

**T.C.**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ**  
**KESİN RAPORU**

Proje Başlığı: Sistemik Sklerozda Oksidatif Stresin Akciğer Tutulumu Üzerine Etkisi

Proje Yöneticisinin İsmi : Prof. Dr. Murat Turgay

Proje Yürütücüsünün İsmi: Uz. Dr. Şükran Erten

Proje Numarası: 20050809007HPD

Başlama Tarihi: Haziran 2005

Bitiş Tarihi: Mart 2006

Rapor Tarihi :2-10-2006

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Ankara - 2006

## I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri:

### Sistemik Sklerozda Oksidatif Stresin Akciğer Tutulumu Üzerine Etkisi

### (The Effect Of Oxidative Stress On Pulmonary Involvement In Systemic Sclerosis)

#### Özet

**AMAÇ:**Son 10 yıl içinde in vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda, aşırı serbest radikal üretiminin sistemik skleroz patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir.

Sistemik sklerozda gelişen pulmoner komplikasyonlar (interstisyel akciğer hastalığı ve pulmoner hipertansiyon) en başta gelen ölüm nedenidir. Fagositlerce üretilen serbest radikallerin diffüz akciğer hastalıklarında ortaya çıkan doku hasarına katkıda buldukları düşünülmektedir. Bu çalışmada sistemik sklerozda artmış oksidatif stres ile akciğer tutulumu arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır.

**YÖNTEM:** Bu çalışmaya 29 hasta ile 16 sağlıklı kontrol grubu alınmıştır. Hastaların 25'i kadın, 4'ü erkek, kontrol grubunun ise 14'ü kadın, 2'si erkekti. Hastaların tamamı American College of Rheumatology (ACR)'nin 1980 tanı kriterlerini taşıyordu. Diffüz ve sınırlı ayrımı LeRoy ve ark. göre yapıldı. Sistemik skleroz dışında diyabet, koroner arter hastalığı, orta ve ciddi hiperkolesterolemi(kolesterol>240 mg/dl) gibi ek hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Oksidan-Antioksidan enzimlerden MDA, SOD, KAT, GSH-PX, KO ve ADA enzim aktiviteleri Biyokimya Anabilim Dalında spektrofotometrik yöntemlerle yapıldı. Serum IgA, IgG ve IgM, C3, C4 ve CRP düzeyleri nefelometrik yöntemle, antinükleer antikor indirekt immünfloresans yöntemiyle, anti Scl 70 ve anti sentromer antikorları immunoblot yöntemiyle, anti-ENA antikor tarama EIA yöntemiyle, Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı Laboratuvarında çalışılmıştır.

**BULGULAR:** Hastaların yaş ortalaması 51.86±12.19, kontrol grubunun yaş ortalaması 55.06±12.19, birbirine benzerdi (p>0.05). Cinsiyetlere baktığımızda sistemik sklerozlu hastaların 25'i kadın (%86.2), 4'ü erkek (%23.8) iken kontrol grubundaki bireylerin 14'ü kadın (%87.5), 2'si erkek (%12.5), birbirine benzerdi (p>0.05). Hastaların ortalama hastalık süresi 10±8.06 yıl, toplam 29 hastanın 12'si (%41.6) sınırlı tutulumlu, 17'si (%58.6) diffüz tutulumlu idi.

Hastaların 6'sında akciğer tutulumu yok iken, 14 hastada hafif ya da orta derecede, 9 hastada ise ileri derecede akciğer tutulumu mevcuttu. Hastalarla kontrol grubu karşılaştırıldığında plazma MDA düzeyleri hastalarda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü (p<0.05).

Eritrosit içi MDA düzeyleri ise hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldi( $p<0.05$ ).

