

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

**ROMATOİD ARTRİTTE TRİPTOFAN YIKIMI VE
İMMÜN AKTİVİTE İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Güray METE

Tez Danışmanı
Doç.Dr. Yeşim ÖZKAN

ANKARA
Ağustos-2009

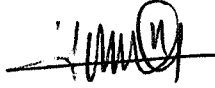
**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Biyokimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 15/09/2009



**İmza
Prof. Dr. Bolkan ŞİMŞEK
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**



**İmza
Doç. Dr. Yeşim ÖZKAN
Gazi Üniversitesi**



**İmza
Doç. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller ve Grafikler	III
Tablolar.....	IV
Kısaltmalar	V
Önsöz.....	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Romatoid Artrit.....	4
2.1.1. RA Tanı Kriterleri.....	4
2.1.2. Epidemiyoloji.....	6
2.1.3. Etiyolojisi.....	6
2.1.3.1. Genetik Faktörler.....	6
2.1.3.2. Enfeksiyöz Ajanlar.....	8
2.1.3.3. Yaş ve Cinsiyet.....	8
2.1.3.4. Sigara Kullanımı.....	9
2.1.4. Patolojisi.....	9
2.1.5. Romatoid Artritte Klinik Değerlendirme.....	14
2.1.6. Tedavi.....	15
2.2. Triptofan Metabolizması.....	18
2.2.1. Triptofan Metabolizmasında Oksidayon (Kinürenin) Yolu.....	19
2.2.1.1. Kinürenin/Triptofan Oranının Klinik Önemi.....	23
2.2.2. Triptofan Metabolizmasında Hidroksilasyon (Serotonin) Yolu.....	24
2.3. Neopterin Metabolizması.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	28
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	28
3.3. Çalışmaya Katılan Hasta ve Kontrol Gruplarının Özellikleri.....	29

3.3.1. Hasta Grubu.....	29
3.3.2. Kontrol Grubu.....	29
3.4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması.....	29
3.5. Kinürenin Tayini.....	30
3.5.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması.....	30
3.5.2. Standart Örneklerinin Hazırlanması.....	31
3.6. Triptofan Tayini.....	34
3.6.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması.....	34
3.6.2. Standart Örneklerinin Hazırlanması.....	34
3.7. TNF- α Tayini.....	37
3.8. Serum Neopterin Tayini.....	38
3.9. Diğer Parametrelerin Tayini.....	39
3.10 İstatistiksel Değerlendirme.....	39
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	47
6. ÖZET.....	56
7. SUMMARY.....	58
8. KAYNAKLAR.....	60
9. ETİK KURUL KARARI.....	72
10. ÖZGEÇMİŞ.....	73

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER

Şekil No :

Sayfa No:

Şekil 1. Romatoid Artrit Gelişiminde Rol Oynayan Olası Mekanizmalar.....	12
Şekil 2. TNF- α 'nın Romatoid Artrit Patojenezindeki Rolü.....	14
Şekil 3. Triptofan Amino Asidinin Yapısı.....	18
Şekil 4. Triptofanın Metabolik Yolakları.....	19
Şekil 5. Triptofan Metabolizmasının Oksidasyon (Kinürenin) Yolu.....	20
Şekil 6. Triptofan Metabolizmasının Hidroksilasyon (Serotonin) Yolu.....	24
Şekil 7. Neopterinin Yapısı.....	25
Şekil 8. Neopterinin Sentezi.....	26
Şekil 9. Serum ve İnternal Standarta Ait Kromatogram.....	32
Şekil 10. Kinürenin Standartına ve İnternal Standarta Ait Kromatogram.....	32
Şekil 11. Kinürenin Standart Kalibrasyon Grafiği.....	33
Şekil 12. Serum Örneğine Ait Kromatogram.....	35
Şekil 13. Triptofan Standartına Ait Kromatogram.....	35
Şekil 14. Triptofan Standart Kalibrasyon Grafiği.....	36
Şekil 15. TNF-Alfa Standart Kalibrasyon Grafiği.....	37
Şekil 16. Neopterin Standart Kalibrasyon Grafiği.....	38

TABLÖLAR

Tablo No :

Sayfa No:

Tablo 1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri ve Rutin Klinik Verileri.....	30
Tablo 2. Kinürenin Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen Pik Alanları.....	33
Tablo 3. Triptofan Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen Pik Alanları.....	36
Tablo 4. TNF- α Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen Absorbans Değerleri.....	37
Tablo 5. Neopterin Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen % Bağlanma Değerleri.....	38
Tablo 6. Hasta ve Kontrol Gruplarında Ölçülen Parametrelerin Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması.....	41
Tablo 7. Romatoid Artritli Hastalarda Parametreler Arasındaki Korelasyonlar.....	41
Tablo 8. Hasta ve Kontrol Gruplarında Parametrelerin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması.....	42
Tablo 9. Hasta Grubunda Kadın ve Erkeklerde Parametrelerin Korelasyonları.....	43
Tablo 10. Kontrol Grubunda Kadın ve Erkeklerde Parametrelerin Korelasyonları.....	44
Tablo 11. Hasta Grubunda Parametrelerin Hastalık Süresine Göre Karşılaştırılması.....	44
Tablo 12. Hasta Grubunda Hastalık Süresine Göre Parametrelerin Korelasyonları.....	45
Tablo 13. Hasta Grubunda Parametrelerin İlaç Kullanımına Göre Karşılaştırılması.....	45
Tablo 14. Hasta Grubunda Metotreksat Kullananlarda Parametrelerin Korelasyonları.....	46

KISALTMALAR

RA	: Romatoid Artrit
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
TDO	: Triptofan-2,3- Dioksijenaz
IDO	: İndolamin-2,3-Dioksijenaz
IFN-γ	: İnterferon-Gama
GTP	: Guanozin Trifosfat
H₄B	: Tetrahidrobiopterin
Kyn/trp	: Kinürenin/Triptofan
ARA	: Amerikan Romatizma Birliği
PIP	: Proksimal İnterfalangeal
MCP	: Metakarpofalangeal
MTP	: Metatarsofalangeal
RF	: Romatoid Faktör
MHC	: Major Histokompatibilite Kompleksi
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
NO	: Nitrik oksit
İNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
ODF	: Osteoklast Farklılaşma Faktörü
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
GM-CSF	: Granülosit-Makrofaj Stimüle Edici Faktör
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
ESH	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
CRP	: C-Reaktif Protein
NSAİİ	: Non-Steroidaİ Anti İnfiamatuvar İlaçlar
DMARD	: Hastalık Modifiye Edici İlaçlar
CTLA-4	: Sitotoksik T Lenfositle İlişkili Antijen-4

AADC : Aromatik L-Aminoasit Dekarboksilaz Enzimi
HPLC : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
TCA : Triklor Asetik Asit

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimi aldığım Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nın, başta Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Bolkan ŞİMŞEK olmak üzere tüm değerli Öğretim Üyelerine ve Araştırma Görevlisi Emel ÇALIŞKAN CAN 'a bilgi, birikim ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemedikleri için teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Bunun yanı sıra Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgisi, desteği, sabrı ve güveni ile her zaman yanımda olan ve kendisinden çok şey öğrendiğim değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Yeşim ÖZKAN 'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu çalışmamda da bana olan destekleri ve güvenleri ile güç kaynağım olan aileme teşekkür ederim.

Güray METE

Ağustos, 2009

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid artrit (RA); kronik, otoimmün bir hastalık olup inflamatuvar artritlerin en sık rastlanılan şeklidir. Dünya genelinde prevalansı %1 civarında olup yapılan epidemiyolojik çalışmalar prevalansın Avruapanın İskandinav bölgesinde Akdeniz bölgesindeki ülkelere kıyasla daha yüksek olduğunu, en yüksek oranda Kuzey Amerika'da görülürken, Afrika ve Asya'da kentli popülasyonda prevalansın kırsal bölgedekilere kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur^{1,2}. Kadınlarda erkeklerden daha yüksek oranda gözlenen RA'in başlangıç yaşı, çocukluktan 90'lı yaşlara kadar değişkenlik gösterirken sıklıkla 35-50 yaş aralığında görülmekte ve görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır³.

RA, hafiften şiddetliye doğru farklı klinik görünüm sergileyen oldukça heterojen bir hastalıktır. Hastalık, bazılarında sınırlı ve hafif artrit olarak seyrederken bazılarında belirgin inflamasyon, eklem yıkılımı ve şiddetli aktivite kaybı gözlenmektedir. Hastaların bir kısmı güçlü ilaçlara cevap verirken bir kısmında tedaviye etkin bir yanıt alınamaz ve bazı hastalarda zor tedavi edilebilen enfeksiyon ve maligniteler izlenirken, bir kısmında bu komorbidite faktörleri çok az gözlenmektedir⁴.

Çoğu zaman sinsi seyreden RA'de kesin bir tanı konması aylarca sürebilmektedir. RA başlangıcında, hastaların 1/3'ü sınırlı semptomlar göstermekle birlikte çoğunluğunda, genellikle çoklu eklem ağrısı ve sertliği gözlenmektedir. Hastalık süreci; kısa, oligoartiküler minimal eklem hasarlı hastalıktan kronik, poliaritiküler, kartilaj yıkımı ve kemik erozyonuyla sonuçlanan sinovyal inflamasyona kadar değişebilmektedir³. Mortalite oranı, kardiyovasküler, ürogenital, solunum sistemi hastalıkları ve kanser gibi ekstra artiküler hastalıkların daha sık görülmesi nedeniyle RA'li hastalarda yüksektir^{5,6}.

Etiyolojisi tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte RA'de genetik ve genetik olmayan faktörlerin etkileşiminin, otoimmün mekanizmaları başlattığı düşünülmektedir. Hücresel düzeyde RA, eklemleri ve tendonları kaplayan sinovyal dokuların inflamasyonu ile karakterizedir. Normalde sinovyum, proteoglikan agregatları içeren, iyi organize olmuş, fibroblast ve makrofaj benzeri sinovyal hücrelerin yanı sıra kapiller ve lenfatik damarlarla ağ oluşturmuş bir matriksten meydana gelmektedir. Kartilaj ve sinovyum arasında yer alan sinovyal sıvı ise eklemlere kayganlık vererek korunmasını sağlamaktadır. RA hastalarında sinovyuma lenfohematopoetik orijinli, başlıca yardımcı T lenfositler (Th1) olmak üzere B lenfositler ve makrofajların infiltrasyonu gözlenmektedir. Ödem nedeniyle artan sinovyal sıvı hacmi eklem şişliğine ve ağrıya neden olurken sinovyum kalınlaşmakta ve invazif hale gelmektedir³.

Romatoid artritteki inflamasyonda, fibroblastlar, makrofajlar, dendritik hücreler, mast hücreleri, endotelial hücreler gibi sinovyal hücrelerin yanı sıra kan dolaşımındaki B lenfositler de önemli rol oynamaktadır. Lokal olarak üretilen tümör nekrozis faktör – alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinler, inflamatuvar hücrelerin göçünü ve devamlı aktivasyonunu sağlayarak, kemik ve kartilajı yıkan enzimlerin üretimini artırarak romatoid artrit patolojisinde önemli rol oynamaktadırlar⁷.

Esansiyel bir amino asit olan triptofanın protein sentezi dışında büyük bir kısmı oksidatif olarak N-formil kinürenin üzerinden kinürenine yıkılırken, %1'lik kısmı hidrosilasyon yoluyla önemli bir nörotransmitter olan serotonine dönüşmektedir. İnsanlarda hem triptofan 2,3-dioksijenaz (TDO) hem de indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO), triptofan metabolizmasında kinürenin yolağını regüle eden enzimlerdir. TDO serum triptofan konsantrasyonlarını eşik seviyelerinin altında tutabilmek için diyetle fazla alınan triptofanın katabolize edildiği karaciğerde eksprese

edilmektedir. Sağlıklı dokularda ekspresyonu oldukça düşük olan IDO ise, Th1 tipi sitokin olan interferon-gama ($\text{IFN-}\gamma$) indüksiyonuyla dendritik hücreler, monosit/makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kaslar, epitelyal ve endotelyal hücrelerde eksprese olmaktadır. Hem doğal hem de kazanılmış immün cevabın anahtar kontrol enzimi olması nedeniyle IDO'nun ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin inflamasyon, enfeksiyon, otoimmünite ve tümör hücrelerinin immün denetimden kaçışındaki rolüyle ilgili çalışmalar giderek artmaktadır^{8,9}.

Pteridin türevi olan neopterin guanozin siklohidrolaz I enziminin kataliziyle, guanozin trifosfat (GTP) metabolizması sonucu oluşmaktadır. Bu metabolik yolda ara ürün olan 7,8-dihidroneopterin trifosfat, dokularda ve lenfositlerde 6-pürivoil tetrahidropterin sentaz enzimi aracılığıyla 5,6,7,8 tetrahidrobiopterin (H_4B) dönüşürken, bu enzimin monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerde yetersiz olması nedeniyle neopterin dönüşmektedir. GTP-Siklohidrolaz I enziminin, $\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$ gibi sitokinlerle stimüle olması nedeniyle neopterin vücut sıvılarındaki konsantrasyonu hücrel immün aktivasyon hakkında bilgi vermektedir¹⁰.

İmmün sistemin organizasyon ve fonksiyonunu, immün sistem bileşenleri arasındaki kompleks etkileşimleri anlamak ve hücrel immün sistemin rol oynadığı hastalıkların klinik ve terapötik olarak izlenmesinde hızlı ve basit metodların geliştirilmesi zorunluluk haline gelmiş, son yıllarda neopterin önemli bir parametre olarak ortaya çıkmıştır. Kinürenin/Triptofan (Kyn/trp) oranı, triptofan yıkımının ve IDO aktivitesinin uygun bir göstergesidir. Kinürenin/triptofan oranındaki artışa neopterin artışının eşlik etmesi immün aktivasyonun bir göstergesi olması nedeniyle çalışmamızda; romatoid artritli hastalarda plazma triptofan, kinürenin, $\text{TNF-}\alpha$ ve neopterin düzeyleri tayin edilmiş bu parametrelerin birbiriyle korelasyonları değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Romatoid Artrit

Romatid artrit, etiyolojisi tam olarak bilinmeyen tüm ırk ve etnik gruplarda görülebilen sistemik, inflamatuvar, otoimmün bir hastalıktır. İnflamatuvar hastalıkların en yaygın şekli olup, hastalık sonucu ciddi deformite ve özürlülüklerin gelişimine bağlı olarak hareket kaybı, üretkenlik kaybı ve tedavi masrafları yönünden önemli fiziksel, sosyal, psikolojik ve ekonomik sorunlara neden olabilmektedir. Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle beraber çalışmalar genetik, endokrin, metabolik, beslenme, coğrafi ve psikososyal faktörler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Romatoid artrit; sinsi başlayan bir hastalık olup bazen teşhisi uzun bir süreç gerektirebilmektedir. Eklemlerde ağrı, sertlik ve şişlik belirgin semptomlar olarak görülürken, hastalığın klinik seyri son derece değişkendir. Hastalık sınırlı artrit, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip, hızla ilerleyen multisistemik inflamasyona kadar ilerleyebilmektedir.^{11,12} RA; yaş, cinsiyet, menopozal durum, hastalık süresi, hastalık aktivitesi ve ciddiyeti, immobilitenin derecesi, beslenme bozukluğu, emilim bozukluğu, aktif hastalığın sistemik etkisi veya ilaç etkisine bağlı olarak osteoporoz oluşumunu tetikleyebildiği gibi hematolojik sistem, karaciğer, solunum sistemi, kardiovasküler sistem, göz, kas, böbrek ve nörolojik sistemi de etkileyebilmektedir¹²⁻¹⁴.

2.1.1. RA Tanı Kriterleri

RA tanı kriterleri 1956 yılında ilk olarak ARA (American Rheumatism Association) kriterleri olarak belirlenmiş, daha sonra 1958

ARA kriterleri, 1961'da Roma, 1966'da New York Kriterleri olarak değiştirilmiştir. Daha özgül ve duyarlı olması çabasıyla 1987' de ARA kriterleri olarak yeniden düzenlenmiştir¹⁵.

1987 ARA Kriterleri:

1. Sabah tutukluğu: Eklem ve çevresinde en az 1 saat süren sabah tutukluğu.
2. Üç veya daha fazla eklemden artrit: Sağ veya sol proksimal interfalangeal (PIP), metakarpofalangeal (MCP), el bilek, dirsek, diz, ayak bileği, metatarsofalangeal (MTP) eklem bölgelerinde şişlik veya effüzyon ile beraber artrit.
3. El eklemlerinde artrit: El bilek, proksimal interfalangeal, metakarpofalangeal eklemlerden en azından birinde tutulum.
4. Simetrik artrit: Aynı eklemlerin bilateral tutulumu olması (el bilek, proksimal interfalangeal, metakarpofalangeal bilateral tutulumu, tam simetrik olmaması kabul edilebilir).
5. Romatoid nodüller: Eklem çıkıntıları, ekstansör yüzeylerde veya jukstaartiküler bölgelerde subkütan nodül.
6. Serum romatoid faktörü (RF): Normal populasyonun % 5'inden azında yüksek olabilir.
7. Radyolojik değişiklikler : Ön-arka el, el bilek grafisinde tipik kistik veya erozif değişiklikler.

Bu kriterlerin en az 4'ü (ilk 4 kriter en az 6 hafta sürmek üzere) varsa hastada RA vardır denebilir.

2.1.2. Epidemiyoloji

RA, dünyanın her bölgesinde, her etnik ve ırk grubunda görülmektedir. Yapılan araştırmalar sonucu, iklim, coğrafya ve yüksekliğin hastalık prevalansını etkilemediği fakat nemli ve rutubetli havalarda hastalık semptomlarında artış gözlenmesi nedeniyle iklimin hastalık semptomları üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır^{16,17}.

RA dünya genelindeki prevalansı % 0.5-1.0 arasında olup toplumlar arasında prevalansı etnik farklılıklar göstermektedir^{18,19}. Çin'in Kinmen adasında romatoid artrit insidansı % 0,3 iken²⁰, Arizona'daki Pima yerlilerinde % 5,3 gibi yüksek insidanslarda gözlenirken aborjinlerde hiç romatoid artrit vakası görülmemiştir. Merkez ve Güney Avrupa'da prevalans % 0,5 ile % 1 arasında iken, Kuzey Avrupa'da daha yüksektir²¹.

