

Romatoid Artritte Hastalık Aktivitesinin Bir Göstergesi Olarak İskemi Modifiye Albümin

Ischemia-modified albumin as a Predictor of the Disease Activity in Rheumatoid Arthritis

Ayfer Çolak* Filiz Meryem Sertpoyraz** Anıl Baysol*
Elif Merve Girgin* Ali Taylan***

* SBÜ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, İzmir, Türkiye

** SBÜ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, İzmir, Türkiye

*** SBÜ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Romatoloji, İzmir, Türkiye

Başvuru Tarihi: 13 Ekim 2020

Kabul Tarihi: 06 Aralık 2020

ÖZET

Amaç: Romatoid artrit (RA), sinovyal enflamasyon, kırıkdağ hasarı ve kemik erozyonu ile karakterize kronik, progresif, otoimmün bir hastalıktır. İskemi modifiye albümin (İMA), ateroskleroz ile ilişkili miyokard iskemisini değerlendirmek için kullanılabilecek potansiyel bir belirteçtir. Miyokard enfarktüsü ve inme gibi kardiyovasküler olaylar romatizmal hastalıklarda sık görülen hastalıklardır. Romatoid artritli hastalarda hastalık aktivitesi ile iskemi modifiye albümin düzeyi ve iskemi modifiye albümin/albümin oranı (İMAO) arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve Metod: Bu çalışmaya 72 romatoid artrit hastası ve 72 sağlıklı kontrol alındı. Hastalık aktivitesi, hastalık aktivite skoruyla (DAS-28) değerlendirildi. Serum iskemi modifiye albümin düzeyi, albümin kobalt bağlanma testi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Bulgular: Romatoid artrit grubunda ve sağlıklı kontrollerde ortalama iskemi modifiye albümin düzeyleri sırasıyla 0.46 ± 0.16 ABSU ve 0.39 ± 0.10 ABSU idi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = 0.002$). Romatoid artrit grubunda, hastalık aktivite skoru ile serum iskemi modifiye albümin düzeyi ($r = 0.419$, $p = 0.001$), serum iskemi modifiye albümin /albümin oranı ($r=0,594$, $p<0,001$) ve serum C-reaktif protein (CRP) düzeyi ($r = 0.648$, $p < 0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu.

Sonuç: Romatoid artrit 'li hastalarda DAS-28 ile iskemi modifiye albümin düzeyi arasındaki pozitif yönde ilişki, iskemi modifiye albümin'in hastalık aktivitesi için biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Hastalık aktivite skoru, İskemi modifiye albümin, Romatoid artrit

Ayfer Çolak : 0000-0003-4910-0128

Yazışma adresi: Ayfer Çolak
SBÜ Tepecik Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Biyokimya, İzmir
E-mail: ayfercolak@gmail.com

ABSTRACT

Purpose: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, progressive, autoimmune disease characterized by synovial inflammation, cartilage damage and bone erosion. Ischemia modified albumin (IMA) is a potential marker that can be used to assess atherosclerosis-related myocardial ischemia. Cardiovascular events such as myocardial infarction and stroke are common diseases in rheumatic diseases. We aimed to evaluate the relationship between disease activity and ischemia modified albumin level and ischemia modified albumin / albumin ratio (IMAO) in patients with rheumatoid arthritis.

Material and Methods: This study included 72 rheumatoid arthritis patients and 72 healthy controls. Disease activity was evaluated with the disease activity score (DAS28). Serum ischemia-modified albumin concentration was measured spectrophotometrically using the albumin cobalt binding test.

Results: The mean ischemia-modified albumin concentrations in rheumatoid arthritis group and healthy controls were 0.46 ± 0.16 ABSU and 0.39 ± 0.10 ABSU, respectively, and the difference was statistically significant ($P = 0.002$). Serum ischemia-modified albumin levels were found to be positively correlated with Disease Activity Score of 28 joints (DAS28), serum ischemia modified albumin / albumin ratio and serum C-reactive protein (CRP) level ($r = 0.419$, $r = 0.594$, $r = 0.648$, respectively).