Akciğer tutulumuna göre hastalar sınıflandırıldığında, ağır-son dönem hastaların eritrosit içi ksantin oksidaz düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı olarak yükseldi( $p<0.05$ ). Hastalar LeRoy'a göre sınıflandırıldıklarında (85) sınırlı erken hastalıkta eritrosit içi SOD değeri diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşüktü ( $p<0.05$ ). Yine Plazma MDA değeri sınırlı erken ve diffüz erken hastalıkta diğer gruplara göre anlamlı olarak yükseldi ( $p<0.05$ ). Akciğer parankim tutulumuna göre hastalar sınıflandırıldıklarında son evre hastalıkta plazma ksantin oksidaz değeri diğer gruplara göre daha düşüktü ( $p=0.05$ ). Hastalık süresi ile plazma MDA, GSH-PX ve eADA düzeyleri arasında negatif korelasyon, plazma ADA düzeyi ile ise pozitif korelasyon mevcuttu.

**SONUÇLAR:** Sistemik sklerozda oksidatif stresin hastalık patogenezinde rol oynamasının yanı sıra organ tutulumlarında, özellikle akciğer tutulumunun gelişmesinde rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Sistemik skleroz, oksidatif stress, antioksidan, akciğer tutulumu

#### Summary

**Aim:**In last ten years by in vivo and in vitro studies it was shown that excess free radical production plays a role in pathophysiology of SSc. Pulmonary complications(interstitial lung disease and pulmonary hypertension) that develop during the course of SSc are major cause of mortality. Free radicals produced by phagocytes are thought to contribute tissue damage occurring in diffuse lung diseases. In this study we analysed if there is a relationship between oxidative stress and pulmonary involvement in SSc.

**Method:**29 patients and 16 healthy volunteers included into the study. 25 of the patients were female and 4 were male, in control group there were 14 female and 2 male patients. All patients fulfilled the American College of Rheumatology criteria for the diagnosis of SSc. The distinction between limited cutaneous SSc and diffuse cutaneous SSc was made according to the criteria of LeRoy et al . Exclusion criteria comprised cigarette smoking, diabetes and moderate to severe hypercholesterolemia(cholesterol level>240 mg/dl)

Oxidant-antioxidant enzymes MDA, SOD, CAT, GSH-PX, XO and ADA enzyme activities were measured by spectrophotometric methods in Biochemistry Department. Serum Ig A, IgG, IgM, C3, C4, and CRP levels were measured by nephelometric methods, ANA by IIF, anti Scl-70 and anticentromer

antibodies by immunoblot method, and ENA by EIA method in Clinical Immunology and Rheumatology Laboratory.

Results: Patients and control group were similar mean age ( $51.86 \pm 12.19$  vs.  $55.06 \pm 12.19$ ). Mean disease duration was  $10 \pm 8$  years, 12 of 29 patients had limited form of the disease and 17 patients had diffuse form of the disease. 6 of 29 patients had no pulmonary involvement, 14 had mild to moderate and 9 had severe lung involvement. Compared to control group plasma MDA levels of patients were lower and intraerythrocyte MDA levels were higher and this was statistically significant ( $p < 0.05$ ). When the patients were classified according to the degree of lung involvement (Medsger classification), severe-end stage group had higher intraerythrocyte XO activity. When the patients were classified according to LeRoy in limited early disease intraerythrocyte SOD level was significantly lower than the other groups. Plasma MDA level significantly higher in limited and diffuse early disease. When the patients were classified according to parenchymal involvement in end stage disease plasma xanthin oxidase level was significantly lower ( $p = 0.05$ ).

Plasma MDA, GSH-PX and intraerythrocyte ADA levels were negatively, plasma ADA levels were positively correlated with disease duration.

Conclusion: Besides the role in the pathogenesis of systemic sclerosis, oxidative stress may also play some role in the organ involvement especially of lung.