2.1.3. Etiyolojisi

Tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte RA'in etiyolojisinde tek başına veya ortaklaşa rol oynayan birçok mekanizma bulunduğu düşünülmektedir. RA için risk faktörlerini, artritogenik uyarıyı yaptığı düşünülen genetik olmayan faktörler ve hastalığın nihai görünüşünü belirleyen genetik faktörler olarak ikiye ayırmak mümkündür. RA gelişiminde genetik faktörlerin % 50-60 oranında sorumlu olduğu tahmin edilmektedir²².

2.1.3.1. Genetik Faktörler

Romatoid artrit, monozygotik ikizlerde dizigotik ikizlerden daha çok görülmesi²³, akrabalık ilişkisi olanlarda hastalık riskinin genel popülasyona oranla 2-17 kat daha yüksek bulunması²⁴ ve gelişen

moleküler analiz teknikleri romatoid artrit genetik yönüyle ilgili çalışmaları hızlandırmıştır.

1970'li yıllardan beri Major Histokompatibilite Kompleksi (MHC) bölgesindeki allel genlerin RA riskini etkilediği bilinmektedir²⁵. İnsanlarda immün sistem fonksiyonuyla ilişkili MHC süperlokusu İnsan Lökosit Antijenlerinin (HLA) oluşumundan sorumlu gen bölgesidir. Üç ana gruba ayrılan bu bölgede MHC Sınıf I (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G), MHC Sınıf II (HLA-DR, -DP, -DQ, -DN) ve MHC Sınıf III (C2, C4A, CDB, PF, TNF- α , TNF- β) genleri bulunmaktadır^{25,26}.

Romatoid artrite yatkınlığı artıran DR allel proteinlerinin ortak aminoasit motifi taşıdıkları belirlenmiş, bu motifin peptid bağlanmasında önemli olması nedeniyle, RA'le ilişkili allellerin spesifik peptidleri bağlayarak otoreaktif T hücre gelişimini hızlandırdığı ileri sürülmüştür²⁷. Romatoid artrit hastalarını klinik anlamda daha iyi sınıflandırabilmek, uygun tedavi yaklaşımlarını belirleyebilmek amacıyla RA ile ilişkili allellerin belirlenmesine yönelik günümüze kadar yapılan çalışmalar, RA riskini güçlü bir şekilde etkileyen genlerin HLA-DRB1 ve PTPN22 genleri olduğunu göstermiştir^{18,27,28}. HLA-DRB1 insan genomundaki en polimorfik genlerden biridir. Yapılan çalışmalarda HLA-DRB1 *0401 ve HLA-DRB1 *0404 allelleri Avrupalı RA hastalarında yaygınken, HLA-DRB1 *0405 ve HLA-DRB1 *0901 Doğu Asyalılarda yaygın allel olarak tespit edilmiştir^{18,27}.

HLA bölgesindeki genetik varyasyonlar hastalığa karşı olan genetik yatkınlığın sadece % 30-50' sini açıklayabilmektedir. Son yıllarda yapılan birçok genetik çalışma ile RA ile ilişkili non-HLA genler tanımlanmaya çalışılmış ve bunlar içerisinde RA ile ilişkisi en dikkat çekiçi gen PTPN22 olarak bulunmuştur²⁷. PTPN22 geninin, hastalığın başlangıç yaşını etkilediği^{27,29} ve kadınlarla kıyaslandığında erkeklerde daha etkili

olduğu gösterilmiştir. Günümüzde genetik çalışmalar T hücre reseptörü, interleokin 1 (IL-1), interferon gama (IFN-γ) ve diğer sitokinler gibi RA patogenezinde rol alabilecek pek çok faktör üzerinde yoğunlaşmıştır^{27,29-31}.

2.1.3.2. Enfeksiyöz Ajanlar

Enfeksiyöz ajanların romatoid artrit patojenezindeki rolüyle ilgili veriler; insanlardaki bazı artrit türlerinin bazı bakterilerle, enterojenik ve ürojenik enfeksiyonlarla tetiklenmesi, bakterilerin bazı hayvan modellerinde RA benzeri kronik artrit indüklemeleri, RA'li hastaların sinovyal sıvı ve periferik kanında bazı bakterilere karşı antikor ve hücreli immün cevabın gelişmesinin gözlendiği çalışmalara dayanmaktadır. Romatoid artrit olası mikrobiyal patojenezi ile ilgili olarak öne sürülen hipotezlerden biri; enfeksiyöz organizmanın hastalığın sadece erken evresinde mevcut olup daha sonra immün sistem tarafından ortadan kaldırıldığı ancak bir kez uyarıldıktan sonra immün sistem cevabının arttığı ve eklem içerisinde bulunan başka öz antijenlerine yöneldiği, diğeri ise; eklem içerisindeki uzun süreli enfeksiyonun doku hasarına neden olan kronik inflamasyona yol açtığı şeklindedir. Ancak RA gelişiminin enfeksiyöz ajanlardan kaynaklandığı düşüncesine yönelik yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucu, enfeksiyon ajanların RA gelişiminde majör bir rolü olduğu ispatlanamamıştır^{21,27,32}.

2.1.3.3. Yaş ve Cinsiyet

RA, genellikle genç erişkinlerin hastalığı olmakla birlikte tüm yaşlarda ortaya çıkabilmektedir. Hastalık 35-50 yaşları arasında yaygın olarak görülmekte ve insidansı yaşla birlikte artış göstermektedir¹¹.

RA, kadınlarda erkeklerden 3:1 oranında daha sık görülmektedir. Kadınlarda RA riski yaş ilerledikçe artmakta ve menapoz döneminde pik düzeye ulaşmaktadır. Kadınların erkeklerden daha fazla etkilenmesinin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte genetik (X-ilişkili) ve hormonal farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir^{27,33}.

Romatoid artritte cinsiyet farklılıklarının nedeni tam olarak aydınlatılmamıştır. Antijenik stimülasyona karşı antikor oluşumunun kadınlarda erkeklerden daha fazla olduğunu³⁴, estradiol düzeylerinin lenfosit sayısını düşürdüğünü³⁵, hastalık semptomlarının şiddetinin hamilelik³⁶ ve menstural siklusun ovulasyon sonrası fazında azaldığını gösteren çalışmaların yanı sıra hormon replasman tedavisinin RA'de hem koruyucu rolünün olduğu³⁷ hem de koruyucu olmadığını^{38,39} gösteren çalışmaların sonuçları birbiriyle çelişmekle birlikte, seks hormonlarının RA patojenezini etkilediğini göstermektedir.

2.1.3.4. Sigara Kullanımı

Çalışmalar sigara kullanımının RA etiyolojisinde rol oynayan en güçlü çevresel faktörlerden biri olduğunu hem kadınlarda hem de erkeklerde sigaranın RA riskini yaklaşık iki kat artırdığını göstermektedir^{27,40,41}. Sigara kullanım süresinin RA'ya yatkınlığı ve hastalığın ilerlemesini hızlandırdığı gösterilmiştir^{16,42}.

2.1.4. Patolojisi

Romatoid artrit patojenezini açıklamaya yönelik dört farklı model mekanizma önerilmiştir⁴³.

1. Mekanizma; sinovyal inflamasyona yol açan artrotropik enfeksiyöz ajanları veya yabancı antijenleri elimine edecek olan, eklemlerdeki T-hücre aracılı cevabın bozulması sonucu antijenlerin sinovyal inflamasyona yol açtığını ileri sürmektedir.

2. Mekanizma; eklemlerde spesifik antijenlere yönelmiş otoimmün cevabın, sinovyal inflamasyonun kalıcı olmasına neden olduğunu ileri sürmektedir ancak RA gelişiminden sorumlu özgül bir “romatoid” antijen belirlenememiştir. Tip II kollojen, proteoglikanlar, ısı şok proteinleri, kartilaj protein gp39 ve immunglobulinler RA ile ilişkilendirilmiş otoantijenlerdir. Bu nedenle artiküler kavitede farklı birçok antijene yönelmiş otoimmün bir paternden söz edilebilir. Romatoid sinovya, bu antijenlerden birçoğuna yönelmiş immün cevabın oluşması, RF ve anti-Tip II kollojen antikörlerinin üretiminin gözlenmesi bu hipotezi destekler niteliktedir. Bununla birlikte bu mekanizmanın inflamasyona katıldığı ancak inflamasyonun başlatıcısı olmadığı düşünülmektedir.

3. Mekanizma; sitokinler arasındaki iletişim ağının parakrin ve otokrin anlamda sinovitis sürekli hale getirebileceğini ileri sürmektedir ancak TNF inhibitörleriyle tedavi kesildikten sonra klinik artrit nüksetmesi nedeniyle bunların dışında uyaranların varlığı düşünülmektedir.

4. Mekanizma; sürekli inflamasyona maruz kalınması sonucu romatoid sinovitlerin kısmen fenotipik değişime uğradığı bunun da kendi kendine eklem yıkımına yol açtığını öne sürmektedir.

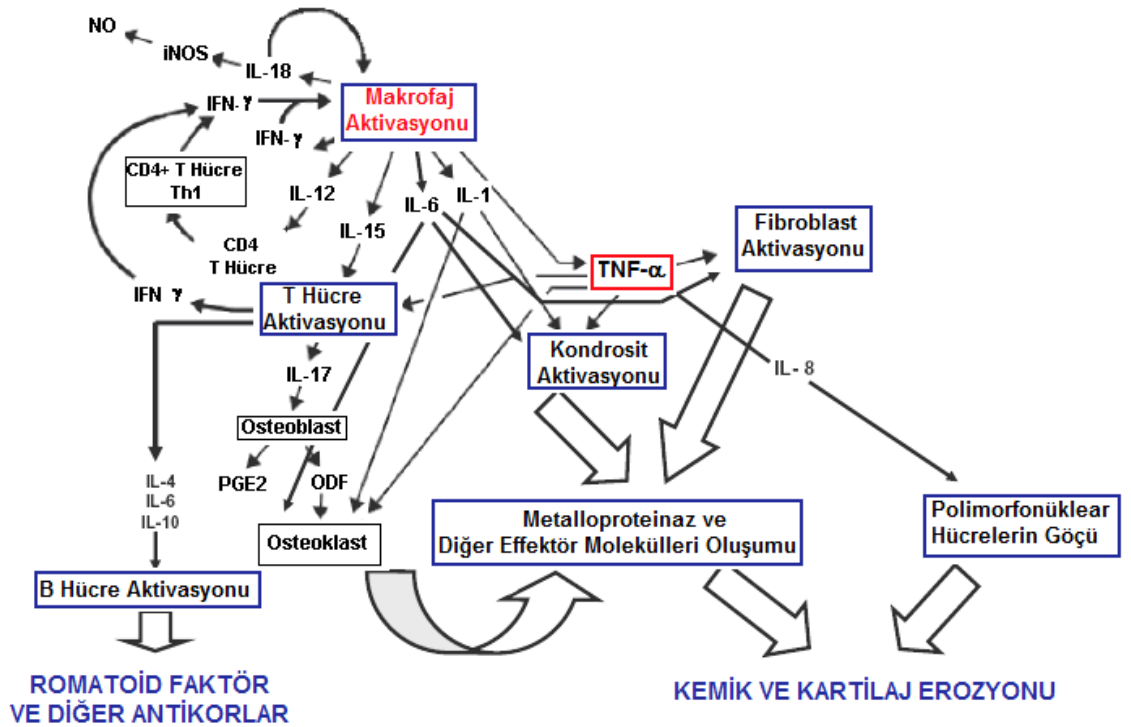
Romatoid artritte esas patofizyolojik olay sinovyumun inflamasyonudur. En önemli histolojik değişiklikler; anjiogenez, hücresel hiperplazi, inflamatuvar lökositlerin kemotaksisi ve hücre yüzey adezyon moleküllerinin, proteinazların, proteinaz inhibitörlerinin ve birçok sitokinin ekspresyonundaki değişikliklerdir¹¹.

Hastalığın ilk haftasında belirgin doku ödemi ve fibrin depolanmasına bağlı olarak eklem ağrısı ve eklem ödemi oluşurken, kısa bir süre içerisinde sinovyal sınır hiperplastik hale gelmektedir. Fibroblast benzeri B tipi sinoviyositlerin biriktiği ve yeni makrofaj benzeri A tipi sinoviyositlerin eklemlere göç ettiği kronik artritte, intimal tabaka hiperplazisi belirginleşmektedir^{11,21,43}. Kıkırdak ve kemik hasarının çoğundan sorumlu tutulan fibroblast benzeri sinoviyositler ve sinoviyal makrofajların her ikisi de matris metalloproteinazlar (MMP), IL-1, TNF- α ve katepsin gibi, RA patogenezinde önemli rol alan, doku yıkımına neden olabilen enzimleri üretebilmektedir^{21,44}. Makrofajlar yeni kan damarlarının oluşumuna katkıda bulunurken, oluşan yeni kan damarları kıkırdak ve kemiğe komşu daha derin alanlara girdikçe yıkıma neden olan maddelerin daha fazla hasar oluşturmaya yol açmaktadır^{11,21,45}.

Fibroblastlar, makrofajlar, dendritik hücreler, mast hücreleri, endotel hücreler gibi sinovyal hücrelerin yanı sıra kan dolaşımındaki B hücreleri de romatoid artritteki inflamasyonda önemli rol oynamaktadır. Bu hücrelerin çoğunluğunu (totalin %50-70'ini) CD4+ T hücreleri, %20'sini ise makrofajlar oluşturmaktadır⁴³. Bu farklı hücreler arasındaki etkileşim, sitokinler, prostaglandinler ve diğer birçok medyatörün salınımıyla sonuçlanabilmektedir. Bu çözünür medyatörler lokal doku hasarı yaparak hastalığın birçok semptomlarına neden olmaktadır. Özellikle sitokinler gibi bazı medyatörler hücreler üzerinde önde gelen stimülatör etkiyi yaparak romatoid artritteki inflamasyonun altında yatan kronik ve dinamik immünolojik cevabın ilerlemesine neden olmaktadır (Şekil 1)^{43,46,47}.

CD4+ T lenfositler ve özellikle Th1 sitokin paterni sergileyen bellek T hücreleri otoimmün cevabın başlamasında ve orkestrasyonunda merkezi rol oynamaktadır. RA patogenezinde tetikleyici uyaran tam olarak tespit edilemese de dokudaki inflamatuvar sürecin CD4+ T hücre aktivasyonu ile başladığı bilinmektedir. RA'daki sitokin paterni Th1

fenotipidir. Kısmen baskılayıcı Th2 sitokinlerin kısmi eksikliğinin, yetersiz immün cevaba neden olarak RA patojenezinde rol oynadığı düşünülmektedir⁴³.



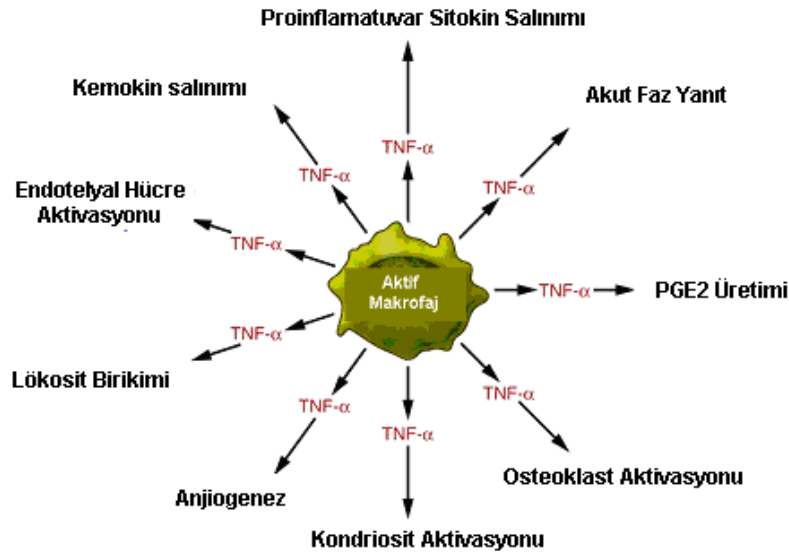
Şekil 1⁴⁸ : Romatoid Artrit Gelişiminde Rol Oynayan Olası Mekanizmalar: Antijenle aktive olan CD4+ T hücreleri; IL-12, IL-6, TNF-α ve matris metalloproteinazlarını oluşturmak üzere makrofajları ve sinovyal fibroblastları uyarır. CD4+ T hücreleri ayrıca B hücreleriyle birlikte romatoid faktör ve diğer otoantikorları da içeren immünglobulinlerin üretimine katılır, osteoklastojenezi uyarır. Romatoid artritteki anahtar sitokinler olan IL-6 ve TNF-α matris metalloproteinazlarının salgılandığı sinovyal fibroblastlar, osteoklastlar ve kondrositlerin güçlü bir uyarıcısıdır. IL-1 ve TNF-α sinovyal fibroblastlardan matris metalloproteinazların doku inhibitörlerinin üretimini de inhibe etmektedir. Bu iki yönlü aktivitenin eklem hasarına yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca TNF-α osteoklastlarında gelişimini uyarmaktadır⁴⁸. NO; nitrik oksit, iNOS; İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz, ODF; Osteoklast Farklılaşma Faktörü, PGE₂; Prostaglandin E₂.

Periferal kanla kıyaslandığında sinovyal sıvıda IFN- γ üreten CD4+ T hücreleri anlamlı derecede artmakta⁴⁹, hastalık aktivitesiyle paralel olarak Th1/Th2 oranında artışla sonuçlanmaktadır⁵⁰. Aktive olan T hücreleri IFN- γ ve IL-2 gibi sitokinleri salgılayarak diğer T lenfosit hücrelerini, makrofajları ve fibroblastları uyarmaktadır. Aktive olan makrofajlarca üretilen TNF- α ve IL-1 sinovisit proliferasyonu, MMP üretimi, iNOS ekspresyonu ve prostaglandin salınımını indükleyebilmektedir. Hayvan modellerinde, TNF- α inflamatuvar cevabın primer medyatörüken IL-1'in kemik yıkımını artırdığı⁵¹ ancak insanlarda TNF- α inhibisyonunun yalnız başına hem inflamasyonu hem de hastalığın ilerlemesini baskıladığı radyografik olarak gösterilmiştir⁵². Sinovyal makrofajlarca üretilen IL-15, T hücrelerini aktive ederek makrofaj TNF- α üretimini antijenden bağımsız bir mekanizmayla da aktive etmektedir⁴³. IL-1, IL-6, TNF- α , granülosit-makrofaj stimüle edici faktör (GM-CSF), IL-15, IL-18 gibi sitokinler hem protein hem de mRNA düzeyinde sinovyal intimal tabakada tespit edilmiştir⁵³.

