

Romatoid Artritte DAS-28 Skoru ile Oksidatif Stres Belirteçleri Arasındaki İlişki

The Relationship Between DAS-28 Score and Oxidative Stress Markers in Rheumatoid Arthritis

Duygu Eryavuz Onmaz* Abdullah Sivrikaya* Sedat Abuşoğlu*
Sema Yılmaz** Ali Ünlü*

* Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

** Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi Romatoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Başvuru Tarihi: 17 Eylül 2021

Kabul Tarihi: 21 Ekim 2021

ÖZET

Amaç: Romatoid artrit (RA) otoimmün bir hastalık olup etiyojisi henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte RA'lı hastaların sinovyal sıvılarında aşırı miktarda reaktif oksijen türevleri tespit edilmiştir. Dolayısıyla sistemik enflamasyon ve oksidatif stresin RA patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bizim bu çalışmadaki amacımız RA'lı hastalarda oksidatif stres ve enflamasyonla ilişkili markırlar olan iskemi modifiye albümin (İMA), metilglioksal (MG) düzeylerini ve serum prolidaz aktivitesini (SPA) araştırmak ve bu markırlar ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına katkıda bulunmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 50 RA hastası ve 50 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Serum İMA düzeyleri ve SPA spektrofotometrik yöntemle (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis, US), MG düzeyleri ise kromatografik yöntemle (Thermo Ultimate 3000 Ultra-Yüksek Performanslı Likit Kromatografisi) ölçülmüştür. Hastalara ait çeşitli hematolojik ve biyokimyasal parametreler sırasıyla Beckman Coulter LH 780 ve Beckman Coulter AU 5800 (Beckman Coulter, Brea, USA) otoanalizörlerinde, Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri ise sırasıyla Alifax (Padova, Italy) ve IMMAGE 800 (Beckman Coulter, Brea, USA) cihazlarında ölçülmüştür.

Bulgular: RA grubunda serum İMA, MG düzeyleri ve SPA kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunurken, düşük düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireylerin (DAS 28 \leq 3.2, n=24) MG ve İMA düzeyleri orta düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireylere (DAS-28: 3.2-5.1, n=26) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışma RA patogeneğinde oksidatif stres ve enflamasyonun önemli bir rolü olduğunu, ayrıca serum İMA ve MG düzeyleri ile hastalık aktivitesi ve süresi arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Romatoid Artrit; Oksidatif Stres; Enflamasyon; İskemi Modifiye Albumin; Prolidaz.

Duygu Eryavuz Onmaz : <https://orcid.org/0000-0001-8564-1824>
Abdullah Sivrikaya : <https://orcid.org/0000-0003-2956-5681>
Sedat Abuşoğlu : <https://orcid.org/0000-0002-2984-0527>
Sema Yılmaz : <https://orcid.org/0000-0001-5076-1500>
Ali Ünlü : <https://orcid.org/0000-0002-9991-3939>

Yazışma adresi: Duygu Eryavuz Onmaz
Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, Türkiye
E-mail: duygu_eryavuz@hotmail.com

ABSTRACT

Aim: Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease and its etiology hasn't been fully elucidated. However, excessive amounts of reactive oxygen derivatives have been detected in the synovial fluids of patients with RA. Therefore, systemic inflammation and oxidative stress are thought to play an important role in the pathogenesis of RA. Our aim in this study is to investigate the ischemia modified albumin (IMA), methylglyoxal (MG) levels and serum prolidase activity (SPA) in RA.

Material and Methods: The study were included 50 RA patients and 50 healthy volunteers. IMA levels and SPA were measured by spectrophotometric method (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis, US), and MG levels were measured by chromatographic method (Thermo Ultimate 3000 Ultra-High Performance Liquid Chromatography). Various hematological and biochemical parameters were determined by Beckman Coulter LH 780 and AU 5800 (Beckman Coulter, Brea, USA) autoanalyzers, respectively. Erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) levels were measured by Alifax (Padova, Italy) and IMAGE 800 (Beckman Coulter, Brea, USA), respectively.

Results: Serum IMA, MG levels and SPA were found to be significantly higher in the RA group compared to the control group, while MG and IMA levels of patients with low disease activity (DAS 28 \leq 3.2) were found to be statistically significantly lower than patients with moderate disease activity (DAS-28: 3.2-5.1).

