMA'nın kan düzeyi arttıkça NO sentezi azalmaktadır. ADMA'nın endotel disfonksiyonu ve atherosklerozda rol aldığı ve belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. ADMA'nın ayrıca, böbrek yetmezliği (4), ateroskleroz (5), hiperglisemi (6), hiperhomosisteinemi (7) durumlarında da serumda yükseldiği tespit edilmiştir.

Homosistein ile koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferik damar hastalıkları arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ayrıca homosisteinin birkaç farklı mekanizma ile ADMA düzeyini arttırdığı bildirilmiştir. Behçet hastalığında homosistein artışının koagülasyon bozukluğuna ve endotel disfonksiyonuna neden olduğu bildirilmiştir (8,9).

Behçet hastalığında endotelial disfonksiyon ve vaskülit tablosunda NO ve ADMA düzeylerinin de hastalığın patogenezeine katkısı olasıdır

Biz bu araştırmada aktif Behçet atağı geçiren hastalarda, inaktif Behçet hastalarında ve kontrol grubunda NO, ADMA, homosistein ve beraberinde inflamatuvar sitokinlerden IL-6 ve IL-8 düzeylerini karşılaştırarak hastalığın seyrinde bu parametreler arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Behçet Hastalığı

1937 yılında Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından oral aft, genital ülser ve hipopyonlu üveitten oluşan triad olarak tanımlanan Behçet Hastalığı kronik relaps ve remisyonlar ile seyreden, inflamatuvar bir multisistem hastalıktır (1,2). Hastalığın üçlü triadı uzun yıllardır bilinse de son yıllarda yapılan araştırmalarla her organ ve dokuyu etkileyebilen komplike bir bozukluk olduğu düşünülmektedir (10).

2.1.1 Epidemiyoloji

Hastalık özel bir coğrafik yerleşime sahiptir. Türkiye, Irak, İran, Japonya gibi İpek yolu ülkelerinde daha sık görülmektedir. Türkiye’de aile tutulumlarının sık görüldüğü rapor edilmiştir. Bu muhtemelen aynı ailede, çevresel faktörlerin ve genetik yapının benzer olmasına bağlanabilir (10,11). Ayrıca yapılan araştırmalarda Almanya’da yaşayan Türklerin daha düşük riske sahip olduklarının görülmesi çevresel faktörlerin etiyolojik etkilerini göstermektedir (12).

Akdeniz ülkeleri, Orta-Doğu ve Uzak Doğu’da tahmin edilen hastalık prevalansı 1/10.000-1/1000 arasındadır. Japonya’da prevalans 1/10.000 civarındadır. Türkiye’de coğrafik farklılıklara bağlı olarak 20/100.000 - 300/100.000 arasındadır (13,14,15).

Behçet hastalığı en sık 2. ve 4. dekadlar arasında genç erişkinlerde görülür, çocuklarda nadirdir. Ancak hastalık herhangi bir yaşta da başlayabilir. Behçet hastalığı erkeklerde daha siktir, Erkek/Kadın oranı 2-10/1’dir. Hastalık ipek yolu ülkelerinde erkeklerde, Avrupa ve Amerika’da kadınlarda daha siktir (16,17). Erkek hastalarda hastalık başlangıcı daha erken yaştaadır. SSS, göz ve vaskülit gibi daha ciddi tutulumlar genç erişkin hastalarda daha siktir ve daha yüksek görme kaybı ile birlikte. Benzer olarak HLA-B5 kötü görme prognozu ile ilişkilidir (18).

Genelde hastalık erken yaşlarda daha ağır seyirlidir. İlerleyen yıllarda giderek azalır. Ağır orogenital ülserler Behçet hastasının oral alımının azalmasına neden olabilir. Özellikle göz tutulumu ile kronik morbidite oranı yükselir. Mortalite düşük olmasına rağmen SSS ve pulmoner tutulum, büyük damarlardan kanama, barsak perforasyonları ya da immunsupresif terapi komplikasyonları nedeniyle görülebilir.

Zaman geçtikçe mortalite hızı anlamlı olarak azalır, başlangıç yıllarından sonra daha iyi bir prognoza sahiptir (19,20).

2.1.2 Etiyoloji

Behçet Hastalığı'nın kesin nedeni ve etiyopatogenezi günümüzde tam olarak açıklanamamış olsa da hastalığın belli genetik yapıya sahip bireylerde çeşitli çevresel faktörlerle tetiklendiğine inanılmaktadır (21). Genetik yatkınlık, enfeksiyöz ajanlar ve immün mekanizmalar etiyopatogenezin temelinde yer alır. Bununla beraber çeşitli hücrelerden salınan proinflamatuvar sitokinlerin BH'da görülen artmış inflamatuvar reaksiyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir (22).

2.1.2.1.Genetik Faktörler

21. Kromozomda kodlanan HLA B51 Behçet hastalığına yatkınlık ile en kuvvetli ilişkilendirilmiş genetik faktördür (23). HLA-B51, Behçet hastalığının karakteristiği olan nötrofil fonksiyonu ve T lenfosit disfonksiyonu ile de ilişkilendirilmiştir. HLA-B51 genotipi nedensel olarak Behçet hastalığı ile ilişkili olabileceği gibi, hastalık ciddiyeti ile ilişkili olduğu düşünülmektedir, posterior üveitli ya da progresif SSS tutulumlu hastalarda daha sık rastlanmaktadır (24).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda HLA dışındaki diğer bazı genlerin hastalık gelişiminde rol alabileceği gösterildi. Bunlar arasında TNF- α , ICAM-1, Faktör V, endotelial NO sentaz yer almaktadır (25,26).

2.1.2.2 Enfeksiyöz ajanlar

Spesifik enfeksiyöz ajanların ve viral tetikleyicilerin en iyi açıklama olduğunun düşünülmesi mantıklıdır. Bu tetikleyicilerin arasında parvovirüs B19, Streptokok suşları, H. pylori, B. burgdorferi, HSV-1, HSV-6, Hepatit A,B,C ve E virüsleri yer almaktadır. Fakat bu ajanların hiçbirisi hastalık nedeni olarak izole edilememiştir (10). Son olarak A-enolaz proteini, Behçet hastalarında serum antiendotelial hücre antikorunun (AECA) hedefidir. A-enolaz ve antikor yeni ve kullanışlı diagnostik ve terapötik değere sahiptir (19).

Bazı Streptokok serotipleri hastalık aktivitesini tetikleyici olarak düşünülmüştür. Çünkü aftlar genelde oral mukozadan başlamakta, Behçet hastalarında

tonsillit ve diş çürüğü normal popülasyondan daha sık görülmekte olup bakteriyel antijenlerle temas sonrası hastalık ağıreve olmaktadır. Ayrıca streptokokal antijene karşı testlerde hipersensitivite göstermektedir; son olarak semptomlar benzatin penicillin tedavisinden fayda görmektedir. Bununla birlikte Behçet hastalarında Streptokokal antijenlerin TNF- α , IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir (28,29).

2.1.2.3 Isı Şok Proteinleri (HSP)

Isı Şok Proteinleri; mikroorganizmalar ve memeli dokularında bulunan, enfeksiyon, travma, ısı, UV, hipoksi, soğuk, gibi stres durumlarında indüklenen, immünoreaktif proteinlerdir. Tüm bu streslerin ortak özellikleri proteinlerde denatürasyona neden olmalarıdır. HSP'ler bu denatürasyona karşı koruyucu işlev görürler. Strese maruz kalan hücrelerde protein sentezi azalırken HSP sentezi artar ve bu artışla beraber hücreler daha sonraki ısı şoklarını daha iyi tolere eder. HSP'ler farklı türler arasında evrim açısından iyi korunmuş proteinlerdir. Bu nedenle antijenik bir yakınlık söz konusudur. Behçet hastalarında oral mukozal homojenat ile çapraz reaksiyon veren streptokokal Anti HSP-65 antikorları varlığı rapor edilmiştir (30). Benzer olarak son zamanlarda mikrobiyal HSP-65 kökenli peptidlerin ve onların memeli karşıtları olan HSP-60'ın Behçet hastalarında lenfoproliferatif yanıtı stimüle ettikleri gösterilmiştir (31). Bakteriyel ya da insan HSP-60/65 antijenlerine karşı antikorlar retinal antijenlerle çapraz reaksiyon göstermektedir. Bu nedenlerle HSP'lerin oküler ve mukokutanöz Behçet hastalığı seyrinde rol aldığı düşünülmektedir (32,33).

2.1.2.4 Self antijenler

Üveitin birçok formunda olduğu gibi Behçet hastalığı'nda da anormal bir immün yanıt ya da self antijenlere yöneltilmiş anormal bir yanıt sonrası oluşan spesifik inflamasyon ile karakterizedir. Retinal-S antijeni en kuvvetli üveitik antijendir. Retinanın fotoreseptör alanına lokalize olan bir proteindir. İnsanlarda immunopatojenik olduğu bulunmuştur ve çeşitli üveit formlarına neden olabilmektedir. Deneysel otoimmün üveite neden olabilir ve oküler inflamatuvar hastalık için hedef kabul edilmektedir. Behçet hastalarında inflamasyon başlangıcına neden olan

tetikleyici faktör bilinmese de, bir kere Retinal-S antijenine sensitizasyon oluştuğunda immün hücreler inflamasyon sahasına toplanmaktadır. Oküler Behçet hastalığında Retinal-S antijenine karşı T lenfosit yanıtı artmıştır. Bu bulgu, HSP'lere karşı sensitizasyona benzerdir (34).

2.1.2.5 Hücresel ve Humoral İmmünite

Behçet hastalarının periferik kanlarında selüler aktivite artmış olmasına rağmen, etkilenen kadınların çocuklarında gözlenen neonatal Behçet hastalığı vakalarında humoral faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Çeşitli sitokin profilleri ve yükselmiş lenfosit popülasyonları, Th1 ve Th2 fenotipleri arasında dengesizlik Behçet hastalarında gösterilmiştir (35). Viral ve bakteriyel patojenlere yanıtta T lenfositler rol aldığı için, etkilenen bölgelerde Th1 infiltrasyonuna neden olan Th1 lenfosit yanıtı olduğu düşünülmektedir.

Behçet hastalarında IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ gibi proinflamatuvar mediyatörleri üreten Th1 hücreler artmıştır. Bu da Behçet hastalığı'nın patogeneğinde Th1 lenfositlerin direkt rolü olduğunu düşündürmektedir (36,37).

Adenozin deaminaz özellikle T lenfosit proliferasyonu, maturasyonu ve farklılaşması için önemli bir enzimdir. T lenfosit aktivasyonu ve proliferasyonu ile karakterize inflamatuvar hastalıklarda seviyesi yükselmektedir. Behçet hastalığında özellikle alevlenme döneminde ADA enzim aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu T lenfositlerin hastalık seyrinde rol aldığını da doğrulamaktadır (38).

2.1.2.6 Nötrofil, Monosit, Kompleman Sistem

Mononükleer hücrelerin oral epitelyal hücrelere karşı antikor bağımlı hücresel sitotoksitesiyi başlattığına dair kanıt vardır. Aktif Behçet hastalarında natural killer hücre aktivitesi periferik kanda artmıştır (39).

Behçet hastalığı seyrinde artmış periferik beyaz kan hücre sayısı, aktive monosit, artmış PMNL motilitesi, kutanöz ve oküler lezyonlarda PMNL infiltrasyonu, dolaşımda artmış C3, C4, C5, IgA, haptoglobulin ve orosomukoid gözlenmektedir. Aktif monositler IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF gibi proinflamatuvar sitokinleri üretmektedir ve bu sitokinler PMNL aktivasyonuna katkıda bulunmaktadır. Gerçekten

de kemotaksis, aktif oksijen üretimi, fagositoz, lezyon bölgesine infiltrasyon gibi nötrofil fonksiyonlarının Behçet hastalığı seyri boyunca arttığı gösterilmiştir (40,41).

2.1.2.7 Nitrik Oksit (NO) ve Endotel Fonksiyonları

Behçet hastalığı endotelial hücre disfonksiyonu ile karakterize bir sistemik vaskülitir. NO, immunolojik, enfeksiyöz ve inflamatuvar uyarılara yanıt olarak endotelial hücrelerden sentezlenen serbest bir radikaldir. Uveal inflamasyonun önemli bir mediyatör olup. uveal dokularda deneysel olarak gösterilmiştir. Son zamanlarda NO'nun hastalık seyriindeki rolüne dair kanıtlar toplanmaktadır. Serum nitrit, nitrat konsantrasyonları gibi yeni NO üretim belirleyicileri Behçet hastalarında düşüktür. Üç yeni çalışmada endotelial NO sentazın Glu-Asp 298 polimorfizminin Behçet hastalığı'na yatkınlık ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Evereklioğlu ve arkadaşlarının çalışmalarında ise serum, eritrosit ve sinovyal NO konsantrasyonunun bu hastalarda arttığı ve hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu görüşü destekleyen araştırmacıların da bulguları buna benzerdir. Ek olarak uveitik Behçet hastalarında aköz hümör NO seviyeleri yükselmiş olarak rapor edilmiştir (42).

Artmış serum NO seviyeleri hastalık seyriinde artmış olan çeşitli moleküllerle açıklanabilir. Öncelikle, homosistein (Hcy), IL-6, IL-8 ve TNF- α 'nın potent indükleyicisidir. Hastalık seyri boyunca, proinflamatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir. Hcy ve sitokinlerin indüklediği NOS enzimi NO'in aşırı üretimine neden olabilir (43).

2.1.2.8 Oksidatif Stres

Fazla süperoksit anyon üretimi, artmış adozin deaminaz (ADA) aktivitesi, H₂O₂ indüklü hidroksil radikali ve malondialdehid artışı Behçet hastalarında gösterilmiştir. Bu da alevlenme dönemlerinde nötrofil aracılı immunitenin ve reaktif oksijen ürün üretiminin olduğunu göstermektedir. Gerçekten de, aktif Behçet hastaları'nın nötrofilleri oksidatif hasara inaktif hastalardan daha duyarlıdır. Diğer taraftan endojen serbest radikalleri inaktifleştiren süperoksit dizmutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi antioksidan enzimler Behçet hastalarında azalmıştır. Bu da O₂ ve H₂O₂'nin yok edilmesinde yetersizliğe yol açar (44).

Eser elementler antioksidan enzimlerin kofaktörü olarak rol almaktadır. Behçet hastalarında eritrosit selenyumu, plazmadaki demir, manganez, çinko azalmışken, plazma bakırı, eritrositteki çinko ve manganez seviyeleri yükselmiştir. Ek olarak A,E,C vitaminleri ve β -karoten gibi antioksidanlar bu tür hastalarda azalmıştır (45).

2.1.2.9 Koagulasyon Sistemi

Behçet hastalığı'nın klinik özellikleri arasında venöz ve arteriyel trombozlarla karakterize aktive hemostatik sistem ve artmış kompensatuvar fibrinolitik aktive yer almaktadır (46).

Hastalarda protrombin zamanı ve parsiyel tromboplastin zamanı normaldir. Ancak doku plazminojen aktivatörü (t-PA) aktivitesi, plazminojen aktivator inhibitör-1 (PAI-1) aktivitesi, PAI-1 antijen konsantrasyonları yükselmiştir. Trombin aktifli fibrinoliz inhibitörü (TAFI) tüm hastalarda yüksektir ve pıhtı lizisini bozarak trombotik eğilimin artışına neden olmaktadır. Bu yüzden Behçet hastalarında trombotik eğilim söz konusudur (47).

2.1.3 İmmünohistopatoloji

Behçet hastalarında aktif inflamatuvar sahalardan alınan örneklerde yapılan immunohistopatolojik çalışmalar periferik kanda bulunan bulguları desteklemekte ve immün kompleks aracılı hastalığı düşündürmektedir. Nekrotizan, lökositoklastik obliteratif perivaskülit ve lenfositik, monositik selüler infiltrasyonlarla beraber olan venöz tromboz, damar duvarında fibrin birikimi olsun olmasın her boyutta ven, kapiller ve arter tutulumu Behçet hastalığı'nın özellikleridir (48).

Oküler Behçet hastalığındaki histopatolojik bulgu, genellikle damar içinde veya etrafında bilateral, lökosit etrafında, non infektif okluzif retinal perivaskülit ve trombozdur (49).

2.1.4 Klinik Özellikler

Behçet hastalığı, birçok sistemik tutulumla birlikte olabilir. alevlenmeler ve remisyonlarla farklı hastalarda farklı iyileşme zamanlarıyla seyrederek. Hastalığın şiddeti zamanla azalmasına ve bir noktada stabilize olabilmesine rağmen, bazı organ sisteminde kronik hale gelebilir (50).

2.1.4.1. Oral Aft

Hafif vakaların çoğunda oral mukazanın rekürren aftöz ülserasyonları mevcuttur. Bu bulgular hastalığın en erken ve en evrensel bulgularıdır ve sıradan afttan ayırt edilemez. Ağız ülserleri hastanın yemek yemesine engel olacak şekilde çok ağrılı olabilir. Hızlı bir şekilde ufak noktasal ülser gelişebilir. Rekürrensler arasındaki süre haftalar aylar arasında değişir.

Minör aftöz ülserler Behçet Hastalığında en sık görülen aft tipidir ve tüm aftların yaklaşık %80'ini oluşturur. Çapları 1 santimden küçük olup, yuvarlak veya oval, üzeri gri-sarı pseudomembran ile örtülü, etrafı hafif eritemli ve ödemli halo ile çevrili yüzeysel ülserlerdir. Ağrılı olan aftöz ülserler bazen lenfadenopati ile seyrederek ve yaklaşık 10-15 günde iyileşirler.

Majör aftöz ülserler daha nadir görülür ve tüm aftların yaklaşık %10'unu oluştururlar. Çapları 1 santimden daha büyüktür ve iyileşme süresi 15 günden daha fazladır. Eritemli ve ödemlidir, ortasında gri-yeşil nekroz bulunur. İyileşirken skar dokusu bırakırlar ve lenfadenopati ile seyreden oldukça ağrılı bir kliniği vardır

Herpetiform aftöz ülserler, en nadir görülen aft tipidir. Viral etken izole edilememesine rağmen klinik görüntü nedeniyle bu isim verilmiştir. Sayıları yüzleri bulan düzensiz yüzeysel birleşme eğiliminde aftlardır.

Oküler, SSS ve bazı diğer sistemik belirtilerden yıllar önce ortaya çıkabilir. Bazen sigara içenler de sigarayı bıraktıktan sonra oral ülser relapsları görülebilir (51).

2.1.4.2 Genital Ülserler

İkinci en sık görülen klinik bulgudur, vakaların %80 - 90'ında bulunur, oral lezyonlara benzerdir ancak daha geniş ve daha derindirler. Hastalık seyrinde kimi zaman hemoraji oluşturabilirler. Erkeklerde skrotuma, nadiren penise kadınlarda vulvaya yerleşme eğilimindedir. Papül veya papülopüstüller lezyon olarak başlar ve zamanla ülserleşir. İyileşme sürecinde geniş skarlara neden olabilir (52).