Sitokinler ayrı ayrı düşünüldüğünde birbirinden farklı görevleri olsa da in vivo kompleks bir iletişim ağı içerisinde fonksiyon görürler. Bu nedenle sitokinlere karşı oluşan genel yanıt, lokal ortamdaki proinflamatuvar faktörler (örn; inflamatuvar sitokinler) ve antiinflamatuvar faktörler (örn; çözünür sitokin reseptör formları ve antiinflamatuvar fonksiyon gören sitokinler) arasındaki dengeyi yansıtmaktadır. RA'da özellikle proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-1'in hastalığın ilerlemesinde ve klinik görüntüsünde önemli rol oynamaktadır^{54,55}.

TNF- α ; RA'li hastalarda inflamasyonlu sinovyal membran ve dokularda başlıca aktif makrofajlar tarafından üretilmektedir. TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi diğer inflamatuvar sitokinlerin üretimini indüklemekte ve bu sitokinlerle birlikte inflamasyonlu bölgede kemokin salımınının

indüklenmesini sağlamaktadır. Bu süreç, endoteldeki E-selektin ve VCAM-I gibi adezyon molekülleri ve integrinlerin up-regüle olmasıyla hızlanmaktadır. Proteolitik ve metalloproteinaz enzimlerinin indüksiyonu sonucu da artiküler kartilaj ve subkondrial kemikte yıkım başlamaktadır (Şekil 2)⁵⁶.



Şekil 2: TNF-α'nın RA Patojenezindeki Rolü⁵⁶.

2.1.5. Romatoid Artritte Klinik Değerlendirme

Genelde hastaların ilk şikayeti diffüz simetrik eklem ağrısıdır ve genelde periferik küçük eklem tutulumudur. Semptomlar genelde yumruk yapmakta güçlük ve sabah tutukluğu ile beraber seyreder. RA tanısında, detaylı aile hikayesi, fizik muayene ve hastalığın sistemik tutulumu değerlendirilir. Romatoid artritli hastaların radyolojik incelemesi hastalığın tanısı, takibi, tedaviye cevabı ve cerrahinin gerekliliğinin değerlendirilmesinde önemlidir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) etkilenen yapı üzerinde daha ayrıntılı bilgi edinmek için kullanılabilir²¹. Romatoid artritte; romatoid faktör, anti-sitrülinlenmiş protein antikorları, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein

(CRP) ve fibrinojen hastalık aktivitesini değerlendirmede kullanılan parametrelerdir. Tam kan sayımı ile ve gerekirse periferik yayma ile anemi değerlendirilmektedir. Ayrıca hastalık aktivitesinin arttığı durumlarda görölen lökositoz ve trombositoz takipte yararlı bilgiler verebilmektedir. Biyokimyasal testler, hastada ilaç seçimi ve takibinde yan etkileri değerlendirmek açısından gerekmektedir. Romatoid artrit; subkutan nodül (RF pozitif olan RA'li hastaların %'20 sinde), hematolojik bozukluklar, karaciğer tutulumu, solunum sistemi tutulumu, kardiyovasküler sistem tutulumu, oküler tutulum, kas tutulumu, böbrek tutulumu, amiloidoz ve sinir sistemi tutulumu görölmektedir^{12,21,28}.

2.1.6. Tedavi

Romatoid artrit tam olarak kontrol altına alınamayan, kronik, ilerleyici, deformite ve komplikasyonların gözlendiği bir hastalıktır ve tedaviye her zaman olumlu sonuç alınamamaktadır. Hastanın kendisinin ve ailesinin hastalığın genel seyri ve tedavisi hakkında yeterli bilince sahip olması önemli bir noktadır. Bu yönde hastanın kendisine ve ailesine eğitim verilebilir. Romatoid artritli hastada fiziksel kısıtlılığın yanı sıra psikolojik ve sosyal sorunların da görölmesi nedeniyle hastanın romatolog, psikolog, fizyoterapist, sosyal hizmet uzmanı, ortopedik cerrah ve hemşireden oluşan bir ekip tarafından çok yönlü izlenmesi uygun tedavi yaklaşımıdır. Romatoid artritin tedavisinde amaç eklem hasarının önlenmesi, yaşam kalitesinin ve fonksiyonlarının korunması, ağrı ve inflamasyonun en aza indirilmesi olmalıdır⁵⁷.

Hastalığın tedavisinde non steroidal anti inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), hastalık modifiye edici ilaçlar (DMARD; disease-modifying antirheumatic drugs), ve/veya kortikosteroid kombinasyonları kullanılabilir⁵⁷.

NSAİİ'ler hastalığın ilk döneminde inflamasyonu önleyip ağrıyı azaltmak amacıyla kullanılmaktadırlar. Etkilerini kısa bir süre içerisinde göstermelerine rağmen hastalığın seyrini değiştirebildikleri veya eklem hasarını önleyebildikleri gösterilememiştir. Bu nedenle NSAİİ'lar uzun dönem romatoid artrit tedavisinde ilerleyen evrelerde DMARD'larla kombine halde kullanılmaktadır^{57,58}.

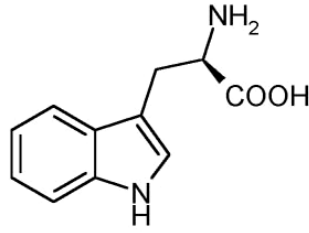
DMARD'lar hastalığın klinik seyrini değiştirdiği gösterilen ilaçlardır. Ciddi hastalık durumlarında hastalığın altında yatan immunolojik süreçleri kontrol etmek, fonksiyonları iyileştirmek, eklem hasarı ve deformitelerden eklemleri korumak amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu ilaçların etkilerinin görülebilmesi için 6 haftadan 6 aya kadar zaman geçmesi gerekebilmektedir. DMARD'lar radyolojik olarak tanımlanmış eklem hasarının şiddetini ve olasılığını azaltır, klinik semptomlarda bir rahatlama sağlarlar. Bu tür ilaçlara hidroksiklorokin, metotraksat, sulfasalazin ve azatiyoprin örnek olarak verilebilmektedir⁵⁸. Etkileri geç başladığı için DMARD'lar tedavinin başlangıcında mutlaka NSAİİ ve/veya kortikosteroidlerle birlikte verilmelidirler⁵⁷.

Kortikosteroidler kortizolün sentetik karşılığıdır ve güçlü antiinflamatuvar etkiye sahiptirler⁵⁸. Romatoid artritte etkili semptomatik tedavi sağlarlar. Çok yönlü yan etkileri nedeniyle kortikosteroidler düşük dozlarda (prednison<7,5 mg/gün) kullanılmakta ve bu şekilde kemik erozyonunu yavaşlatmaktadırlar. Aylık yüksek dozlarda kortikosteroid alımı başlangıç DMARD tedavisine cevabı hızlandırmaktadır. Kortikosteroidler aynı zamanda NSAİİ ve DMARD'ların beraber kullanıldığı kombine tedavilere yanıtın yetersiz olduğu durumlarda ve akut hastalık alevlenmelerinde inflamasyonu azaltmak amacıyla kısa dönemlerde kullanılabilir⁵⁹.

DMARD grubu ilaçlar romatoid artrit tedavisinde oldukça etkili olmasına rağmen birçok hastada hastalığı kontrol altına almada yetersiz kalmaktadır. Anti-TNF ve anti-IL-1 ajanlar gibi yeni ilaçlar romatoid artrit tedavisinde klasik tedaviye yanıtı olmayan hastalar için alternatif tedavi yöntemleridir. Bu yeni ajanların romatoid artrit tedavisinde Metotraksat ile kombine halde kullanıldığında tek başına kullanıldıklarından daha etkili oldukları ispatlanmıştır. Anti-TNF ilaçlarla klasik tedaviye dirençli hastalarda olumlu sonuçlar alınabilmekte ve radyolojik hasarın ilerlemesi engellenebilmektedir. Bu ajanların ciddi yan etkileri olması nedeniyle tedaviye başlamadan önce hastalar itinalı bir şekilde değerlendirilmekte ve tedavi sürecinde dikkatlice takipleri yapılmaktadır⁵⁷.

2.2. Triptofan Metabolizması

Triptofan IUPAC sistemine göre 2-amino-3-(1H-indol-3-il) propanoik asit olarak adlandırılan, apolar yan zincire sahip esansiyel bir amino asittir (Şekil 3).



Şekil 3: Triptofan Amino Asidinin Yapısı

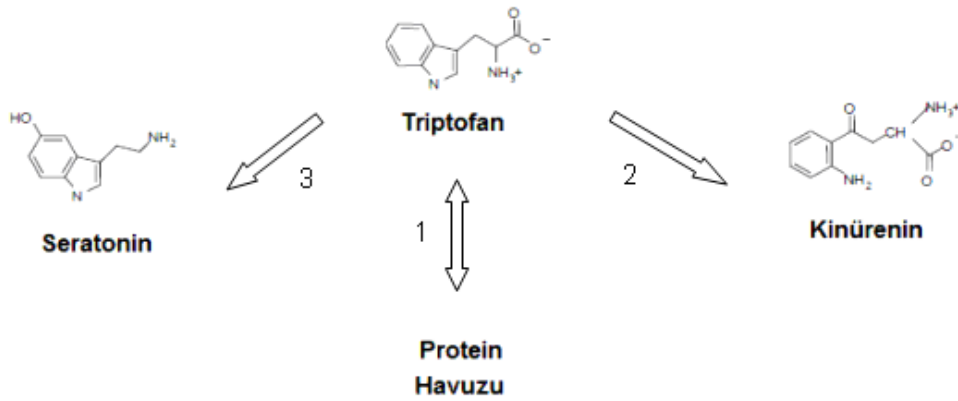
İnsanlarda dokularda nispeten az depolanan triptofan, diğer amino asitlerle kıyaslandığında vücutta konsantrasyonu en düşük olan amino asittir. Hindi, tavuk, muz, ceviz, çikolata, peynir, avokado ve yulaf gibi yiyecekler triptofan yönünden zengin besinlerdir. Sağlıklı bir yetişkin için tavsiye edilen triptofan miktarı 3.5-6.0 mg/kg/gün'dür⁶⁰.

Absorbe olan triptofan amfipatik yapısından dolayı diğer amino asitlerin aksine dolaşımında %85-90 oranında plazma albuminine bağlı olarak, kalanı ise serbest formda bulunmaktadır. Triptofan kan-beyin bariyerini serbest formda non-spesifik L-amino asit taşıyıcıları aracılığıyla geçmektedir. Triptofan kan dolaşımında diğer büyük nötral amino asitlerle kan-beyin bariyeri taşıyıcıları için yarıştığından triptofan/büyük nötral amino asit oranı serotonin sentezi için gerekli beyin triptofan konsantrasyonunu etkilemektedir^{60,61}.

Patalojik olmayan durumlarda triptofan, belli başlı üç metabolik yoldan birini izlemekte; protein sentezinin yanı sıra kinürenin sentezi ve serotonin sentezi gibi iki önemli metabolik yolağın öncül

molekülü olarak kullanılmaktadır. Hem periferel hem de santral sistemde triptofan metabolizmasının majör yolu kinürenin yolağıdır.

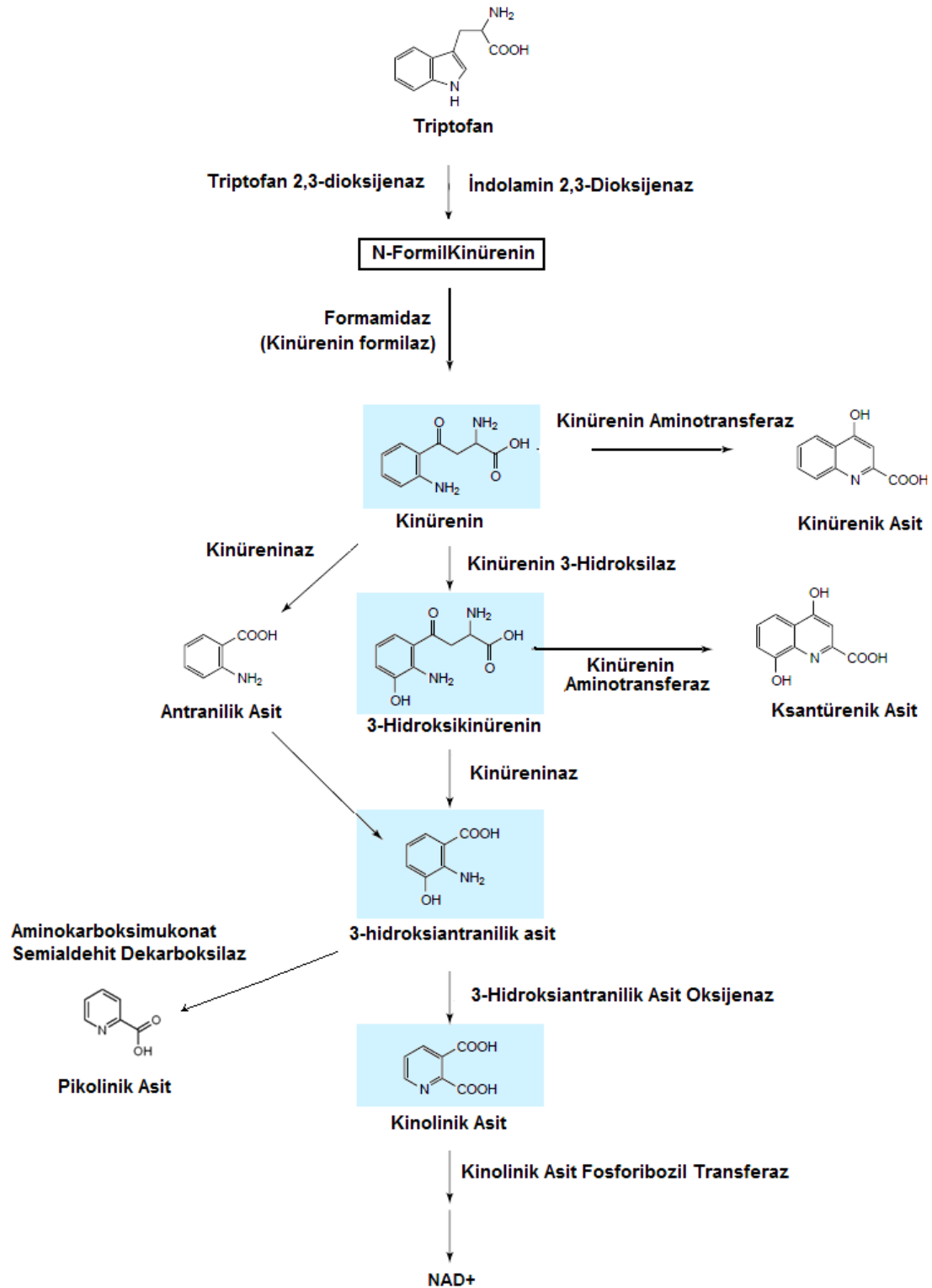
1. Doku proteinlerine katılma
2. Oksidasyon (kinürenin) yolu
3. Hidroksilasyon (serotonin) yolu



Şekil 4 : Triptofanın Metabolik Yolakları

2.2.1. Triptofan Metabolizmasında Oksidasyon (Kinürenin) Yolu

Triptofan katabolizmasının yaklaşık %99' unu oluşturan oksidatif kinürenin yolağı, kinürenik asit, antranilik asit, kinolinik asit, pikolinik asit gibi ara ürünlerin ve NAD^+ , NADP^+ gibi koenzimlerin sentezinin gerçekleştiği önemli bir metabolik yoldur (Şekil 5)⁶⁰⁻⁶².



Şekil 5 : Triptofan Metabolizmasının Oksidasyon (Kinürenin) Yolu ⁶².

Kinürenin 1927 yılında Kotake tarafından izole edilmiş, 1927 yılında Butenandt ve arkadaşları tarafından yapısı aydınlatılmıştır. Kotake ve Masayama ilk enzimatik ve hız sınırlayıcı basamak olan, triptofanın formilkinürenine dönüşüm basamağını katalizleyen enzimi izole etmiş ve triptofan pirolaz olarak tanımlamışlar, enzim daha sonra triptofan 2,3-dioksijenaz (TDO; EC.1.13.11.11.) olarak adlandırılmıştır. Sadece karaciğerde bulunan ve memelilerde keşfedilen ilk indüklenebilen enzim sistemi olan TDO, substratı olan triptofanın yanı sıra histidin, kinürenin ve çok az oranda da tirozin ve fenilalaninle indüklenmektedir. Aktif indükleyicilerin verilmesiyle TDO düzeyleri birkaç saatte artmakta, bileşiklerin uzaklaştırılmasıyla düzeyler 15-20 saatte normal düzeylere dönmektedir. Hidrokortizon, TDO aktivitesini kontrol düzeyinin 5-10 katına çıkarabilmektedir⁶³.

Tüberküloz, lösemi, mesane kanseri gibi çeşitli hastaların idrarında farklı triptofan metabolitlerinin düzeylerinin yüksek bulunmasına karşın bu hastaların karaciğerinde TDO aktivitesinin yükselmemesi triptofan katabolizmasında TDO'nun tek enzim olmayacağını düşündürmüştü, 1963'te Hayaishi ve arkadaşları triptofanı karaciğer dışındaki dokularda kinürenine çeviren ikinci bir enzimi izole etmişlerdir. Geniş bir substrat spektrumuna sahip olan bu enzim, D-, L-triptofan, triptamin, 5-hidroksitriptofan ve serotonin gibi indolamin türevlerine etki edebildiğinden indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO; EC 1.13.11.17) olarak adlandırıldı^{64,65}. TDO'nun aksine IDO, triptofan ve glukokortikoidlerle indüklenmemektedir⁶³.