Conclusion: This study shows that oxidative stress and inflammation play an important role in the pathogenesis of RA, and that there is a relationship between serum IMA and MG levels with disease activity and duration.

Key words: Rheumatoid Arthritis; Oxidative Stress; Inflammation; Ischemia Modified Albumin; Prolidase.

GİRİŞ

Periferik arter hastalığı (PAH) kalbi yada beyni besleyen damarlar dışındaki orta ve büyük çaptaki arterlerin daralması yada tıkanıklığı ile karakterize olan progresif bir kardiyovasküler hastalıktır. PAH, alt ekstremiteleri üst ekstremitelere damarlarından daha sık etkilemektedir ve alt ekstremitelerde PAH kladikasyonu intermitant olarak bilinen tekrarlayan yorgunluk, kramp hissi ve ağrıya yol açabilmektedir.

Romatoid artrit (RA) primer olarak sinovyal eklemleri etkileyen, kronik, enflamatuvar, otoimmün bir hastalıktır ve ilerleyici sakatlık, erken ölüm ve artmış sosyoekonomik yük ile ilişkilidir (1). RA'nın prevalansı %0.5-1 olup, kadınlarda görülme olasılığı erkeklere göre yaklaşık 3 kat daha fazladır (2). Ortalama tanı yaşı ise 35-60 yaş arasındadır (3). Hastalığın klinik göstergeleri arasında artralji, eklem iltihabı, kızarıklık, şişlik ve hareket kısıtlılığı yer almaktadır. Kontrol edilmeyen veya şiddetli RA'da keratit, pulmoner granülomlar, perikardit/plörit, vaskülit ve diğer spesifik olmayan ekstraartiküler semptomların gelişme riski vardır. Dolayısıyla hastalığın erken

teşhisi, eklem hasarının ilerlemesinin, kalıcı sakatlığın, ekstraartiküler semptomların önlenmesinde ve tedavi maliyetlerinin azaltılmasında son derece önemlidir (1). Sigara, silika maruziyeti, enfeksiyöz ajanlar, D vitamini eksikliği, obezite, mikrobiyotaya değişimi gibi çevresel etmenler, genetik yatkınlık ve kadın cinsiyet RA için tanımlanmış birer risk faktörüdür (4). RA'nın etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte sistemik enflamasyon ve eşlik eden oksidatif stresin RA patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (5, 6).

Bir dikarbonil bileşiği olan, metilglioksal (MG) hücre metabolizmasının bir yan ürünüdür dolayısıyla normal yada patolojik koşullarda tüm hücrelerde bulunmaktadır. Enzimatik ya da nonenzimatik yollarla üretilebilmekte olup, MG oluşum hızı organizmaya, dokuya, hücre metabolizmasına ve fizyolojik koşullara bağlı olarak değişiklik göstermektedir (7). MG protein ve yağ asidi metabolizmasının yan ürünü olarak üretilebilse de, gliseraldehit-3-fosfat (GAP) ve dihidroksi-aseton fosfat (DHAP)'ın glikolitik yolakla degradasyonu MG üretiminin en önemli

endojen kaynağıdır. Aşırı MG üretimi reaktif oksijen türevlerinin (ROS) üretimini arttırarak oksidatif strese yol açmaktadır (8). Son derece reaktif bir metabolit olan MG, insanlarda bilinen en güçlü glikasyon ajanı olup ileri glikasyon son ürünleri (AGEs)' nin major prekürsörüdür (9). Selüler veya ekstraselüler proteinler, lipidler ve DNA'nın hızlı bir şekilde glikasyon ürünlerine dönüşümüne yol açmakta ve bu biyomoleküllerin yapısını değiştirerek fonksiyonlarını modüle etmektedir (10). Hücrel apoptoz, oksidatif stres, enflamasyon ve AGE oluşumunu indükleyerek yaşlanma ve endotelial disfonksiyon, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, kanser ve konnektif bağ doku hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların patogenezine dahil olmaktadır (11, 12).