2.1.4.3 Deri Lezyonları

Hastaların % 80 inde değişik kombinasyonlarla görülebilir. En sık bulgu papillo veziküler – püstüller döküntüler ve eritama nodozum benzeri lezyonlardır, özellikle bayanlarda ve alt ekstremitelerde sık görülür. Papillo püstüller lezyonlar ve artrit

beraber seyredebilir ve subkütan tromboflebit oluşabilir, ancak akneiform lezyonlar hastalığa özgü değildir (53).

2.1.4.3.1 Papülopüstüler Lezyonlar

Behçet Hastalığının en sık karşılaşılan deri lezyonlarıdır. Papül şeklinde başlar ve 1-2 günde püstüle dönüşür. Yüz, sırt ve göğüs bölgesinde çıkma eğilimindedirler. (51,52).

2.1.4.3.2 Eritema Nodosum Benzeri Lezyonlar.

Genellikle akut gelişen yuvarlak veya oval, parlak kırmızı, ağrılı lezyonlardır. Bayanlarda daha sık görülür. Özellikle bacaklarda çıkma eğilimindedir. İyileşirken çıktıkları bölgede pigmentasyona neden olurlar (51,52).

2.1.4.4 Göz Tutulumu

Behçet hastalığında en sık tutulan internal organ gözdür ve hastaların %50'den fazlasında görülür. Genelde başlangıçtan itibaren vardır. Klinik, genellikle vakaların tipik olarak başlangıcından 2- 4 yıl içinde oluşur. Unilateral ya da bilateral iridosiklit, hipopyon, kronik ve relapslarla seyreden bir panüveit ile karakterizedir. Japonlarda ve Türk hastalarda daha sık görülür ve daha ağır seyreder.

Genel olarak , başlangıç anteriorunda ve unilateral olmaya eğilimli iken, sonraki ataklar vitreal kaviteyi ve posterior segmenti tutar ve bilateraldir . Anterior ve posterior üveit olarak sınıflandırmak hem terapötik hemde prognostik açıdan önemlidir, çünkü posterior segment tutulumu kronik ve kalıcıdır. İlerleyen kümülatif görme kaybına neden olur .Vakaların çoğunluğu panüveit olarak başvururlar .Hastalar tutulumlu bölgeye göre farklı şikayetlere sahip olabilir (54).

2.1.4.4.1 Anterior Tutulum

Akut anterior üveit atakları sırasında rekurren, sıklıkla bilateral hafif orta görme bulanıklığı, periorbital veya global ağrı fotofobi, reaktif miyoz ve lakrimasyon görülebilir. Genellikle relapslarla seyreden iridosiklit görülmektedir. Ataklar arasında inflamasyon tamamen iyileşmez. Behçet hastalığında oküler tutulum kadınlarda

erkeklerle kıyasla daha hafif seyirli ve daha az görülmesine rağmen, hipopyon daha çok kadınlarda görülür (54).

2.1.4.4.2 Posterior Tutulum

Retinadaki vaskülitik ataklar Behçet hastalığında en korkulan komplikasyonlardır. En sık gözlenen posterior segment bulguları vitrit ve çoğunlukla venleri daha az sıklıkla arterleri tutan retinal perivaskülitir.

Diğer bir sık bulguda özellikle erkeklerde sık olarak görülen iç retinada düzensiz dağımik yüzeysel yerleşimli sarı beyaz tek tek ya da multifokal infiltratlarıdır. Posterior segment tutulumlu behçet hastaları genelde görme keskinliğinde ağrısız bir azalma, yüzen cisim algılanması ile başvururlar. Genelde ataklar arasında oküler inflamasyon tamamen geçmez ve hastalar yukarıda bahsedilen semptomlarla gelebilir (54).

2.1.4.5 Kas İskelet Sistemi Tutulumu

Genellikle alt ekstremitede büyük eklemler tutulur. Tek eklem tutulumu olabileceği gibi birden fazla sayıda eklem de tutulabilir. En sık diz, ayak bileği, el bileği ve dirsek eklemi tutulur. Eklemde şişlik, hareket kısıtlılığı ve ağrı olmasına rağmen kızarıklık görülmez (55).

2.1.4.6 Vasküler Tutulum

Erkek hastalarda daha sık görülmektedir. Farklı büyüklükteki arter veya venleri tutabilir ancak alt ekstremitte venleri sıklıkla etkilenirler. Yüzeysel tromboflebit, derin ven trombozu veya derin ven oklüzyonu şeklinde görülebilir. En sık görülen tip yüzeysel tromboflebit olup gezici ve tekrarlayıcı tarzdadır (56).

2.1.4.7 Sinir Sistemi Tutulumu

Erkeklerde daha sıktır. Tüm hasta grubunda %5-10 sıklıkta görülür. Hastalığın mortalitesini ve morbiditesini arttıran tutulumların başında gelir. Genellikle santral sinir sistemi tutulur, periferik sinir tutulumu nadirdir. Klinikte en sık piramidal bulgular gözlenir, bunu serebellar ve sensorinöral bulgular takip eder. Hastalarda baş

ağrısından, işitme kaybına, vertigodan psikiyatrik bozukluklara uzanan geniş bir yelpazede farklı klinik durumlar görülebilir (56,57).

2.1.4.8 Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Türkiyede seyrek görülmesine rağmen Japonya başta olmak üzere Uzakdoğu ülkelerinde daha sık görülmektedir. Bulgular genellikle bulantı-kusma, iştahsızlık, karın ağrısı, ishal ve dispeptik yakınmalardır. Mukozal inflamasyon tüm bu klinik semptomların sebebini oluşturur (58,59).

2.1.5 Teşhis

2.1.5.1 Tanı Kriterleri

Behçet hastalığına özgü patognomonik, duyarlı bir test veya histolojik bulgu yoktur. Bu yüzden hastadaki klinik özelliklerin tanınması ve gruplandırılması ile tanı konur. Uluslararası Çalışma Grubu tarafından 1990'da uluslararası sınıflandırma kriterleri yayınlanmıştır.

Uluslararası Çalışma Grubu Tanı Kriterleri:

- 1- Bir yıl içinde en az üç defa tekrarlayan ve klinisyen tarafından tespit edilen aftöz veya herpetiform lezyonlar.
- 2- Tekrarlayan genital ülser.
- 3- Göz bulguları: Anterior üveit, posterior üveit, hipopiyon, retinal vaskülit.
- 4- Deri Bulguları: eritema nodozum, pseudofolikülit, papülopüstüler lezyonlar, akneiform lezyonlar.
- 5- Paterji pozitifliği

Bu sınıflama araştırmacılar arasında görüş birliği sağlamakla beraber epidemiyolojik, terapötik, labaratuvar ve klinik araştırmalarda hasta gruplarının karşılaştırılmasına da olanak vermektedir. Rekürren oral ülser varlığı zorunludur ve 12 aylık süreçte en az üç aftöz atak ve dört major semptomdan ikisinin varlığı gerekmektedir. Bu sınıflandırmada mukokutanöz lezyon ve pozitif paterji testi varlığı

çok önemliken, daha nadir görülen, büyük damar inflamasyonu, artrit, tromboflebit ve akut SSS hastalığı gibi özellikler ihmal edilmiştir (60).

2.1.5.2 Paterji Testi

Paterji fenomeni, minör travma sonrası oluşan endüre eritemden, püstüler oluşuma kadar değişebilen lezyonlarla karakterize aseptik non-spesifik hiperreaktivite olarak tanımlanır. Eğer pozitif olarak bulunursa diagnostik değeri vardır. Bazı hastalarda spontan oluşan eritematöz papüllere, püstüllere benzer olarak Behçet Hastalığına spesifiktir. İlk başta artmış nötrofil kemotaksisi ile birlikte PMNL infiltrasyonu, takibinde mononükleer ve mast hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Erkeklerde test kuvvetli pozitif olmasına rağmen duyarlılığı düşüktür (61,62).

Nonspesifik bir testtir ve diagnostik değeri düşüktür. Bu nedenle test ne hasta tanısında ne de dışlanmasında kural değildir (63).

2.1.5.3. Laboratuvar Testleri

Behçet hastalığına spesifik bir laboratuvar profili yoktur. Ayrıntılı hikaye, fizik muayene tanı da esas olandır. Bazı hastalarda orta düzeyde bir anemi ve periferik nötrofilik lökositoz görülebilmektedir. Hastalık aktivitesi akut faz reaktanlarında, eritrosit sedimentasyon oranında fagositik sistemin aktif komponentleri olan CRP, ASO, RF, α -1 antripsin ve α -2 makroglobulin seviyelerinde yükselme ile değerlendirilebilir. β 2-mikroglobulin ve myeloperoksidaz yükselmeleri de görülebilmektedir. Benzer olarak özellikle IgA olmak üzere dolaşımda immun kompleks varlığı ile birlikte serum immunoglobulinlerinde yükselme görülebilmektedir. Diğer taraftan kriyoglobulinemi, lökositoz, eozinofili görülebilmesine rağmen, antinükleer antikolar negatifdir. Ayırıcı tanı için HLA analizleri yapılmalıdır (38,64,65).

Hastalık aktivitesi için spesifik bir belirtecin yokluğunda hastalık aktivitesini belirlemek için bir grup klinik özellikleri belirleyen yeni bir çok merkezli çalışma yapıldı. Behçet hastalığı aktivite formu klinikte ve araştırmalarda standardizasyonu sağlamada kullanılmaktadır (72)

2.1.5.4 Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri

PA Akciğer radyografisi genellikle başlangıç değerlendirmede ilk tercihtir. Özellikle uzun dönem Behçet hastalarında damarsal belirginleşme nedeniyle oluşan mediastinal genişlemeyi gösterebilir. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans, damar lümen ve duvar anormalitelerini, perivasküler dokuları, mediastinal lenfadenopatiyi, akciğer parankimini, plevra ve mediastinal yapıları göstermede kullanışlıdır (66).

2.1.5.5. Ayırıcı tanı

Behçet hastalığı için kesin ve spesifik labratuvar testleri olmadığı için, atipik klinik belirti yada inkomplet hastalık varlığında, atipik vakalarda teşhis zorlaşmaktadır. Bu yüzden okulomukokütanöz sendroma neden olabilecek büllöz deri hastalıkları, Steven-johnson sendromu, Reiter sendromu, sarkoidoz, Sweet sendromu, sikatrisyal pemfigoid, çöliak hastalığı ve pemfigus vulgaris gibi diğer durumlar dışlanmalıdır. Benzer olarak HSV enfeksiyonu, sifiliz, SLE, ülseratif kolit ve bağ dokusu hastalıkları da Behçet hastalığı ile benzer lezyonlara neden olabilmektedir.

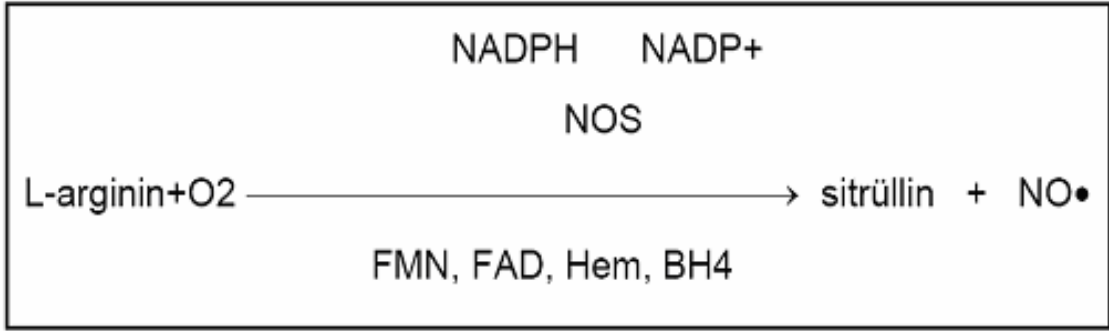
Anterior üveit ve iridosiklit , idiopatik üveitten, ve benzer göz tutulumu yapabilecek hastalıklarla ayırıcı tanı yapılmalıdır (10,67).

2.1.6 Prognoz

Behçet hastalığı kendi kendini sınırlamaz, tahmin edilemeyen alevlenmelerle seyrederek. Hastadan hastaya farklı şiddette seyredebilir, bir organdan diğerine atlayabilir. Hastalık genelde yaşla birlikte düzelme eğiliminde olsa bile, kronik ve reküren seyri, fazik remisyonlar prognozu belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Genelde çoğu hastada ateş, yorgunluk, orogenital lezyonların başlangıç bulguları ve deri lezyonları bulunmaktadır. Oküler ve nörolojik tutulumlar gibi daha ciddi hastalıklar hastalık başlangıcından aylar, yıllar sonra görülmektedir ve kötü prognoza sahiptir. Benzer olarak büyük damar trombozları ve gastrointestinal perforasyonlar kötü prognoza sahiptir. Atak sıklıkları giderek uzamaktadır ve böylece 15-20 yıl sonra daha başka atak görülmemektedir. Vital organ tutulumu olmadan hastalık prognozu iyi olmasına rağmen, eğer reküren obliteratif retinal vaskülitik ataklar ve trombozlarla karakterize retina tutulumu varsa görmenin uzun dönem prognozu kötüdür (68,69).

2.2 Nitrik Oksit

Nitrik Oksit (NO) ortam havasında belli bir oranda yer alan atmosferik bir gazdır. NO sentezi için kullanılan öncül molekül L-arjinin amino asididir. NO'nun L-arjininden sentezi sitokrom P-450 redüktazın homoloğu olan Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi ile iki basamakta gerçekleşir. Tepkimenin ilk basamağında L-arjinin aminoasiti guanidin-nitrojen terminalinden NOS enzimi tarafından hidroksillenir. Bu ara ürün oldukça stabildir. Enzime sıkı bağlı olan ara ürün ikinci aşamada sitrülün ve NO'ya çevrilir NO sentezi için NOS ve kofaktörleri, Hem, flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mono nükleotid (FMN) ile tetrahidrobiyopterin (BH₄) dir (3,70).



Şekil 1: Nitrik Oksit Sentezi (3)

2.2.1. Nitrik Oksitin Yapısı ve Özellikleri

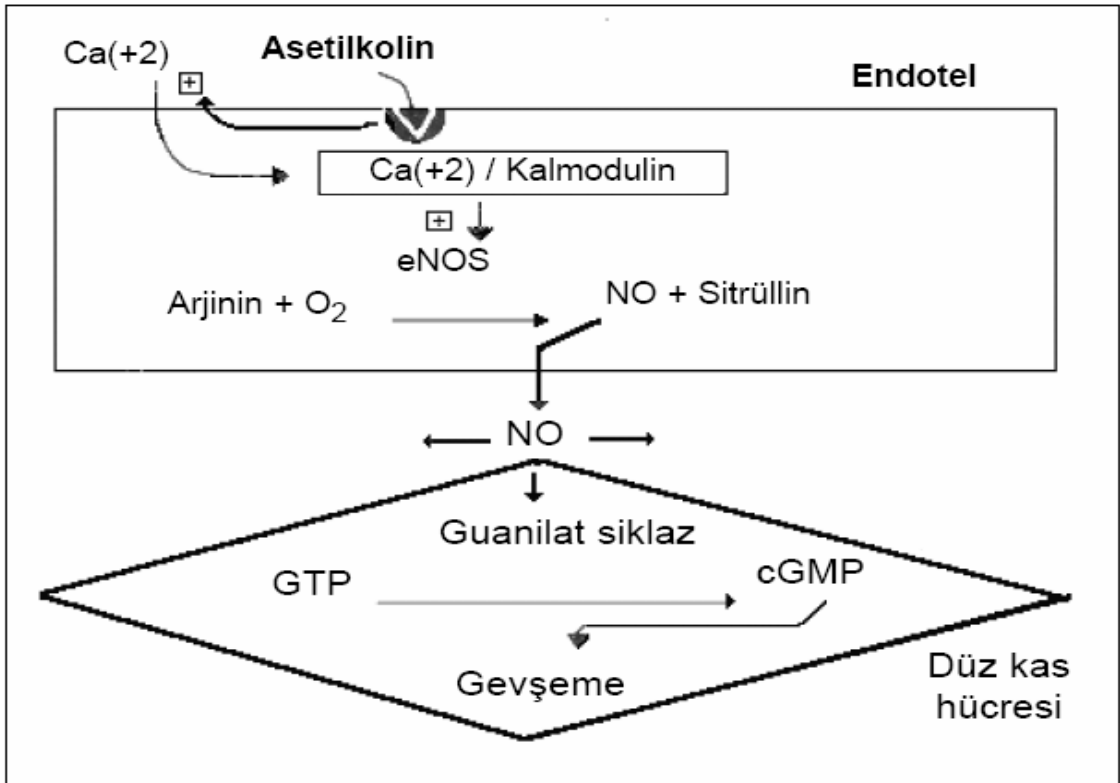
Bilindiği gibi, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküllere “radikal” denir. Renksiz ve son derece toksik bir gaz olan NO serbest radikal yapısında olmasından dolayı yarı ömrü çok kısadır. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda erir. Düşük konsantrasyonlarda iken NO toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevlerin gerçekleşmesinde rol alır (71,72).

Nitrik Oksit Sentazın iki farklı şekilde uyarılması söz konusudur:

1. Yapısal tipe özgü olarak: Asetilkolin gibi bir haberci, endotel hücresi üzerindeki reseptörüne yapışır ve bu impulsla Ca⁺² iyon kanalları açılarak, hücre içi Ca⁺² düzeyi yükselir. Ardından Ca⁺²un kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks, yapısal bir

enzim olan eNOS'ı uyarır ve L-arginin'den NO ile sitrüllin oluşur. Oluşan NO, endotelden çıkarak komşu düz kas hücrelerine girer.

Düz kas hücrelerinin sitozolindeki guanilat siklaz hem gurubundaki demire bağlanır, onu aktifleştirir ve GTP'den cGMP oluşumunun artmasına neden olur. Artan cGMP ise düz kasların gevşemesine ve damarlarda vazodilatasyona neden olur (Şekil-2) Ayrıca diğer bir yapısal enzim olan nNOS da aynı mekanizma ile uyarılmaktadır (73).



Şekil 2: NO hücresel boyuta etkisi (3)

2. Uyarılabilir tipe özgü olarak: Burada lipopolisakkaritler ve sitokinler gibi ajanların Ca+2'ye bağımlı olmadan NOS'ı indüklemeleri söz konusudur. İlgili hücrede önceden NOS yoktur veya çok azdır. Uyarıcılar tarafından transkripsiyonel olarak (mRNA artışıyla) enzim indüklenir ve sonuçta oluşan NO amaca uygun işlevini gerçekleştirir. Bu sistem özellikle makrofajlarda görülür, bu tip enzim indüklenebilir NOS olarak adlandırılır.(iNOS) (74).

2.2.2 Nitrik Oksit Sentaz İzoenzimleri

Bunlar temel olarak iki ana grupta incelenir.