Her iki enzim de bir "hem" proteinidir. Enzimin aktivasyonu için ferrik demiri ferroz forma dönüştürerek, triptofan ve moleküler oksijenin enzimin aktif merkezine bağlanmasını hızlandıracak süperoksit anyon radikali gereklidir^{66,67}.

Her iki enzim aynı reaksiyonu katalizlese de TDO ve IDO ekspresyonunun farklı dokularda olması farklı biyolojik rolleri yansıtmaktadır. Normal şartlarda hepatik kinürenin yolağı aktiftir ve sağlıklı dokularda IDO ekspresyonu oldukça düşüktür ancak immün aktivasyona, inflamasyona ve enfeksiyona bağlı olarak IDO ekspresyonu up-regüle olarak ekstrahepatik kinürenin yolağının baskın hale gelmesine neden olmaktadır. IDO immün cevapta aktif rol oynarken, TDO'nun bu süreçte rolü olduğuna dair deliller yok denecek kadar azdır^{63,68,9}.

IDO'nun immün regülasyondaki rolü oldukça kompleks olmakla birlikte iki majör rolü öne çıkmaktadır⁶⁷.

1- IDO, triptofan metabolizmasının immünoregülatuar yolağında periferel toleransın normal efektörüdür. Immün tolerans ve atak arasındaki dengeyi etkileyerek uygun immün cevabın oluşmasına yardım etmektedir.

2- IDO'nun kazanılmış immün toleransta esansiyel rol oynadığı, T hücrelerle etkileşerek ve triptofan düzeylerini tüketerek tümörlerin immün sisteme tolerans geliştirmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Murray ve arkadaşları tarafından 2007'de keşfedilen ve IDO-2 olarak adlandırılan enzimin biyolojik rolü tam aydınlatılamamış olmakla birlikte T hücre cevabını baskılayarak tümör hücrelerinde gelişen immün toleransta rol oynadığı düşünülmektedir⁶⁹.

IDO intrasellüler olarak konstitütif indüklenebilir formda plasenta, akciğer, ince ve kalın barsak, kolon, dalak, mide ve beyinde eksprese edilmektedir. IDO, dendritik hücrelerde, monosit ve makrofajlarda, eozinofillerde, fibroblastlarda, epitelyal hücrelerde, vasküler düz kaslarda, endotelyal hücrelerde ve bazı tümör hücrelerinde IFN- γ ile indüklenmektedir. Bir defa eksprese edildiğinde lokal dokudaki triptofanı

tüketerek kinürenin oluşumunu artırmaktadır. Doğal immün efektör mekanizmayı temsil eden IDO'nun konstitütif olarak eksprese edildiği ve mukoz membranlarda hızla indüklenerek intrasellüler ve ekstrasellüler organizmaların büyümesini inhibe ettiği in vitro olarak gösterilmiştir⁶³. IDO, immün cevabın diğer doğal elemanları gibi adaptif immün sistem tarafından da düzenlenmektedir. IDO, hem doğal hem de adaptif immün cevapta T hücreleri tarafından üretilen ve en güçlü indükleyicisi olan IFN- γ dışında, enfeksiyonlar esnasında üretilen TNF- α , IFN- α / β , IL-10, sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen-4 (CTLA-4) ile de indüklenmektedir⁷⁰⁻⁷².

2.2.1.1. Kinürenin/Triptofan Oranının Klinik Önemi

Normal şartlarda kinürenin konsantrasyonu serum triptofan düzeylerine bağlıdır. DiyetSEL alımın azalmasına bağlı olarak endojen triptofan düzeyleri de azalacağından kinürenin düzeyleri de düşük gözlenecektir. *Kinürenin/triptofan oranı*; yani TDO ve IDO'nun ilk ürününün konsantrasyonunun, bu enzimlerin substratının konsantrasyonuna oranı *triptofan yıkımının ve IDO aktivitesinin uygun bir göstergesidir*. Kinürenin/triptofan oranına immün aktivasyon belirteçlerinin eşlik etmesi, bu orandaki artışın özellikle IDO aktivasyonuna bağlı olduğunu doğrular niteliktedir⁷³⁻⁷⁴. Fuchs ve arkadaşları tarafından sağlıklı kişilerde yapılan çalışmada ortalama triptofan konsantrasyonu 73.0 ± 14.9 $\mu\text{mol/L}$, kinürenin konsantrasyonu 1.92 ± 0.58 $\mu\text{mol/L}$ ve kinürenin/triptofan oranı ise 26.9 ± 8.10 $\mu\text{mol/mol}$ olarak ölçülmüştür⁷⁴. Yapılan çalışmalar HIV enfeksiyonu⁷⁵, sistemik lupus eritوماتosus⁷⁶, Alzheimer⁷⁷, Huntington⁷⁸ ve Parkinson⁷⁹ gibi nörodejeneratif hastalıklarda, majör depresyon⁸⁰ ve kanser⁸¹ gibi hastalıklarda triptofan konsantrasyonunun azaldığını, kinürenin ve diğer triptofan katabolitlerinin konsantrasyonunun arttığını göstermektedir.

2.2.2. Triptofan Metabolizmasında Hidroksilasyon (Serotonin) Yolu

Diyetsel triptofanın yaklaşık % 1'i serotonin sentezinde kullanılmaktadır⁶⁰. Bu süreçte ilk ve hız kısıtlayıcı basamak triptofanın, tetrahidrobiopterini kofaktör olarak kullanan triptofan 5-hidroksilaz (EC.1.14.16.4) enzimi aracılığı ile 5-hidroksi triptofana hidroksilasyonudur⁸²⁻⁸⁵. 5-hidroksi triptofan, koenzim olarak pridoksal-5-fosfatı kullanan aromatik L-aminoasit dekarboksilaz enzimi (AADC) (EC.4.1.1.28) aracılığıyla Serotonin'e dönüşmektedir (Şekil 6)^{82,86}.



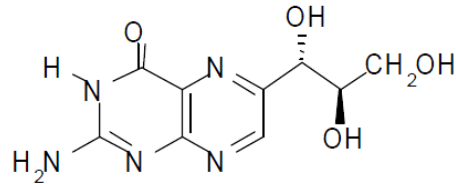
Şekil 6 : Triptofan Metabolizmasının Hidroksilasyon (Serotonin) Yolu

Serotonin sentez hızı, triptofan 5-hidroksilaz ve aromatik-L-aminoasit dekarboksilaz enzimlerinin aktivitesine ve triptofanın kullanılabilirliğine bağlıdır. Triptofandan serotonin oluşumu gastrointestinal sistem, trombositler ve beyinde meydana gelmektedir⁸⁷. Diyetle triptofan alımı doku serotonin içeriğini artırırken, triptofandan fakir diyet serotonin seviyesinde azalmaya sebep olmaktadır⁸². Beyindeki serotonin sentezi, kan-beyin bariyerini geçen triptofan miktarına bağlıdır. Bu taşınmayı etkileyen faktörlerin en önemlileri; plazma triptofan konsantrasyonu, albuminle bağlı olanla karşılaştırıldığında serbest triptofan miktarı ve aynı membran taşıyıcıları için yarışan diğer aminoasitlere göre triptofanın oranıdır. Bu üç durum da beyinde triptofanın fizyolojik düzenlenmesine

katkıda bulunmaktadır⁸⁷. Birçok psikolojik ve psikiyatrik süreçte önemli bir nörotransmitter ve nöromodülatör olan serotonin, diüurnal ritmin regülasyonunu sağlayan melatonin hormonunun da öncül molekülüdür⁶⁰. Bu nedenle triptofan düzeylerinin azalması serotonin biyosentezini etkileyerek ruh hali değişikliklerine, depresyona ve bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya olan eğilimi artırmaktadır^{9,88,89}.

2.3. Neopterin Metabolizması

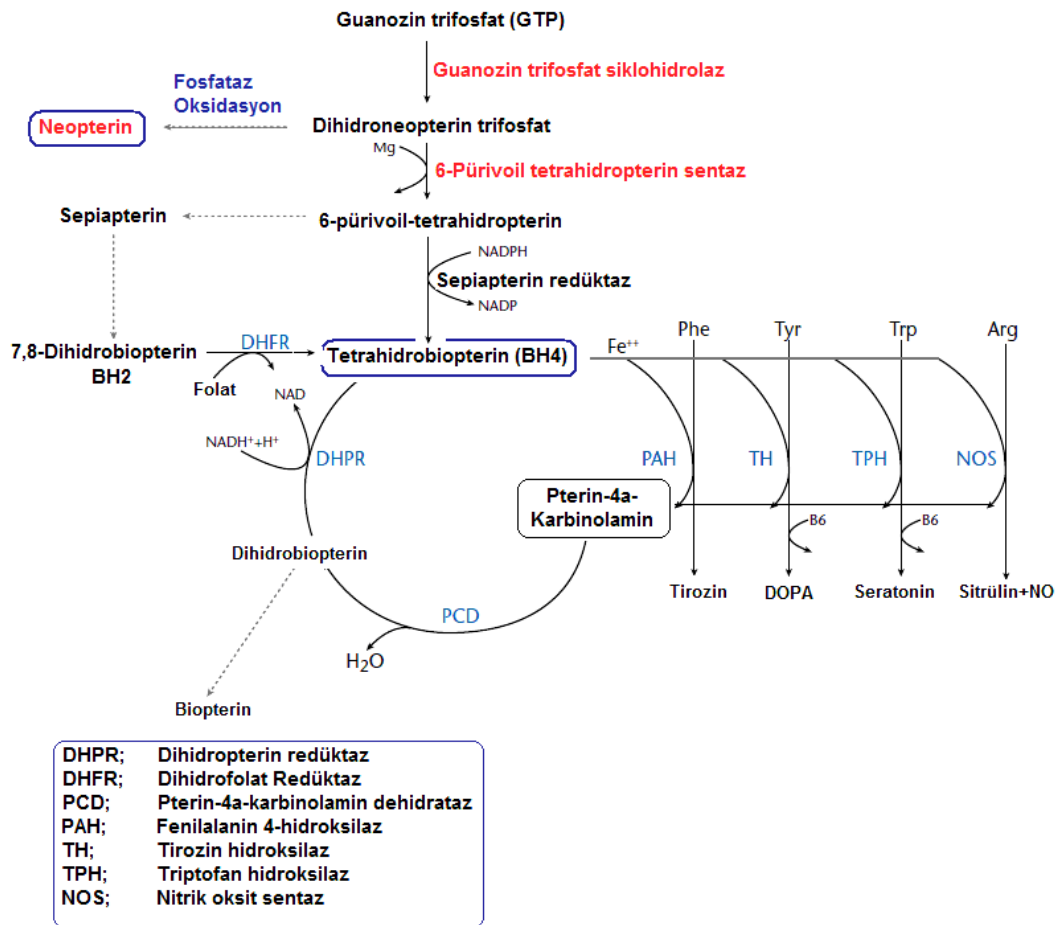
Neopterin, düşük molekül ağırlıklı pteridin yapısında bir moleküldür (Şekil 7). Pteridin sentezinde anahtar enzim olan GTP-Siklohidrolaz I (EC.3.5.4.16), guanozin trifosfattan (GTP) dihidroneopterin trifosfat oluşumunu katalizlemektedir. Oluşan bu araürün, 6-Pürivoil tetrahidropterin sentaz (EC.4.6.1.10) enzimi aracılığıyla tetrahidrobiopterin (H₄B) sentezine yönelmektedir. Birçok hücrede aktif olan GTP-Siklohidrolaz I enzimi H₄B sentezine yönelirken, 6-Pürivoil tetrahidropterin sentaz enziminin monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerde yetersiz olması nedeniyle, bu hücrelerde neopterin sentezine yönelmektedir. GTP-Siklohidrolaz I enzim aktivitesi sonucu oluşan dihidroneopterin trifosfat, fosfatazlarla dihidroneopterin ve oksidasyonla neopterin dönüşmektedir (Şekil 8)^{90,10}.



Neopterin; 2-amino-4-hidroksi-6-(D-eritro-1',2',3'-trihidroksipropil)-pteridin

Şekil 7: Neopterinin Yapısı

GTP-Siklohidrolaz I enzimi, aktif Th1 hücrelerden salınan ve en güçlü indükleyicisi olan IFN- γ dışında, IFN- α , TNF- α , IL-12, endotoksinler, granülosit-makrofaj stimüle edici faktör (GM-CSF) ve liposakkaritler ile stimüle olmaktadır^{91,92}. Oluşan neopterin, TNF- α gen ekspresyonunu stimüle ederek TNF- α sentezini artırarak kendi sentezini de dolaylı olarak artırmaktadır⁹³. 1967 yılında Sakurai ve Goto tarafından idrardan izolasyonundan sonra insanlarda hücrel immün cevabın göstergesi olarak neopterin ilgi artmıştır⁹⁴. Aktif monosit/makrofajlarda yapılan çalışmada neopterin/dihidroneopterin oranı 1:3 olarak belirlenmiştir⁹⁰.



Şekil 8 : Neopterinin Sentezi

Oluşan neopterinin vücut sıvılarına salınması ve değişmeden böbreklerden atılması nedeniyle üretilen IFN- γ 'nın ve dolayısıyla immün aktivite ve inflamasyonun iyi bir göstergesidir. Yapılan çalışmalar neopterin konsantrasyonunun enfeksiyöz hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanser, böbrek yetmezliği, koroner arter hastalıkları ve allograft reddinde arttığını göstermiştir⁹⁵⁻¹⁰⁰.

IFN- γ , GTP-Siklohidrolaz I enzimini indükleyerek neopterin konsantrasyonunu artırırken paralel olarak da triptofan yıkımını artırmaktadır. Triptofan yıkımı ve neopterin oluşumu arasındaki korelasyon in vivo olarak kanser hastalarında⁸¹, HIV enfeksiyonlarında¹⁰¹, in vitro olarak karsinoma hücrelerinde ve normal dermal fibroblastlarda gösterilmiştir¹⁰².

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

L-Kinürenin	(Sigma)
L-Triptofan	(Sigma-Aldrich)
3-Nitro-L-Tirozin	(Sigma)
Triklor Asetik Asit	(Merck)
Asetik Asit	(Merck)
Sodyum Asetat Trihidrat	(Sigma-Aldrich)
Asetonitril (Gradient Grade)	(Sigma)
TNF- α ELISA kit (Lot No:45382067)	(Bender MedSystem)
Neopterin ELISA kit (Lot No: MNPK0901).....	(DRG)
Ultra saf su	

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Hewlett Packard
Floresans Dedektör	Hewlett Packard
Analitik Kolon	Supelcosil LC 18-DB
Analitik Kolon	Develosil ODS-MG-5
Guard Kolon	Supelcosil LC 18-DB
Hassas Terazî	AND GR-200
Vorteks	Vibrolabo
pH Metre	WTW-Inolab
Magnetik Karıştırıcı	Nüve
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex
Yüksek Devirli Soğutmalı Santrifüj	Jouan MR 1822
Derin Dondurucu	Jouan
Otomatik Pipetler (50, 100, 1000 μ l)	Eppendorf
0.45 μ m Membran Filtre	Hewlett Packard

3.3. Çalışmaya Katılan Hasta ve Kontrol Gruplarının Özellikleri

3.3.1. Hasta Grubu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon kliniğinin takibinde olan ARA kriterlerine göre Romatoid Artrit tanısı konulmuş aktif dönem ve tedavi altında olan 32 kişi hasta grubu olarak seçilmiştir.

3.3.2. Kontrol Grubu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon kliniğine gelen yaş ve cinsiyet bakımından hasta grubu ile uygunluk gösteren 20 sağlıklı gönüllüden oluşturulmuştur.

Hasta ve kontrol grubunun özellikleri ve rutin klinik verileri Tablo 1' de verilmiştir.

3.4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden 12 saatlik açlık sonrası sabah alınan kan örnekleri serum elde edilmek üzere 5000xg'de 15 dak. santrifuj edildi. Ayrılan serumlar -70°C'de analize kadar saklandı.

Tablo 1 : Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri ve Rutin Klinik Verileri (Sayısal değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir).

Değişken	Hasta Grubu n=32	Kontrol Grubu n=20
Yaş	58.6±11.1	62.15±13.6
Cinsiyet (%)		
<i>Kadın</i>	84.4	80
<i>Erkek</i>	15.6	20
Hastalık Süresi (yıl)	10.9±8.5	-
İlaç Kullanımı (%)		
Methotrexat	62.5	-
Diğer	37.5	-
C-Reaktif Protein (mg/dL)	15.7±30.4	1.1±1.5
Romatoid Faktör (IU/mL)	217.9±271.7	1±0
Eritrosit Sedimantasyon Hızı (mm/h)	35.5±24.1	13.3±7.4
Total protein (g/L)	7.3±0.4	7.36±0.4
Kreatinin (mg/dL)	0.9±0.2	0.9±0.1
Ürik Asit (mg/dL)	4.0±1.6	4.2±1.7

3.5. Kinürenin Tayini

Serum kinürenin tayini Laich ve Arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır¹⁰³.

3.5.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması

100 µL serum üzerine 100 µL internal standart ilave edildikten sonra proteinleri çöktürmek amacıyla 25 µL Triklor Asetik Asit (TCA, 2mol/L) ilave edilerek vortekslendi. Daha sonra 13000xg'de 10

dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan süpernatant HPLC sistemine enjekte edildi. İnternal standart olarak 3-nitro-L-tirozin'in 100 µmol/L'lık çözeltisi kullanıldı. Serum örneğine ait kromatogram Şekil 9 'da verilmiştir.

3.5.2. Standart Örneklerinin Hazırlanması

Ultra saf suda 1, 2, 3, 5, 6, 7, 10 µmol/L konsantrasyon aralığında kinürenin standartları hazırlandı. Bu standart çözeltilerden 100 µL alınarak üzerine 100 µL internal standart çözeltisi ilave edildikten sonra serum örnekleriyle aynı işlemlere tabii tutuldu. Elde edilen süpernatant HPLC sistemine enjekte edilerek elde edilen değerlerden kalibrasyon grafiği çizildi (Tablo 2 , Şekil 11). 100 µmol/L'lık standart kinürenin çözeltisine ait kromatogram Şekil 10'de verilmiştir.