Conclusion: Higher levels of ischemia-modified albumin in patients with rheumatoid arthritis or in those with active disease suggest that it may be associated with pathogenesis and activity of the disease.

Key words: Disease activity score, Ischemia modified albumin, Rheumatoid arthritis

GİRİŞ

Romatoid artrit (RA), sinovyal enflamasyon, kırıkta hasarı ve kemik erozyonu ile karakterize kronik, progresif, otoimmün bir hastalıktır (1). Dünya çapında yetişkinlerde tahmini prevalansı % 0,8-1 olan ve daha sık kadınları etkileyen RA, fonksiyonel sınırlamalara, çalışma gücüne ve düşük yaşam kalitesine neden olur (2). RA etiyolojisi kesin bilinmemekle birlikte enfeksiyon, genetik, çevresel ve endokrin faktörlerin rol aldığı düşünülmektedir. RA'da en çok sinovyal ve kırıkta hücreleri etkilendiği için erken belirtileri eklem ağrısı ve şişliktir. RA'ın tanısı kadar, erken remisyonu sağlamak ve sakatlığı önlemek veya azaltmak için hızlı ve doğru yönlendirme önemlidir (3). RA riski taşıyan hastaları veya hastalığın erken aşamasını saptamak, gelişimini önlemek ve tedaviye başlamak için biyobelirteçler den yararlanır. Bu biyobelirteçlerden romatoid faktör (RF) duyarlı fakat özgül olmayan bir ölçüttür ve RA de % 50-80 arttığı saptanmıştır. Serumda siklik sitrulin peptid'e karşı oluşmuş antikorların (anti-CCP), romatoid artrit için daha yüksek oranda spesifik olduğu gösterilmiştir(4).

Laboratuvar bulgularında en sık kullanılan inflamasyon göstergesi eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) düzeylerindeki artış; hastalığa özgü olmasa da hastalığın aktif olduğunu düşündürür (5). Hastalık aktivitesinin takibinde; klinik, laboratuvar ve radyolojik değerlendirmeleri kapsayan bir indeks olan DAS 28 (hastalık aktivite skoru) hastalık aktivite skoruna bakılır. DAS 28, hassas eklem sayısı, şiş eklem sayısı, ESH ve hastanın genel durumunu ile ilişkilidir(6).

Albüminin amino terminal ucu, kobalt ve nikel gibi metalleri bağlama kapasitesine sahiptir. Çeşitli hastalıklarla ilişkili iskemi, hipoksi, artan serbest radikaller ve asidoz, albüminin moleküler yapısında değişikliklere neden olur ve bu metal iyon bağlama kapasitesini azaltır. Albüminin bu yeni izoformuna iskemik modifiye albümin (İMA) adı verilir. Serum İMA düzeyleri ve İMA / albümin oranının (İMAO) miyokardiyal iskemi, akut inme, kas iskemisi ve bağırsak iskemisi gibi çeşitli hastalıklarda arttığı gösterilmiştir (7,8). Romatizmal hastalıklarda, miyokard enfarktüsü ve inme gibi kardiyovasküler olaylar sık görülür. Literatürde RA

de artmış serum İMA konsantrasyonlarını ve İMAO'ı bildiren çalışmalar bulunmakla birlikte hastalık aktivitesi ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda RA'lı hastalarda hastalık aktivitesi ile İMA düzeyi ve İMAO arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi Polikliniğine başvuran hastalardan 72 RA hastası ve 72 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. Çalışma için SBÜ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurulundan izin alındı. Hasta ve kontrol grubunun dışlama kriteri olarak akut enfeksiyon, diyabet, kanser ve kronik hastalıklar belirlendi. Hastalık aktivitesi, hastalık aktivite skoruyla (DAS-28) değerlendirildi ve buna göre hastalar 3 alt gruba ayrıldı. DAS 28 aktivitesinin 5.1'den fazla olması yüksek düzey hastalık aktivitesini, 5.1- 3.2 arası orta düzey hastalık aktivitesini, 2.6-3.2 arasında düşük düzey hastalık aktivitesini göstermektedir.