2.2.2.1 Yapısal (Constitutive) NOS : cNOS.

Bu izoformun ayırıcı özelliği aktivitesinin ikincil haberci olarak kalsiyuma bağımlı olmasıdır. Özellikle damar endotel hücreleri, ürogenital sistem dokuları, santral ve periferik sinir sistemi nöronları, adrenal korteks ve medulla hücreleri, trombositler, uterus ve barsak interstiyumunda bulunmaktadır. Hücre içi iyonize kalsiyumu artıran her türlü etkileşimde, kalsiyumun kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks ya Ca^{+2} ya da kalmodulin cNOS'un aktifleşmesini sağlar ve NO sentezlenir (Şekil 2). Ancak kalsiyumu arttıran uyarı kesilince, hücre içi Ca^{+2} da azalmaya başlar ve enzim aktivitesi ortadan kalkarak NO sentezi durur. Bu yüzden bu izoform, normal biyolojik sistemlerde düşük miktardaki NO sentezinden sorumludur.

Sonuç olarak cNOS hücrelerde daima mevcuttur fakat Ca^{++} düzeyi yükselinceye kadar inaktif durumdadır. cNOS'un nNOS ve eNOS olarak adlandırılan iki izoformu mevcuttur (3,71,73).

2.2.2.1.1 nNOS

Esas olarak sinir sisteminde bulunmakla beraber başka dokularda da tespit edilmiştir.

a) Merkezi sinir sistemi;

- Santral sinir sisteminde nöromodülatör olarak görev yapar. Presinaptik uçtan salgılanan glutamat'ın etkisiyle (glutamat NMDA reseptörlerine bağlanır), postsinaptik uçtaki hücrenin NOS'u aktifleştirilir ve oluşan NO ile hedeflenen etkisini oluşturur
- Sinapsların şekillenmesine yardımcı olur
- Koku alma, görme, ağrıyı algılama, ve hafıza oluşması gibi işlevlerde rol oynar (3).

b) Periferik sinir sistemi;

- Nonadrenerjik nonkolinerjik sistemde nörotransmitter olarak rol oynar
- Solunum fonksiyonlarında, penil ereksiyonda, gastrointestinal sistem (GIS) motilitesinde, mesane sfinkter işlevinde, ve tüm dokuların kan basınçlarının ve akış hızının düzenlenmesinde rol alır (3,75,76).

2.2.2.1.2 eNOS

- Düz kasların gevşemesini sağlayarak kan basıncını, kan akış hızını ve dolayısıyla kalp kasılmasını regüle eder.
- Trombositlerin, adezyon ve agregasyonlarını inhibe eder.
- Endotel hücresi ve vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etkiye sahiptir (72,73).

Tablo 1: cNOS ile iNOS'ın özellikleri arasındaki bazı önemli farklılıklar

cNOS	iNOS
Hücrede yapısal olarak bazal düzeyde bulunur	Yapısal olarak bulunmaz
Ca ⁺⁺ bağımlıdır	Ca ⁺⁺ bağımsızdır
NO sentezi çok kısa sürede olur ve az miktardadır	NO sentezi için saatler gerekir, çok miktarda NO sentezlenir
L-arginin analogları ile inhibe olur	L-arginin analogları ile inhibe olur
Kortikosteroidlerle inhibe olmaz	Kortikosteroidlerle inhibe olur
Fizyolojik olayların devamında rol oynar	Fizyopatolojik değişikliklere neden olur

2.2.2.2. Uyarılabilir (indüklenebilir) NOS (iNOS)

İlk olarak endotoksin ve sitokinler tarafından uyarılan makrofaj ve karaciğer hücrelerinde tanımlanmıştır. Bu izoform aktivite için Ca⁺⁺'a bağımlı değildir. Bunun nedeni enzimin kalmodulinle çok sıkı bağlanmış olması olabilir. Fakat kalmodulinin buradaki rolü bilinmemektedir. iNOS başta makrofajlar (monosit, histiyosit, kupfer hücreleri vs.) olmak üzere polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler, hepatositler, damar düz kasları, damar endoteli tarafından üretilebilir. Enzim indüklendiği zaman NO

üretimi, yapısal formdaki gibi kısa sürmez, saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Özellikle non spesifik immünitede önemli rol oynar. Bakteri, mantar, virüs ve tümör hücreleri ile protozoonlara sitotoksik veya sitostatik etki oluşturur. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda rol oynadığı bildirilmiştir. iNOS hücrenin genel yapısında mevcut değildir. Ancak hücrenin bakteriyel ürünler ve sitokinler ile temasını takiben, birçok hücre tipinde üretimi uyarılır. cNOS'un bilinen iki formunun (eNOS ve nNOS) aktivasyonu ise Ca^{+2} -kalmodulin kompleksine bağımlıdır (77).

2.2.3 Nitrik Oksit Fonksiyonları

2.2.3.1 Kardiyovasküler Sistem

Vasküler endotelin esas görevi trombosit ve diğer kan hücrelerinin adezyon ve agregasyonunu engellemek, kan damarlarını yeterli akımı sağlayacak kadar dilate tutmaktır. Bunu sağlamak için sentezlediği maddelerden biri de NO'dur. NO sentez inhibitörlerinin sistemik kullanımları küçük arter ve arteryollerde kan basıncını artırır. Bu durum damar endotelinde yapılan nitrik oksitin kan basıncı ve kan akımını düzenlemedeki önemine işaret eder. Nitekim endotelteki genetik (Diyabetes mellitus, homosisteinemi, ailevi hiperlipidemi) veya edinsel (sigara, sedanter yaşam, aterojenik diyet) herhangi bir fonksiyonel bozukluk hipertansiyona yol açmaktadır (78).

NO, lökosit endotel hücre adezyonunu inhibe eder. NO'in adezyon moleküllerinin sentezini baskılamasının nükleer transkripsiyon faktörü olan NFkB üzerindeki inhibitör etkisi aracılığı ile gerçekleştiği kabul edilmektedir. Aynı zamanda mast hücrelerinden degranülasyon ile histamin salınımını ve PAF sentezini, platelet aktivasyonu ve agregasyonunu inhibe eder; ki bu etki hücre içinde cGMP ve 'cGMP bağımlı protein kinaz aktivite kontrolü' ile olmaktadır.

Sonuç olarak NO platelet ve lökosit fonksiyonları, düz kas hücre proliferasyonu ve vasküler homostazisin devam ettirilmesinde önemli rol oynamaktadır (3).

2.2.3.2 Sinir Sistemi

Yapılan Araştırmalarda insan ve hayvan beyninin tüm bölgelerinde değişen miktarlarda nitrik oksit sentez saptanmıştır. Hayvan deneylerinde NO sentezinin in vivo engellenmesi öğrenme yeteneğini azalttığı için hafızanın oluşumunda NO'in rol

oynadığı düşünülmektedir. NO aynı zamanda görme, koklama, ağrı ve açlık duygusunu algılamada rol oynuyor olabilir. NO düşük düzeylerde beyinde faydalı, düzenleyici ve nöronal aktiviteyi koruyucu etkiler gösterirken yüksek düzeylerde beyin hücrelerinin tümünde öldürücü bir etki gösterir. NO bazı periferik sinir liflerinde iletici veya düzenleyici bir rolü olduğu düşünülmektedir. Tıpkı kardiyovasküler sistemde olduğu gibi gastrointestinal sistemin de fizyolojik fonksiyonlarını devam ettirmek için NO'ye bağımlı gevşetici tonusa ihtiyacı olduğu gerçeği yavaş yavaş gün ışığına çıkmaktadır. Yakın zamana kadar penil ereksiyonun sağlanmasında vazoaaktif intestinal polipeptit ve P maddesinin esas medyatörler olduğu düşünülmekteydi. Oysa son çalışmalarla NO'in penil ereksiyonda esas fizyolojik medyatör olduğu ispatlanmıştır (71,78).

2.2.3.3. İmmün Sistem ve İnflamasyon

Son çalışmalar makrofajların aktifleşmesine bağlı nonspesifik immünitinin NOS etkinliğine bağlı olduğunu göstermiştir. NO'ye bağlı nonspesifik immünite sadece retikülo-endotelial sistem (RES) değil, bunun yanında RES dışı hücrelerde de yer alır. Vücudumuzda immünolojik bir filtre gibi görev yapan akciğer ve karaciğer gibi kan akımının fazla olduğu organlarda NO'ye bağımlı nonspesifik bağışıklığın çok önemli yeri vardır. Akut ve kronik iltihapta NO'in önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. NO iltihabi olay esnasında bazı proinflamatuvar maddelerin (eikonosoidlerin) üretimini uyarır ve siklooksijenaz 1 ve 2'nin etkilerini artırır. NOS inhibitörleri kullanılarak akut inflamasyonda inflamasyon derecesini azaltmak mümkündür. Sitokinlerce aktif hale getirilen makrofajlar tümör hücreleri, bakteri, mantar, helmint ve virüsleri öldürmek için NO kullanır. İltihap olayında yer alan NO'in nötrofil, makrofaj ve kan damarlarında yapıldığı düşünülmektedir (3,71,77).

Tablo 2: NO'in sistemlere göre rol oynadığı olaylar

İmmün Sistem	Non-spesifik immunité Viral replikasyonun inhibisyonu Transplant rejeksiyonu
Kardiyovasküler Sistem	Vazorelaksasyon Kan hücreleri düzenlenmesi Miyokard kasılması Mikrovasküler permeabilite
Sinir Sistemi	Öğrenme ve hafıza Ağrı hassasiyeti Epilepsi Nörodejenerasyon
Hücre Çoğalması	Apoptozis Anjiogenesis Tümör hücre büyümesi
Solunum Sistemi	Bronkodilatasyon Astma ARDS
Genitoüriner Sistem	Penil ereksiyon Preterm doğum

2.3 Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)

İlk kez 1970 yıllarında metillenmiş arjininler insan idrarında saptandı. Ancak ADMA ile ilgili ilk çalışma 1992’de Vallance ve arkadaşları tarafından kronik böbrek yetmezliği hastalarında yapıldı (4).

Behçet hastalığı, tüm organ ve dokuları tutabilen sistemik bir vaskülitir. Endotel dokusu vasküler tonüsün devam ettirilmesinde önemli rol oynayan karmaşık endokrin fonksiyonlar yürütmektedir. ADMA endoteldeki, nitrik oksit sentaz enzimini inhibe ederek nitrik oksit yapımını azaltır.

2.3.1 ADMA Sentezi

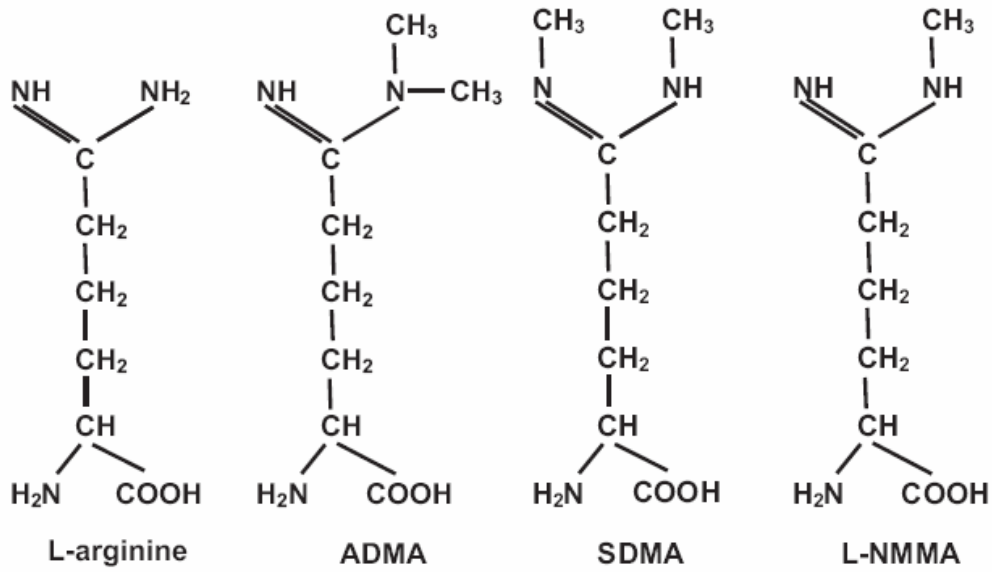
ADMA protein yapısında bulunan L-arjininin aminasidinin hücre içi metiltransferaz enzimleri ile metillenmesiyle üretilmektedir. Metillenme protein arjinin metil transferaz (PRMT) 1 ve 2 enzimleriyle olmaktadır. PRMT enzimleri, S-Adenozil metioninden (SAM) metil grubunu L-arjinine transfer ederek proteinlerdeki arjinin rezidülerinin guanidin gruplarına metil gruplarının eklenmesini sağlar. Metil grubu vericisi SAM, S-Adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. SAH’de homosisteine hidrolize olur (79,80).

Metillenmiş proteinlerin proteolitik katabolizması ile serbest metilarjinin rezidüleri salınır. ADMA, Simetrik dimetilarjinin (SDMA) ve N-monometil-L-arjinin (L-NMMA) sentezlenir. SDMA ve L-NMMA ADMA’nın izomerleridir. ADMA NOS enziminin üç formunu da kompetitif olarak inhibe eder. L-Arjininin yüksek konsantrasyonları ile bu inhibisyon geriye döndürülebilir. Bu olaya ‘arjinin paradoksu’ denilmektedir. L-NMMA, ADMA kadar güçlüdür, NOS aktivitesini azaltır. Ancak plazma konsantrasyonu ADMA konsantrasyonundan 10 kat daha düşüktür. ADMA ile eşit konsantrasyonlarda üretilen SDMA’nın NOS aktivitesine etkisi yoktur (81).

Metil arjininlerin sentezinden sorumlu PRMT enzimleri iki çeşittir. PRMT1 enzimiyle L-NMMA ve ADMA oluşur. PRMT 2 enzimi ile L-NMMA ve SDMA oluşur. (Şekil 3) Metillenme irreversibl olup metillenen proteinler nükleusta bulunur ve RNA’nın işlenmesi ve transkripsiyonel kontrolünde rol oynar. Üç metil arjinin de (ADMA, SDMA ve L-NMMA) endotel hücrelerine katyonik aminoasit taşıyıcısı (y taşıyıcısı) ile girer. Üç metilarjininden her biri hücreye giriş için arjininle yarışa girer.

ADMA'nın yüksek konsantrasyonları L-arjininin hücre içine taşınmasını engeller. NO sentezinde azalma ile sonuçlanır. Y taşıyıcı aktivitesi metil arjininlerin lokal konsantrasyonlarında önemlidir. Bu taşıyıcı sistem metilarjininleri endotel hücrelerinde konsantre eder. Bu nedenle hücre içi konsantrasyonları sirkülasyondan daha fazladır. Y taşıyıcı sisteminde defekt olması sirkülasyonda daha fazla ADMA konsantrasyonlarına yol açar. Azalmış NO biyosentezi ile sonuçlanır (5,6).

Serbest metilarjininlerin miktarı hücrenin protein turnover hızı ve metabolik aktivitesi ile ilişkilidir. İskemik kalp, diabet, muskuler distrofi gibi çeşitli hastalıklarda protein katabolizması artmıştır. Artan metilarjininler NOS'ı inhibe eder. Sonuçta artmış kan basıncı, azalmış kan akımı oluşur. Artmış ADMA konsantrasyonları endotel disfonksiyonunu gösterir, ve kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi tahmin etmede uygun bir belirteç olarak kabul edilmektedir (82,83).

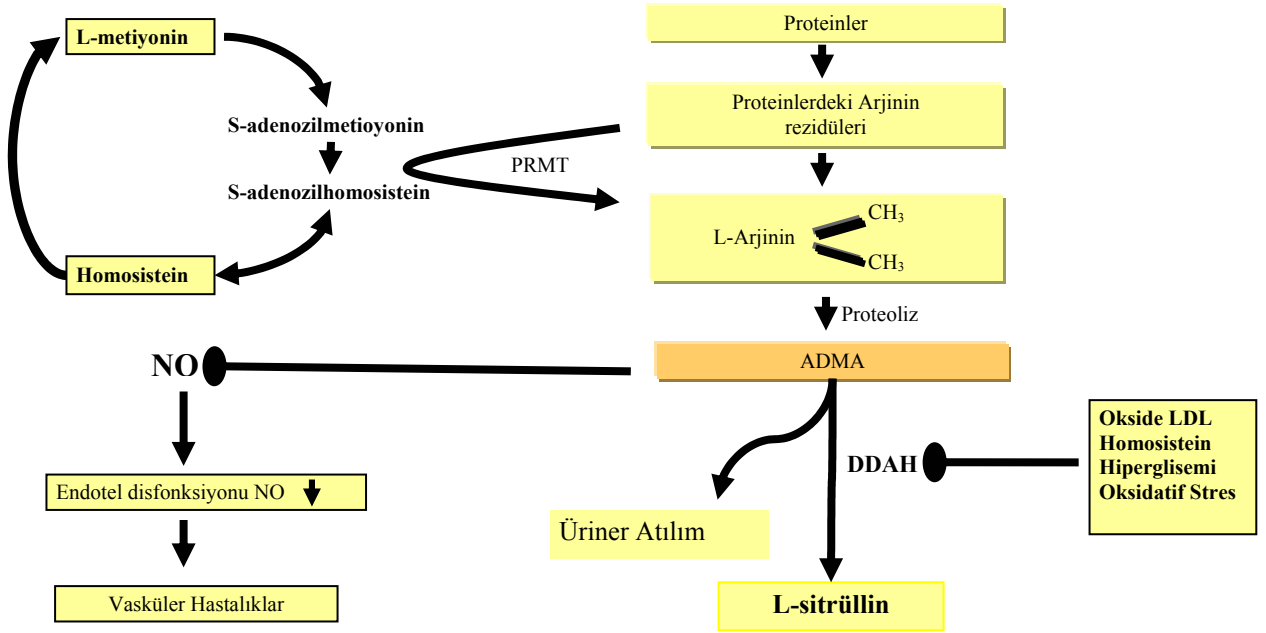


Şekil3. Endojen metilarjininlerin yapısı (81)

2.3.2 ADMA'nın Metabolizması

Dimetilarjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH) enzimi ADMA ve L-NMMA'nın %90'ından fazlasını metabolize eder. DDAH metilarjininleri sitrülün ve dimetilamine veya monometilamine parçalar. DDAH enziminin iki izoformu vardır.

Bu izoformlar benzer gen yapısı ve benzer enzim aktivitesine sahiptirler ancak farklı dokularda yer alırlar. DDAH1 enzimi nNOS eksprese eden dokularda, yüksek olarak beyin, karaciğer, adrenal bez, testis ve böbrekte, DDAH 2 enzimi, kalp, aorta, plasenta gibi eNOS ve iNOS eksprese eden dokularda bulunmaktadır. DDAH enziminin farmakolojik inhibisyonu ADMA konsantrasyonunu artırır, NO üretimini azaltır. DDAH aktivitesi oksidatif strese aşırı duyarlıdır. İnflamasyon ve oksidatif stres DDAH aktivitesini azaltır. DDAH aktivitesi TNF- α veya okside LDL ile indüklenen oksidatif stres ile de azalmaktadır. DDAH enziminin inaktivasyonu ADMA eliminasyonu bozulmasına ve ADMA seviyelerinin artmasına ve NO üretiminin azalmasına sebep olur (79,82,84).