Kromatografik Koşullar

Kolon: Supelcosil LC 18-DB, (150x4.0 mm ID) (3µm)

Mobil Faz: 15 mmol/L Asetat tamponu (pH 4) : Asetonitril (73:27)

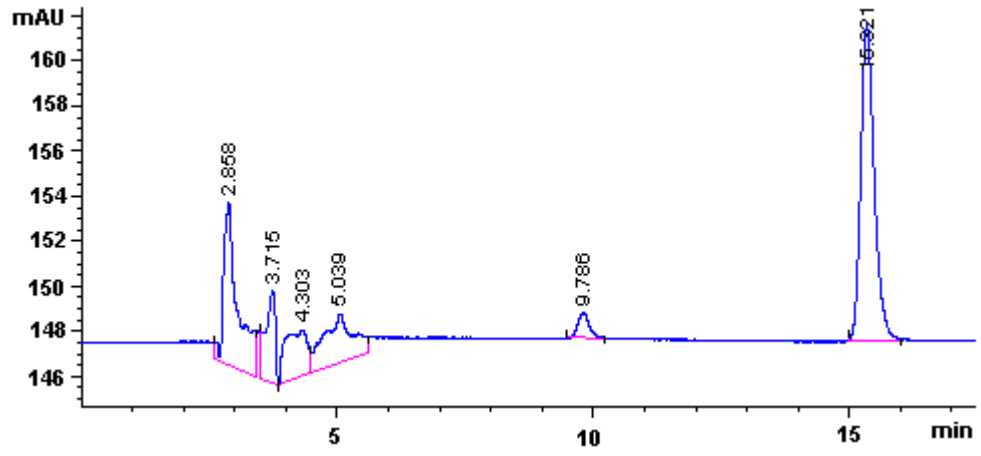
Akış Hızı: 0.8 mL/dak.

Elüsyon: İzokratik

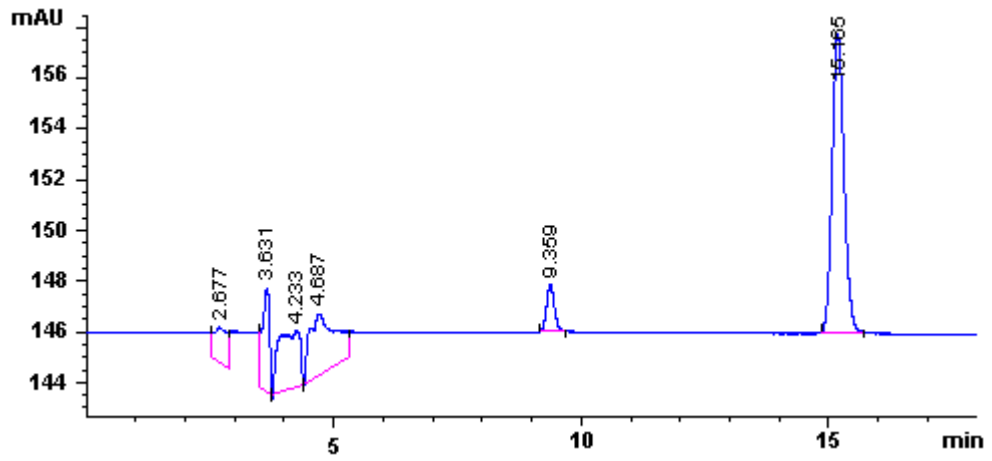
Enjeksiyon Hacmi: 20 µL

Dedektör: UV $\lambda=360$ nm

Alıkonma süresi (Rt): Kinürenin Rt; 9 dak., İnternal Standart Rt; 15 dak.



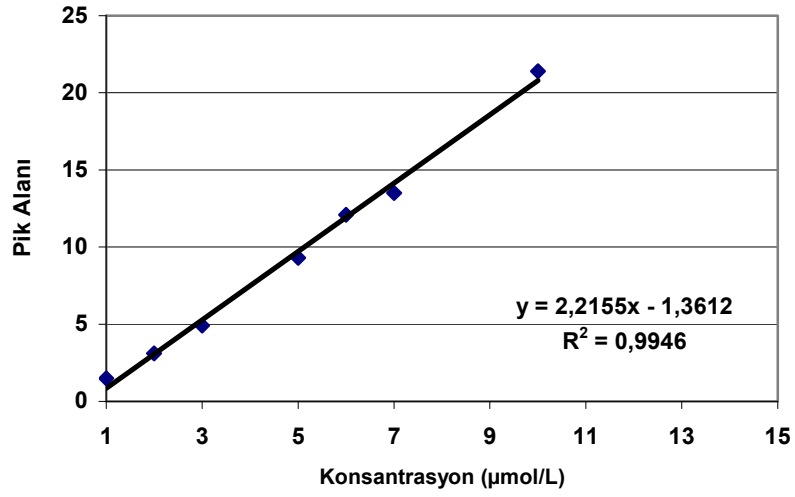
Şekil 9 : Serum (Rt:9.786) ve İnternal Standarta (100µmol/L, Rt:15.321) Ait Kromatogram



Şekil 10 : Kinürenin Standartına (10 µmol/L, Rt:9.359) ve İnternal Standarta (100 µmol/L, Rt:15.165) Ait Kromatogram

Tablo 2: Kinürenin Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen Pik Alanları

Standart Kinürenin Konsantrasyonu (μmol/L)	Pik Alanı
1	1.5
2	3.1
3	4.9
5	9.3
6	12.1
7	13.5
10	21.4



Şekil 11 : Kinürenin Standart Kalibrasyon Grafiği

3.6. Triptofan Tayini

Serum triptofan tayini Laich ve Arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır¹⁰³.

3.6.1. Serum Örneklerinin Hazırlanması

200 µL serum 2 mL'lik ependorf tüplere alındı. Üzerine 25 µL TCA (2mol/L) ilave edilerek vortekslendi. Daha sonra 13000xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan süpernatant HPLC sistemine enjekte edildi. Serum örneğine ait kromatogram Şekil 12'de verilmiştir.

3.6.2. Standart Örneklerinin Hazırlanması

Ultra saf suda 25, 50, 100, 150, 200, 300 µmol/L konsantrasyon aralığında triptofan standartları hazırlandı. Bu standart çözeltilerden 200 µL alınarak serum örnekleriyle aynı işlemlere tabii tutuldu. Elde edilen süpernatant HPLC sistemine enjekte edilerek elde edilen değerlerden kalibrasyon grafiği çizildi (Tablo 3, Şekil 14). 100 µmol/L'lik standart triptofan çözeltisine ait kromatogram Şekil 13'de verilmiştir.

Kromatografik Koşullar

Kolon: Develosil ODS-MG-5 (10x4.6 ID) (5µm)

Mobil Faz: 15 mmol/L Asetat tamponu (pH 4) : Asetonitril (73:27)

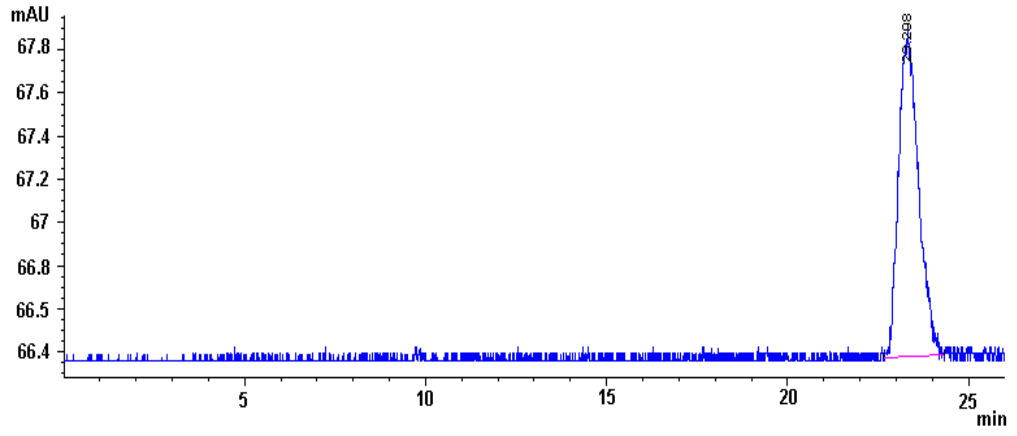
Akış Hızı: 1mL/dak.

Elüsyon: İzokratik

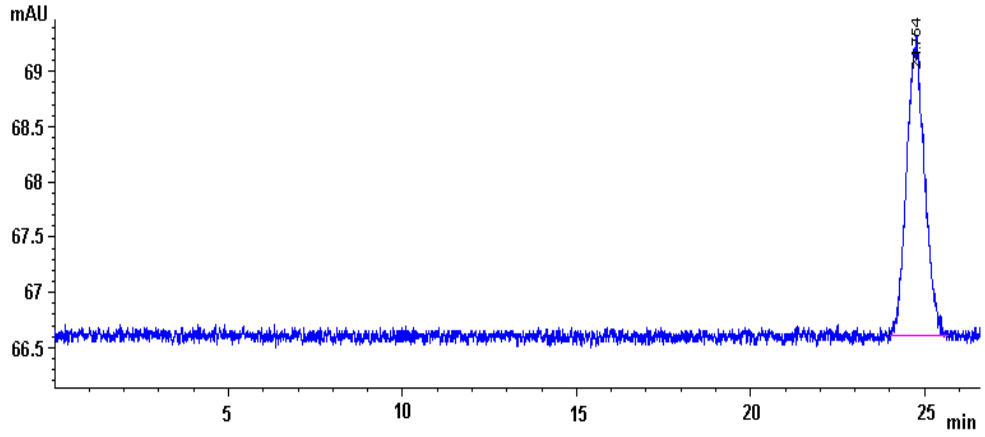
Enjeksiyon Hacmi: 20 µL

Dedektör: Floresans $\lambda_{\text{eksitasyon}}=285 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{emisyon}}=365 \text{ nm}$

Alıkonma süresi (Rt): 24 dak.



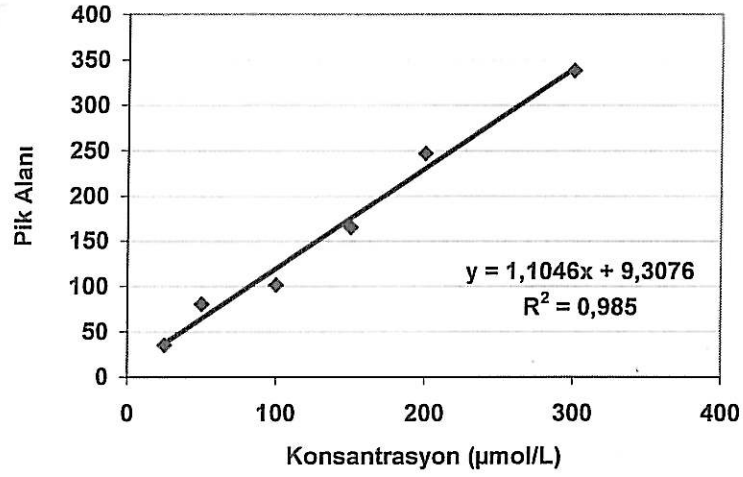
Şekil 12 : Serum Örneğine (50.4 $\mu\text{mol/L}$) Ait Kromatogram



Şekil 13 : Triptofan Standartına (100 $\mu\text{mol/L}$) Ait Kromatogram

Tablo 3: Triptofan Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen Pik Alanları

Standart Triptofan Konsantrasyonu ($\mu\text{mol/L}$)	Pik Alanı
25	35.2
50	80.4
100	101.5
150	165
200	246.8
300	338.2



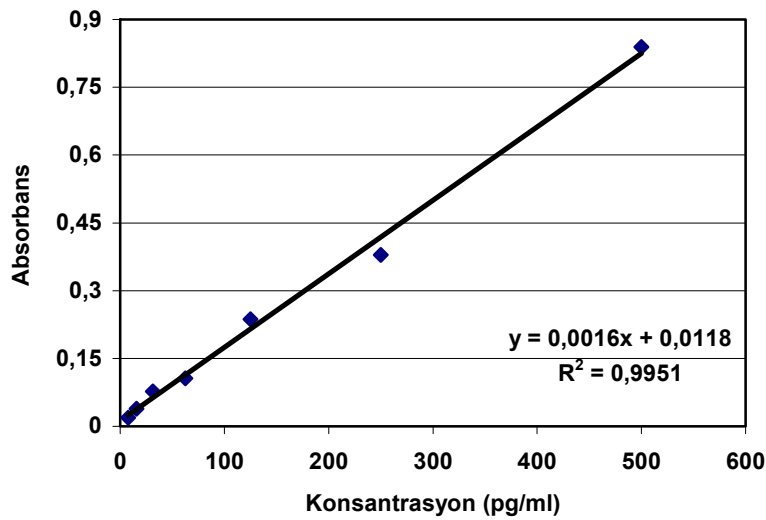
Şekil 14 : Triptofan Standart Kalibrasyon Grafiği

3.7. TNF- α Tayini

Serum TNF- α düzeyleri Bender MedSystem (BMS223INST, Lot Number:45382067) ELISA kiti kullanılarak tayin edildi. TNF- α standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri Tablo 4' de, kalibrasyon grafiği Şekil 15' de verilmiştir. Serum TNF- α konsantrasyonları kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 4 : TNF- α Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen Absorbans Değerleri

Standart TNF- α Konsantrasyonu (pg/ml)	Absorbans
7,8	0.019
15,6	0,039
31,3	0,077
62,5	0,106
125	0,237
250	0,379
500	0,839



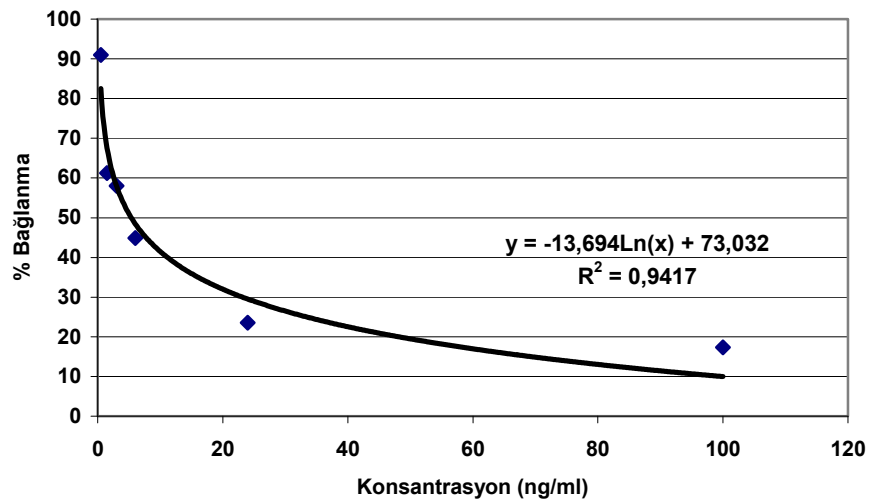
Şekil 15: TNF-Alfa Standart Kalibrasyon Grafiği

3.8. Serum Neopterin Tayini

Serum Neopterin düzeyleri DRG Neopterin ELISA kiti (EIA-1476, Lot Number: MNPK0901) kullanılarak tayin edildi. Neopterin standart konsantrasyonlarına karşılık gelen % bağlanma değerleri Tablo 5’ de, kalibrasyon grafiği Şekil 16’ da verilmiştir. Serum neopterin konsantrasyonları kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 5 : Neopterin Standart Konsantrasyonlarına Karşılık Gelen % Bağlanma Değerleri

Standart Neopterin Konsantrasyonu (ng/mL)	% Bağlanma
0.5	91.00
1.5	61.21
3	58.01
6	44.89
24	23.55
100	17.31



Şekil 16: Neopterin Standart Kalibrasyon Grafiği

3.9. Diğer Parametrelerin Tayini

C-Reaktif protein, romatoid faktör, eritrosit sedimentasyon hızı, total protein, kreatinin ve ürik asit düzeyleri Olympus AU 400 otoanalizörü kullanılarak tayin edilmiştir.

3.10. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma sonucu elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Parametrelerin değerlendirilmesinde, ortalamalar arasındaki anlamlılığın değerlendirilmesi, ikili gruplar için Mann-Whittney *U* testi, çoklu gruplar için Tukey testi ile yapılmıştır. Parametreler arasındaki korelasyon ilişkisi Spearman *Rho* Korelasyon analiziyle değerlendirilmiştir. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Romatoid artrit tanısı almış yaş ortalaması 58.6 ± 11.1 olan 32 hasta (27 kadın, 5 erkek) ve yaş ortalaması 62.15 ± 13.6 olan 20 sağlıklı kişiden (16 kadın, 4 erkek) oluşan kontrol grubunda serum triptofan, kinürenin, neopterin ve $\text{TNF-}\alpha$ düzeyleri ölçüldü. Bu parametrelerde yaş, cinsiyet, hastalık süresi ve ilaç kullanımına bağlı olarak meydana gelen değişikliklerin yanı sıra parametrelerin birbirleriyle ve CRP, RF, ESH ile olası korelasyonları incelendi.

Genel olarak değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubu arasında triptofan, kinürenin, neopterin ve $\text{TNF-}\alpha$ düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). IDO aktivitesinin göstergesi olarak kinürenin/triptofan oranını değerlendirdiğimizde, kinürenin/triptofan oranı hastalarda kontrollere kıyasla daha yüksek olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye ulaşmamıştır ($p > 0.05$). Hastaların ESH, RF ve CRP değerleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo 6).

Değerlendirilen parametreler arasında kontrol grubunda anlamlı bir korelasyon gözlenmezken, romatoid artritli hastalarda yaşla birlikte neopterin ($r = 0.401$, $p < 0.04$), kinürenin/triptofan oranı ($r = 0.435$, $p < 0.02$) ve ESH'da ($r = 0.389$, $p < 0.04$) istatistiksel olarak anlamlı bir artma, triptofan düzeylerinde ise anlamlı bir azalma ($r = -0.445$, $p < 0.02$) görüldü. Romatoid artritli hastalarda, neopterin düzeyleri ile kinürenin ($r = 0.415$, $p < 0.03$) ve ESH ($r = 0.491$, $p = 0.008$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlemlendi (Tablo 7) .