Serum İMA seviyeleri, Bar-Or ve arkadaşlarının geliştirdiği kolorimetrik bir yöntem olan albümin kobalt bağlama testi ile ölçüldü (9). 200 µL hasta serumu, 50 µL 0.1% cobalt klorid ile karıştırılıp 5 dakika süreyle inkübe edilerek, kobaltın albümine bağlanması sağlandı. İnkübasyondan sonra 50 µL dithiothreitol (DTT) (Sigma, 1.5 mg/ml H₂O) eklendi ve DTT'nin albümine bağlanmamış kobalt ile renkli bir kompleks oluşturması sağlandı. Oluşan renkli kompleks 470 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Sonuçlar absorbance units (ABSU) olarak verildi. İMA düzeyleri, serum albümin düzeylerine bölünerek İMAO düzeyleri hesaplandı. İMAO düzeyleri ABSU/g (absolü ünite/gram) şeklinde gösterildi.

Bireylerden 8 saat açlık sonrasında biyokimyasal tetkikler için kan alındı. Hastaların venöz kanları, SST (5.0 ml) Becton Dickinson Vacutainer SST II Advance (lot no: 5159077; BD Diagnostics, Plymouth, UK) tüpüne alındı ve 5-6 kez alt-üst edilip pıhtılaşması için oda sıcaklığında 30 dk beklendi. Oda ısısında 1600 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Hemolitik, ikterik ve lipemik örnekler çalışmadan çıkarıldı.

Biyokimyasal testler aynı gün çalışıldı. İMA için, serumdan alikotlanan örnekler -80°C'de en fazla 6 ay süreyle muhafaza edildi. Çalışmadan önce çözölmüş numuneler, önce birkaç kez ters çevrilerek oda sıcaklığına getirildi. Serum CRP, albumin, kolesterol, trigliserid, LDL-K, HDL-K düzeyi, Beckman Coulter AU 5800 (Olympus Diagnostics, GmbH, Hamburg, Germany) otoanalizörü kullanılarak ölçüldü.

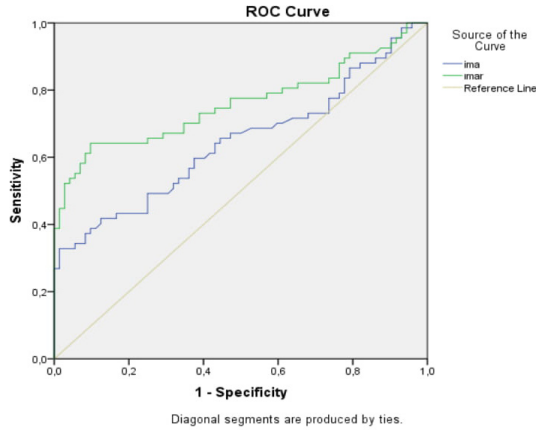
İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) analiz programı kullanıldı. Kolmogorov-Smirnov testi ile değişkenlerin normal dağılımı değerlendirildi. Normal dağılım gösteren kontrol ve hasta grubunun değerleri ortalama + SD şeklinde gösterildi ve independent student-t testiyle gruplar arasındaki fark değerlendirildi. Değişkenler arasındaki korelasyona spearman korelasyon testiyle bakıldı. RA hasta alt gruplarında normal dağılım özelliği gösteren verilerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ve post hoc Bonferroni testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyenler Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı. İMA ve İMAO parametrelerinin tanısal değerlerinin analizi için ROC (receiver operator characteristics curve) analizi yapıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