Şekil 4. ADMA'nın NO ve homosistein ile ilişkili biyokimyasal yolları

2.3.2 ADMA Yüksekliği ile seyreden klinik durumlar

ADMA metabolizmasındaki basamaklardan herhangi birinde meydana gelen defekt serum düzeyini etkiler. Başlıca sebepler: PRMT enzimi aktivitesindeki artış ile proteinlerin metillenmesinde artış, metillenmiş proteinlerin yıkımının artması, böbrek yetmezliği sonucu atılımın azalması ve DDAH enzim aktivitesindeki azalmadır. Dejeneratif hastalıkların çoğunda, şiddetli inflamasyon ve organ yaralanmalarında

proteoliz artmıştır. Artmış proteoliz, azalmış eliminasyon ADMA birikimine sebep olur. Ciddi karaciğer yetmezliği olan hastalarda plazma ADMA konsantrasyonu yükselmektedir. Bu durum ADMA metabolizmasında karaciğerin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir (84,85).

Kronik böbrek yetmezlikte ADMA konsantrasyonu artmaktadır. Son dönem böbrek yetmezliğinde konsantrasyonu yaklaşık 10 kat artar. Artmış ADMA seviyeleri renal yetmezlikli hastalarda artmış kardiyovasküler riski temsil eder, ki bu da böbrek yetmezliğindeki mortalitenin en önemli nedenidir (7,81,86).

ADMA konsantrasyonu yüksek olan hastalara L-arjinin verilmesi NOS enzim aktivitesinde artışa neden olur. Yapılan bazı çalışmalarda dışarıdan L-arjinin verilerek, endotel fonksiyonun önemli derecede düzeldiği, ADMA'nın zararlı etkilerinin ters çevrildiği gösterilmiştir. Yine yüksek ADMA konsantrasyonuna sahip kalp yetmezliği olan hastalara L-arjinin suplemantasyonu L-arjinin/ADMA oranını 2 kat arttırmış ve endotele bağlı vazodilatasyon düzelmiştir. Sağlıklı bireylerde dışardan L-arjinin verilmesi endotele bağlı vazodilatasyonu etkilememiştir (87).

Endotel disfonksiyonu aterosklerozun erken evresini gösterir. ADMA endotel disfonksiyon belirteci olarak kardiyovasküler hastalık riskini tahmin etmede önemlidir (84).

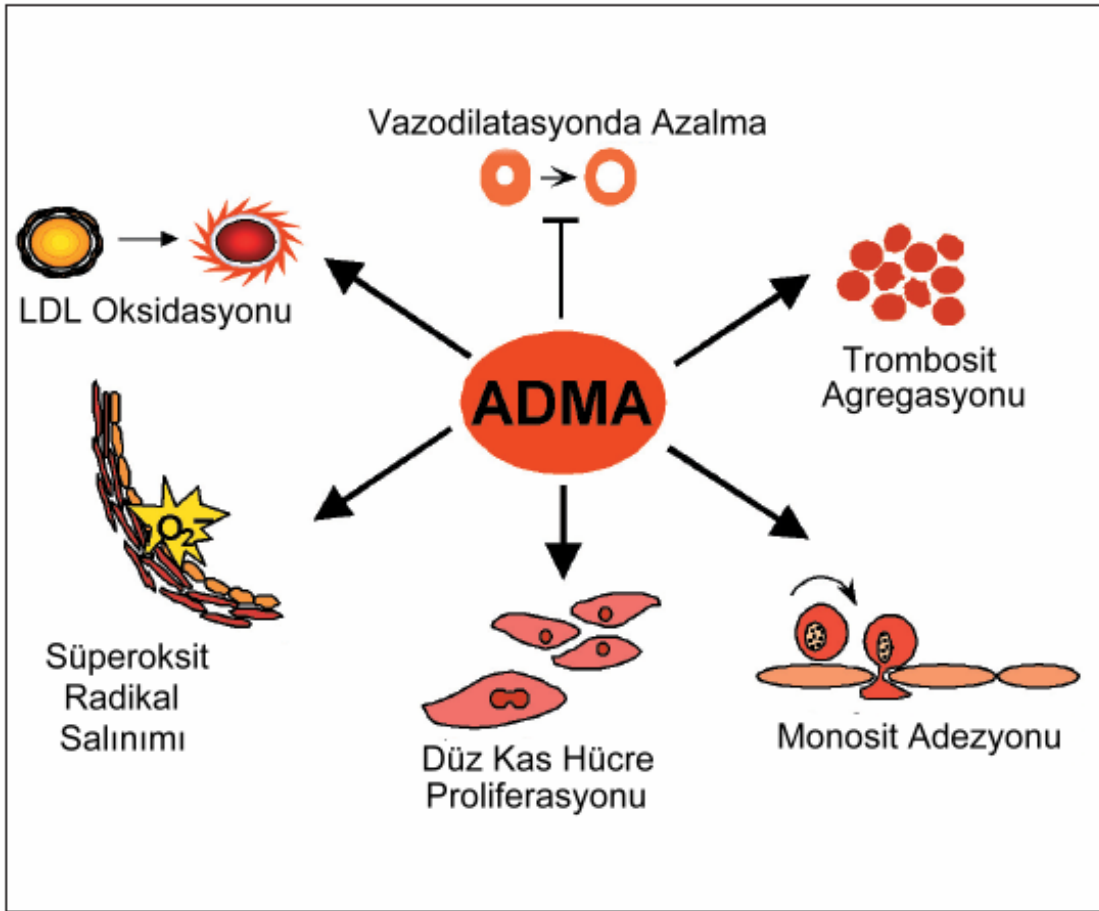
Hiperinsülinemi veya hiperlipidemi ADMA üretimini stimüle etmekte, ADMA'nın yıkım ya da üretiminden sorumlu enzimlerin aktivite veya seviyesinde değişiklik oluşturmaktadır. Yakın zamanda hipergliseminin, ADMA yıkımını katalizleyen DDAH seviyelerini azaltarak ADMA seviyelerinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir. Yüksek glukoz konsantrasyonu ADMA'yı artırır, hiperglisemik insülin eksikliği olan ratlarda insülin tedavisi, glukozu azaltmış ve yüksek seviyelerdeki ADMA düzeylerini normal seviyeye getirmiştir (6,88).

Koroner aterosklerozu olan veya kardiyovasküler hastalık açısından riskli hasta grubunda endotel disfonksiyonu bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda endotel fonksiyonun periferden ve koroner sirkülasyondan değerlendirilmesinin gelecekteki kardiyovasküler olaylar için önemli bilgi sağlayacağı saptanmıştır (89).

Hipertansiyonda, hiperlipidemide, hiperhomosisteinemide, koroner arter hastalığında, periferik arter darlıklarında, konjestif kalp yetmezliğinde, stroke,

pulmoner hipertansiyon ve son dönem böbrek yetmezliğinde ADMA seviyeleri artmıştır. ADMA ile oluşan endotel disfonksiyonu mekanizması; vasküler NO elde edilebilirliğinin azalması, vasküler süperoksit seviyelerinin artması ile olmaktadır (90,91).

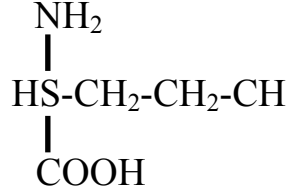
Oksidatif stres ADMA katabolizmasından sorumlu olan DDAH enziminin aktif bölümünde sistein aminoasitine zarar vererek enzim aktivitesini azalmaktadır. Böylece ADMA'nın yıkımı azalırken kan düzeyi de artmaktadır (87).



Şekil 5: ADMA'nın endotel disfonksiyonu ile ilişkisi (92).

2.4 Homosistein

Sülfhidril grubu içeren kükürtlü bir amino asittir Homosistein; metiyonin ve sistein amino asitleri ile yakından ilişkilidir. Organizmada bulunan homosistein, esansiyel bir amino asit olan metiyoninin demetilasyonu sonucu oluşmaktadır (93,94).



Şekil 6: Homosisteinin açık formülü

Plazmada homosistein hem indirgenmiş (redükte) formda; hem de yükseltgenmiş (okside) formda bulunur. Dolaşımdaki homosisteinin %70-%80'i proteinlere (albumin) ve diğer tiol grubu içeren moleküllere (glutatyona) bağlı olarak bulunur. Geriye kalan %1 serbest homosistein olarak redükte formda, %5-%10 oranında homosistein disülfid (homosistin) olarak yükseltgenmiş formda veya %5-%10 oranında homosistein-sistein karışık disülfid olarak okside formda bulunmaktadır (93,94,95).

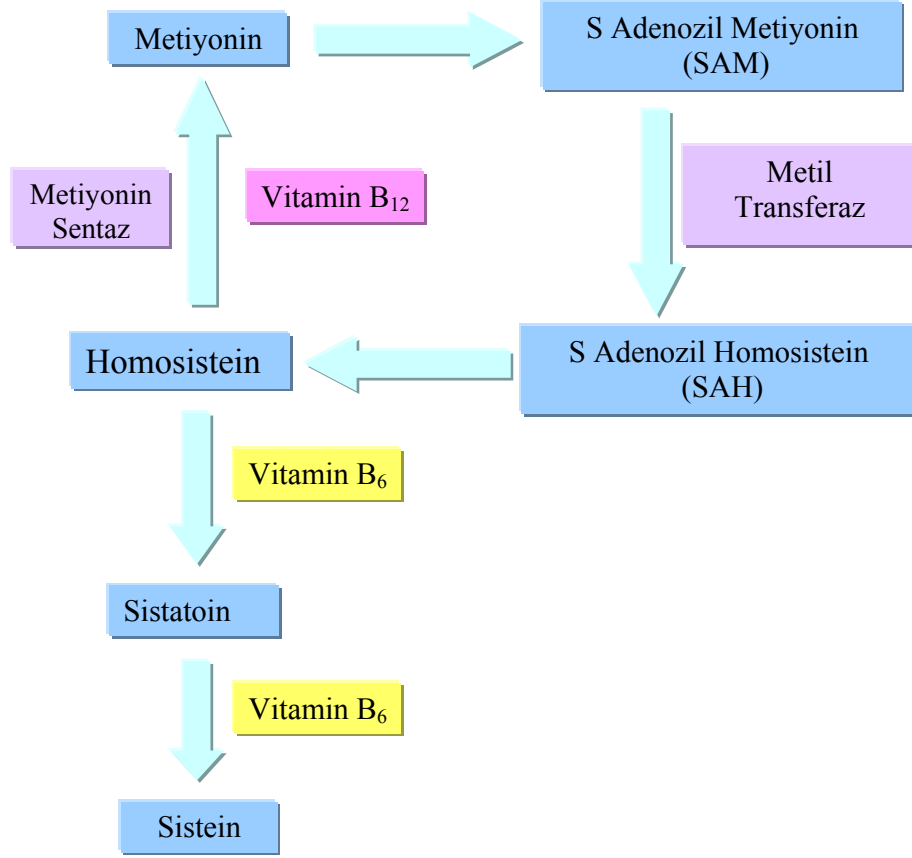
2.4.1. Homosistein Sentezi

Homosistein, plazmada çeşitli formlarda bulunan ve metiyonin metabolizması sırasında oluşan bir ara üründür (96).

Homosisteinin oluşması için diyetsetel protein olan metiyonin; metiyonin-adenozil transferaz enzimi ile aktif formu olan S-Adenozil metiyonine (SAM) dönüştürülmektedir. Birçok metilasyon reaksiyonları için, metiyoninin aktif formu olan SAM, metil grubu vericisidir (93).

S-Adenozil metiyoninin, demetilasyon reaksiyonuna uğraması sonucunda 1 metil grubu kaybederek S-Adenozil homosistein (SAH) oluşmaktadır. Bu transmetilasyon reaksiyonu için metiyonin-adenozin transferaz enzimine ihtiyaç duyulmaktadır. SAH ise daha sonra geri dönüşümsüz olarak S-Adenozil-homosistein hidrolaz enzimi ile

hidroliz olur. Hidroliz sonucu ise adenozin ve homosistein ürünleri oluşmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7: Homosistein metabolizması

2.4.2 Homosistein metabolizması

Homosistein ya remetilasyon yolu ile metiyonine, ya da transsülfürasyon yolu ile sisteine dönüşmektedir. Remetilasyon yolu ve transsülfürasyon yolunun her ikisi de birkaç vitamin ko-faktöre bağlı olarak çalışırlar (97).

2.4.2.1 Transsülfürasyon Yolu

Vitamin B₆ ve onun aktif formu olan piridoksal-5-fosfat transsülfürasyon yolunun basamaklarında ko-faktör olarak rol oynar. Transsülfürasyon yolunun ilk basamağında homosistein serin ile birleşerek sistationin oluşturur. Bu geri dönüşümsüz bir reaksiyondur ve bu reaksiyonda piridoksal-5-fosfata bağımlı bir enzim olan

sistationin- β -sentaz (CBS) görev alır. Sistationin daha sonra sistein oluşturmak için kırılır. Diğer bir deyişle; γ -sistationinaz enziminin katalizlediği bir reaksiyon sonucu amino asit olan sistein ile α -ketobütirat oluşmaktadır. γ -sistationinaz enzimi de piridoksal-5-fosfat kofaktörüne bağlıdır. Sonuç olarak 4-karbonlu amino asit olan homosisteinden, 3-karbonlu amino asit olan sisteinin olduğu bu seri reaksiyonlara transsülfürasyon yolu denir . Sistationin- β -sentaz eksikliği anormal derecede homosistein birikimi ile sonuçlanır. Transsülfürasyon yolu sonunda oluşan sistein daha sonra inorganik sülfata dönüşerek idrar ile atılır (93,94,98).

2.4.2.2 Remetilasyon Yolu

Homosistein aynı zamanda remetilasyon yolu ile metiyonini oluşturur. Bu reaksiyonda metiyonin sentaz (MS) ve 5,10 metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) rol oynar. Bu basamak folat, kobalamin, betain ve kolin gibi kofaktörlerden metil grubuna ihtiyaç duyar. Bu enzimlerden ve kofaktörlerden herhangi birinde bir eksiklik olursa, plazma homosistein seviyelerinde anormal yükselmeler olur (94).

Remetilasyon reaksiyonunda; folatın aktif formu olan 5-metiltetrahidrofolattan (5-CH₃-THF veya 5-MTHF) homosistein bir metil grubu (CH₃) alır ve metiyonine dönüşür. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim olan metiyonin sentaz kofaktör olarak kobalaminin metillenmiş formu olan metil kobalamine (vitamin B₁₂) gereksinim duyar. Remetilasyon reaksiyonunda; 5,10 metilentetrahidrofolat redüktazın (MTHFR) katalizlediği reaksiyon sonucunda; 5,10 metilentetrahidrofolattan metil grubu vericisi olan 5-metiltetrahidrofolat oluşur. Karaciğerde sentezlenen 5-CH₃-THF dokulara dağıtılır ve metil vericisi olarak homosisteine transfer edilir (93).

2.4.3. Böbreklerin Homosistein Metabolizmasındaki Önemi

Homosistein başlıca renal katabolizma ile elimine edilmektedir. Sadece %1 oranında, böbreğin glomerülleri tarafından filtre edilen homosistein idrarda bulunmaktadır. Esas kısım, böbreğin proksimal tübüllerinde reabsorbe edilerek metabolize olmaktadır. Böylece böbrekler homosisteinin idrar ile dışarı atılımından çok homosistein metabolizması ile ilgilidir (99,100).

2.4.4 Kan Homosisteinin Düzeyleri

Yapılan pek çok araştırmada, sağlıklı yetişkinlerde total homosistein konsantrasyonu plazmada 5-15 $\mu\text{mol/L}$, serumda ise 13-18 $\mu\text{mol/L}$ olarak belirlenmiştir. Ancak yapılan bazı çalışmalarda total homosistein konsantrasyonunun 10-15 $\mu\text{mol/L}$ arasında seyrederken koroner arter hastalık riskinin devam ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle, bazı yazarlar normalin üst sınırını 10 $\mu\text{mol/L}$ ya da daha düşük olarak bildirmektedir (95,101).

Hiperhomosisteinemi açlık homosistein seviyesinin 15 $\mu\text{mol/L}$ 'den daha büyük olduğu durumlar için tanımlanmıştır. Yapılan başka bir çalışma homosistein aralıklarını aşağıdaki gibi tanımlamıştır (101).

Hafif hiperhomosisteinemi.....	15-25 $\mu\text{mol/L}$
Orta hiperhomosisteinemi.....	25-50 $\mu\text{mol/L}$
Ağır hiperhomosisteinemi.....	50-500 $\mu\text{mol/L}$

Koroner, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklı bireylerde genellikle hafif bir homosisteinemi gözlenmektedir (12-25 $\mu\text{mol/L}$). Buna karşılık eğer renal fonksiyon bozulursa ya da birey renal hastalığın son safhasında ise, total homosistein orta seviyelerdeki konsantrasyonlara erişebilir (25-50 $\mu\text{mol/L}$). Nadir görülen doğuştan homosistein metabolizması bozukluğu olan bireylerde ise, total homosistein konsantrasyonu 500 $\mu\text{mol/L}$ 'ye ulaşmaktadır (95,101).

Dializ hastaları, diğer hastalara kıyasla daha yüksek homosistein seviyelerine sahiptirler ve bu hastalarda kalp-damar hastalığının yaygınlığı, diğer hastalara oranla daha yüksektir. Bazı çalışmalarda dializ popülasyonunun %83'ünde yüksek homosistein düzeyleri bulunmuştur (102,103).

2.4.5 Kan Homosistein Düzeylerini Yükselten Bazı Klinik Durumlar

2.4.5.1. Vitamin Yetersizliği

Diyetle alınan vitamin B₆, B₁₂ ve folat düzeyi plazma homosistein düzeyi ile ters orantılı olup, folik asit, B₆ ve B₁₂ vitaminlerinin yetersiz alınması hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır. Çünkü, folat, vitamin B₆ ve vitamin B₁₂

homosistein metabolizması için önemli kofaktörlerdir. Vitamin B₁₂ ve folat homosisteinin metiyonine remetilasyonunda kritik rol oynarken, vitamin B₆ ise homosisteinin dönüşümsüz olarak sisteine katabolize olmasını sağlayan transsülfürasyon yolu için önemlidir (104).

2.4.5.2. Yaş

Yaşın ilerlemesi ile kadınlarda ve erkeklerde kan homosistein konsantrasyonları yükselir (95).

2.4.5.3. Cinsiyet

Erkeklerin kadınlara göre daha yüksek homosistein değerlerine sahip oldukları ve post menapozdaki kadınların homosistein seviyelerinin, premenapozdaki kadınların homosistein seviyelerinden daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bu durum cinsiyet hormonlarının etkisinden ileri gelebilir. Yapılan bir çalışmada post menapozdaki kadınlara hormon destekleme tedavisi uygulaması ile plazma homosistein seviyelerinin azalabileceği gösterilmiştir (105,106).

2.4.5.4. Yaşam Tarzı

Aşırı sigara, alkol ve kafeinli kahve içen kişilerde homosistein yükselirken, fizyolojik aktivite ile homosistein seviyesi düşer. Kronik alkoliklerde, etanolün vitamin durumunu etkilemesi sonucu homosistein seviyesi artarken, orta derecede etanol tüketenlerde homosistein düşmektedir. Kahve ve çayda bol miktarda bulunan teofilinin de, kan homosistein seviyesinin bir miktar yükselmesine neden olur, çünkü teofilin bir Vitamin B₆ antagonistidir (95).