Tablo 6: Hasta ve Kontrol Gruplarında Ölçülen Parametrelerin Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması

	Hasta Grubu (n=32)	Kontrol Grubu (n=20)	
Parametreler	Ortalama±SS.	Ortalama±SS.	p
Kinürenin (μmol/L)	2.7±0.7	2.7± 0.6	0.880
Triptofan (μmol/L)	45.8± 19.9	43.7± 11.4	0.955
Kinürenin/Triptofan (μmol/mol)	73.6± 44.9	61.1± 18.0	0.585
Neopterin (ng/mL)	2.6±2.4	1.7±1.1	0.343
TNF-α (pg/mL)	38.1± 77.1	35.7±52.6	0.717
CRP (mg/dL)	15.7± 30.4	1.1 ±1.5	0.0001
RF (IU/mL)	217.9± 271.7	1.0±0.0	0.0001
ESH (mm/h)	35.5 ±24.1	13.3± 7.4	0.0001

SS; standart sapma

Tablo 7: Romatoid Artritli Hastalarda Parametreler Arasındaki Korelasyonlar

	Hasta Grubu			
	Neopterin	Triptofan	Kinürenin/triptofan	ESH
Yaş	r=0.401 p= 0.031	r=- 0.445 p=0.011	r=0.435 p=0.013	r=0.389 p=0.030
Kinürenin	r=0.415 p=0.025	-	-	-
ESH	r=0.491 p=0.008	-	-	-

Cinsiyete bağılı olarak ölçülen parametrelerin düzeylerinde meydana gelen değişiklikleri incelediğimizde; hasta grubunda kadın erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($p>0.05$), kontrol grubunda kadınlarda kinürenin/triptofan oranı ($p<0.009$), ve CRP ($p<0.03$) düzeyleri erkeklerden anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 8). TNF- α düzeyleri ise kontrol grubundaki erkeklerde kadınlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).

Tablo 8 : Hasta ve Kontrol Gruplarında Parametrelerin Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

		Kadın n=27	Erkek n=5	p
Hasta	Kinürenin ($\mu\text{mol/L}$)	2.7 $\pm$ 0.7	3.1 $\pm$ 0.8	0.183
	Triptofan ($\mu\text{mol/L}$)	46.5 $\pm$ 21.1	42.3 $\pm$ 12.2	0.920
	Kinürenin/Triptofan ($\mu\text{mol/mol}$)	72.5 $\pm$ 47.3	79.2 $\pm$ 32.4	0.545
	Neopterin (ng/mL)	2.7 $\pm$ 2.4	2.1 $\pm$ 2.5	0.352
	TNF α (pg/mL)	41.3 $\pm$ 84.1	21.9 $\pm$ 15.6	0.706
	CRP (mg/dL)	10.9 $\pm$ 13.7	41.4 $\pm$ 70.4	0.166
	RF (IU/mL)	226.4 $\pm$ 289.7	176.0 $\pm$ 178.0	0.911
	ESH (mm/h)	37.1 $\pm$ 24.3	27.6 $\pm$ 23.4	0.548
		n=16	n=4	
Kontrol	Kinürenin ($\mu\text{mol/L}$)	2.7 $\pm$ 0.6	2.4 $\pm$ 0.7	0.554
	Triptofan ($\mu\text{mol/L}$)	43.3 $\pm$ 9.0	45.1 $\pm$ 20.4	0.494
	Kinürenin/Triptofan ($\mu\text{mol/mol}$)	64.9 $\pm$ 17.0	41.0 $\pm$ 4.2	0.008
	Neopterin (ng/mL)	1.6 $\pm$ 1.0	2.2 $\pm$ 1.6	0.411
	TNF α (pg/mL)	18.8 $\pm$ 17.0	94.6 $\pm$ 92.1	0.046
	CRP (mg/dL)	1.3 $\pm$ 1.6	0.3 $\pm$ 0.1	0.021
	RF (IU/mL)	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	1.00
	ESH (mm/h)	13.9 $\pm$ 7.2	10.7 $\pm$ 8.6	0.494

Romatoid artritli kadınlarda yaşla birlikte triptofan düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($r=-0,455$, $p<0.02$) paralel olarak kinürenin/triptofan oranında anlamlı artma ($r=0,447$, $p<0.02$) gözlenirken erkeklerde değerlendirilen parametrelerle yaş arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmedi. Romatoid artritli erkeklerde hastalık süresi arttıkça triptofan düzeylerinde azalma ($r=-0,975$, $p<0.006$), ESH arttıkça Kinürenin/triptofan oranında anlamlı bir artma ($r=0,900$, $p<0.04$) gözlendi (Tablo 9).

Tablo 9: Hasta Grubunda Kadın ve Erkeklerde Parametrelerin Korelasyonları

Hasta Grubu	Kadın, n=27	Erkek, n=5	
	Yaş	Hastalık süresi	ESH
Triptofan	$r= -0.455$ $p=0.017$	$r= -0.975$ $p=0.005$	-
Kinürenin/triptofan	$r=0.447$ $p=0.019$	-	$r=0.900$ $p=0.037$

Kontrol grubunda; kadınlarda $TNF-\alpha$ düzeylerindeki artışa bağlı olarak kinürenin/triptofan düzeylerinde azalma ($p<0.003$), triptofan düzeylerinde artma ($p<0.005$) gözlenirken, erkeklerde ise neopterin, CRP ve ESH düzeylerindeki artışa bağlı olarak kinürenin/triptofan oranında anlamlı artma ($p<0.0001$), ESH'daki artışa bağlı olarak neopterin düzeylerinde anlamlı bir artma gözlendi ($p<0.0001$) (Tablo 10).

Tablo 10 : Kontrol Grubunda Kadın ve Erkeklerde Parametrelerin Korelasyonları

Kontrol Grubu	Kadın, n=16		Erkek, n=4		
	TNF- α		Neopterin	CRP	ESH
Kinürenin/triptofan	r= -0.752 p=0.002		r=1.000 p=0.0001	r=1.000 p=0.0001	r=1,000 p=0.0001
Triptofan	r= 0.717 p=0.004		-	-	-
Neopterin	-		-	-	r=1.000 p=0.0001

Romatoid artritli hasta grubu hastalık süresine göre 1-5 yıl arası ve 5 yılın üzerinde olmak üzere iki gruba ayrılıp parametreler değerlendirildiğinde 5 yılın üzerindeki grupta neopterin ve RF değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.02$) (Tablo 11).

Tablo 11 : Hasta Grubunda Parametrelerin Hastalık Süresine Göre Karşılaştırılması

		Hastalık Süresi ≤ 5 n=10	Hastalık Süresi > 5 n=22	p
Hasta n=32	Kinürenin ($\mu\text{mol/L}$)	2.7 $\pm$ 0.7	2.7 $\pm$ 0.8	0.764
	Triptofan ($\mu\text{mol/L}$)	41.9 $\pm$ 11.2	47.6 $\pm$ 22.9	0.795
	Kinürenin/Triptofan ($\mu\text{mol/mol}$)	69.1 $\pm$ 24.2	75.9 $\pm$ 52.2	0.589
	Neopterin (ng/mL)	1.7 $\pm$ 1.1	3.1 $\pm$ 2.6	0.044
	TNF α (pg/mL)	17.6 $\pm$ 14.4	48.4 $\pm$ 92.9	0.681
	CRP (mg/dL)	12.8 $\pm$ 18.0	16.9 $\pm$ 34.9	0.952
	RF (IU/mL)	72.6 $\pm$ 129.6	277.9 $\pm$ 294.6	0.013
	ESH (mm/h)	34.0 $\pm$ 25.9	36.2 $\pm$ 23.8	0.983

Hastalık süresi 5 yılın altında olan romatoid artritli hastalarda neopterin ile ESH arasında anlamlı pozitif korelasyon ($r=0,717$, $p<0.04$), hastalık süresi 5 yılın üzerinde olan romatoid artritli hastalarda neopterin düzeyleri ile hem kinürenin ($r=0,537$, $p<0.02$) hem de ESH ($r=0,495$, $p<0.03$) arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu (Tablo 12).

Tablo 12 : Hasta Grubunda Hastalık Süresine Göre Parametrelerin Korelasyonları

Hasta Grubu n=32	Hastalık Süresi ≤ 5 n=10		Hastalık Süresi >5 n=10
	ESH		Kinürenin
Neopterin	$r=0.717$ $p=0.03$		$r=0.537$ $p=0.015$
			ESH
			$r=0.495$ $p=0.027$

Romatoid artritli hastalar ilaç kullanımına göre metotreksat kullananlar ve diğer ilaçları kullananlar olmak üzere iki gruba ayrıldığında; CRP ve RF düzeyleri metotreksat grubunda anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0.05$), diğer parametreler bakımından iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 13).

Tablo 13 : Hasta Grubunda Parametrelerin İlaç Kullanımına Göre Karşılaştırılması

		Metotreksat n=20	Diğer ilaçlar n=12	p
Hasta n=32	Kinürenin ($\mu\text{mol/L}$)	2.9 $\pm$ 0.8	2.5 $\pm$ 0.5	0.477
	Triptofan ($\mu\text{mol/L}$)	49.4 $\pm$ 20.1	39.7 $\pm$ 18.9	0.239
	Kinürenin/Triptofan ($\mu\text{mol/mol}$)	68.7 $\pm$ 38.0	81.6 $\pm$ 55.6	0.552
	Neopterin (ng/mL)	3.1 $\pm$ 2.8	1.8 $\pm$ 1.2	0.340
	TNF α (pg/mL)	53.6 $\pm$ 96.8	14.9 $\pm$ 13.6	0.200
	CRP (mg/dL)	21.5 $\pm$ 37.3	5.8 $\pm$ 6.3	0.050
	RF (IU/mL)	275.8 $\pm$ 296.6	77.7 $\pm$ 126.6	0.047
	ESH (mm/h)	37.7 $\pm$ 27.5	31.5 $\pm$ 16.3	0.951

Metotreksat kullananlarda neopterin düzeyleri ile kinürenin ($r=0,511$, $p<0.04$), kinürenin/triptofan oranı ($r=0,505$, $p<0.04$) ve ESH ($r=0,537$, $p<0.03$) arasında anlamlı pozitif korelasyonlar gözlenirken, diğer ilaçları kullanan hasta grubunda değerlendirilen parametreler arasında anlamlı korelasyonlar gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14: Hasta Grubunda Metotreksat Kullananlarda Parametrelerin Korelasyonları

	Metotreksat Kullananlar n=20		
	Kinürenin	Kinürenin/triptofan	ESH
Neopterin	$r=0.511$ $p=0.030$	$r=0.505$ $p=0.033$	$r=0.537$ $p=0.022$

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Romatoid artrit sistemik, inflamatuvar, otoimmün bir hastalıktır. İnflamatuvar hastalıkların en yaygın şekli olup dünya genelindeki prevalansı % 1 civarındadır. Kadınlarda erkeklerden daha yüksek oranda gözlenen romatoid artrit, hareket kaybı, üretkenlik kaybı ve tedavi masrafları yönünden önemli sosyal etkilere sahiptir¹¹. Romatoid artrit etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, hastalığın gelişiminde genetik ve genetik olmayan faktörlerin etkileşiminin etkili olduğu ve otoimmün mekanizmaları başlattığı düşünülmektedir³.

Romatoid artrit inflamasyonunda fibroblast, makrofaj, dendritik hücreler, mast hücreleri ve endotelyal hücreler gibi sinovyal hücrelerin yanı sıra kan dolaşımındaki B lenfositler de rol oynarken, lokal olarak üretilen TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlamasında ve devamlılığında etkilidirler⁷.

Proteinlerin biyosentezinde görev alan esansiyel bir aminoasit olan triptofan vücutta iki önemli yolağın substratı konumundadır. Birinci yolda triptofan 5-hidroksilaz enzimi aracılığı ile nörotransmitter olan serotonin oluşurken, ikinci yolda ise kinürenin türevlerinin ve nikotinamid adenin dinükleotidlerinin oluşumu görülmektedir. İkinci yolağın başlatıcı enzimleri TDO ve IDO' dur. TDO karaciğer hücrelerinde yerleşmiş iken IDO monosit türevi makrofajlar ve dendritik hücreleri içeren çeşitli hücrelerde eksprese edilip çoğunlukla Th1 tipi sitokin olan interferon- γ tarafından indüklenmektedir⁹.

İnterferon- γ aynı zamanda insan monosit ve makrofajlarını uyarak büyük miktarlarda neopterin salınımına yol açmaktadır. Allograft reddi, virüs enfeksiyonları, otoimmün hastalıklar ya da malign tümörler gibi aktif hücresel (Th1 tipi) immün yanıtın bulunduğu hastalıkların yanı sıra

hamilelik ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda, vücut sıvılarının içerdiği neopterin konsantrasyonlarında bir artış gözlenmektedir⁸⁹.

İnterferon- γ 'nın hem monosit ve makrofajlardan neopterin salınımını uyarması hem de triptofanın, kinürenin yolağı vasıtasıyla yıkılımını sağlayan IDO'yu indüklemesi nedeniyle hücrel immün aktivasyonun eşlik ettiği hastalıklarda artmış neopterin oluşumuna paralel olarak artmış triptofan yıkımı görülmektedir. Neopterin konsantrasyonlarının ölçümü ve kyn/trp oranının tayini immün aktivasyonun derecesinin hassas bir şekilde belirlenmesine olanak tanımaktadır.

Romatoid artritli hastaların idrarında kinürenin yolağı ile ilgili triptofan metabolitlerinin arttığının gösterilmesinden sonra¹⁰⁴ triptofan metabolizması, kinürenin yolağı ve TDO enzimi ile ilgili çalışmalar artmış, gelişen analiz tekniklerinin serum triptofan ve metabolitlerinin plazmada ölçümüne imkan sağlamasıyla hızlanmıştır.

Shimamura ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada RA'lı hastalarda serum triptofan düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ve osteoartritli hastalarla karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmezken, sinovyal sıvı triptofan ve kinürenin düzeyleri RA'lı hastalarda osteoartritli hastalardan daha yüksek bulunmuştur¹⁰⁵.

Yaptığımız çalışmada genel olarak hasta ve kontrol grubu arasında triptofan, kinürenin, neopterin ve TNF- α düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ancak IDO aktivasyonunun göstergesi olan kyn/trp oranı, hastalarda kontrollere kıyasla daha yüksek olmakla birlikte bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye ulaşmamıştır.

İn vitro olarak, antijenle aktive olmuş T lenfositlerden salınan IFN- γ ile makrofajlarda neopterin salınımının uyarıldığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu neopterin, proinflamatuvar immunosellüler sistemin aktivitesini yansıtan biyokimyasal bir belirteç olarak kabul edilmiştir. Hücrel immün cevaptaki spesifik rolü hala bilinmemekle birlikte biopterin sentezindeki tek ara ürün olan neopterin, inflamasyonlu sinovya, mononükleer hücrelerin birikmesine bağlı olarak salınmaktadır^{106,107}.

Hagihara ve arkadaşları tarafından RA'lı ve sistemik lupus eritematosus'lu hastalar ile osteoartritli kontrollerde yapılan çalışmada; serum neopterin konsantrasyonları RA'lı hastalarda kontrollere kıyasla anlamlı bir farklılık göstermezken, RA'lı hastaların sinovyal sıvı neopterin düzeylerinin osteoartritli kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gösterilmiştir. Serum düzeylerinden daha yüksek sinovyal sıvı neopterin düzeylerinin gözlenmesi, inflamasyonlu bölgede stimüle olmuş makrofajlardan kaynaklanan, neopterinin lokal üretimini yansıttığı ve neopterinin T hücre aktivasyonunun da göstergesi olduğu şeklinde açıklanmıştır¹⁰⁸.

Benzer şekilde RA'lı hastaların idrar neopterin düzeyleri hastalık aktivitesi ve evresiyle ilişkili bulunmuştur¹⁰⁹. Hannonen ve Arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise neopterin düzeylerinin kreatinine oranlanmasıyla elde edilen neopterin indeksinin, RA aktivitesini tayin etmede CRP'ye eşdeğer bir gösterge olduğu, aktif dönemdeki RA'lı hastalarda neopterin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir¹¹⁰.

Çalışmamızda romatoid artritli hastalarda neopterin ile kinürenin ve ESH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonların bulunması aktif hücrel -Th1 tipi- immün yanıtın ve sistemik bir inflamasyonun varlığını doğrulamaktadır. Ayrıca kontrol

grubunda değerlendirilen parametreler arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmezken, romatoid artritli hastalarda literatürle uyumlu olarak yaşla birlikte neopterin, kyn/trp oranı ve ESH'da istatistiksel olarak anlamlı bir artma, triptofan düzeylerinde ise anlamlı bir azalma olduğu görölmüştür.

Epidemiyolojik çalışmalar, yaşlanmayla immünolojik ve hormonal cevapta meydana gelen değişikliklere bağlı olarak RA prevalansının her iki cinsiyette de arttığını, farklı yaş grubundaki RA patolojisinde farklı immunoregülatuar mekanizmaların rol oynadığını göstermektedir. Yaşlanma süreci, T-hücre proliferasyonu ve antikor oluşumundaki azalma ve proinflamatuvar sitokin oluşumundaki artmayla ilişkilidir¹¹¹. Straub ve Arkadaşları IL-6 oluşumundaki artışın dehidroepiandrosteron ve androstenedion sekresyonundaki azalma nedeniyle olduğunu göstermiřlerdir¹¹².

Östrojenler hüморal immüniteyi artıran faktörlerken, androjenler ve progesteron doğal immün baskılayıcılardır. RA'lı hastalarda, özellikle premenapozlu kadınlarda ve erkeklerde, cinsiyet hormonu konsantrasyonlarının değiştiği, gonadal ve adrenal androjenler ile androjen:östrojen oranının vücut sıvılarında düşük düzeyde olduğu bildirilmiřtir¹¹³.

Yaptığımız çalışmada romatoid artritli kadınlarda yaşla birlikte triptofan düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, paralel olarak kyn/trp oranında anlamlı bir artma gözlenmiştir. Gerek romatoid artritte ve gerekse yaşlanma ile birlikteIDO aktivitesindeki artışın sonucu olarak kinürenin/triptofan oranında bir artma ve buna bağlı olarak triptofan seviyelerinde bir azalma görölmektedir. Bu açıdan bakıldığında çalışmamızda romatoid artritli kadınların yaşla birlikte triptofan seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşün ve buna bağlı olarak kyn/trp oranındaki anlamlı bir artmanın görölmesi normal olarak kabul

edilebilir. Romatoid artritli erkeklerde değerlendirilen parametreler ile yaş arasında böyle anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir. Ancak romatoid artritli erkeklerde hastalık süresi arttıķa triptofan düzeylerinde azalma, ESH artıķa kyn/trp oranında anlamlı bir artma gözlenmiştir.