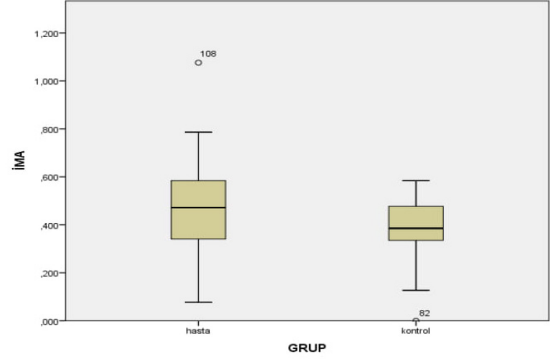
BULGULAR

Çalışma gruplarının demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir. RA grubunda ve sağlıklı kontrollerde ortalama İMA düzeyleri sırasıyla 0.46 ± 0.16 ABSU ve 0.39 ± 0.10 ABSU idi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.02$). Aynı şekilde RA grubunda İMA / albümin oranı (İMAO) 0.14 ± 0.05 kontrol grubunda 0.09 ± 0.02 idi ve aralarındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.01$). DAS 28 aktivitesi üç ayrı grupta (düşük, orta, yüksek) incelendi. Hastaların 13'i düşük düzey, 41'i orta düzey, 18'i yüksek düzey hastalık aktivitesine sahipti. Hastalık aktivite skoru DAS28 ile serum İMA düzeyi ($r = 0.419$, $p = 0.001$), serum İMAO ($r = 0.594$,

$p < 0.001$) ve serum C-reaktif protein (CRP) düzeyi ($r = 0.648$, $p < 0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu. RA hasta sub grupları arasında, serum İMA, İMAO, CRP ve albümin değerlerinde anlamlı fark gözlemlendi (Tablo 3). İMA ve İMAO değerlerinin hastalık tanılma değeri için yapılan ROC (receiver operator characteristics curve) analizi sonuçlarına göre İMA tanılma değeri %65.5 iken (eğri altında kalan alan: 0.655), İMAO tanılma değeri %75.9 olarak (eğri altında kalan alan: 0,759) bulundu. Serum İMA düzeyinin sensivitesi %31.9 ve spesivitesi %98.6, serum İMAO düzeyinin sensivitesi %64.2 ve spesivitesi %90.3 olarak bulundu.

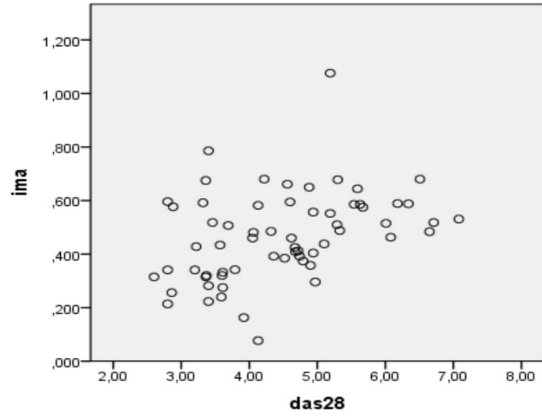


Şekil 1. ROC analizi sonuçları
Figür 1. ROC analysis result



Şekil 2. Kontrol grubu ve RA hastalarında İMA düzeylerinin karşılaştırılması

Figür 2. Comparison of İMA levels in the control group and RA patients



Şekil 3. RA grubunda serum İMA seviyeleri ile DAS28 skoru arasındaki korelasyon

Figür 3. Correlation between serum İMA levels and DAS28 score in RA group

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun biyokimyasal testlerinin karşılaştırması
Table 1. Comparison of biochemical tests of patient and control group

	KONTROL (n=72)	HASTA (n=72)	P
Yaş (yıl)	49.8 ± 11.5	53.5 ± 13.2	0.08
Cinsiyet (K/E)	56/14	60/14	
Kolesterol (mg/dL)	216 ± 42	209 ± 42	0.35
Trigliserit (mg/dL)	146 ± 70	145 ± 70	0.91
HDL-Kolesterol(mg/dL)	57 ± 52	45 ± 12	0.08
LDL-Kolesterol (mg/dL)	135 ± 37	134 ± 35	0.84
Albümin (g/dL)	45 ± 0.6	3.5 ± 0.7	<0.01
CRP (mg/dL)	1.7 ± 1.3	2.4 ± 3.4	0.13
İMA (ABSU)	0.39 ± 0.10	0.46 ± 0.16	0.02
İMAO (ABSU/g)	0.09 ± 0.02	0.14 ± 0.05	<0.01

CRP: C- reaktif protein, İMA: İskemi modifiye albümin, İMAO: İskemi modifiye albümin / albümin oranı