2.4.5.5. Metabolik Hastalıklar

Vitamin B₁₂ eksikliği sonucu görülen pernisiyöz anemide, alkolizm, ince bağırsaklardaki bir patoloji sonucu gelişen folik asitin emilim eksikliği veya hipotiroidi gibi hastalıklarda da kan homosistein seviyesi yükselmektedir (95).

Homosistein metabolizmasının normal işleyebilmesi için böbreğin önemli bir rolü olduğu kabul edilmektedir. Renal fonksiyon homosistein seviyesinin güçlü bir göstergesidir.(97) Remetilasyon yolu; açlık homosistein seviyesinin en önemli

belirleyicisidir (107). Böbrek bozukluğu esnasında remetilasyon aktivitesinde azalma görülmektedir. Ayrıca böbrek yetmezliği olanlarda, homosisteinin böbreklerden yeterince süzülmemesi nedeniyle homosistein düzeyleri yükselir. Son safhadaki böbrek hastalarında yapılan çalışmalarda, homosisteinin yarı ömründe bir artış olduğu saptanmıştır (107). Bunun yanısıra, hastalıklı böbreklerin homosistein metabolizmasının bozulmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bunun sebebi, böbrekler tarafından üretilen serin amino asitinin son safhadaki böbrek hastalarında çok düşük seviyelerde oluşundan kaynaklanmaktadır. Çünkü serin remetilasyon yolu için gerekli olan bir metil vericisidir (108,109). Son safhadaki böbrek hastalarına yüksek dozda folik asit ve vitamin B₁₂ uygulandığında, homosistein seviyelerinde bir azalma gözlenmektedir (110).

2.4.5.6. İlaçlar

Kanser kemoterapisinde kullanılan metotreksat gibi folat antagonistleri, astım hastalarının kullandığı ve bir vitamin B₆ antagonisti olan teofilin ve Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılan levodopa gibi ilaçlar kan homosistein seviyelerinin bir miktar yükselmesine neden olur (100).

2.4.5.7. Genetik Faktörler

Bazı ailelerde genetik faktörlere bağlı olarak kan homosistein seviyesi daha yüksektir. Yeni doğan çocuklarda, homosistein metabolizması bozuklukları, homosisteinüri ile seyreden ağır hiperhomosisteinemiye neden olur. Systationin β-sentaz (CBS) eksikliği, metiyonin sentaz (MS) defekti, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) eksikliği, termolabil MTHFR defekti genetik faktörlerden sayılabilir. Bu genetik faktörlere bağlı olarak transsülfürasyon yolu inhibe olabilmekte veya remetilasyon yolunun aktivitesi azalabilmektedir (95).

2.4.5.8. Homosisteinüri

Homosisteinüri doğuştan kaynaklanan bir metabolizma bozukluğu sonucu oluşmaktadır. Bu nadir görülen hastalıkta, homosistein dokuda ve plazmada birikerek, idrarda da büyük miktarda bulunmaktadır. Homosisteinüri her 100.000 ile 200.000 doğumdan birinde meydana gelir. Bu hastalarda mental retardasyon, iskelet

bozuklukları, lenslerde dislokasyon ve ciddi prematüre damar hastalıkları gibi klinik belirtiler bulunmaktadır. Vasküler belirtiler; arteriyel ve venöz tromboz oluşumunun yanısıra arterosklerotik plak oluşumunu da içermektedir. Arteriyel ve venöz tromboza bağlı olarak da ilk 10 yılda ölüm görülebilir (111).

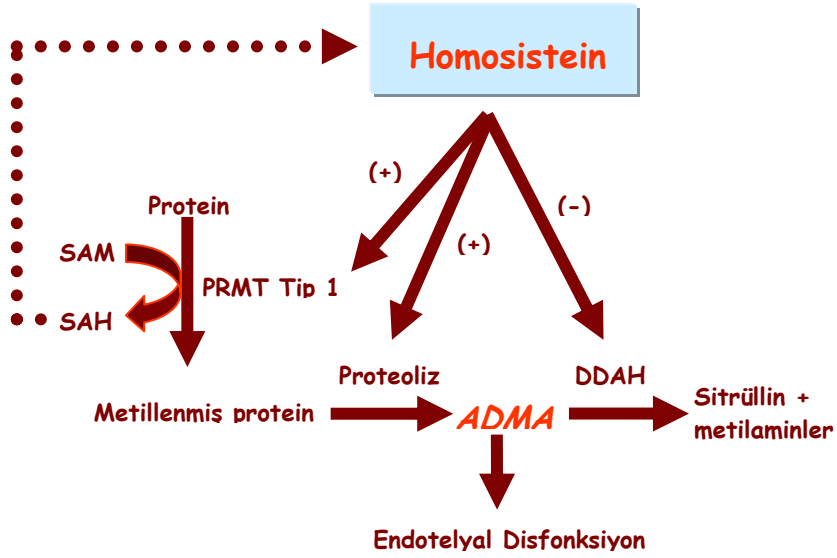
Homosisteinürinin en sık sebebi homosisteinin sistationine dönüşümünü sağlayan sistationin β -sentaz enzimidaki eksikliklerdir ve otozomal resessif bir mekanizma ile kalıtsal olarak geçmektedir.

Homosisteinüri'nin nadir formları şiddetli MTHFR defekti, homosistein remetilasyonunda bozulma ve kobalamin metabolizmasındaki yeni doğan hataları sonucunda ortaya çıkar. MTHFR geninde en sık görülen C677T mutasyonudur. MTHFR enziminin C677T mutasyonuna uğradığı hastalarda metiyonin sentez yolu değişikliğe uğrar. Ortalama plazma homosistein seviyesi, heterozigot MTHFR defektine sahip olanlara veya mutasyona uğramayanlara oranla mutasyona uğramış homozigot MTHFR defektine sahip olan hemodializ hastalarında daha fazladır (112).

2.4.6. Homosisteinin Endotel Disfonksiyonu İlişkisi

Homosistein ile koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferik damar hastalıkları arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ayrıca; koroner arter hastalığı riski olan popülasyonun %10'unda homosistein seviyeleri yüksek bulunmuştur. Koroner arter hastalığı riskinin homosisteinin belirli bir değere yükseldiğinde arttığı görülmektedir. Benzer şekilde iskemik kalp hastalığı ve homosistein arasındaki ilişkiyi inceleyen 8 tane retrospektif çalışmanın analizinde ise her 5 $\mu\text{mol/L}$ 'deki homosistein artışının iskemik kalp hastalığı riskinin hızını %84 artırdığı gösterilmiştir (113).

Hiperhomosisteineminin vasküler sistem üzerine olan zarar verici etkisinin mekanizması tam olarak anlaşılmasına rağmen bu mekanizma endotel hücre hasarlarını ve tromboz oluşumunu içerebilmektedir. İn-vitro olarak yapılan çalışmalar; vasküler hastalıkların patogenezinin homosistein ile uyumlu oluşunun sebebinin; endotel disfonksiyonuna, düz kas hücrelerinin proliferasyonuna ve koagülasyondaki bozukluklarla ilişkili olmasına bağlanmaktadır (114,115).



Şekil 8: Homosisteinin ADMA metabolizmasına etkileri (116,117)

Ayrıca, aterosklerozun patogenezi, klasik kardiovasküler risk faktörlerinin yanısıra hiperhomosistenemi ve oksidatif stresteki artışlar gibi birçok faktörleri de kapsamaktadır. Birçok çalışma LDL oksidasyonunun aterosklerozun patogeneziinde büyük rol oynadığını göstermiştir. Hemodiyaliz hastalarında gözlenen oksidatif stres, lipid metabolizmasındaki değişiklikler ve hiperhomosistenemi LDL oksidasyonunun artışını indüklemektedir (118,119).

Homosisteinin ADMA düzeyini arttırarak NO sentezini azalttığı ve bu yolla endotel fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir. Homosisteinin DDAH enzim aktivitesini azalttığı, PRMT enzim aktivitesini ve proteolizi arttırdığı ve bu yolla ADMA düzeyini arttırdığı son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (116,117).

Behçet Hastalarında, özellikle vasküler tutulumu olanlarda homosistein seviyelerinin normal popülasyona göre daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bu yayınlar ışığında, Behçet hastalığında homosisteinin vaskülit etyolojisinde rol oynayan önemli faktörlerden biri olduğu idda edilmektedir (120,121).

2.5 İnterlökin 6 (IL-6)

İnflamatuar bir sitokin olan IL-6, 184 aminoasitten oluşur ve moleküler ağırlığı 22000 – 30000 kDa arasında değişir (122). IL-6 genetik olarak 7. kromozom üzerinde kodlanmaktadır. Mononükleer fagositik hücreler IL-6'nın en önemli kaynağıdır. IL-6 aynı zamanda fibroblastlar, endotel hücreleri, B ve T lenfositler, hepatositler, keratinositler, glial hücreler ve kemik iliği stroma hücreleri tarafından da sentezlenir (123).

IL-6, immun yanıtı, akut faz reaksiyonlarını ve hematopoezi regüle ederek konağın savunma mekanizmasında önemli bir rol oynar TNF, IL-1, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), IFN-beta gibi sitokinler, antijenler, mitojenler ve bakteriyel endotoksinler (lipopolisakkarit) farklı hücre tiplerinde IL-6 oluşumunu uyarır. Glukokortikoidler ise IL-6 gen ekspresyonunu negatif etkiler ve IL-6 sentezini inhibe eder (124,125).

2.5.1. IL-6'nın Biyolojik ve Klinik Özellikleri

2.5.1.1 İmmun Sistem Üzerindeki Etkileri

Aktive olmuş B hücre dizisinin immünglobulin salgılayabilmesini sağlar, ancak B hücrelerinin büyüme ve çoğalmasında etkili olmamaktadır. Aktive olmamış T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalmasında IL-1 ile TNF'ye yardımcı bir faktördür. IL-6, uyarılmış T hücreleri ve timositlerde hem IL-2 üretimini arttırarak hem de IL-2 reseptörlerini aktive ederek, bazen de bu yoldan bağımsız olarak T lenfositlerin büyüme, çoğalma ve farklılaşmasında rol oynar. Bu özellikleriyle IL-6 hem humoral hem de hücrel konak savunmasında önemli bir mediatördür (123) .

2.5.1.2. Hematopoez Üzerindeki Etkileri

IL-6 hematopoetik sistem hücrelerini G₀ fazında iken aktive etmektedir Aynı zamanda bir nötrofil aktivatörüdür ve diğer sitokinlerle kemik iliği kök hücre matürasyonunu destekler. Trombopoetik faktör olarak IL-6, megakaryositlerin olgunlaşmasını uyarır (123).

2.5.1.3. Akut Faz Reaksiyonları Üzerindeki Etkileri

Akut faz cevabı, inflamasyona ve doku hasarına karşı sistemik bir reaksiyondur. Hepatositlerden akut faz proteinlerinin sentezi IL-6, IL-1 ve TNF gibi bazı sitokinler tarafından düzenlenir. Her üç sitokin aktive monositlerden koordine olarak salınabilir ve biri diğerini etkileyebilir. Salgılanan sitokinler kan yoluyla uzak bölgelere giderek akut faz cevabını oluşturur. IL-6 hepatik protein sentezinin, dolayısıyla da CRP'nin major indükleyicisidir. IL-6 fibrinojen, α -1 asit glikoprotein, α -1 antitripsin, haptoglobulin, α -1 kimotripsin, C3, serum amiloid A ve CRP'nin yapımını uyarırken, prealbumin, albumin ve transferrin gibi proteinlerin yapımını engeller (126,127).

2.5.1.4. İnflamatuvar Olaylar Üzerindeki Etkileri

IL-6 inflamatuvar cevabın önemli bir mediatörüdür. Enfeksiyon etkeni mikroorganizmalar ve onların ürünleri ne karşı konak savunmasında yer alan hücrelerce ve hasar gören dokular tarafından salgılanır. Sepsis ve özellikle gram (-) bakterilerin yaptığı septik şokta IL-6 ve TNF- α seviyeleri yüksek bulunmuştur (128).

2.5.1.5. Diğer Hastalıklar Üzerindeki Etkileri

IL-6'nın fazla üretiminin bronşiyal inflamasyona, bronşiyal hiperreaktiviteye yol açarak sebep olduğu düşünülmektedir. Kardiak miksoma hücrelerinin yüksek miktarlarda IL-6 ürettiği belirlenmiştir. Romatoid artritli hastalarda yüksek IL-6 düzeyleri sinovial sıvıda ve serumda saptanabilir. Mezengial proliferatif glomerulonefritli hastaların mezengial hücreleri tarafından IL-6 üretilmektedir. İdrar IL-6 seviyeleri ile hastalığın ilerleme süreci arasında bir ilişki vardır (123,124,125).

2.5.1.7. Behçet hastalığı ve IL-6

IL-6 CD8+ hücelere etki ederek CD8+ hücre proliferasyonuna, poliklonal B hücre aktivasyonuna neden olmakta, nötrofil hiperfonksiyonuna yol açabilmektedir. Tüm bu bulguların Behçet hastalarında bulunması IL-6'nın immunopatogeneizde önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Aktif nörobeçetli hastalarda serebrospinal sıvıda da IL-6 düzeyi artmış bulunmaktadır (43).

2.6 İnterlökin 8 (IL-8)

Moleküler ağırlıkları 8000 ile 16000 arasındadır. IL-8 periferik kan mononükleer hücreleri, fibroblastlar, endotel hücreler ve keratinositler tarafından sentezlenir. İmmun cevapta inflamasyon bölgesine nötrofil kemotaksisine sebep olan en önemli mediyatördür (129). Bu özelliği sebebiyle monosit kökenli büyüme faktörü (MDGF) olarak ta adlandırılmıştır. Nötrofiller üzerinde spesifik IL-8 reseptörlerinin saptanması ve immün cevapta inflamatuvar bölgeye lökosit migrasyonuna sebep olması nedeniyle IL-8'in vücut savunmasında çok önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (129).

2.6.1. IL-8'in Biyolojik ve Klinik Özellikleri

2.6.1.1 Anjiogenezdeki rolü:

IL-8 kobayda korneal neovaskülarizasyon modelinde endotel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ederek yeni kan damarları oluşumunu uyarmaktadır. Bu da organogenez yara iyileşmesi, tümör büyümesi, metastazlarda etkilerinin olabileceği yönünde fikirler oluşturmaktadır (125).

2.6.1.2. İmmun sistem üzerindeki etkileri:

Primer olarak mononükleer fagositlerden , endotelial ve epitelyal hücrelerden kaynaklanan IL-8, aynı zamanda T hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, fibroblastlar, keratinositler, hepatositler ve kondrositlerden de salgılanabilir. IL-8 sentezi lipopolisakkaritler, IL-1, TNF ve virüsler tarafından da aktiflenebilir. IL-8 nötrofiller için en potent kemotaktiklerden biridir. Aynı zamanda polimorfonükleer nötrofillerin degranulasyonunu(özellikle solunum yollarında) ve CD11b/CD18 ile endotel hücrelerine adezyonunu sağlar.

2.6.1.3. Akut faz reaksiyonu ve inflamatuvar yanıt üzerindeki etkileri:

İnflamatuvar yanıtta diğer mediyatörlerle karşılaştırıldığında IL-8 daha geç ortaya çıkar. Örneğin LTB4 hücre aktivasyonunda dakikalar içinde ortaya çıkıp, 3 saatte pik yaparken konsantrasyonu azalmaya başladığında IL-8 yeni sentezlenerek sekrete edilir ve salgılanması 24 saat sürer (125).

IL-8 ve diğer alfa kemokinler inflamatuvar reaksiyonu ve ağır travması olan hastaların kanında bulunmuş ve inflamasyon bölgesinde; romatoid artritte sinovyal sıvıda, psöriatik deride ve septik şoklu hastaların dolaşımında tesbit edilmiştir. Bu yüzden alfa kemokinler akut inflamatuvar reaksiyonlarda major rol oynayıcı olarak pyojenik olmamaları ve akut faz reaktanlarını indüklememelerine rağmen görülmektedirler. Farelerde IL-8 reseptör homologu genler taşıyanların bakteriyel enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (130).

2.6.1.4. Allerjik Hastalıklar ve Solunum Sistemi Üzerindeki Etkileri:

IL-8'in mRNA'sı aynı zamanda tip1 insan mast hücreleri aktive olduğunda üretilmeye başlar. İmmunelektron mikroskobu ile IgE ile uyarılmış deri mast hücrelerinin sitoplazmik membranlarında ve intrasellüler granüllerinde IL-8 bulunduğu gösterilmiştir. IL-8'in artmış epitelyal üretimi akut ve rölatif olarak değişik etkenlere maruziyete karşı nonselektif yanıt olarak ta ortaya çıkabilir. Bu etkenler içinde respiratuvar virüsler, bakteriler, ev tozu akarları proteolitik allerjenleri, toksik maddeler (ozon, nitrojen dioksit, asbest), proinflamatuvar sitokinler ve mekanik etkenler yer alır. İn vivo olarak allerjik rinit ve astımda da epitelyal IL-8 ekspresyonu artmıştır. İntrasellüler IL-8'in atopik dermatitli ve astımlı hastalarda arttığı gösterilmiştir.

2.6.1.5. IL-8 ve Behçet Hastalığı

Behçet hastalarında IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 ,IL-18, TNF- α , IFN- γ gibi proinflamatuvar mediyatörleri üreten Th1 hücreler artmıştır (36,37). Ayrıca hastalığın seyirinde artmış periferel beyaz kan hücre sayısı, aktive monosit, artmış PMNL motilitesi görülür. Aktif monositler IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , GM-CSF gibi proinflamatuvar sitokinleri üretmektedir ve bu sitokinler PMNL aktivasyonuna katkıda bulunmaktadır. Behçet hastalığı seyri boyunca nötrofil fonksiyonlarının arttığı gösterilmiştir (40,41).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 7 Haziran 2007 tarihli 12 sayılı kararı ile Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı Merkez laboratuvarında, yapılmıştır.

3.1 Deney ve Kontrol Grupları

Hasta grubu, Uluslararası Çalışma Grubu'nun kriterlerine göre Behçet Hastalığı tanısı alan hastalardan seçilmiştir. 35 bayan, 14 erkekten oluşan toplam 49 Behçet hastası çalışmaya dahil edilmiştir. En az iki majör semptomu olan hastalar (oral ülser, genital ülser, deri lezyonu, ve göz tutulumu) aktif Behçet hastası olarak kabul edilirken, 30 gündür herhangi bir lezyonu olmayan Behçet hastaları inaktif grup olarak tanımlandı. Kontrol grubu olarak, Fatih Üniversitesi Hastanesi' ve check up amacıyla başvuran sağlıklı bireylerden ve hastane personelinden 17 bayan, 7 erkek toplam 24 kişi çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu Behçet hastaları ile benzer cinsiyet ve yaş grubundan seçilmiştir.