## II. Amaç ve Kapsam

Sistemik Sklerozis (SSc, skleroderma) derinin kalınlaşması ve fibrozisi ile kalp, akciğer, böbrekler ve gastrointestinal sistem gibi iç organların tutulumu ile giden bir bağ dokusu hastalığıdır(1). Mikrovasküler endotel hasarı, vasodilatör yanıtın yetersizliği ile giden vasospastik eğilim ve koagülatif/fibrinolitik sistemin bozulması ve de mikrodamarlarda tıkanıklığa neden olan intimal hücre proliferasyonu gibi damarsal değişiklikler sistemik sklerozun erken döneminde ortaya çıkan primer olaylardır(2). Vasküler sistemin modifikasyonu vasküler tonüsün kontrolünün bozulmasına (Raynaud Fenomeni, RF) neden olur(3). Hastalığın erken döneminde endotel hücre hasarı olduğu plazma von Willebrand faktör antijeninin plazma düzeyindeki yükselmeyle gösterilmiştir(4). İnflamasyona ve endotelin bozulmasına ve sonuçta hastalığın ilerlemesine neden olan faktörlerden biri serbest oksijen radikallerinin (SOR) ve reaktif nitrojen türevlerinin (RNT) endotel üzerinde yarattığı strestir. SOR ve RNT'nin oluşumunda inflamasyonun yanında ataklar halinde gelen reperfüzyon hasarı da rol oynar(5). Oksidatif stress inflamatuvar artritte eklem içindeki artmış basıncın hipoksiye neden olması gibi iskemi ile giden pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynar(6,7). Oksidatif stress bir ya da daha fazla

çiftlenmemiş elektron içeren serbest radikallerden kaynaklanmaktadır. Serbest radikaller fizyolojik koşullarda vücutta devamlı üretilmektedir ancak normal şartlarda etkileri antioksidanlarla baskılanmaktadır(8). Son 10 yıl içinde in vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda, aşırı serbest radikal üretiminin sistemik skleroz patofizyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir(9-19).

Sistemik sklerozda gelişen pulmoner komplikasyonlar (interstisyel akciğer hastalığı ve pulmoner hipertansiyon) en başta gelen ölüm nedenidir. Fagositlerce üretilen serbest radikallerin diffüz akciğer hastalıklarında ortaya çıkan doku hasarına katkıda buldukları düşünülmektedir(20). Son zamanlarda oksidatif stresin direkt olarak intraselüler redoks dengesini bozarak ya da indirekt olarak redoks-duyarlı efektör yolakları uyararak alveoler epitel hücrelerinde hasar, aktivasyon ve/veya alveoler epitel hücre apoptozuna neden oldukları gösterilmiştir(21). Sistemik skleroza bağlı fibrozan alveolit ve kriptojen fibrozan alveolitli hastaların bronkoalveoler lavaj sıvılarında F2 izoprostanların düzeylerinin arttığı gösterilmiştir; bu da sistemik skleroza bağlı akciğer hastalığında da oksidatif stresin rol oynayabileceğini gösterir(22). Bu çalışmada sistemik sklerozda artmış oksidatif stres ile akciğer tutulumu arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Bu ilişki gösterilirse hastalığın mortalitesinde önemli yeri olan pulmoner tutulumun tedavisinde yeni ufuklar açılacaktır.

### **III. Materyal ve Yöntem**

Bu çalışmaya Haziran 2005 ile Mart 2006 tarihleri arasında sistemik skleroz tanısı ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı'na başvuran 29 hasta ile 16 sağlıklı kontrol grubu alınmıştır. Hastaların 25'i kadın, 4'ü erkek, kontrol grubunun ise 14'ü kadın, 2'si erkekti. Hastaların tamamı American College of Rheumatology (ACR)'nin 1980 tanı kriterlerini(23) taşıyordu. Diffüz ve sınırlı ayrımı LeRoy ve ark. göre yapıldı(24). Sistemik skleroz dışında diyabet, koroner arter hastalığı, hiperkolesterolemi gibi ek hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastalar vazodilatatörler, siklofosfamid, düşük doz prednizolon, asetil salisilik asit, proton pompa inhibitörü, d-penisilamin, kolşisin gibi ilaçlar kullanmaktaydılar.

Hastaların yazılı onayları alındıktan sonra fizik muayenesi yapıp tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, vitamin B12, folik asit düzeyleri, antinükleer antikor, anti-Scl 70, anti-sentromer antikor, anti-ENA, kantitatif immünglobülinler, serum kompleman düzeyleri (C3, C4), homosistein ve antioksidan enzimler için kanları alındı.