TARTIŞMA

RA hastalık patogenezini oluşturan inflamatuvar yanıtta hücrel ve humoral immüntenin birlikte yer aldığı gösterilmiştir. Genetik ve çevresel faktörler dahil olmak üzere çeşitli faktörler arasındaki etkileşimlerin, uygun olmayan bir immünomodülasyona yol açtığı ve sinovyal yapıların hasar görmesiyle sonuçlanan inflamatuvar bir sürece yol açtığı düşünülmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) bu süreçte önemli rol oynadığı belirtilmiştir(10). Sistemik bir hastalıkla birlikte artan oksidatif stres, iltihap gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir faktördür. İskemi modifiye albümin (İMA), oksidatif stresin sistemik bir belirteci olarak son zamanlarda kabul görmüştür. İMA, albüminin ağır geçiş metallere bağlama kapasitesindeki değişikliklerin bir sonucu olarak üretilir ve aterosklerotik kalp hastalığı ile ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır(8). İskemik hastalıklar için farklı İMA kesme değerleri bildirilmesine rağmen, 0.400 absorbans biriminden (ABSU) yüksek serum seviyeleri genellikle iskemi belirtisi olarak kabul edilir(11). Çalışmamızda; RA li hastalarda serum İMA düzeyi bu sınırın üzerinde bulundu ve kontrol grubuna kıyasla daha yüksek İMA seviyelerine sahipti. RA hastalarında İMA düzeyinin değerlendirildiği çalışmalarda, bizimkine benzer şekilde RA hastalarında İMA düzeyleri yüksek ve kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur (8,12). Kronik karaciğer hastalarında, albümin düzeyinin düşmesine bağlı olarak İMA ölçümü ile birlikte, daha değerli bir veri olabileceği düşünülerek bazı çalışmalarda İMA / albümin oranı da hesaplanmıştır (13). Bizim çalışmamızda da RA hastalarında serum İMA / albümin oranını yüksek bulunmuş olup kontrol grubuyla arasındaki fark anlamlı çıkmıştır.

RA hastalarında, Hastalık aktivite skoru DAS28 ile serum İMA, İMAO ve serum C-reaktif protein (CRP) düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirdiğimizde, bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde bir ilişki bulundu. RA hastalarında hemogram parametrelerinden nötrofil lenfosit oranı (NLO), trombosit lenfosit (PLO) oranlarının

değerlendirildiği bir çalışmada DAS 28 aktivite skoru artışı ile NLO ve PLO arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır(6). Yine benzer bir çalışmada RA hasta grubunda serum CRP, ESH seviyeleri, NLO ve PLO anlamlı olarak yüksek bulunmuştur(5).

RA hastalarında, İMA ve İMAO değerlerinin tanısal değerini incelediğimizde, serum İMA / albümin oranının serum İMA seviyesine göre daha yüksek sensivite ve spesiviteye sahip olduğunu saptadık. Böylece serum İMA düzeyinin değerlendirildiği çalışmalarda, ayrıca serum İMA / albümin oranının belirlenmesinin önemli olduğunu gösterdi.

RA hastalarının alt gruplarını değerlendirdiğimizde serum İMA, İMAO ve CRP seviyelerinin düşük seviyeli gruptan yüksek seviyeye doğru gittikçe arttığını, albümin seviyesinin ise azaldığını saptadık. Her üç parametrede de gruplar arasında anlamlı fark vardı. Hastalık aktivite durumunun değerlendirildiği bir çalışmada da CRP seviyeleri bizimkine benzer şekilde artış göstermiştir(6).

RA hastalarında serum leptin düzeylerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada, yüksek hastalık aktivitesi grubundaki düzey, düşük hastalık aktivitesi grubundan ve sağlıklı kontrollerden anlamlı derecede yüksek bulunmuş, yüksek ile orta hastalık aktivite grubu karşılaştırıldığında serum leptin düzeyinde anlamlı bir fark gösterilmiştir. RA grubunda serum leptin seviyesi ile hastalık aktivite skoru (DAS28) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki gözlenmiştir(1).