Yüksek ve düşük protein içerikli diyetle bağı olarak, plazmadaki homosistein konsantrasyonları değişmektedir. Yüksek protein içerikli bir diyetten sonra, plazma homosistein konsantrasyonu 4 saat içinde en az seviyeye ulaşır; 12 saat sonunda ilk değerine yükselmektedir. Bu yüzden 12 saatlik bir açlıktan sonra kan örnekleri alınmıştır. Homosistein ve ADMA düzeylerini etkileyen B12 vitamini, Metotreksat, teofilin, levo dopa kullanan hastalar ve pernisiyöz anemisi olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. ADMA ve NO düzeyleri serum kreatinin ve glukoz düzeylerinden etkilendiği için diyabet, azotemi ve böbrek yetmezliği hastaları çalışma dışı bırakılmıştır.

Kan örnekleri alındıktan sonra vakit kaybetmeden 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek -80 °C'de saklandı.

3.2. Kullanılan Gereçler

Abbott AxSYM Hormon Analizörü

Eliza okuyucu (Biotek ELx 808 uv)

Mikroplak Yıkayıcı (Biotek ELx 50)

Santrifüj (Heraeus Labofuge 400, Hermle Z-300))
Soğutmalı santrifüj (Selecta)
Vorteks (Labnet Vx100)
Mikro santrifüj (ependorf santrifüjü) (Sigma)
Derin dondurucu -80C (Sanyo)
Biosan Mini Rocker MR-1 Shaker
Scorrex otomatik multikanal ve mikropipetler

3.3.Yöntemler

3.3.1. Nitrik Oksit (NO) Tayini

Serum NO düzeyleri Oxford Biomedical Research (İngiltere) kolorimetrik ölçüm kiti kullanılarak elde edildi. Test; NADH bağımlı nitrat redüktaz enzimi sayesinde nitrat nitrite dönüştürüldükten sonra Griess reaktifi ile total NO üretiminin hesaplanması temeline dayanmaktadır. Testin en düşük ölçüm aralığı 1 µM'dür ve 5 – 85 µL numune ile çalışılması mümkündür.

Çalışma sırasında 8 adet standart hazırlandı (0 - 0,5 – 1,0 – 5,0 – 10,0 – 25,0 – 50,0 – 100, 0 µM) Standartlar ve numuneler test prosedürü tamamlandıktan sonra ELISA (Biotek ELx 808 UV) mikrolate cihazında 20 dakika içinde 540 nm'de okuma yapıldı, oluşturulan absorban - konsantrasyon grafiği kullanılarak sonuçlar µmol/l olarak elde edildi.

3.3.2. Serum ADMA Düzeylerinin Ölçümü

ADMA düzeyi ölçümünde kullanılan metodlar yüksek basınçlı likit kromatografi (HPLC) ve ELISA'dır. HPLC ilk olarak oluşturulmuş yüksek sensitiviteye sahip bir metottur. ELISA kitleri son yıllarda geliştirilmiş olup yapılan bir çalışmada DLD Diagnostika GMBH firmasının ADMA ELISA kiti ile HPLC metodu arasında sonuçlar açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (144)

Bu çalışmada DLD Diagnostika GMBH (Almanya) firmasının ADMA ELISA kiti ile serum örneklerinde ADMA düzeyleri çalışıldı. Kitin sensitivitesi 0,05 µmol/l'dür. ADMA sağlıklı bireylerde 0,4 – 0,75 µmol/l değerleri arasında ölçülmektedir.

Bu kit ile yapılan ölçüm iki basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamak Asilasyon basamağıdır. Bu basamakta dimetilformamid ile serum numuneleri muamele edilerek inkübasyon sonrası oluşan jel temizlendikten sonra 50 µL numune esas plate'e pipetlenerek 2. basamak olan ELISA prosedürüne geçilir. Çalışma sırasında 6 standart oluşturuldu (0 – 0,1 – 0,3 – 0,6 – 1,0 – 5,0 µmol/l) Standartlar ve numuneler test prosedürü tamamlandıktan sonra ELISA (Biotek ELx 808 UV) mikropate cihazında 450 ve 630 nm'de okuma yapıldı, referans dalga boyu çıkarılarak absorbans - konsantrasyon grafiği oluşturuldu. Sonuçlar µmol/l olarak elde edildi.

3.3.3. Homosistein Ölçümü

Homosistein ölçümü için sıklıkla HPLC ve otomatize immünassay metodlar kullanılmaktadır. Zappacosta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HPLC ile Abbott AxSYM homosistein ölçüm sistemi arasında homosistein sonuçları açısından iyi bir korelasyon olduğunu bildirilmiştir. (145)

Bu çalışmada homosistein düzeyleri Abbott AxSYM (ABD) cihazında microparticle enzyme immunoassay metodu ile ölçülmüştür. Bu sistem numune olarak serum veya plazma kullanımına olanak vermektedir. Ölçüm redüksiyon ve enzimatik konversiyon basamaklarından oluşmaktadır. Redüksiyon basamağında okside homosistein serbest homosisteine dönüştürülür. Bu basamağı serbest homosisteinin enzimatik olarak S-adenozil homosisteine (SAH) dönüştürüldüğü basamak izler. Bu dönmüşümde enzim olarak bovin SAH hidrolaz kullanılır. Floresan işaretli SAH yardımı ile konsantrasyon hesaplanır ve sonuç µmol/l olarak verilir.

3.3.4 IL-6 Ölçümü

Biosource International, (USA) IL-6 eliza kiti ile çalışıldı. Test solid faz sandiviç ELISA prensibi ile çalışır. Testin minimum ölçüm değeri <2 pg/ml, maksimum ölçüm değeri 500 pg/ml'dir. Bu değer üstündeki sonuçlar dilüsyon ile çalışılmalıdır. Çalışma sırasında 8 adet standart hazırlandı (500 – 250 – 125 -62.5 – 31,2 – 15,6 – 7,8 – 0 pg/ml) Numune ve standartlar Biotek ELx 808 uv eliza cihazında 450 nm de okutuldu ve konsantrasyon-absorbans grafiği oluşturuldu. Numune absorbanslarından bu grafik yardımı ile konsantrasyonlar pg/ml olarak hesaplandı

3.3.4 IL-8 Ölçümü

Orgenium, (Finlandiya) IL-8 eliza kiti ile çalışıldı. Testin minimum ölçüm değeri <2 pg/ml, maksimum ölçüm değeri 250 pg/ml'dir. Çalışma sırasında 6 adet standart hazırlandı (250 – 125 -62.5 – 31,2 – 15,6 – 0 pg/ml) Numune ve standartlar Biotek ELx 808 uv eliza cihazında 450 nm de okutuldu ve konsantrasyon-absorbans grafiği oluşturuldu. Numune absorbanslarından bu grafik yardımı ile konsantrasyonlar pg/ml olarak hesaplandı.

3.4 Verilerin istatistiksel analizi

SPSS 13.0 istatistik programı ile yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında One Way Anova testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma (SD) şeklinde verildi. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. SONUÇLAR

Tablo 3. Grupların demografik parametrelerinin karşılaştırılması

	Hasta ve kontrol grubu sayıları	Kadın n: 52	Erkek n: 21	Ortalama±SD
Aktif	26	35	14	34,1± 8,9
İnaktif	23			
Kontrol	24	17	7	34,5 ± 6,2

Tablo 4: Behçet hastaları ve kontrol gruplarında ölçülen parametrelerinin karşılaştırılması

	Behçet Hastaları n: 49	Kontrol Grubu n: 24	p
ADMA (umol/l)	1,01 ± 0,32	0,55 ± 0,09	<0.01
Homosistein (umol/l)	11,8 ± 6,6	7,8 ± 1,6	0,040
NO (umol/l)	23,1 ± 7,5	25,4 ± 8,1	0,439
IL-6 (pg/ml)	15,0 ± 1,8	13,4 ± 0,5	<0.01
IL-8 (pg/ml)	23,8 ± 10,6	14,6 ± 5,0	<0.01

*p< 0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir

Tablo 5: Aktif - inaktif Behçet hastaları ve kontrol gruplarında ölçülen parametrelerinin karşılaştırılması

	Aktif n: 26	İnaktif n: 23	Kontrol n: 24	p (K-İ)**	p (İ-A)***	p (K-A)****
ADMA (umol/l)	0,91 ± 0,28	1,01 ± 0,37	0,55 ± 0,09	<0.01	0,043	<0.01
Homosistein (umol/l)	13,7 ± 6,6	9,9 ± 6,7	7,8 ± 1,6	0,524	0,038	0,001
NO (umol/l)	31,3 ± 9,9	15,0 ± 5,1	25,4 ± 8,1	<0.01	<0,01	0,023
IL-6 (pg/ml)	15,8 ± 1,9	14,3 ± 1,7	13,4 ± 0,5	0,067	0,007	<0.01
IL-8 (pg/ml)	27,6 ± 12,8	20,1 ± 8,4	14,6 ± 5,0	0,112	0,032	<0.01

*p< 0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**p (K-İ): Kontrol grubu ile inaktif Behçet hastalarının karşılaştırılması.

***p (İ-A): İnaktif Behçet hastaları ile aktif Behçet hastalarının karşılaştırılması.

***p (K-A): Kontrol grubu ile aktif Behçet hastalarının karşılaştırılması.

4.1.Sonuçların Analizi

Tablo 3’de grupların genel demografik verileri ortalama \pm SD şeklinde verilmiştir. Hasta grubu ve kontrol grubu yaş ortalamaları birbirine yakındır (sırasıyla $34,1 \pm 8,9$ ve $34,5 \pm 6,2$ yıl).

4.1.1 Behçet Hastaları ve Kontrol Grubu

ADMA düzeyi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sırasıyla $1,01 \pm 0,32$, $0,55 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/L}$ ($p < 0.01$).

Homosistein düzeyi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sırasıyla $11,8 \pm 6,6$, ve $7,8 \pm 1,6$ $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0.040$).

NO düzeyi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sırasıyla $23,1 \pm 7,5$ ve $25,4 \pm 8,1$ $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0,439$)

IL-6 düzeyi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sırasıyla $15,0 \pm 1,8$ ve $13,4 \pm 0,5$ pg/ml ($p < 0.01$).

IL-8 düzeyi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sırasıyla $23,8 \pm 10,6$ ve $14,6 \pm 5,0$ pg/ml ($p < 0.01$).

4.1.2 Aktif - İnaktif Behçet Hastaları ve Kontrol Grubu

ADMA düzeyi inaktif Behçet hastalarında, aktif gruba göre yüksek bulunmuştur. Aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p = 0,043$) Aktif Behçet hastaları ile kontrol grubu ADMA düzeyi açısından karşılaştırıldığında; aktif Behçet hastalarının ADMA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($p < 0.01$) İnaktif Behçet grubu ile kontrol grubu arasındaki ADMA düzeyleri arasında da benzer bir ilişki vardır. İnaktif grubun ADMA düzeyi kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aktif, inaktif ve kontrol gruplarının ADMA düzeyleri Sırasıyla $0,91 \pm 0,28$, $1,01 \pm 0,37$, $0,55 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçülmüştür.

Homosistein düzeyi aktif ve inaktif gruplar arasında karşılaştırıldığında aktif grubunun değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. İki grup arasındaki fark

istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,038$). Aktif grupla kontrol grubu arasında yapılan ölçümlerde homosistein düzeyi aktif grupta anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). İnaktif grup ile kontrol grubu arasında ise homosistein düzeylerinin inaktif grupta hafif yüksek olduğu ancak aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edildi ($p=0,524$). Aktif, inaktif ve kontrol gruplarının homosistein düzeyleri sırasıyla $13,7\pm6,6$, $9,8\pm6,7$ ve $7,8\pm1,6$ $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçülmüştür.

NO düzeyleri, Aktif ve inaktif gruplar arasında karşılaştırıldığında, aktif grupta anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Aktif grubun NO değerleri aynı zamanda kontrol grubundan da yüksektir ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,023$). İnaktif ve kontrol grupları karşılaştırıldığında inaktif grubun NO düzeyi daha düşük olarak ölçülmüş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Aktif, inaktif ve kontrol gruplarının NO düzeyleri sırasıyla $31,3\pm9,9$, $14,9\pm5,1$ ve $25,4\pm8,1$ $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçülmüştür.

IL 6 düzeyleri aktif grupta inaktif gruba göre yüksek bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,007$). Aktif grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, aktif grubun IL 6 değerleri anlamlı derecede daha yüksektir ($<0,01$). İnaktif grup ile kontrol grubu kıyaslandığında inaktif grup değerleri hafif yüksek olmasına rağmen aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,067$). Aktif, inaktif ve kontrol gruplarının IL 6 düzeyleri sırasıyla : $15,6\pm1,9$, $14,3\pm1,7$ ve $13,4\pm0,5$ pg/ml olarak ölçülmüştür

IL 8 düzeyi Aktif grup ile inaktif grup karşılaştırıldığında aktif grupta daha yüksek bulunmuştur ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,032$) Aktif grup IL 8 değerleri kontrol grubundan da yüksek olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,01$). İnaktif grubun IL 8 değerleri kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen aralarındaki fark anlamlı değildir ($p=0,112$). Aktif, inaktif ve kontrol gruplarının IL 8 düzeyleri sırasıyla : $27,6\pm12,8$, $20,1\pm8,4$ ve $14,6\pm5,0$ pg/ml olarak ölçülmüştür

TARTIŞMA

Bu gün elimizde 20-30 yıl önceye kıyasla Behçet hastalığının erken tanısı, takibi ve tedavisi ile ilgili çok daha fazla bilgi vardır. Ancak buna rağmen hastalığın kesin tedavisi henüz bulunamamıştır. Yapılan araştırmalar hastalığın seyrinde ve tedavisinin izlenmesinde yeni belirteçler bulunması üzerine yoğunlaşmaktadır.

Nitrik oksit, endotelden sentezlenen ve damar sistemi için hayati rol oynayan bir moleküldür. Ayrıca kardiyovasküler, nörolojik, immunolojik ve diğer pek çok sistemde farklı rolleri olan biyolojik bir düzenleyicidir. Damar düz kası üzerinde gevşetici etkisi yanında endotel ve sinir hücrelerinde haberci; aktiflenmiş immün hücrelerde ise öldürücü bir molekül olarak görev yapar. Birçok damar patolojisinin temelinde yatan endotel disfonksiyonundan nitrik oksit sorumludur. Behçet hastalığında patolojik olayın temelinde vasküler inflamasyonun olduğu düşünülmektedir (3,74,133). Vasküler enflamasyon nedeniyle endotel fonsiyonlarında bozulma ve endotel hasarı oluşmaktadır. Behçet hastalığında endotel hasarını gösteren belirteçlerin kan düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Behçet hastalığında meydana gelen endotel hasarına nitrik oksit düzeyinin azalması neden olabilir. Azalan nitrik oksit düzeyi ise özellikle ADMA düzeyindeki artış, ile ilişkili olabilir (40,44,134).

Behçet hastalığında NO düzeyleri ile ilgili olarak yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında Behçet hastalığında NO düzeylerinin azaldığı bildirilirken yine fazla sayıda çalışmada ise bu bulguların tersine Behçet hastalığında NO düzeyinin kontrol grubuna göre arttığı rapor edilmiştir. Örneğin Yapışlar ve Ark.'nın (135) 33 Behçet hastasında yaptıkları çalışmada: Behçet hastalığında artmış platelet agregasyonu ve azalmış NO düzeyleri bildirirken, Evereklioğlu ve Ark.'nın (42) yaptıkları çalışmada Behçet hastalarının özellikle hastalığın akut alevlenmelerinde kontrol grubundan yüksek NO değerlerine sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ise Behçet hastaları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında NO düzeylerinde hafif düşüş görülse de bu fark istatistik olarak anlamlı değildir. Ancak çalışmaya konu olan esas gruplar olan Aktif grubun NO düzeyleri inaktif gruptan ve kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İnaktif grup NO düzeyleri kontrol grubundan düşük bulunmuştur ve aralarındaki fark anlamlıdır. Bu çalışmanın sonuçları Evereklioğlu ve Ark.'nın (42) sonuçları ile büyük oranda benzerdir. Behçet

hastalarında NO düzeylerinin araştırılması sırasında hastaların aktif dönemde veya inaktif dönemde bulunmaları son derece önemlidir. NO düzeyinin temel belirleyicisi hastalığın bulunduğu periyottur. Şu halde geçmişte yapılan ve sadece Behçet Hastaları ile kontrol grubunu kıyaslayan çalışmaların bu konuda güvenilir veriler vermesi son derece zordur.

Bilindiği üzere NO'nun sentezinde cNOS ve iNOS olarak iki farklı izoenzim görev yapmaktadır. Fizyolojik olayların seyrinde rol alan cNOS enziminin inhibisyonu neticesinde endotel için bazal düzeyde gerekli olan NO sentezi azalmaktadır. Bu nedenle hastalığın oluşum sürecinde ve inaktif periyodunda düşük NO düzeylerine rastlanabilir. Ancak ikinci izoform olan iNOS, hastalığın alevlenmesiyle birlikte salgılanan sitokinlerin etkisiyle ilerleyen dönemde aktive olarak, artmış NO sentezine neden olmaktadır. iNOS aktivasyonu cNOS enziminin inhibisyonundan çok daha yoğun olduğu için hastalığın aktif periyodunda artmış NO düzeyinin nedeni olabilir. Bu mekanizma aktif, inaktif grup ile kontrol grubu arasındaki NO düzeylerini açıklayabilir. Araştırmamızda çalışılan sitokinlerden IL 6 ve IL 8 düzeyleri de bu mekanizmayı destekler şekilde veriler içermektedir. Hastalık aktivitesi ile NO düzeyi paralel olarak artmaktadır.

Nitrik oksitin tek görevi vazodilatasyon değildir. Trombosit adezyon ve agregasyonunun, monosit ve lökositlerin adezyonu, LDL oksidasyonunun inhibisyonu ile anti trombotik özellikleri mevcuttur. Bu nedenle Behçet hastalarında artmış trombotik olayların temel nedeni bu mekanizma olabilir.

ADMA protein yapısındaki arjinin aminoasidinin metillenmesi sonrasında proteinin katabolizması ile açığa çıkmaktadır. Ateroskleroz, böbrek yetmezliği, polikistik over, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, kalp yetmezliği gibi hastalıklarda ADMA düzeyinin arttığı bildirilmiştir. ADMA'nın bu hastalıklarda NO düzeyini azaltarak endotel disfonksiyonuna neden olduğu bilinmektedir. Behçet hastalığında da ADMA düzeyindeki artışın NO üzerinden endotel disfonksiyonuna neden olduğu düşünülebilir. Literatürde Behçet hastaları ile sağlıklı bireyler arasındaki ADMA düzeyini karşılaştıran tek çalışma mevcuttur. Şahin ve Ark.'nın (136) yaptığı çalışmada vasküler ve mukokutanöz tutulumu olan Behçet hastalarında kontrol grubuna göre yüksek ADMA düzeyi bulunduğu bildirilmiştir. Özellikle vasküler tutulumu olan hastaların mukokutanöz ve kontrol grubundan anlamlı derecede daha

yüksek ADMA düzeyine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada Behçet hastalarının ADMA düzeyi kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sonuçlar Şahin ve Ark.'nın çalışması ile uyumludur. Aktif ve inaktif gruplar kıyaslandığında ise inaktif Behçet grubu anlamlı derecede daha yüksek ADMA düzeyine sahiptir. ADMA NOS enziminin kompetitif inhibitörüdür. İnaktif dönemdeki düşük NO düzeyleri ile artmış ADMA düzeyleri bu mekanizma içinde uyumludur. Ancak aktif gruptaki ADMA düzeyinin inaktif grupdan düşük olması ilk bakışta tezat oluşturmaktadır.