Serum IgA, IgG ve IgM, C3, C4 ve CRP düzeyleri nefelometrik yöntemle (BN-2 Nephelometry, Dade Behring, Marlburg/Almanya) antinükleer antikor indirekt immünfloresans

yöntemiyle (Astra s.r.l. ANA kit (Hep-2 cells), Milano, İtalya), anti Scl 70 ve anti sentromer antikoları immunoblot yöntemiyle (IMTEC ANA Blot kit, Berlin, Almanya), anti-ENA antikor tarama EİA yöntemiyle (IMTEC ENA screen, Berlin, Almanya), Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı Laboratuvarında çalışılmıştır.

Ayrıca hastaların tümüne postero-anterior akciğer grafisi, elektrokardiogram(EKG),solunum fonksiyon testleri ile karbonmonoksit difüzyon testi (DLCO), yüksek rezolüsyonlu akciğer tomografisi ve doppler ekokardiyografi yapıldı. Hastaların pulmoner tutulumu Medsger ve ark. sınıflamasına göre(25) yapıldı.

Antioksidan enzimlerden malon dialdehit, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri Biyokimya Anabilim Dalında spektrofotometrik yöntemlerle yapıldı. Hasta ve kontrol grubundan EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden plazma ve eritrosit hemolizatları elde edildi(26). Eritrosit hemolizatlarında malondialdehit düzeyleri ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri, plazmalarda da malondialdehit düzeyleri ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ölçüldü. Sonuçlar ml eritrosit sedimenti ve ml plazma başına verildi.

#### **Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçüm Yöntemi:**

Malondialdehit ölçümünde kullanılan Dahle'nin spektrofotometrik yönteminin temeli MDA ile tiyobarbiturik asitin (TBA) oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesine dayanır (27).

MDA'nın hesaplanmasında MDA standardının verdiği absorbanstan yararlanıldı. Bu amaçla tetraetoksipropan (MA: 220,3; d=0,92; % 96) MDA standardı olarak kullanıldı. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapıldı.

$$\text{MDA düzeyi (nmol/ml)} = \Delta\text{OD(Nm)} \times 80,65 \times \text{Seyreltme faktörü}$$

#### **Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:**

Bu yöntemin temeli ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan süperoksit radikalının SOD enziminin ortadan kaldırılamadığında reaksiyon ortamında bulunan *nitroblue tetrazolium* (NBT) bileşiğinin indirgenmesi esasına dayanır (28). İndirgenmiş NBT 560 nm dalga boyunda en iyi absorbans veren menekşe rengi oluşumuna neden olur. Eğer ortamda SOD aktivitesi varsa bu rengin oluşumunu önleyecektir. Buna göre SOD enzim aktivitesi (1 U), NBT'nin indirgenmesini % 50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

### **Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:**

Bu yöntem hidrojen peroksitin 240 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerinin KAT enziminin katalizlediği reaksiyon sırasında azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır(29). Absorbanstaki dakikalık düşme hızı enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır.

### **Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:**

Bu yöntem GSH (indirgenmiş glutasyon) ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in GSH-Px enziminin etkisiyle su ve GSSG'e (yükseltgenmiş glutasyon) dönüşümünü izleyen basamakta GSH redüktaz enziminin NADPH oksidasyonunu, oluşan GSSG miktarına bağlı olarak gerçekleştirmesi temeline dayanır(30). Bu reaksiyonda GSSG ürünü oluştuğunda NADPH yükseltgenerek NADP'ye dönüşecektir. Spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda NADPH absorbansının düşmesinin izlenmesiyle GSH-Px aktivitesi belirlenir.

### **Ksantin Oksidaz (KO) Aktivitesi Ölçüm Yöntemi:**

Bu yöntemin ilkesi ksantinden ürik asit oluşumunun 293 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesidir (31). Oluşan ürik asitin absorbansı KO aktivitesiyle doğru orantılıdır.