Rutin klinik uygulamada RA hastalık takibinde kullanılan inflamatuvar parametreler CRP ve ESH gibi hastalığa özgül olmayan inflamatuvar belirteçlerdir (5). Çalışmamızda serum CRP düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Bu farkın olmamasını, kontrol grubunu oluştururken serum CRP düzeyini etkileyen faktörleri yeterince dışlamamış olabileceğimize başladık. Çünkü RA hastalarında serum CRP düzeyi, DAS28 ile pozitif yönde koreleydi. Çalışmamızın kısıtlılıklarından bir başkası da, oksidatif stres belirteci olarak sadece

İMA ve İMAO, enflamasyon belirteci olarak ise sadece CRP değerlerini kullanmamızdır.

RA hastalarında, serum İMA ve İMAO düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek bulunması ve hastalık aktivitesi ile pozitif yönde ilişkili

olmaları göz önüne alındığında, enflamatuvar reaksiyonlarında serum İMA ve İMAO düzeyi önemli olabilir ve hastalık şiddeti ile ilişkilidir, prognostik öneme sahip olabilir.

KAYNAKLAR

1. Dervişević A, Resić H, Sokolović Š, Babić N, Avdagić N, Začiragić A, et al. Leptin is associated with disease activity but not with anthropometric indices in rheumatoid arthritis patients. *Arch Med Sci* 2018 Aug;14(5):1080-1086.
2. Atzeni F, Talotta R, Masala I.F, Bongiovanni S, Boccassini L and Sarzi-Puttini P. Biomarkers in Rheumatoid Arthritis; *Isr Med Assoc J* 2017 Aug; 19(8): 512-516.
3. Allen A, Carville S, McKenna F, Guideline Development Group; Diagnosis and management of rheumatoid arthritis in adults: summary of updated NICE guidance, *BMJ* 2018 Aug 3;362:k3015. doi: 10.1136/bmj.k3015.
4. Schellekens GA, Visser H, De Jong BAW, Van Den Hoogen FHJ, Hazes JMV, Breedveld FC et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *ARTHRITIS & RHEUMATISM* Vol. 43, No. 1, January 2000. p. 155–163
5. Kilic E, Rezvani A, Toprak A.E, Erman H, Ayhan S.K, Poyraz E et al. Romatoid Artritte Nötrofil/ Lenfosit ve Platelet/ Lenfosit Oranlarının Değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2016;43(2):241-247.
6. Doğan AG, Boyacıoğlu MZ, Doğan M. Romatoid artritte nötrofil lenfosit ve platelet lenfosit oranlarının hastalık aktivite indeksine göre değerlendirilmesi. *J Health Sci Med* 2020;3(3):312-316.
7. Yavuz F, Bıyık M, Asil M, Dertli R, Demir A, Polat H, et al. Serum ischemic modified albumin (IMA) concentration and IMA/albumin ratio in patients with hepatitis B-related chronic liver diseases. *Turk J Med Sci* (2017)47:947-953.
8. Uslu AU, Kucuk A, Balta S, Öztürk C, Arslan S, Tekin L et al. The relation between ischemia modified albumin levels and carotid intima media thickness in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2019 Jan; 22(1):32-37.
9. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med* 2000;19:311-5.
10. CeliaMaría Quiñonez-Flores, Susana Aideé González-Chávez, Danyella Del Río Nájera, and César Pacheco-Tena, Oxidative Stress Relevance in the Pathogenesis of the Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Biomed Res Int.* 2016;2016: 6097417. doi: 10.1155/2016/6097417
11. Kılıç MÖ, Gündoğan CE, Balamir I, Tez M. Ischemia-modified albumin as a predictor of the severity of acute appendicitis. *Am J Emerg Med.* 2017 Jan; 35(1):92-95.
12. Leitemperguer MR, Tatsch E, Kober H, Moresco RN. Assessment of Ischemia-Modified Albumin Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Clin Lab.* 2014; 60(6):1065-70.
13. Cakir M, Karahan SC, Mentese A, Sağ E, Çobanoğlu U, Polat PB et al. Ischemia-modified albumin levels in children with chronic liver disease. *Gut Liver* 2012;6:92-7.