Metalloproteinaz ailesinin bir üyesi olan prolidaz karboksil terminalinde prolin yada hidroksiprolin içeren di- veya tripeptitleri parçalayan homodimerik bir enzimdir ve kollajen turnoverında, matriksin yeniden yapılandırılmasında ve hücre büyümesinde hayati bir rol oynamaktadır (13, 14). Prolidaz enzim aktivitesi, mide, kalp, beyin, pankreas, böbrek, karaciğer gibi çeşitli dokularda tespit edilmiş olup, prolidaz aktivitesindeki değişikliklerin osteoporoz, kronik hepatit, diyabet, bipolar bozukluk, şizofreni gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (15). Ayrıca, yapılan çalışmalar oksidatif stres markırları ile serum prolidaz aktivitesi (SPA) arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (13, 14, 16).

Oksidatif stres ve enflamasyonla ilişkili markırlardan bir diğeri de, iskemik koşullarda oluşan serbest radikallerin neden olduğu modifikasyon sonucunda albuminin kobalt, bakır, nikel gibi geçiş metallerine bağlanma yeteneğinin azalmasıyla oluşan, akut iskemi ve akut koroner sendromun erken tanısında kullanılan bir markır olan iskemi modifiye albumin (İMA)'dır. İMA düzeylerinin vitiligo, Behçet, psöriyazis gibi dermatolojik hastalıklar, inme, akut mezenterik iskemi, kanser gibi iskemik olaylarda yükseldiği gösterilmiştir (17, 18).

Bizim bu çalışmadaki amacımızda RA hastalarında oksidatif stres ve enflamasyonla ilişkili markırlar olan serum İMA, metilglüksal düzeylerini ve SPA'yı araştırarak bu markırların RA patogenezindeki rolünün ve hastalık aktivitesiyle ilişkisinin aydınlatılmasına katkıda bulunmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar

Çalışmaya Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Romatoloji polikliniğine başvuran ve 2010'da yayınlanan The American College of Rheumatology / The European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) kriterlerine göre RA tanısı almış olan 50 hasta ile yaş ve cinsiyet dağılımı uyumlu olan, herhangi bir kronik, enflamatuvar hastalığı bulunmayan 50 sağlıklı kontrol dahil edildi (19). Hastalık aktivitesini ve ölçülen biyokimyasal parametreleri etkileyebilecek başka bir romatolojik, enflamatuvar hastalığı olan, diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi, kanser, nörolojik ve psikiyatrik hastalıkları olan, böbrek, karaciğer yetmezliği, enfeksiyöz hastalıkları olan bireyler, vitamin takviyesi alan bireyler çalışmadan dışlanmıştır. Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul Başkanlığının 18/09/2019 tarih ve 2019/216 sayılı etik kurul kararıyla onaylanmıştır. Etik kurul onayını takiben katılımcılardan serum separatör jelli ve EDTA'lı tüplere totalde 6 mL kan örneği alınmış, jelli tüplere alınan kanlar 3500 g'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrılmış ve analize kadar -80°C'de saklanmıştır. Hastalık aktivitesini belirlemede kullanılan ve klinik, laboratuvar, radyolojik değerlendirmeleri kapsayan bir indeks olup hassas eklem sayısı, şiş eklem sayısı, Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve hastanın genel durumunu ile ilişkili olan DAS-28 skoru (hastalık aktivite skoru) ise romatoloji uzmanları tarafından belirlenmiştir. Ayrıca hasta grubu hastalık aktivite skoruna (DAS-28) göre düşük düzeyde (DAS 28 ≤ 3.2, n=24) hastalık aktivitesine ve orta düzeyde (DAS-28: 3.2-5.1, n=26) hastalık aktivitesine sahip olan bireyler olarak ikiye bölünmüş ve

bu iki grup serum İMA, MG düzeyleri ve SPA yönünden kıyaslanmıştır.

Rutin Laboratuvar Parametrelerinin Ölçümü

EDTA'lı tüplere alınan tam kan örneklerinde lökosit (WBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), eritrosit (RBC), platelet (PLT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama korpusküler hemoglobin (MCH), eritrosit dağılım genişliği (RDW), trombosit dağılım genişliği (PDW), ortalama platelet hacmi (MPV), nötrofil (NEU), lenfosit (LYM) sayısı Beckman Coulter LH 780 (Beckman Coulter, Miami, FL, USA) otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak üretici talimatlarına göre ölçülmüştür. Nötrofil lenfosit (NLO) ve platelet lenfosit oranları (PLO) ise ölçülen nötrofil, platelet ve lenfosit düzeylerinden hareketle hesaplanmıştır. ESR düzeyleri Alifax (Padova, Italy) cihazında ölçülürken, C-reaktif protein (CRP) düzeyleri immunonefelometrik yöntemle IMAGE 800 (Beckman Coulter, Brea, USA) cihazında ölçülmüştür.