### **Adenozin Deaminaz Ölçüm Yöntemi:**

Adenozin deaminaz(ADA) spesifik olarak adenozin ve çeşitli adenin nükleosid analoglarıyla reaksiyona girer. Reaksiyon dengesi sağa doğrudur. Amonyak miktarı Bertholet reaksiyonunun Chaney ve Marbach modifikasyonu ile belirlenir. Alkalin solüsyonda amonyak sodyum hipoklorür ve fenol ile mavi renkte indofenöl oluşturur. Burada katalizör sodyum nitropruzittir. Amonyak konsantrasyonu indofenölün tükenmesine paraleldir. ADA tarafından katalizlenen reaksiyon inkübasyon dönemi sonunda eklenen fenol nitropruzid solüsyonu ile sona erer(32).

### **İstatistik:**

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri SPSS for windows 11.5 paket programında yapılmıştır. Değerlendirmelerde iki grubun ölçümle belirtilen parametrelerinin karşılaştırmasında parametrik varsayım sağlandığında Student's t testi, sağlanmadığında Mann-Whitney U testi, hastalık şiddetine göre değerlendirmelerde parametrik varsayımlar sağlandığında Tek Yönlü Varyans Analizi, sağlanmadığında Kruskal Wallis Varyans Analizi, sayımla belirtilen parametrelerin

karşılaştırmalarında Ki-Kare ve Fisher-Exact testi kullanılmıştır. Değişkenler arası ilişkilerin analizinde Spearman Rank Korelasyon Analizi kullanılmıştır.

Tanımlayıcı değerler olarak ölçümle belirtilen parametreler için Ort  $\pm$ SD, sayımla belirtilen parametreler için frekans ve yüzdeler şeklinde verilmiştir.

En küçük anlamlılık sınırı 0,05 olarak kabul edilmiştir

#### **IV. Analiz ve Bulgular**

Hastaların yaş ortalaması 51.86 $\pm$ 12.19, kontrol grubunun yaş ortalaması 55.06 $\pm$ 12.19, birbirine benzerdi ( $p>0.05$ ). Cinsiyetlere baktığımızda sistemik sklerozlu hastaların 25'i kadın (%86.2), 4'ü erkek (%23.8) iken kontrol grubundaki bireylerin 14'ü kadın (%87.5), 2'si erkek (%12.5), birbirine benzerdi ( $p>0.05$ ). Hastaların ortalama hastalık süresi 10 $\pm$ 8.06 yıl, toplam 19 hastanın 12'si (%41.6) sınırlı tutulumlu, 17'si (%58.6) diffüz tutulumlu idi. Hastaların ortalama hastalık süresi 10.28 $\pm$ 8.06 yıldır.

Hastaların 6'sında akciğer tutulumu yok iken, 14 hastada hafif ya da orta derecede, 9 hastada ise ileri derecede akciğer tutulumu mevcuttu.

29 hastanın 26'sında (%89.7) ANA pozitif, 14'ünde (%48.3) ENA pozitif, 16'sında (%55.2) Scl 70 pozitif, 5'inde (%17.2) antisentromer antikor pozitif idi.

Sınırlı tutulumlu hastaların 12'sinde (%100), diffüz tutulumlu hastaların 14'ünde (%82.4) ANA pozitif idi. Sınırlı tutulumlu hastaların 6'sında (%50) ENA, diffüz tutulumlu hastaların 8'inde (%47.1) ENA pozitif idi. Sınırlı tutulumlu hastaların 5'inde (%45.5), diffüz tutulumlu hastaların 11'inde (%64.7) Scl-70 antikor pozitif idi. Sınırlı tutulumlu hastaların %5'inde (%45.5) antisentromer antikor pozitifken diffüz tutulumlu hastaların hiçbirinde antisentromer antikor pozitifliği yoktu.

Hastalarla kontrol grubu karşılaştırıldığında plazma MDA düzeyleri hastalarda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ( $p<0.05$ ). Eritrosit içi MDA düzeyleri ise hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti.