Behçet hastalığının akut alevlenmesinde salgılanan sitokinlerin etkisi ile iNOS aktivasyonu sonucunda NO sentezi artmaktadır. Ancak iNOS kaynaklı yüksek konsantrasyondaki NO fizyolojik olaylardan çok patolojik mekanizmalarda rol oynamaktadır. Bu nedenle vazodilatasyon ve antiagregasyon yerine sitotoksik ve agregan etkilere neden olmaktadır. Artan sitokinlerin etkisi aktif gruptaki NO yüksekliğine ve ADMA'nın rölatif olarak düşük kalmasına neden olabilir (43).

ADMA konsantrasyonu yüksek olan hastalara L-arjinin verilmesi NOS enzim aktivitesinde artışa neden olur. Yapılan bazı çalışmalarda dışarıdan L-arjinin verilerek, endotel fonksiyonun önemli derecede düzeldiği, ADMA'nın zararlı etkilerinin ters çevrildiği gösterilmiştir (87). Behçet hastalarındaki yüksek ADMA düzeylerinin kontrol altında tutulması mortalite ve morbidite açısından faydalı sonuçlar doğurabilir

Oksidatif stres parametrelerinin Behçet hastalığında arttığı bilinmektedir. L-arginin metilasyonunu artıran oksidatif stres, DDAH aktivitesini azaltarak ADMA düzeyini artırmaktadır. Behçet hastalığında da artan ADMA düzeyleri oksidatif stres ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte yüksek ADMA düzeyleri NO sentezini azaltarak endotelde oksidatif strese yol açabilir ve muhtemelen bu ilişki bir kısır döngü çerçevesinde gerçekleşmektedir (118).

Hem inflamatuvar sürecin başlangıcında hem de Behçet hastalığı boyunca oksidatif stresin rolü kesinleştiğinden hem diyetle hem de tedavide antioksidanlara yer verilebilir.

Homosistein, plazmada çeşitli formlarda bulunan ve metiyonin metabolizması sırasında oluşan bir ara üründür ve kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür. Homosisteinin, endotelial hasar oluşturarak ateroskleroza hızlandırmasına ek olarak, damar düz kas hücrelerinin aşırı çoğalmasına neden olduğu da

bilinmektedir (137,138,139). Normal endotel hücreleri, homosisteinin toksik etkilerini ortadan kaldırmak için homosisteini bağlayan NO salgılar. NO'in bu koruyucu etkisi, endotelin uzun dönemli hiperhomosisteinemiye maruz kalması sonucunda bozulur. Çünkü homosistein, lipid peroksidasyonuna neden olarak endotelial NO sentaz salınımını azaltır. Sonuçta, NO'in endotelial üretimindeki bozulma, endoteli, homosistein kökenli oksidatif hasara maruz bırakır ve endotel fonksiyon bozukluğu ortaya çıkar(137,140).

Homosisteinin kan ADMA düzeyini üç aşamada arttırdığı düşünülmektedir. Birincisi: proteinlerdeki arjininlere metil transfer eden PRMT enzim aktivitesini arttırması, ikincisi: ADMA'nın yıkımını sağlayan DDAH enzim aktivitesinin azalması, üçüncüsü: protein turnover artmasıdır. Bu mekanizma ile homosisteinin ADMA düzeyini arttırması, dolayısı ile NO düzeyini azaltması söz konusudur.

Behçet hastalığında homosistein düzeyleri ile ilgili olarak yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Behçet hastaları ile normal popülasyondaki homosistein düzeylerini karşılaştıran çalışmalar, Behçet hastalarının daha yüksek homosistein düzeyine sahip olduğunu bildirmişlerdir (116,117). İki farklı çalışma vasküler tutulumu olan Behçet hastalarının homosistein düzeyinin mukokutanöz tutulumu olan Behçet hastaları ve sağlıklı bireylerden anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmektedir(141,142). Sarıcan ve Ark.'nın (8) yaptığı çalışmada Behçet hastalarının aktif, inaktif dönem ile kontrol grubu homosistein düzeyleri karşılaştırılmış, aktif grubun inaktif ve kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek homosistein konsantrasyonuna sahip olduğu, inaktif ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Evreklioğlu ve Ark.'nın (120) yaptığı diğer bir çalışmada da oküler tutulumu olan-olmayan ve aktif-inaktif Behçet gruplarında homosistein düzeyleri karşılaştırılmış oküler tutulumu olanlarda ve aktif Behçet hastalarında homosistein düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın homosistein sonuçları da Sarıcan ve Ark. (8) ve Evreklioğlu ve Ark.'nın (120) çalışmalarının sonuçları ile uyumludur

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda Behçet hastalığındaki trombozun patogenezi tam olarak anlaşılmasa da genel düşünce hastalık temelindeki vaskülitin yol açtığı endotel disfonksiyonudur. Bunu destekleyen en önemli kanıt endotel disfonksiyonu sonucunda ortaya çıkan trombomodülinin Behçet hastalarında yüksek

bulunmasıdır. Hiperhomosisteineminin tromboz gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu iyi bilinmektedir. Bunun temelinde homosisteinin endotel hücrelerine toksik etkili olduğu, serbest radikalleri arttırdığı, vazodilatasyonu azalttığı ve pıhtılaşma sistemini tetikleme özelliği yatmaktadır(135,143).

Homosisteinin kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Ayrıca bu değerler, sigara içen ve hipertansif hastalarda daha yüksek bulunduğundan, özellikle bu hastalarda hiperhomosisteinemi tedavisi gereklidir

Artmış homosistein konsantrasyonunun normal seviyelere çekilmesine yönelik uygulamalar, altta yatan nedenlere göre değişmektedir. Bununla birlikte bu yönde en etkili madde folik asittir. Folik asidin, vitamin B6 ve vitamin B12 ile birlikte veya tek başına kullanımı plazma homosistein seviyesini düşürebilir. Folik asit, vitamin B12 ile birlikte kullanılırsa, plazma homosistein seviyesini %32, tek başına kullanılırsa %25 oranında düşürür. Bu nedenle günlük olarak alınan ve 400 mg folat içeren multivitamin preparatlarının (içinde B6 ve B12 vitamini olan) tedavi için yeterli olduğu ileri sürülmektedir (141,143).

Aktif Behçet hastalarında inflamatuvar sitokinlerin arttığı bilinmektedir. Bu dönemde organizma yoğun ve yaygın bir inflamatuvar reaksiyon içindedir. Behçet hastalığında IL 1 β , IL 2, IL 6, IL 8, TNF α düzeyleri artmış bulunmuştur. IL 6 ve IL 8'in hastalık aktivitesine göre kan düzeylerinin de arttığı bilinmektedir (43,144). Bu çalışmada IL 6 düzeyleri aktif grupta inaktif ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. IL 8 düzeyleri de benzer şekilde ölçülmüştür. Aktif grupta inaktif ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek IL 8 düzeyi saptanmıştır. Bu bulgular Evereklioğlu ve Ark.'nın aktif ve inaktif Behçet hastalarında TNF-a , sIL-2R, IL-6, ve IL-8 düzeylerinin araştırıldığı çalışması ile uyumludur (144). Artan IL 6 ve IL 8 düzeylerinin etkisiyle iNOS aktive olmaktadır. Bu nedenle NO düzeyleri patolojik boyutta artmaktadır.

Sistemik veya organ spesifik Behçet hastalığındaki inflamasyonun tedavisinde hastalığın seyri boyunca rol oynayan proinflamatuvar stokinler ve kemokinler hedef alınmalıdır. PMNL'leri etkilenmiş sahaya çektiği için IL-8 özellik arz etmektedir. IL-8'e olduğu kadar IL-4, IL-6, IL-10 ve IL-11'e karşı kullanılan remisyon sağlayan antikorlar alternatif tedavi seçenekleri olarak geliştirilmelidir.

Behçet hastalığında potansiyel bir etyopatojenik faktör olan NO'nun primer rolünün anlaşılması yeni tedavi yaklaşımları geliştirilmesini sağlayabilir. Bu nedenle gelecekte Behçet hastalığının altgruplarında NO metabolizması, oksidatif stres ve sitokinlerle ilgili yapılacak daha ayrıntılı çalışmalar hastalığın teşhis ve tedavisine ışık tutacaktır.

ÖZET

Behçet hastalığı (BH) etiyopatogenezi tam olarak bilinmeyen kronik, tekrarlayıcı ve histopatolojik olarak vaskülitte seyreden multisistemik bir hastalıktır. Behçet hastalığının belli genetik zemindeki bireylerde çeşitli çevresel faktörlerle oluştuğuna inanılmaktadır. BH’da oral ve genital mukozada tekrarlayan ülserler ile göz, deri, eklem, gastrointestinal sistem, satrial sinir sistemi ve vasküler sistem bulguları hastalığa eşlik edebilir. Sitokinler immunolojik ve inflamatuvar olayların en önemli mediyatörleridir. Nitrik oksit bir çok otoimmün ve inflamatuvar cilt hastalığında anahtar rol oynar. Bu çalışmada serum NO, Asimetrik dimetil arjinin (ADMA), homosistein, IL-6 ve IL-8 düzeylerinin Behçet hastalığının patogenezi ile ilişkisi ele alındı.

Uluslararası Çalışma Grubunun kriterlerine göre Behçet Hastalığı tanısı alan 49 hasta (26 aktif, 23 inaktif) ve 24 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. En az iki majör semptomu olan hastalar aktif Behçet hastası olarak kabul edildi.

Serum NO, homosistein, IL-6 ve IL-8 düzeyleri aktif Behçet hastalarında inaktif Behçet hastaları ve kontrol grubundan anlamlı seviyede yüksek bulundu. Aktif ve inaktif Behçet hastalarının serum ADMA seviyeleri kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek bulunurken, inaktif Behçet grubu ile kontrol grubu serum homosistein, IL-6 ve IL-8 düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Artmış serum ADMA düzeyi, NO sentezini azaltarak endotelial disfonksiyona neden olur. Oluşan endotel disfonksiyonu Behçet hastalığının patogenezindeki vaskülit ile ilişkili olabilir.

SUMMARY

Behçet's disease (BD) is a chronic, recurrent, and multisystemic disorder of the unknown etiology, characterized by vasculitis as a histopathologic feature. Genetic predisposition, infectious agents and immunologic mechanisms are the main steps in the etiopathogenesis. In BD recurrent ulcers in oral and genital mucosa may be accompanied by eye, skin, joint, gastrointestinal system, central nervous system and vascular system involvement. Cytokines are major mediators of immunologic and inflammatory reactions. Nitric oxide (NO) plays a key role in the pathogenesis of many inflammatory and autoimmune skin diseases. The study was conducted to determine NO, asymmetric dimethylarginine (ADMA), homocysteine, interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) levels in relation to the pathogenesis of the Behçet's disease.

A total of 49 Behçet's patients, consisting of 26 active and 23 inactive patients, and a healthy control group of 24 individuals participated in the study. International Study Group Diagnostic Criteria were followed in diagnosis of BD, patients who had at least two signs were considered as having active disease.

Serum NO, homocysteine, IL-6, IL-8 levels were found to be significantly higher in active Behçet's patients, compared to inactive Behçet's patients and healthy controls. In active and inactive Behçet's patients, serum ADMA levels were significantly higher than those of healthy controls. No statistically significant difference was found between inactive Behçet's patients and healthy controls with respect to their serum homocysteine, IL-6, IL-8 levels.

The increased plasma levels of ADMA presumably cause endothelial dysfunction because of a deficiency in NO production, which also appears involved in the vasculitis of Behçet's disease.

REFERANSLAR

- 1-Barnes CG, Yazici H Behçet's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 1999, 38:1171–1174
- 2-Ustun C: A famous Turkish dermatologist, Dr. Hulusi Behçet. *Eur J Dermatol* 2002,12:469–70
- 3- Cekmen MB, Turgut M, Turkoz Y, Aygun D, Gozukara E, Nitric Oxide and Nitric Oxide Synthase Physiologic and Pathologic Characteristics *T Klin J Pediatr* 2001,10:12
- 4- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure *Lancet*. 1992,7;339(8793):572-5
- 5- Valkonen V-P, Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clin Chim Acta*: 2004, 348:9-17
- 6- Tarnow L., Hovind P., Teerlink T, Stehouwer CDA, Parving, H-H: Elevated Plasma ADMA as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 765-769,
- 7- Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb. Vasc Biol* 2000, 20:2032-2037
- 8- Sarican T, Ayabakan H, Turkmen S, Kalaslioglu V, Baran F, Yenice N, Homocysteine: An activity marker in Behçet's disease? *Journal of Dermatological Science* , 2007, 45, 121-126
- 9- Ates A, Aydintug O, Olmez U, Duzgun N, Duman M, Serum homocysteine level is higher in Behçet's disease with vascular involvement *Rheumatol Int* , 2005, 25: 42–44
- 10- Evereklioglu C. Current Concepts in the Etiology and Treatment of Behçet Disease *Survey of Ophthalmology* ,2005, Vol 50 No:4 297-350
- 11- Nishiyama M, Nakae K, Umehara T: A study of familial occurrence of Behçet's disease with and without ocular lesions. *Jpn J Ophthalmol* , 2001, 45:313–6
- 12- Zouboulis CC, Kotter I, Djawari D, et al: Epidemiological features of Adamantiades-Behçet's disease in Germany and in Europe. *Yonsei Med J* 1997, 38:411–22
- 13- Azizlerli G, Kose AA, Sarica R, et al: Prevalence of Behçet's disease in Istanbul, Turkey. *Int J Dermatol* 2003, 42:803–6
- 14- Cakir N, Dervis, E, Benian O, et al: Prevalence of Behçet's disease in rural western Turkey: a preliminary report. *Clin Exp Rheumatol* 2004, 22:53–5
- 15- Yurdakul S, Günaydın I, Tüzün Y. et al. Prevalance Behçet's Syndrome in a rural area in northern Turkey *J Rheumatol*, 1988, 15:820-822
- 16- Tuzun Y, Yurdakul S, Mat CM, et al: Epidemiology of Behçet's syndrome in Turkey. *Int J Dermatol* 1996, 35:618–20
- 17- Onder M, Gurer MA: The multiple faces of Behçet's disease and its aetiological factors. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2000, 15:126–36
- 18- Tugal-Tutkun I, Onal S, Altan Yaycioglu R, et al: Uveitis in Behçet's disease: an analysis of 880 patients. *Am J Ophthalmol* 2004, 138:373–80
- 19- Yazici H, Basaran G, et al: The ten-year mortality in Behçet's syndrome. *Br J Rheumatol* 1996; 35:139– 41

- 20- Öztaş P, Polat M, Gür G, Allı N, Behçet Hastalığı Etiyopatogenezi Türkiye Klinikleri J Dermatol, 2006; 16:181-185
- 21- Zierhut M, Mizuki N, Ohno S, et al. Immunology and functional genomics of Behçet's disease. *Cell Mol Life Sci*; 2003; 60:1903-22
- 22- Sallakci N, Bacanlı A, Coskun M, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol* 2005;30:546-50.
- 23- Verity DH, Marr JE, Ohno S, et al: Behçet's disease, the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue Antigens* 1999; 54:213–20,
- 24- Takeno M, Kariyone A, Yamashita N, et al: Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behçet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum* 1995; 38:426–33
- 25- Verity DH, Wallace GR, Vaughan RW, et al:HLA and tumour necrosis factor (TNF) polymorphisms in ocular Behçet's disease. *Tissue Antigens* 1999; 54:264–72
- 26- Verity DH, Vaughan RW, Kondeatis E, et al: Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphism in Behçet's disease. *Eur J Immunogenet* 2000; 27:73–6
- 27- Lee KH, Chung HS, Kim HS, et al: Human enolase from endothelial cells as a target antigen of anti-endothelial cell antibody in Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2025–35
- 28- Calguneri M, Ertenli I, Kiraz S, et al: Effect of prophylactic benzathine penicilline on mucocutaneous symptoms of Behçet's disease. *Dermatology* 1996; 192:125–8
- 29- Kaneko F, Oyama N, Nishibu A: Streptococcal infection in the pathogenesis of Behçet's disease and clinical effects of minocycline on the disease symptoms. *Yonsei Med J* 1997; 38: 444–54
- 30- Behçet's Disease Research Committee of Japan. Skin hypersensitivity to streptococcal antigens and the induction of systemic symptoms by the antigens in Behçet's disease. *J Rheumatol*; 1989; 16:506-11
- 31- Lehner T, Lavery E, Smith R, et al. Association between 65- kilodalton heat shock protein, *Streptococcus sanguis* and the corresponding antibodies in Behçet's syndrome. *Infect Immun*1991; 59:1434-41
- 32- Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G: The role of heat shock proteins in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:44–8
- 33- Ergun T, Ince U, Eksioğlu-Demiralp E, et al: HSP 60 expression in mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45:904–9
- 34- Smet MD, Bitar G, Mainigi S, Nussenblatt RB: Human S-antigen determinant recognition in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42:3233–8
- 35- Direskeneli H, Eksioğlu-Demiralp E, Kibaroglu A, et al: Oligoclonal T cell expansions in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 1999; 117:166–70
- 36- Oztas, MO, Onder M, Gurer MA, et al: Serum interleukin 18 and tumour necrosis factor- α levels are increased in Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30:61–3
- 37- Sugi-Ikai N, Nakazawa M, Nakamura S, et al: Increased frequencies of interleukin-2 and interferon- γ -producing T cells in patients with active Behçet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39:996–1004
- 38- Erkilic, K, Evereklioglu C, Cekmen M, et al: Adenosine deaminase enzyme activity is increased and negatively correlates with catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in patients with

- Behçet's disease: original contributions/clinical and laboratory investigations. *Mediators Inflamm* , 2003; 12:107–16
- 39- Onder M, Bozkurt M, Gurer MA, Gulekon A: Natural cellular cytotoxicity in Behçet's disease. *J Dermatol* , 1994; 21:239–43
- 40- Sahin S, Akoglu T, Direskeneli H, et al: Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis* , 1996; 55:128–33
- 41- Sahin S, Lawrence R, Direskeneli H, et al: Monocyte activity in Behçet's disease. *Br J Rheumatol* , 1996; 35:424–9
- 42- Evereklioglu C, Turkoz Y, Er H, Inaloz S, Increased nitric oxide production in patients with Behçet's disease: Is it a new activity marker? *J Am Acad Dermatol* , 2002; Vol 46, No:1, 50-54
- 43- Akdeniz N, Esrefoglu M, Keles MS, KARAKUZU A, Atasoy M, Serum Interleukin 6, Interleukin 12, Tumour Necrosis Factor Alpha and Nitric Oxide Levels in Patients With Behçet Disease *Ann Acad Med Singapore* , 2004; 33; 596-9
- 44- John C. Chambers, BA, MRCP, Dorian O. Haskard, Jaspal S. Kooner, FRCP Vascular Endothelial Function and Oxidative Stress Mechanisms in Patients With Behçet's Syndrome *JACC* , 2001; Vol. 37, No. 2,517–20
- 45- Saglam K, Serce AF, Yilmaz MI, et al: Trace elements and antioxidant enzymes in Behçet's disease. *Rheumatol Int* , 2002; 22:93–6
- 46- Haznedaroglu IC, Ozcebe O, Celik I, et al: Haemostatic markers of procoagulant imbalance in Behçet's disease. *Eur J Haematol* , 1996; 57:107–8
- 47- Donmez A, Aksu K, Celik HA, et al: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in Behçet's disease. *Thromb Res* , 2005; 115:287–92
- 48- George RK, Chan CC, Whitcup SM, Nussenblatt RS: Ocular immunopathology of Behçet's disease. *Surv Ophthalmol* , 1997; 42:157–62
- 49- Hughes EH, Dick AD: The pathology and pathogenesis of retinal vasculitis. *Neuropathol Appl Neurobiol* , 2003; 29:325–40
- 50- Direskeneli H: Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis* , 2001; 60:996–1002
- 51- Gurler A, Boyvat A, Tursen U: Clinical manifestations of Behçet's disease: an analysis of 2147 patients. *Yonsei Med J* , 1997 ; J 38:423–7
- 52 - Alpsoy E, Donmez L, Bacanli A, et al: Review of the chronology of clinical manifestations in 60 patients with Behçet's disease. *Dermatology*, 2003; 207:354–6
- 53- Barnes CG, Yazici H: Behçet's syndrome. *Rheumatology Oxford* , 1999; 38:1171–4
- 54- George RK, Chan CC, Whitcup SM, Nussenblatt RS: Ocular immunopathology of Behçet's disease. *Surv Ophthalmol* , 1997; 42:157–62
- 55- Yurdakul S, Hamuryudan V, Yazici H: Behçet syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 16:38–42, 2004
- 56- Sakane T, Takeno M, Suzuki N & Inaba G. Behçet's disease. *New England Journal of Medicine* 1999; 341: 1284–1291
- 57- Siva A, Kantarci OH, Saip S, et al. Behçet's disease: diagnostic and prognostic aspects of neurological involvement. *Journal of Neurology* 2001; 248: 95–103.