Ayrılan serum örneklerinde ise, kreatinin (CREA) ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri Beckman-Coulter AU 5800 (Beckman Coulter, Brea, USA) cihazında ticari kitler kullanılarak üretici talimatlarına göre ölçülmüştür.

Kimyasallar

2-metilkinoksalin (2-MQ) (CAS Numarası 7251-61-8), 5-metilkinoksalin (5-MQ) (CAS Numarası: 13708-12-8), orto-fenilendiamin (o-PD) (CAS Numarası: 95-54-5), perklorik asit (PCA) (ACS reaktif derecesi) (CAS Numarası:7601-90-3), Tris HCl (CAS Numarası: 1185-53-1), L-Glutatyon (CAS Numarası 70-18-8), MnCl₂ (CAS Numarası: 7773-01-5), L-Prolin-Glisin (CAS Numarası 2578-57-6), asetik asit (CAS Numarası: 64-19-7), sodyum hidroksit (CAS Numarası:1310-73-2), hidroklorik asit (CAS Numarası 7647-01-0), ninhidrin (CAS Numarası:485-47-2), o- fosforik asit (CAS Numarası: 7664-38-2), prolin (CAS Numarası: 147-85-3), kobalt klorid (CAS Numarası: 7646-79-9), dithiothreitol (DTT) (CAS

Numarası: 3483-12-3), HPLC analizlerine uygun saflıkta asetonitril (CAS Numarası: 75-05-8), metanol (CAS Numarası: 67-56-1), su (CAS Numarası: 7732-18-5) Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir.

Serum Metilglioksal Analizi

Serum MG düzeyleri Wang ve ark. tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek ölçülmüştür (20). Kısaca, 200 µL serum örneği koyu renkli ependorflara alınarak üzerine 200 µL iç standart (5-metilkinoksalin, 69 mM), proteinleri çöktürmek amacıyla 100 µL perklorik asit ve türevlendirici olarak taze hazırlanmış 250 µL orto-fenilen diamin (100 mM) eklenmiş ve 30 saniye vortekslenmiştir. Ependorflardaki numuneler karanlık ortamda, 25 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra 3500 g'de (4 °C'de) 10 dakika santrifüj edilmiş ve 200 µL süpernatant insert viallere alınarak Thermo Ultimate 3000 Ultra-Yüksek Performanslı Likit Kromatografisi (UHPLC) sistemine 20 µL örnek enjekte edilmiştir.

MG düzeylerinin kantitasyonu türevlendirme reaksiyonu sonucunda oluşan 2-metilkinoksalinin 315 nm dalga boyunda verdiği absorbanstan yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayrımı sağlamak için kolon olarak Phenomenex Luna C18 (3 µm, 4.6×50 mm) ve mobil faz olarak ise su:asetonitril karışımı (4:1, %v:v) izokratik elüsyonla 1.2 mL/dak. akış hızında uygulanmıştır. Yöntemin, total analiz süresi ve kolon sıcaklığı ise sırasıyla 10 dakikaya ve 35 °C'ye ayarlanmıştır. MG düzeylerinin ölçümü için geliştirilen yöntemin linearite çalışması MG'nin %1 bovin serum albumin içeren fosfat tamponlu salin çözeltisinde hazırlanan 0.78 µM, 1.56 µM, 3.13 µM, 6.25 µM, 12.5 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM konsantrasyon düzeylerindeki kalibrasyon standartlarının çift tekrar analizi ile gerçekleştirilmiştir. Linearite çalışması sonucunda yöntem 0.78-100 µM konsantrasyon aralıklarında lineer (r²>0.996) bulunmuştur. Diğer validasyon çalışmaları içinse MG'nin % 1 BSA içeren fosfat tamponlu salin çözeltisinde 0.78, 2.34, 50, 75 ve 100 µM konsantrasyon düzeylerindeki çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Bu düzeyler için

yöntemin gün içi varyasyon katsayısı (CV) değerlerinin %2.4 ile %6.6, %doğruluk değerlerinin %88.9 ile %108.3 arasında değiştiği, günler arası %CV değerlerinin %4.4 ile %9.6 arasında, %doğruluk değerlerinin ise %86.4 ile %111.5 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu düzeyler için hesaplanan %geri kazanım değerleri %89.8 ile %98.4 arasında değişirken, matriks etkisi ise %11'in altındaydı.