Diffüz ve sınırlı tutulumlu hastalar karşılaştırıldığında oksidan ve antioksidan enzimlerden plazma malondialdehid (MDA), Glutathione peroksidaz (GSH-PX) Adenozin deaminaz, Ksantin oksidaz ile eritrosit içi MDA, Katalaz (CAT), GSH-PX, Superoksit Dismutaz (SOD-PX), Adenozin Deaminaz ve Ksantin oksidaz düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu.

Akciğer tutulumuna göre hastalar sınıflandırıldığında, ağır-son dönem hastaların eritrosit içi



ksantin oksidaz düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksekti. Tüm gruplarda plazma homosistein düzeyi ile plazma ve eritrositlerdeki diğer oksidan-antioksidan enzim düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu .

Ağır akciğer tutulumu olan hastaların eritrosit sedimentasyon hızı ile C reaktif protein değerleri diğer gruplara göre yüksek bulundu. Akciğer tutulumu olmayan hastaların hematokrit değerleri tutulum olanlara göre anlamlı olarak düşüktü ( $p<0.05$ ). Akciğer tutulumu olmayan hastaların plazma IgM düzeyleri tutulum olanlara göre anlamlı derecede düşüktü ( $p<0.05$ ).

Hastalar sınırlı hastalık için 5 yıldan önce erken hastalık ve 5 yıldan sonra geç hastalık, diffüz tutulum için 3 yıldan önce erken hastalık ve 3 yıldan sonra geç hastalık olarak sınıflandırıldıklarında sınırlı erken hastalıkta eritrosit içi SOD değeri diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşüktü ( $p<0.05$ ). Yine Plazma MDA değeri sınırlı erken ve diffüz erken hastalıkta diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksekti ( $p<0.05$ ). Yine istatistiksel anlama ulaşmamakla beraber sınırlı erken hastalıkta eritrosit içi ADA düzeyi diğer gruplara göre belirgin olarak daha yüksekti.

Akciğer parankim tutulumuna göre hastalar parankim tutulumu yok, aktif fibrozis ve son dönem bal peteği görünümü şeklinde sınıflandırıldıklarında son evre hastalıkta plazma ksantin oksidaz değeri diğer gruplara göre daha düşüktü ( $p=0.05$ ). Son dönem akciğer bal peteği görünümü olan hastaların serum Ig A düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0.022$ ).

Spearman Rank korelasyon analizi yapıldığında hastalık süresi ile plazma MDA düzeyleri arasında negatif korelasyon mevcuttur ( $r = -0.379$ ,  $p=0.04$ ). Yani hastalık süresi arttıkça plazma MDA düzeyi azalmaktadır. Plazma ADA düzeyi ise hastalık süresi ile doğru orantılı bulunmuştur ( $r=0.434$ ,  $p=0.02$ ). Yani hastalık süresi arttıkça serum ADA düzeyi de artmaktadır.

Yine plazma glutatione peroksidaz ve eritrosit içi ADA düzeyleri de hastalık süresiyle ters orantılıdır ( $r=0.356$ ,  $p=0.05$  ve  $r=-0.357$ ,  $p=0.05$ ).

Beklendiği şekilde plazma homosistein düzeyi ile plazma vitamin B12 ve folik asit düzeyleri ters orantılı bulunmuştur ( $r= -0.431$ ,  $p=0.045$  ve  $r=-0.684$ ,  $p<0.01$ ). Yani vitamin B12 ve folik asit düzeyleri düştükçe plazma homosistein düzeyi yükselmektedir. Ancak vitamin B12 ve folik asit düzeyleri birbiriyle pozitif korelasyon göstermişlerdir ( $r=0.566$ ,  $p=0.005$ ).

FVC ile DLCO arasında da pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür ( $r =0.453$ ,  $p=0.02$ ).

Pulmoner basınç ile eritrosit içi MDA düzeyleri arasında korelasyon vardır ( $r=0.406$ ,  $p=0.049$ ).

Pulmoner basıç arttıkça eritrosit içi MDA düzeyleri artmaktadır.