- 58- Yurdakul S, Tuzuner N, Yurdakul I, Hamuryudan V & Yazici H. Gastrointestinal involvement in Behçet's syndrome: a controlled study. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1996; 55: 208–210.
- 59- Bayraktar Y, Ozaslan E & Van Thiel DH. Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2000; 30: 144–154
- 60- International Study Group for Behçet's Disease: Criteria for diagnosis of Behçet's disease : *Lancet* , 1990; 335:1078–80
- 61- Ergun T, Gurbuz O, Harvell J, Jorizzo J & White W. The histopathology of pathergy: a chronologic study of skin hyperreactivity in Behçet's disease. *International Journal of Dermatology* 1998; 37: 929–933
- 62- Gul A, Esin S, Dilsen N, Konice M, Wigzell H & Biberfeld P. Immunohistology of skin pathergy reaction in Behçet's disease. *British Journal of Dermatology* 1995; 132: 901–907.
- 63- Inaloz HS, Evreklioglu C, Unal B, et al: The significance of immunohistochemistry in the skin pathergy reaction of patients with Behçet's syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol* , 2004; 18:56–61
- 64- Adam B, Calikoglu E: Serum interleukin-6, procalcitonin and C-reactive protein levels in subjects with active Behçet's disease *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004 May;18(3):318-20.
- 65- Muftuoglu AU, Yazici H, Yurdakul S, et al. Behçet's disease. Relation of serum C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rates to disease activity. *International Journal of Dermatology* 1986; 25: 235–239
- 66- Ishida S, Shiima C, Edagawa G, et al: Serial MRI findings in a relapsing-remitting form of neuro-Behçet's disease: a case report. *Clin Imaging* , 2004; 28:399–403
- 67- Kurumety U, Okada AA, Usui M, Rao NA: Behçet's syndrome, in Yanoff M, Duker JS: *Ophthalmology*. London, Mosby, 1999, pp 1–4
- 68- Ando K, Fujino Y, Hijikata K, et al: Epidemiological features and visual prognosis of Behçet's disease. *Jpn J Ophthalmol* , 1999; 43:312–7
- 69- Nussenblatt RB: Uveitis in Behçet's disease. *Int Rev Immunol* , 1997; 14:67–79
- 70- Tokaç M, Korkut B, Gök H, Altınbaş A, Aydın M, Endotelinler ve Kardiyovasküler Sistem T Klin *J Med Sci*, 1998; 18,30-9
- 71- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginin: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem pharmacol* 1989; 38:1709-15
- 72- Palmer RMJ, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989; 158: 348-52.
- 73- Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *The J. Biol. Chem.* 1993; 268 (17): 12231-4.
- 74- Richard K. Nitric oxide synthases. *The Biochemist* . Nov.1994; 16(5): 3-6.
- 75- Burnett AL, Lowenstien CJ, Bredt DS. Nitric oxide a physiologic mediator of penil erection. *Science* 1992; 257: 401-3.
- 76- Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K. Inhaled nitric oxide for adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328: 399-402.
- 77- Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. *Palme yayıncılık* 2003
- 78- Anggard E. Nitric Oxide: Mediator, Murderer and Medicine. *The Lancet* 1994; 343:1199-206.

- 79- Hu T, Chouinard M, Cox Amy L, Sipes P. Farnesoid X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation *The Journal of Biological Chemistry* , 2006; 29;281 (52):39831-8
- 80- Mittermayer F, Pleiner J, Krzyzanowska K, Wiesinger F, Francesconi M, Wolzt M. Regular physical exercise normalizes elevated ADMA concentrations in patients with Type 1 Diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr* , 2005; 117/23-24:816-820
- 81- Beltowski J. , Kedra A, Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacological Reports*, 2006; 58,159-178
- 82- Nijveldt R.J., Siroen M.P.C., Teerlink T., and Leeuwen M.V., Elimination of Asymmetric Dimethylarginine by the Kidney and the Liver: A Link to the Development of Multiple Organ Failure., *The American Society for Nutritional Sciences J. Nutr.* , 2004; 134:2848S-2852S
- 83- Böger RH, Maas R, Schulze F and Schwedhelm E, .Elevated levels of ADMA as a marker of cardiovascular disease and mortality. *Clin chem Lab med*; 2005; 43(10):1124-1129
- 84- Wang J, Sim AS, Wang XL, Salonikas C, Naidoo D, Wilcken DE. Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis* , 2006; 184:383-388
- 85- Nijveldt J.R., Leeuwen VP, Guldener van Coen, Stehouwer D.A.Coen, Rauwerda A.Jan and Teerlink Tom. Net renal extraction of ADMA and SDMA in fasting humans. *Nephrol Dial transplant* 1999-2002; 17
- 86- Zoccali Carmine, Mallamaci Francesca and Giovanni Tripepi. Novel Cardiovascular Risk Factors in End Stage Renal disease. *J Am Soc Nephrol* ,2004; 15:S77-S80
- 87- Scalera F; Borlak J; Beckmann B; Martens JL; Thum T; Tager MI; Böger, Stefanie M. Bode. Endogenous Nitric Oxide Synthesis Inhibitor Asymmetric Dimethyl L-Arginine Accelerates Endothelial Cell Senescence *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* , 2004; 24:1816
- 88- Chan NN, Chan JCN: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia* 2002; 45:1609–1616
- 89- Böger R.H. ADMA, an endogenous Inhibitor of Nitric Oxide Synthase, Explains the ‘L-Arginine Paradox and Acts as a Novel Cardiovascular Risk Factor. *J. Nutr.* , 2004; 134:2842S-2847S
- 90- Richter B., Niessner A., Penka M., Steiner S., Strasser B, Ziegler S, Zorn G, , Maurer G, Simeon V, Wojta J, Huber K, Endurance training reduces circulating ADMA and MPO levels in persons at risk of coronary events. *thromb Haemost* , 2005; 94:1306-11
- 91- Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode B, Stefanie M, Dimitrios T, Burkhard H, C. Jurgen F, Böger H.R. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocysteinemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovascular Research* ,2003; 57,244-252
- 92- Böger R, ADMA: a mediator of endothelial dysfunction and marker of vascular disease *Vascular Disease* October 2004
- 93- Sigit I.J., Hages M., Brensing K.A., Frotscher U., Pietrzif K., Bregman K., Lütjohann D.: Total plasma homocysteine and related amino acids in end stage renal disease (ESRD) patients measured by

- gas chromatography-mass spectrometry-comparison with the abbott Imx homocysteine assay and the HPLC method. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2001; 39:681-690
- 94- Nehler M.R., Taylor L.M., Porter J.M.: Homocystenemia as a risk factor for atherosclerosis: A review. *Cardiovasc. Pathol.*, 1997; 6:1-9
- 95 - Temel İ, Özerol E.: Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, , 2002; 9:149-157
- 96- Chou S.T., Ko L.E., Yang C.S.: High performance liquid chromatography with fluorimetric detection for the determination of total homocysteine in human plasma: method and clinical applications. *Analytica. Chimica. Acta.* , 2001; 429:331-336
- 97- Feinstein S., Sela B.A., Drükler A., Cohen R.B., Roveh D., Glavendo S., Frishberg Y.: Hyperhomocystenemia in children on renal replacemant therapy. *Pediatry Nephrol.*, 2002; 17:515-519
- 98- Selhub J.: Homocysteine metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, 1999; 19:217-246
- 99- Guttormsen A.B., Ueland P.M., Svarstad E., Refsum H.: Kinetic basis of hyperhomocystenemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int.* ,1997; 52:495-502
- 100- Refsum H., Ueland P.M., Nygard O., Vollset S.E.: Homocysteine and cardiovascular disease. *Ann. Rev. Med.*, 1998; 49:31-62
- 101- Jacobsen D.W.: Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin. Chem.* 1998; 44:1833-1843
- 102- Boston A.G., Shemin D., Verhofen P. et al.: Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients: a prospective study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* , 1997; 17:25-54
- 103- Bostom A., Shemin D, Lapane K, Miller J, Sutherland P, Nadeau M, Seyoum E, Hartman W, Prior R, Wilson P: Hyperhomocysteinemia and traditional cardiovascular risk factors in end-stage renal disease patients on dialysis. A case control study. *Atherosclerosis*, 1995; 114:93-103
- 104- Tefferri A., Pruthi R.: The biochemical basis of cobalamin deficiency. *Moyo. Clin. Proc.* 1994; 69:181-186
- 105- Jacobsen D, Gatautis V, Green R.: Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma. Sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clin. Chem.* 1994; 40:873-881
- 106- Van der Mooren M.J., Wouters M.G., Blom H.J., Schellekens L.A., Eskes T.K., Rolland R.: Hormone replacement therapy may reduce high serum homocystein in postmenapausal women. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1994; 24:733-736
- 107- Bostom A., Lathrop L.: Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: Prevalence, etiology and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* , 1997; 52:10-20
- 108- Wilcken D.E.L., Dudman N.P.B., Tyrrel P.A., et al.: Folic acid lowers elevated plasma homocysteine in chronic renal insufficiency: possible implications for prevention of vascular disease. *Metabolism*, , 1988; 37:697-701
- 109- Dudman N., Tyrrell P., Wilcken D.: Homocysteinemia: Depressed plasma serine levels. *Metabolism* , 1987; 36:198-201

- 110- Bostom A., Shemin D., Lapane K.L., et al.: High dose B-vitamin treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Kidney Int*, 1996; 49:147-152
- 111- Mudd S.H., Skovby F., Levy H.L., Pettigrew K.D., Wilcken B., Pyeritt R.E., Boers A.G., Bromberg I.L., Cerone R.: The natural history of homocystinuria due to cystathionine betasynthase deficiency. *Am. J. Hum. Genet.*, 1985; 37:1-31
- 112- Hu F.L., Gu Z., Kozich V., Kraus J.P., Ramesh V., Shih V.E.: Molecular basis of cystathionine β -synthase deficiency in pyridoxine responsive and nonresponsive homocystinuria. *Hum. Mol. Genet.*, 1993; 2:1857-1860
- 113- Wald N.J., Watt H.C., Law M.R., Weir D.G., McPartlin J., Scott J.M.: Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch. Intern. Med.* 1998; 158: 862-7
- 114- Welch G.N., Loscalzo J.: Homocysteine and atherothrombosis. *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338:1042-50
- 115- Weir D.G., Scott J.M.: Homocysteine as a risk factor for cardiovascular and related disease: nutritional implications. *Nutr. Rev.*, 1998; 11: 311-38
- 116- Markus C. Stühlinger, Roberta K. Oka, Eric E. Graf, Isabella Schmölzer, Barbara M. Upson, Om Kapoor, Andrzej Szuba, M. Rene Malinow, Thomas C. Wascher, Otmar Pachinger and John P. Cooke Endothelial Dysfunction Induced by Hyperhomocyst(e)inemia: Role of Asymmetric Dimethylarginine Circulation ; 2003; 108:933-938
- 117- Markus C. Stühlinger, Philip S. Tsao, Jeng-Horng Her, Masumi Kimoto, Robert F. Balint, John P. Homocysteine Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway Role of Asymmetric Dimethylarginine Circulation , 2001; 104:2569-2575
- 118- Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M. et al.: Plasma homocysteine s a risk factor for vascular disease. The European concerted action project. *J. Am. Med. Assoc.*, 1997; 227: 1775-1781
- 119- Bayes B., Pastor M.C., Borel J., Junca J., Romero R.: Homocysteine and lipid peroxidation in hemodialysis: role of folic acid and vitamin E. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2001; 16: 2172-2175
- 120- Er H, Evereklioglu C, Cumurcu T, Türköz Y, Özerol E, Sahin K, Doganay S, Serum homocysteine level is increased and correlated with endothelin-1 and nitric oxide in Behçet's disease *Br J Ophthalmol*; 2002; 86:653–657
- 121- Aksu K, Turgan N, Oksel F, Keser G, Özmen D, Kitapçioğlu G, Gümüşiş G, Bayındır O, Doğanavşargil E, Hyperhomocysteinaemia in Behçet's disease *Rheumatology*; 2001; 40: 687-690
- 122- Durum SK, Openheim JJ. Proinflammatory cytokines and immunity. In: Paul WE. *Fundamental Immunology*. 3rd ed. New York Raven Press Ltd 1993; 801-835.
- 123- Kishimoto T. The biology of IL-6. *Blood* 1989; 74: 1-10.
- 124- Lau AS. Cytokines in the pathogenesis and treatment of infectious diseases. In: Aranoff SC, Hughes WT, Kohl S, Speck WT, Wald ER. *Advances in Pediatric Infectious Diseases*. Chicago: Mosby Year Book 1994; 211-231.
- 125- Alam R. Chemokines in cell movement and infammation. Rosenwasser LJ, Borish L. Cytokines in allergic inflammation. Church MK, Shute JK, Sampson AP. Mast cell-derived mediators. Hirota K,

- Adolphson CR, Gleich GC. Biology of eosinophils. In: Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, Bachner BS, Holgate ST, Simons FER. Middleton's Allergy. USA: Mosby 2003; 164-165, 138-139, 205, 314.
- 126- Castell JV, Gomez MJ. IL-6 is a major regulator of the acute phase protein synthesis in human hepatocytes. FEBS LETT 1989; 237-242.
- 127- Richards C, Gauldie J. Cytokine control of acute phase protein expression. John Libbey Euro Text. Paris 1991; 2950.
- 128- Girardin EP, Berner ME. Serum TNF in newborns at risk for infections. J Pediatr 1990; 149: 645-647.
- 129- Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M: İnterlökin-ler. T Klin Med Sci. 1998; 18: 77-81
- 130- Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG. Medical Immunology. USA: Appleton& Lange 1997; 10:162-164.
- 131- Valtonen P, Karppi J, Nyysönen K, Valkonen V, Halonen T, and Punnonen K, Comparison of HPLC method and commercial ELISA assay for asymmetric dimethylarginine (ADMA) determination in human serum Journal of Chromatography B Volume 828, Issues 1-2, 2005, Pages 97-102
- 132- Zappacosta B, Persichilli S, Minucci A, Scribano D, Antenucci M, Fasanella S, Neri P, Giardina B, De Sole P. Analytical evaluation of a new immunonephelometric method for homocysteine measurement. Clin Chim Acta. 2007 Jan;375(1-2):165-8.
- 133- Guray A, Samanci N, Ovali F, Dadoglu T, Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi T Klin Tıp Bilimleri, 1997; 17:115-119
- 134- Probst K, Fijnheer R, Rothova A, Endothelial Cell Activation and Hypercoagulability in Ocular Behçet's Disease Am J Ophthalmol; 2004; 137:850–857
- 135- Yapislar H, Aydogan S, Borlu M, Ascioğlu O, Decreased nitric oxide and increased platelet aggregation levels in patients with Behçet's disease Thrombosis Research , 2007; 119, 461—465
- 136- Şahin M, Arslan Ç, Naziroğlu M, Tunç SE, Demirci R, Sütçü S, Yılmaz N, Asymmetric dimethylarginine and Nitric Oxide Levels as a Sign of endothelial dysfunction in Behçet's Disease Ann.of Clinical & Lab. Science , 2006; vol:36, no:4 449-454
- 137- Yesilova Z, Pay S, Oktenli C, Musabak U, Saglam K, Sanisoglu Y, Dagalp K, Erbil MK, Kocar I, Hyperhomocysteinemia in patients with Behçet's disease: is it due to inflammation or therapy? Rheumatol Int , 2005; 25: 423–428
- 138- Schmitz C, Lindpainter K, Verhoef P, et al. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. Circulation 1996; 94:1812-4.
- 139- Tice JA, Ross E, Coxson PG, Rosenberg I. Costeffectiveness of vitamin therapy to lower plasma homocysteine levels for the prevention of coronary heart disease effect of grain fortification and beyond. Jama; 2001; 286(8):22-9
- 140- Fallon UB, Ben-Shlomo Y, Elwood P, et al. Homocysteine and coronary heart disease in the caerphilly cohort. Heart; ,2001; 85:153-8
- 141- Ates A, Aydintug O, Olmez U, Duzgun N, Duman M, Serum homocysteine level is higher in Behçet's disease with vascular involvement Rheumatol Int , 2005; 25: 42–44

- 142- Korkmaz C, Bozan B, Kosar M, Sahin F, Gülbas Z. Is there an associations of plasma homocysteine levels with vascular involvement in patients with Behçet's Syndrome. Clin Exp Rheumatol; 2002; 20:30-4
- 143- Kansu K, Turgan N, Oksel F, Bayındır O, Doğanaşargil E, Hyperhomosysteinemia in Behçet's Disease Reumatology ; 2001; 40,687-690
- 144- Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y, Cemken M, Serum levels of TNF-a , sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease Mediators of Inflammation · 2002;Vol 11, 87-93