Serum Prolidaz Aktivitesinin Ölçümü

SPA, Myara ve ark. tarafından geliştirilen yöntemin modifikasyonu ile ölçülmüştür (21). Kısaca, 100 µL serum örneği 100 µL serum fizyolojik çözeltisi ile dilüe edilerek 30 saniye vortekslenmiştir. Oluşan karışımdan ayrı endoporfirlara 25 µL alınarak üzerine 75 µL ön inkübasyon karışımı (1 mmol/L glutatyon, 50 mmol/L MnCl₂ içeren 50 mmol/L Tris HCl pH 7.0 tamponu) eklenmiş, 37°C'ye ayarlanmış etüvde 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra, inkübasyon karışımına 100 µL 144 mmol/L glisin-prolin (pH: 7.8) çözeltisi eklenmiş, ve 30 saniye vortekslenildikten sonra 37 °C'ye ayarlanmış etüvde 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda cam reaksiyon tüplerine alınan karışıma 1 mL glasiyel asetik asit, 300 µL Tris HCl tampon çözeltisi (pH: 7.8), 1 mL ninhidrin reaktifi (3 g/dL ninhidrin, 0.5 mol/L ortofosforik asit içerisinde çözüldü) eklenmiş ve reaksiyon karışımı, 90 °C'ye ayarlanmış su banyosunda ağzı kapalı bir şekilde 25 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüpler hızla soğutulularak numunelerin ve hazırlanan standartların 515 nm dalga boyundaki absorbans değerleri spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis, US) ölçülmüştür. Prolidaz aktivitesi tayininde ölçülen prolin konsantrasyonları standart olarak kullanılan 5 mg/dL'lik L-prolin ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Prolidaz enzim aktivitesi birimi olarak, enzimin Prolin-Glisin substratını parçalayarak prolin oluşturduğu basamaktaki 1 dakikada oluşan µmol/L cinsinden prolin olarak tanımlanmıştır. Yöntem 2.5 mmol/L (2500 µmol/L = 2500 U/L)'ye kadar 0.9965'lik korelasyon katsayısıyla lineer olarak bulunmuştur. Yöntemin tayin limiti

0.009 mmol/L (9 µmol/L = 9 U/L) olarak tespit edilmiştir. Çalışma içi tekrarlanabilirlik çalışmaları ise hazırlanan düşük (600 µmol/L = 600 U/L), orta (800 µmol/L = 800 U/L) ve yüksek düzey (1200 µmol/L = 1200 U/L) serum havuzlarının tek bir runda 20 tekrar analiziyle, çalışmalar arası tekrarlanabilirlik çalışması ise düşük (600 µmol/L = 600 U/L), orta (800 µmol/L = 800 U/L) ve yüksek düzey (1200 µmol/L = 1200 U/L) serum havuzlarının 5 bağımsız runda 4'er tekrar analizi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma içi %CV değerleri %6.7'den, çalışmalar arası %CV değerleri ise %9.8'den düşük bulunmuştur. Geri kazanım çalışmasında ise her 3 düzey için ortalama ekstraksiyon geri kazanımı %97.4 olarak bulunmuştur.