FVC ile plazma ksantin oksidaz düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardır ( $r=0.392$ ,  $p=0.04$ ).

#### **IV. Sonuç ve Öneriler**

Sistemik sklerozda oksidatif stresin akciğer tutulumu üzerine etkisini araştırıldığı bu çalışmada:

Plazma MDA düzeylerinin SSc'li hastalarda düşük, eritrosit içi MDA düzeylerinin ise yüksek olması hastalık patogenezinde oksidatif stresin eritrosit içi yolla etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Akciğer tutulumuna göre hastalar sınıflandırıldığında, ağır-son dönem hastaların eritrosit içi ksantin oksidaz düzeylerinin yüksek olması organ tutulumlarının ortaya çıkmasında oksidatif stresin etkili olabileceğini gösterir.

Hastalar sınırlı hastalık için 5 yıldan önce erken hastalık ve 5 yıldan sonra geç hastalık, diffüz tutulum için 3 yıldan önce erken hastalık ve 3 yıldan sonra geç hastalık olarak sınıflandırıldıklarında sınırlı erken hastalıkta eritrosit içi SOD değerinin düşük, plazma MDA değerinin sınırlı erken ve diffüz erken hastalıkta yüksek olduğu

Akciğer parankim tutulumuna göre hastalar parankim tutulumu yok, aktif fibrozis ve son dönem bal peteği görünümü şeklinde sınıflandırıldıklarında son evre hastalıkta plazma ksantin oksidaz değeri diğer gruplara göre daha düşük olduğu

Hastalık süresi ile plazma MDA, glutatione peroksidaz ve eritrosit içi ADA düzeyleri arasında negatif korelasyon olduğu, plazma ADA düzeyinin ise hastalık süresi ile doğru orantılı olduğu

FVC ile DLCO arasında da pozitif bir korelasyon olduğu

Pulmoner basınç ile eritrosit içi MDA düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu

FVC ile plazma ksantin oksidaz düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur.

## **VI.Kaynaklar**

1. Seilbold JR. Scleroderma and mixed connective tissue diseases:In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, eds. Kelley's Textbook of Rheumatology. W.B. Saunders Company. Philadelphia 2001:1211.
2. Matucci Cerinic M, Kahaleh BM, LeRoy EC, 1996.The vascular involvement in systemic sclerosis. In:Clements PJ, Furst DE (Ed.). Systemic Sclerosis. Baltimore, pp.153-174.
3. Herrick AL, Matucci Cerinic M. The emerging problem of oxidative stress and the role of antioxidants in systemic sclerosis. Clinical and Experimental Rheumatology 2001;19:4-8.
4. Marasini M, Cugno M, Bassani C, Stanzoni M, Bottasso B, Agostoni A. Tissue-type plasminogen activator and Von Willebrand Factor plazma levels as marker of endothelial involvement in patients with Raynaud's phenomenon. Int Microcirc Clin Exp1992;11:375-82.
5. Murrel DF. A radical proposal for the pathogenesis of scleroderma. J. Am Acad Dermatol 1993;28:78-85.
6. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. Lancet 1985;312:159-63.
7. Blake DR, Merry P, Unsworth J. Hypoxic-reperfusion injury in the inflamed knee joint. Lancet 1989;1:289-93.
8. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease. Curiosity, cause, or consequence? Lancet 1989;1:289-93.
9. Lau CS, O'Dowd A, Belch JJ. White blood cell activation in Raynaud's phenomenon of systemic sclerosis and vibration white finger. Ann Rheum Dis 1992;51:249-52.
10. Lau CS, Bridges AB, Muir A, Scott N, Bancroft A, Belch JJ. Further evidence of increased polymorphonuclear cell activity in patients with Raynaud's phenomenon. Br J Rheumatol 1992;31:375-80.
11. Sambo P, Jannino L, Candela M. Monocytes of patients with systemic sclerosis (scleroderma) spontaneously release in vitro increased amounts of superoxide anion. J Invest Dermatol 1999;112:78-84.
12. Morita A, Minami H, Sakakiba N, Sato K, Tsuji T. Elevated plasma superoxide dismutase activity in patients with systemic sclerosis. J Dermatol Sci 1996;11:196-201.
13. Cotton SA, Emerit I. Endothelial expression of nitric oxide synthases and nitrotyrosine in

systemic sclerosis skin. *J Pathol* 1999; 189:273-8.