Frick ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bir çalışmada yaşlanma ile neopterin, homosistein ve kinürenin/triptofan oranları arasındaki değişimi incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda yaşlanma ile birlikte neopterin seviyeleri ve kyn/trp oranında bir artış, triptofan seviyesinde ise bir azalma tespit etmişlerdir. Ayrıca neopterin seviyesi ve kyn/trp oranı arasında pozitif bir korelasyon olduğu grlmştr. Yine aynı çalışmada bireyler cinsiyetlerine göre iki gruba ayrıldığında kadınlarda erkeklere nazaran daha düşük olmak üzere aynı güçlü korelasyonların bulunduğu tespit edilmiřtir¹¹⁴.

Ölçülen parametre değerleri cinsiyete bağlı olarak incelendiğinde çalışmamızda; hasta gurubunda kadınlara ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken, kontrol grubundaki kadınlarda kyn/trp oranı ve CRP düzeylerinin erkeklerden anlamlı derecede yüksek bulunduğu grlmektedir. Bu durum kontrol grubundaki kadınlarda erkeklere oranla IDO aktivasyonunun ve sistemik inflamasyonun daha yüksek olduğunun işareti olarak kabul edilebilir. Erkeklerde ise TNF- α düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Romatoid artritli tedavi gören hastaların değerlendirilmesinde sistemik sitokin ölçümünün klinik kullanılabilirliğine yönelik yapılan çalışmada sitokin düzeylerinde çok az değişiklik gözlenirken, CRP düzeyleri hastalığın aktivitesini takipte efektif parametre olarak bulunmuştur. Bu alışmada DMARD tedavisinin başlangıcından sonra idrar neopterin düzeylerinde yükselme gzlenmiřtir¹¹⁵. TNF- α düzeyleri bazı hastalarda hastalık aktivitesiyle korele bulunurken bazı hastalarda bu

korelasyon gözlenmemiş, sitokin düzeylerinin izlenmesinin rutin klinik takipte yeterli olamayacağı bildirilmiştir¹¹⁶.

Otoreaktif T lenfositlerin ve monositlerin etkileşimi TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin fazla miktarda üretilmesine yol açmaktadır. Oluşan bu sitokinler inflamasyonlu dokuda adezyon moleküllerinin ekspresyonundaki artma ve lökosit göçünü tetiklemektedir. Sadece inflamasyonlu eklemden değil aynı zamanda RA'lı hasta serumunda da neopterin ve çözünür sitokin reseptör düzeylerinin arttığı görülmüştür. RA'lı hastalarda neopterin konsantrasyonundaki artışa paralel olarak triptofan yıkımında da artış gösterilmiştir. RA'lı hastalarda neopterin düzeyleri ile kyn/trp oranı arasında anlamlı korelasyon gözlenmiştir^{117,118}.

Romatoid faktör (RF), immünglobülin M'nin Fc kısmına karşı oluşmuş otoantikorlardır. Rutinde RA için kullanılan en önemli otoantikor olmakla birlikte, RF pozitifliği sadece RA hastalığına özgü değildir. Artmış B hücre aktivasyonu ve poliklonal hipergamaglobülinemi ile seyreden çeşitli enfeksiyöz ve otoimmün hastalıklarda ve bazı B hücre lenfoproliferatif hastalıklarında da RF pozitifliği görülebilmektedir. Normal sağlıklı bireylerde dahi % 2-4 sıklığında RF pozitifliği görülebilirken yaştan ilerlemesi ile birlikte bu oran artar ve yetmişli yaşlarda % 10'lara ulaşmaktadır. RF pozitifliği hastalığın seyrinin şiddetli olacağı, eklem dışı tutulumun olabileceği ve prognozun kötü olabileceğinin işareti olarak kabul edilebilir. Hastalığın ilk iki yılında RF titresini hastalık aktivitesi ile uyumlu değilken ilerlemiş RA'lı hastaların % 70-80'inde RF pozitifliği görülebilmektedir¹¹⁹. Çalışmamızda aktif dönemdeki hastaların klinik bulgularıyla uyumlu olarak anlamlı derecede yüksek RF değerleri gözlenmiş ancak kyn/trp oranıyla değerlendirdiğimizIDO aktivitesi, neopterin ve TNF- α düzeyleriyle RF arasında anlamlı korelasyonlar gözlenmemiştir.

Vücutta sebebi her ne olursa olsun sistemik bir inflamasyon geliştiğinde proinflamatuvar sitokinlerin etkisi ile karaciğerden akut faz proteinleri olarak bilinen C-Reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A gibi çeşitli proteinler sentezlenerek dolaşıma salınmaktadır. Akut faz proteinleri herhangi bir patolojiye özgü olmayan ve inflamasyon derecesini yansıtan göstergelerdir. Akut faz proteinlerinin serum seviyelerinin yüksekliği RA şüphesi bulunan bir hastada tanı koymayı desteklerken, RA tanısı kesinleşmiş bir hastada ise hastalık aktivitesi ve uygulanan tedavinin sonuçlarını yansıtmaktadır. Rutin uygulamalarda en sık bakılan pozitif akut faz proteini CRP olup hastanın yaş ve cinsiyetinden etkilenmemektedir¹¹⁹.

Eritrosit Sedimantasyon Hızı (ESH) başta fibrinojen ve globulinler olmak üzere bazı akut faz proteinlerindeki artışı yansıtan bir testtir⁷. ESH akut faz proteinlerinin artışına bağlı olarak inflamasyonun şiddetini dolaylı olarak yansıtmakta ve yaşla birlikte ESH değerleri artmaktadır. Yaklaşık olarak erkeklerde yaşı'nın yarısı kadar, kadınlarda ise yaşa 10 eklenerek bulunan rakamın yarısı kadar değerler, normal kabul edilmektedir¹¹⁹.

Çalışmamızda hasta grubunda CRP ve ESH değerleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hasta grubunda CRP, RF ve ESH değerlerinin anlamlı derecede yüksek bulunması ve ayrıca yine hasta grubunda anlamlı bir değere ulaşmamış olsa da kyn/trp oranının kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması sistemik bir inflamasyonun varlığını doğrulamaktadır.

Çalışmamız esnasında kontrol grubundaki kadınlarda TNF- α düzeylerindeki artışa bağlı olarak kinürenin/triptofan oranlarında azalma, triptofan düzeylerinde ise bir artma gözlenmiş olup bu durum literatür bilgileri ile uyumlu değildir. Normalde TNF- α artışına bağlı olarak kyn/trp oranında bir artış ve triptofan seviyelerinde ise bir azalma görülmesi

beklenirdi. Kontrol grubundaki erkeklerde ise literatür bilgileri ile uyumlu olarak neopterin, CRP ve ESH düzeylerindeki artışa bağlı olarak kyn/trp oranında anlamlı bir artma ve ESH seviyelerindeki artışa bağlı olarak neopterin düzeylerinde anlamlı bir artış görülmüştür.

Romatoid artrit hastalığının ilk yıllarında RF titresi hastalık aktivitesi ile uyumlu değilken ilerlemiş romatoid artritli hastaların % 70-80'inde RF pozitifliği görülebilmektedir. Ayrıca otoimmün hastalıklarda hastalık aktivitesi ile paralel olarak artmış neopterin seviyeleri görülmektedir. Çalışmamızda da romatoid artritli hasta grubu hastalık süresine göre 1-5 yıl arası ve 5 yılın üzerinde olmak üzere iki gruba ayrılıp parametreler değerlendirildiğinde 5 yılın üzerindeki grupta neopterin ve RF değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca hastalık süresi 5 yılın altında olan romatoid artritli hastalarda neopterin ile ESH arasında anlamlı pozitif korelasyon, hastalık süresi 5 yılın üzerinde olan romatoid artritli hastalarda neopterin düzeyleri ile hem kinürenin hem de ESH arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir.

Forrest ve Arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, triptofan düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu RA'lı hastalar, altı ay süreyle metotreksat veya prednizolon ile tedavi edildikten sonra anlamlı terapötik cevap alınmış, metotreksat tedavisi uygulananlarda neopterin düzeylerinde azalma eğilimi izlenirken triptofan metabolitlerinde bir değişiklik gözlenmemiştir ¹²⁰.

Çalışmamızda romatoid artritli hastalar ilaç kullanımına göre metotreksat kullananlar ve diğer ilaçları kullananlar olmak üzere iki gruba ayrıldığında; CRP ve RF düzeyleri metotreksat grubunda anlamlı derecede yüksek bulunurken, diğer parametreler bakımından iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Metotreksat kullananlarda neopterin düzeyleri ile kinürenin, kyn/trp oranı ve ESH arasında anlamlı pozitif

korelasyonlar gözlenirken, diğer ilaçları kullanan hasta grubunda değerlendirilen parametreler arasında anlamlı korelasyonlar gözlenmemiştir.

Çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz veriler; romatoid artritte immün aktivasyona bağlı olarak triptofan yıkımının ve IDO aktivitesinin indüklendiğini, metotreksat kullanımıyla inflamasyonun ve immün aktivitenin baskılanmakla birlikte devam ettiğini göstermektedir. Hastalığın prognoz ve tedavi sürecinin değerlendirmesinde kinürenin/triptofan oranının ve neopterin düzeylerinin izlenmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

6. ÖZET

Romatoid artrit etiyolojisi tam olarak bilinmeyen, sistemik, inflamatuvar, otoimmün bir hastalık olup hafiften şiddetliye doğru seyreden farklı klinik görünüm sergilemektedir. İmmün aktivasyona ve inflamasyona bağlı olarak IFN- γ ve TNF- α düzeylerindeki artış İndolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzim ekspresyonunu artırırken, monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerde neopterin sentezini de artmaktadır.

Bu çalışmada ARA kriterlerine göre romatoid artrit tanısı almış 32 hasta ve 20 sağlıklı kişide HPLC ile serum triptofan ve kinürenin düzeyleri, ELISA yöntemiyle serum neopterin ve TNF- α düzeyleri ölçüldü. Triptofan yıkımının ve indolamin 2,3-dioksijenaz enzim aktivitesinin göstergesi olarak kinürenin/triptofan oranı değerlendirildi. Yaş, cinsiyet, hastalık süresi ve metotreksat tedavisinin ölçülen parametreler üzerine etkisi incelendi.

Serum triptofan, kinürenin, neopterin ve TNF- α düzeyleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Romatoid artritli hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla CRP, ESR ve RF düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0.001$) IDO aktivitesi hastalarda yüksek olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı ($p>0.05$). Romatoid artritli hastalarda yaşla birlikte neopterin ($r=0.401$, $p<0.04$) ve IDO aktivitesinde artış gözlemlendi ($r=0.435$, $p<0.02$). Hastalık süresi 5 yılın altında olan hastalara kıyasla, 5 yılın üzerinde hastalık süresine sahip hastalarda neopterin düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0.05$), bu hastalarda neopterin düzeyleri kinürenin ($r=0.537$, $p<0.02$) ve ESR ($r=0.495$, $p<0.03$) ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdi.

Metotreksat tedavisi alan ve almayan hastalar arasında değerlendirilen parametrelerin düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken, metotreksat tedavisi uygulanan grupta neopterin düzeyleri kinürenin düzeyleri ($r=0.511$, $p<0.03$) ve IDO aktivitesiyle ($r=0.505$, $p<0.04$) anlamlı pozitif korelasyon gösterdi.

7. SUMMARY

RA is a systemic, inflammatory, autoimmune disease with completely unknown etiology. It's clinical symptoms can be observed in different ways ranging from mild to severe symptoms. The increase in IFN- γ and TNF- α levels depending on immune activation and inflammation, increases both expression of indolamine 2,3-dioxygenase and neopterin synthesis in monocytes, macrophages and dendritic cells.

In this study, we measured the levels of tryptophan and kynurenine by using HPLC technique, and the levels of serum neopterin and TNF- α by using ELISA technique in 32 patients diagnosed as RA based on ARA criteria and 20 healthy subjects. The ratio of kynurenine to tryptophan is evaluated as a measure of tryptophan degradation and indolamine 2,3-dioxygenase enzyme activity. We evaluated the effects of age, gender, duration of disease and methotrexat treatment on the measured parameters.

There was no significant difference between the patient and healthy subjects in terms of serum tryptophan, kynurenine, neopterin and TNF- α levels ($p>0.05$). The CRP, ESR and RF levels of patients with rheumatoid arthritis were higher than those of healthy subjects ($p<0.001$). In spite of higher values in RA patients, IDO activity did not reach significant level ($p>0.05$). It was observed increase in neopterin levels and IDO activity with age in RA patients ($r=0.401$ $p<0.04$ for neopterin and $r=0.435$ $p<0.02$ for IDO activity). Compared with patients having rheumatoid arthritis less than 5 years, patients having rheumatoid arthritis for more than 5 years had significantly higher neopterin levels ($p<0.05$) and these levels positively correlated with kynurenine ($r=0.537$ $p<0.02$) and ESR ($r=0.495$ $p<0.03$).

There was no statistically significant difference between the patients treated with methotrexat and without methotrexat in terms of measured parameters, but neopterin levels positively correlated with kynurenine levels and IDO activity in patients treated with methotrexat ($r=0.511$, $p<0.03$ for kynurenine and $r=0.505$, $p<0.04$ for IDO Activity).

8. KAYNAKLAR

1. Murdoch R, Madhok R. Rheumatoid arthritis in recession. *J Rheumatol* 2009; 36: 1353–4.
2. Ferucci ED, Templin DW, Lanier AP. RA in American Indians and Alaskan natives: a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34: 662-7.
3. Paleolog EM. The vasculature in rheumatoid arthritis: cause or consequence? *Int J Exp Path* 2009; 90: 249–61.
4. Lequerre T, Bansard C, Vittecoq O, Derambure C, Hiron M, Daveau M, et al. Early and long-standing rheumatoid arthritis: distinct molecular signatures identified by gene-expression profiling in synovia. *Arthritis Res & Ther* 2009; 11(3): R99.
5. Kaplan MJ. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 289–97.
6. Sihvonen S, Korpela M, Laippala P, Mustonen J, Pasternack A. Death rates and causes of death in patients with rheumatoid arthritis: a population-based study. *Scand J Rheumatol* 2004; 33: 221–7.
7. Arend WP. Physiology of cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Arth Rheum* 2001; 45: 101-6.
8. Chen Y, Guillemin GJ. Kynurenine pathway metabolites in humans: Disease and healthy states. *Int J of Tryptophan Res* 2009; 2: 1-19.
9. Schröcksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clinica Chim Acta* 2006; 364: 82-90.
10. Hamerlinck E F V. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999; 8: 167-76.
11. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid Arthritis. *Lancet* 2001; 358: 903-11.
12. Moreland LW, Curtis JR. Systemic nonarticular manifestations of rheumatoid arthritis: focus on inflammatory mechanisms. *Semin Arthritis Rheum*. 2008; Nov 18: 1-12 Article in Pres.

13. Deodhar AA, Woolf AD. Bone mass measurement and bone metabolism in rheumatoid arthritis: a review. *Br J Rheumatol* 1996; 35 (4): 309-22.
14. Joffe I, Epstein S. Osteoporosis associated with rheumatoid arthritis: pathogenesis and management. *Semin Arthritis Rheum* 1991; 20: 256-72.
15. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
16. Liao KP, Alfredsson L, Karlson EW. Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 279-83.
17. Ramos-Remus C, Sierra-Jimenez G, Skeith K, Aceves-Avila FJ, Russell AS, Offer R, et al. Latitude gradient influences the age of onset in rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol* 2007; 26(10): 1725-8.
18. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: underlying evidence of ethnic differences. *J Autoimmun* 2009; 32: 158-62.
19. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 130-6.
20. Beasley RP, Bennett PH, Lin CC . Low prevalence of rheumatoid arthritis in chinese. Prevalence survey in a rural community. *J Rheumatol* 1983; 10 (suppl):11-5.
21. Özsoy MH, Altinel L, Başarır K, Çavuşoğlu AT, Dinçel VE. Romatoid artritte eklem hastalığının patogenezi. *TOTBİD Dergisi* 2006; 5 (3-4): 101-10.
22. Kobayashi S, Momohara S, Kamatani N, Okamoto H. Molecular aspects of rheumatoid arthritis: role of environmental factors. *FEBS J* 2008; 275(18): 4456-62.
23. MacGrogan AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1): 30-7.

24. Seldin MF, Amons CI, Ward R, Gregersen PK. The genetics revolution and the assault on rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42: 1071-9.
25. Plenge RM. Recent progress in rheumatoid arthritis genetics: one step towards improved patient care. *Curr Opin Rheumat* 2009; 21: 262-71.
26. Akçam FZ. Hla sistemi. *Turk Klin Tıp Bilim Derg* 2005; 25: 829-34.
27. Plenge RM, Weinblatt ME. Molecular basis of rheumatoid arthritis. In: *Inflammatory disease genomic medicine*. In: *Disease-based genomic and personalized medicine*. In: Willard HF, Ginsburg GS. *Genomic and personalized medicine*. 2009; 1017-31.
28. Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2009; 373: 659-72.
29. Plenge RM, Padyukov L, Remmers EF, Purcell S, Lee AT, Karlson EW, et al. Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in 4,000 samples from North America and Sweden: association of susceptibility with PTPN22, CTLA4, and PADI4 . *Am J Hum Genet* 2005; 77(6): 1044–60.
30. Pierer M, Kaltenhauser S, Arnold S, Wahle M, Baerwald C, Hantzschel H, et al. Association of PTPN22 1858 single-nucleotide polymorphism with rheumatoid arthritis in a German cohort: higher frequency of the risk allele in male compared to female patients . *Arthritis Res Ther* 2006; 8(3): R75.
31. Li C, Zhang G, Li X, Rao S, Gong B, Jiang W, et al. A systematic method for mapping multiple loci: an application to construct a genetic network for rheumatoid arthritis. *Gene* 2008; 408(1-2): 104-11.
32. Inman RD. Infections etiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1991; 17(4): 859-70.
33. Van Vollenhoven RF. Sex differences in rheumatoid arthritis: more than meets the eye. *BMC Med* 2009; 7: 12.
34. Ansar Ahmed S, Penhale WJ, Talal N. Sex hormones, immune responses and autoimmune diseases: mechanisms of sex hormone action. *Am J Pathol* 1985; 121: 531–51.