14. Emerit I, Filipe P, Meunier P, Auclair C, Freitas J, Deroussent A, Gouyette A, Fernandes A. Clastogenic activity in plasma of scleroderma patients: a biomarker of oxidative stress. *Dermatology* 1997;194:140-6.
15. Solans R, Motta C, Sola R. Abnormalities of erythrocyte membrane fluidity, lipid composition, and lipid peroxidation in systemic sclerosis:evidence of free radical mediated-injury. *Arthritis Rheum* 2000;43:894-900.
16. Casciola-Rosen L, Wigley F, Rosen A. Scleroderma autoantigens are uniquely fragmented by metal-catalysed oxidation reactions:implications for pathogenesis. *J Exp Med* 1997;185:71-9.
17. Stein CM, Tanner SB, Award JA. Evidence of free radical mediated injury (isoprostane overproduction) in scleroderma. *Arthritis Rheum* 1996;39:1146-50.
18. Cracowski JL, Marpeau C, Carpentier PH. Enhanced in vivo lipid peroxidation in scleroderma spectrum disorders. *Arthritis Rheum* 2001;44:1143-8.
19. Cracowski JL, Carpentier Ph, Imbert B. Increased urinary F2-isoprostanes in systemic sclerosis, but not in primary Raynaud's Phenomenon. *Arthritis Rheum* 2002;46:1319-23.
20. Rottoli P, Magi B, Cianti R, Bargagli E, Vagaggini C, Nikiforakis N, Pallini V, Bini L. Carbonylated proteins in bronchoalveolar lavage of patients with sarcoidosis, pulmonary fibrosis associated with systemic sclerosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Proteomics* 2005;5:2612-18.
21. Lau AT, He QY, Chiu JF. *Biochem. J.* 2004; 382:641-50.
22. Montuschi P, Ciabattini G, Paredi P. 8-isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am J Resp Crit Care Med* 1998;158:1524-7.
23. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis(scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980;23:581-90.
24. LeRoy EC, Black CM, Fleischmajer R. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1998;15:202-5.
25. Medsger TA Jr, Steen VD: Classification, prognosis. In systemic sclerosis. Edited by: Clements PJ, Furst DE. Baltimore, MD: Williams and Wilkins 1996,51-79.
26. DaBeutler E. Glucose 6-phosphate dehydrogenase. In: Beutler E, editor. *Red Cell Metabolism: A Manual Biochemical Procedure*. New York: Grune & Stratton; 1975. p. 66–69.
27. Dahle LK, Hill EG, Holman RT. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch Biochem Biophys* 1962; 98: 253-261.

28. Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Ozturk HS, Yurtarslani Z. Activities of total, cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. J Clin Lab Anal 1996; 10: 17-20.
29. Aebi H. Catalase. In: Bergmayer HU, ed. Methods of Enzymatic Analysis. New York and London: Academic Press Inc., 1974: 673-677.
30. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med 1967; 70: 158-169.
31. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. Anal Biochem 1974; 62: 425-435.
32. Guisti G. Enzyme activities. In: Bergmeyer UH, ed. Methods of enzymatic analysis. Weinheim Bergest: Verlag Chemie. 1974; 1087-91.

## **VII. Ekler**

### a) Mali Bilanço ve Açıklamaları

Sistemik sklerozda oksidatif stresin akciğer tutulumu üzerine etkisi konulu proje önerisi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonununun 27/4/2005 tarih ve 4 sayılı toplantısında görüşülerek 4.952 YTL. Bütçe ile kabul edilmiştir.

### b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar (BAP Demirbaş numaraları dahil )

### c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)

### d) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) ektedir.

### e) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler .

Proje henüz yayın haline getirilmemiştir.