35. Mathur S, Mathur RS, Goust JM, Williamson HO, Fudenberg HH. Cyclic variations in white cell subpopulations in the human menstrual cycle: correlations with progesterone and estradiol. *Clin Immunol Immunopathol* 1979; 13: 246–53.
36. Persellin RH. The effect of pregnancy on rheumatoid arthritis. *Bull Rheum Dis* 1977; 27: 922–7.
37. Costenbader KH, Manson JE. Do female hormones affect the onset or severity of rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum* 2008; 59(3): 299–301.
38. Walitt B, Pettinger M, Weinstein A, Katz J, Torner J, Wasko MC, et al. Effects of postmenopausal hormone therapy on rheumatoid arthritis: the women's health initiative randomized controlled trials. *Arthritis Rheum* 2008; 59(3): 302–10.
39. Drosser-Bakker KW, Zwinderman AH, van Zeben D, Breedveld FC, Hazes JM. Pregnancy and oral contraceptive use do not significantly influence outcome in long term rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 29 (Suppl 65): 39–43.
40. Gorman JD. Smoking and rheumatoid arthritis: another reason to just say no. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 10–3.
41. Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B, Lindblad S, Lundberg I, Klareskog L, Alfredsson L. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 835–41.
42. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope) -restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 38–46.
43. Moreland LW. Rheumatoid arthritis: epidemiology, pathogenesis and treatment. In: Firestein GS. *Pathophysiology and etiology of rheumatoid arthritis*, Chapter-3. In: Remedica Publishing; 2001.p.25–44.
44. Hummel KM, Petrow PK, Franz JK, Müller-Ladner U, Aicher WK, Gay RE, et al. Cysteine proteinase cathepsin K mRNA is expressed in

- synovium of patients with rheumatoid arthritis and is detected at sites of synovial bone destruction. *J Rheumatol* 1998; 25: 1887-94.
45. Mapp PI, Grootveld MC, Blake DR. Hypoxia, oxidative stress and rheumatoid arthritis. *Brit Med Bull* 1995; 51: 419-36.
 46. Sewell KL, Trentham DE. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Lancet* 1993; 341: 283-6.
 47. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum* 1990; 33: 768-73.
 48. Emmi L, Romagnani S. Role of Th1 and Th2 cells in autoimmunity in: Section 1: Immunologic basis of autoimmunity in: Rose N R, Mackay R I. *The autoimmune diseases*. 4 th ed. Elsevier; 2006. p.83-101.
 49. Davis L, Shulze-Koops H, Lipsky PE. Rheumatoid synovial CD4+ T cells exhibit a reduced capacity to differentiate into IL-4-producing T-helper-2 effector cells. *Arthritis Rheumatol* 2001; 3: 54–64.
 50. Van der Graaf WL, Prins AP, Niers TM, Dijkmans BA, van Lier RA. Quantitation of interferon-gamma- and interleukin-4- producing T cells in synovial fluid and peripheral blood of arthritis patients. *Rheumatology*. 1999; 38: 214–20.
 51. Gridley G, McLaughlin JK, Ekblom A, Klareskog L, Adami HO, Hacker DG, et al. Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 307-11.
 52. Kavanaugh A, Schaible T, DeWoody K et al. Long-term follow-up of patients treated with infliximab (anti-TNF-alpha monoclonal antibody) in clinical trials. *Arthritis Rheum* 1999; 42(Suppl.): S.401.
 53. Cibere J, Sibley J, Haga M. Rheumatoid arthritis and the risk of malignancy. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1580-6.
 54. Kavanaugh A. Cytokine therapies: targeting tumor necrosis factor and interleukin-1. In: Moreland, Larry W. *Rheumatoid Arthritis: Epidemiology, Pathogenesis and Treatment*. Remedice Publishing; 2001. p.71-96.
 55. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 1995; 14: 397-440.

56. Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2008; 118: 3537-45.
57. Karadağ Ö, Kiraz S. Romatoid artrit tedavisi: kısa etkili ilaçlar (nonsteroidal antiinflamatuvar [NSAI] ilaçlar ve steroidler). *Turk Klin Tıp Bilim Derg* 2006; 2(25): 46-51.
58. Dugowson CE. Rheumatoid Arthritis. *Women and Health* 2000; Chapter 53-Section 9: 674-85.
59. Desoky ESE. Pharmacotherapy of rheumatoid arthritis: An overview. *Curr Ther Res* 2001; 62: 92-112.
60. Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N, Dougherty DM. L-Tryptophan: basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *Int J Tryptophan Res* 2009; 2: 45-60.
61. Michael AF, Drummond KN, Deeden D, Anderson JA, Good RA. Tryptophan metabolism in man. *J Clin Invest* 1964; 43(9): 1730-46.
62. Grohmann U, Fallarino F, Puccetti P. Tolerance, DCs and tryptophan: much ado about IDO. *Trends Immunol* 2003; 24(5): 242-8.
63. Taylor MW, Feng G. Relationship between interferon- γ , indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *Faseb J* 1991; 5: 2516-22.
64. Shimizu T, Nomiyama S, Hirata F, Hayaishi O. Indoleamine 2,3-dioxygenase. Purification and some properties. *J Biol Chem* 1978; 253: 4700-6.
65. Yamazaki F, Kuroiwa T, Takikawa O, Kido R. Human indoleamine 2,3-dioxygenase. Its tissue distribution and characterization of the placental enzyme. *Biochem J* 1985; 230: 635-8.
66. King NJC, Thomas SR. Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 2167-72.
67. Thackray SJ, Mowat CG, Chapman SK. Exploring the mechanism of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Biochem Soc Trans* 2008; 36(Pt6): 1120-3.
68. Badawy AA-B, Morgan CJ, Turner JA, Dougherty DM, Marsh DM, Mathias CW, et al. Assessment of the kynurenine pathway in humans: I.

- Normal plasma values, ethnic differences and their clinical implications. Int Congress Series 2007; 1304: 335-43.
69. Ball HJ, Yuasa HJ, Austin CJD, Weiser S, Hunt NH. Indoleamine 2,3-dioxygenase-2; a new enzyme in the kynurenine pathway. Int J Biochem Cell Biol 2009; 41: 467-71.
70. Mellor AL, Munn DH. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. Nat Rev Immunol 2004; 4(10): 762-74.
71. Szanto S, Koreny T, Mikecz K, Glant TT, Szekanecz Z, Varga J. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan catabolism accelerates collagen-induced arthritis in mice. Arthritis Res Ther 2007; 9(3): R50.
72. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. J Clin Invest 2007; 117: 1147-54.
73. Fuchs D, Möller AA, Reibnegger G, Stöckle E, Werner ER, Wachter H. Decreased serum tryptophan in patients with HIV-1 infection correlates with increased serum neopterin and with neurologic/psychiatric symptoms. J Acquir Immune Defic Syndr 1990; 3: 873-6.
74. Widner B, Werner FR, Schennach H, Wachter H, Fuchs D. Simultaneous measurement of serum tryptophan and kynurenine by HPLC. Clin Chem 1997; 43: 2424-6.
75. Fuchs D, Möller AA, Reibnegger G, Werner ER, Werner-Felmayer G, Dierich MP, et al. Increased endogenous interferon-gamma and neopterin correlate with increased degradation of tryptophan in human immunodeficiency virus type 1 infection. Immunol Lett 1991; 28: 207-12.
76. Widner B, Sepp N, Kowald E, Ortner U, Wirleitner B, Fritsch P, et al. Enhanced tryptophan degradation in systemic lupus erythematosus. Immunobiology 2000; 201: 621-30.
77. Widner B, Leblhuber F, Walli J, Tilz GP, Demel U, Fuchs D. Tryptophan degradation and immune activation in Alzheimer's disease. J Neural Transm 2000; 107: 343-53.

78. Leblhuber F, Walli J, Jellinger K, Tilz GP, Widner B, Laccone F, et al. Activated immune system in patients with Huntington's disease. Clin Chem Lab Med 1998; 36:747-50.
79. Widner B, Leblhuber F, Fuchs D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. J Neural Trans 2002; 109: 181-9.
80. Maes M, Scharpe S, Meltzer HY, Okayli G, Bosmans E, D'Hondt P, et al. Increased neopterin and interferon-gamma secretion and lower availability of L-tryptophan in major depression: further evidence for an immune response. Psychiat Res 1994; 54: 143-60.
81. Schroecksnadel K, Winkler C, Fuith LC, Fuchs D. Tryptophan degradation in patients with gynecological cancer correlates with immune activation. Cancer Lett 2005; 223: 323-9.
82. Kema IP, Vries EGE, Miskiet FAJ. Clinical chemistry of serotonin and metabolites. J Chromatogr 2000; 747: 33-48.
83. Russo S, Kema IP, Fokkema MR, Boon JC, Willemse PHB, Vries EGE, et al. Tryptophan as a link between psychopathology and somatic states. Psychosom Med 2003; 65: 665-71.
84. Arango V, Huang Y, Underwood MD, Mann JJ. Genetics of the serotonergic system in suicidal behavior. J Psychiat Res 2003; 37: 375-86.
85. Craig SP, Boularand S, Darmon MC, Mallet J, Craig IW. Localization of human tryptophan hydroxylase (TPH) to chromosome 11p15.3----p14 by in situ hybridization. Cytogenet Cell Genet 1991; 56: 157-9.
86. Işık E. Serotoninin psikiyatrik bozukluklardaki rolü ve özgül serotonin geri alım engelleyicileri. Ankara: Kozan Ofset; 1993.
87. Sandyk R. L-tryptophan in neuropsychiatric disorders: a review. Int J Neurosci 1992; 67 (1-4): 127-44.
88. Owens MJ, Nemeroff CB. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. Clin Chem 1994; 40: 288-95.

89. Widner B, Laich A, Sperner-Unterweger B, Ledochowski M, Fuchs D. Neopterin production tryptophan degradation and mental depression: what is the link? *Brain Behav Immun* 2002; 16: 590-5.
90. Schroecksnadel K, Murr C, Winkler C, Wirleitner B, Fuith LC, Fuchs D. Neopterin to monitor clinical pathologies involving interferon- γ production. *Pteridines* 2004; 15: 75-90.
91. Berdowska A, Zwirska-Korczala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *J Clin Pharm Ther* 2001; 26: 319-29.
92. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger R, Yim JJ, et al. Biochemistry and function of pteridine synthesis in human and murine macrophages. *Pathobiology* 1991; 59: 276-9.
93. Hoffmann G, Frede S, Kenn S, Smolny M, Wachter H, Fuchs D, et al. Neopterin-induced tumor necrosis factor- α synthesis in vascular smooth muscle cells in vitro. *Int Arch Allergy Imm* 1998; 116: 240-5.
94. Hoffmann G, Schobersberger W. Neopterin: a mediator of the cellular immune system. *Pteridines* 2004; 15: 107-12.
95. Pascual C, Karzai W, Meier-Hellmann A et al. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med* 1998; 26: 705-9.
96. Wagner R, Hayatghebi S, Rosenkranc M, Reinwein D. Increased serum neopterin levels in patients with Graves' disease. *Exp Clin Endocr* 1993; 101: 249-54.
97. Reibnegger G, Krainer M, Herold M, Ludwig H, Wachter H, Huber H. Predictive value of interleukin-6 and neopterin in patients with multiple myeloma. *Cancer Res* 1991; 51: 6250-3.
98. Oda K, Arai T, Nagase M. Increased serum and urinary neopterin in nephrotic syndrome indicate cell-mediated immune dysfunction. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 611-7.
99. Weiss G, Willeit J, Kiechl S, Fuchs D, Jarosch E, Oberhollenzer F, et al. Increased concentrations of neopterin in carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1994; 106: 263-71.

100. Reibnegger G, Aichberger C, Fuchs D, Hausen A, Spielberger M, Werner ER, et al. Posttransplant neopterin excretion in renal allograft recipients - a reliable diagnostic aid for acute rejection and a predictive marker of long-term graft survival. *Transplantation* 1991; 52: 58-63.
101. Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Jaeger H, Reibnegger G, Werner-Felmayer G, et al. Tryptophan degradation in patients infected by human immunodeficiency virus. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1988; 369: 337-40.
102. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Parallel induction of tetrahydrobiopterin biosynthesis and indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human cells and cell lines by interferon- γ . *Biochem J* 1989; 262: 861-6.
103. Laich A, Neutrauer G, Widner B, Fuchs D. More rapid method for simultaneous measurement of tryptophan and kynurenine by HPLC. *Clin Chem* 2002; 48(3): 579-81.
104. Spiera H, Vallarino R. Serum kynurenine in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1969; 48: 856-9.
105. Igari T, Tsuchizawa M, Shimamura T. Alteration of tryptophan metabolism in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Tohoku J Exp Med* 1987; 153: 79-86.
106. Huber C, Fuchs D, Hausen A, Margreiter R, Reibnegger G, Spielberger M, et al. Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogeneic or modified self major histocompatibility complex (MHC) determinants. *J Immunol* 1983; 130: 1047-50.
107. Krause A, Protz H, Goebel KM. Correlation between synovial neopterin and inflammatory activity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 636-40.
108. Hagihara M, Nagatsu T, Ohhashi M, Miura T. Concentration of neopterin and biopterin in serum from patients with rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus and in synovial fluid from patients with rheumatoid or osteoarthritis. *Clin Chem* 1990; 36(4): 705-6.

109. Altındağ ZZ, Şahin G, İnancı F, Hasçelik Z. Urinary neopterin excretion and dihydropteridine reductase activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1998; 18: 107-11.
110. Hannonen P, Tikanoja S, Hakola M, Möttönen T, Viinikka L, Oka M. Urinary neopterin index as a measure of rheumatoid activity. *Scand J Rheumatology* 1986; 15: 148-52.
111. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Rheumatoid arthritis in the elderly. *Exp Gerontology* 1999; 34: 463-71.
112. Straub RH, Konecna L, Hrach S, Rothe G, Kreutz M, Schölmerich J, et al. Serum dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate are negatively correlated with serum interleukin-6 (IL-6), and DHEA inhibits IL-6 secretion from mononuclear cells in man in vitro: possible link between endocrinosenescence and immunosenescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2012-7.
113. Cutolo M. Sex hormone adjuvant therapy in rheumatoid arthritis. *Rheumatic Dis Clin North Am* 2000; 26(4): 881-95.
114. Frick B, Schroecksnadel K, Neurauter G, Leblhuber F, Fuchs D. Increasing production of homocysteine and neopterin and degradation of tryptophan with older age. *Clin Biochem* 2004; 37: 684-7.
115. Luqmani R, Sheeran T, Robinson M, Richardson K, Winkles J, Emery P. Systemic cytokine measurements: their role in monitoring the response to therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 503-8.
116. Espersen GT, Vestergaard M, Ernst E, Grunnet N. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-2 in plasma from rheumatoid arthritis patients in relation to disease activity *Clin Rheumatol* 1991; 10: 374-6.
117. Schroecksnadel K, Winkler C, Duftner C, Wirleitner B, Schimer M, Fuchs D. Tryptophan degradation increases with stage in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2006; 25: 334-7.

118. Schroecksnadel K, Kaser S, Ledochowski M, Neurauter G, Mur E, Herold M, et al. Increased degradation of tryptophan in blood of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1935-9.
119. Keser G. Romatoid artritte laboratuar testleri. *Türkiye klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2(25): 31-4.
120. Forrest CM, Kennedy A, Stone TW, Stoy N, Darlington LG. Kynurenine and neopterin levels in patients with rheumatoid arthritis and osteoporosis during treatment. *Adv Exp Med Biol* 2003; 527: 287-95.



T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, GAZİ UNIVERSTY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
İLAÇ DIŞI KLİNİK ÇALIŞMALAR

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"Romatoid Artritli Hastalarda Triptofan Yıkımı, İmmun Aktivite ve Oksidatif Stres İlişkisi"				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Doç.Dr.Yeşim Özkan				
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:	Tarih : 04 Mayıs 2009				
	G.Ü. Eczacılık Fakültesi'nde yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı araştırma projesine ait dosya; amaç, gerekçe, yaklaşım, yöntemler ve aydınlatılmış onamın yeterliliği yönünden incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde Etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU, HELSINKİ BELGESİ, BİYOETİK SÖZLEŞMESİ					
ÜYELER						
Unvanı / Adı / Soyadı Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Necla BUYAN BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F Çocuk Sağ.ve Hast.A.D.	K	x E	xx E	
Prof. Dr.Firdevs Aktaş ÜYE	Enfeksiyon	G.Ü.T.F Enfeksiyon Hast. A.D.	K	x E	xx E	
Prof. Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K	x E	x H	Katılmadı
Prof.Dr.Fatma ATALAY ÜYE	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	G.Ü.T.F Fiziksel Tıp ve Reha.A.D.	K	x E	xx E	
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D	E	x E	x H	Katılmadı
Prof.Dr.Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya Ecz. Fak	G.Ü.E.F (Ecz.Fak.) Farmasötik Kimya	K	x E	xx E	
Prof.Dr.Reha KURUOĞLU ÜYE	Nöroloji	G.Ü.T.F Nöroloji A.D.	E	x E	xx E	
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F Tıp Etiği ve Tıp tarihi A.D.	K	x E	xx E	
Doç.Dr.Mehmet Ali Ergün ÜYE	Tıbbi Genetik	G.Ü.T.F Tıbbi Genetik A.D.	E	x E	xx E	
Doç.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D	K	x E	xx E	
Doç.Dr.Canan ULUOĞLU ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	x E	xx E	
Doç.Dr.Münci YAĞCI ÜYE	İç Hastalıkları - Hematoloji	G.Ü.T.F İç Hastalıkları A.D.	E	x E	xx E	
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	x E	x H	Görevli
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	x E	x H	Katılmadı

* Araştırma ile İlişki

** Toplantıda Bulunma

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Güray
Soyadı : METE
Doğum Yeri ve Tarihi : Kırklareli, 17.05.1977
Eğitimi :
Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü - 2003
Kırklareli 60. Yıl Sağlık Meslek Lisesi - 1996
Kırklareli-Kavaklı Şehit Varol ÇALIŞKAN İlköğretim Okulu - 1991
Yabancı Dili : İngilizce