İskemi Modifiye Albumin Düzeylerinin Ölçümü

İMA düzeyleri, Bar O ve ark. tarafından bildirilen yöntem ile ölçülmüştür (22). Kısaca; endoporfirlara 200 µL serum örneği, 50 µL % 0.1 kobalt klorür ilave edildikten sonra elde edilen karışım, 10 saniye boyunca vortekslenmiş ve ardından 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Süre sonunda, 50 µL Ditiyotreitil (DTT) (1.5 mg/mL) serbest kobalt ile kolorimetrik reaksiyonu sağlamak için reaksiyon karışımına ilave edilmiş ve 2 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra endoporfirdaki karışımlara, reaksiyonu durdurmak amacıyla 1 mL izotonik salin çözeltisi eklenmiştir. Kör tüpü ise herbir serum örneği için aynı prosedürle DTT eklenmeden hazırlanmıştır. Numuneler ve körlere ait absorbans değerleri 470 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis, US) ölçülerek aralarındaki fark serum İMA düzeyleri olarak ifade edilmiştir. Yöntemin çalışma içi ve çalışmalar arası %CV düzeyleri 20 sağlıklı ve 20 RA'lı bireyden alınan serum örneklerinden hazırlanan 2 farklı düzeydeki serum havuzuyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma içi tekrarlanabilirlik çalışması 2 farklı seviyede serum havuzunun (ortalama ± SD: 0.456 ± 0.13 ve 0.644 ± 0.16) 20 tekrar analizinden hareketle hesaplanmış ve sırasıyla bu düzeyler için

%4.4 ve %3.6 olarak bulunmuştur. Çalışmalar arası tekrarlanabilirlik çalışması ise yine aynı düzeylerle 4 bağımsız runda 5'er tekrar ölçüm ile gerçekleştirilmiş ve %CV değerleri sırasıyla %5.3 ve %6.7 olarak bulunmuştur.

İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler 'Statistical Packages for the Social Sciences' (SPSS) versiyon 21.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Sürekli değişkenlerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edilmiştir. Ortalama ve medyan değerler arasındaki istatistiksel kıyaslamalar ise sırasıyla Independent Samples t ve Mann Whitney U-testleri kullanılarak yapılmıştır. Korelasyonlar, Spearman's korelasyon testi ile değerlendirilmiştir. Para-

metrik ve non-parametrik değişkenlere ait istatistiksel bulgular sırasıyla ortalama \pm standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) olarak belirtilmiştir. $P < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı farklılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya 50 RA hastası ve 50 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Grupların yaş ortalaması sırasıyla 51.22 ± 3.69 ve 51.19 ± 3.27 olup, yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p = 0.982$). Hasta ve kontrol grubuna ait demografik veriler Tablo 1'de, laboratuvar verileri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Katılımcılara ait demografik ve klinik veriler.
Table 1. Demographic and clinical data of the participants.

Parametreler	RA grubu (n=50)	Kontrol grubu (n=50)	p
Yaş (yıl)*	51.22 ± 3.69	51.19 ± 3.27	0.982 ^y
Cinsiyet (E/K)	20/30	22/28	0.774 ^x
BKİ (kg/m ²)*	28.14 ± 2.49	27.52 ± 2.45	0.218 ^y
Hastalık süresi [#]	5 (1-15)		
RF (+/-)	39/11 (%78)		
Anti-CCP (+/-)	30/20 (%60)		
DAS-28*	3.44 ± 0.74		
TNF- α inhibitörleri			
İnfliximab	2 (%4)		
Golimumab	1 (%2)		
Adalimumab	2 (%4)		
Etanercept	3 (%6)		
DMARD'lar			
Hidroksiklorokin	20 (%40)		
Metotreksat	21 (%42)		
Sülfosalazin	30 (%60)		
Leflunomid	20 (%40)		

*: değerler ortalama (\pm SD) olarak verilmiştir, #: değerler Median(min-max) olarak verilmiştir, ^y: p değeri Independent Samples Test ile bulunmuştur. ^x: p değeri Chi-square Test ile bulunmuştur. BKİ, beden kitle indeksi; anti-CCP, anti Sitrüline Protein Antikoru; DAS-28, hastalık aktivite skoru; DMARD, hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaç; RF, romatoid faktör.

Tablo 2. RA ve kontrol grubunda çeşitli laboratuvar parametrelerinin kıyası.
Table 2. Comparison of various laboratory parameters in RA and control groups.

Parametre	RA grubu (n=50)	Kontrol grubu (n=50)	p
WBC (K/uL)*	9.21±3.79	7.79±1.61	0.023 [†]
HGB (g/dL)*	13.42±1.74	13.63±1.75	0.521 [†]
HCT (%)*	40.71±5.68	41.30±4.78	0.583 [†]
PLT (K/uL)*	303.82±61.99	272.91±66.19	0.020 [†]
RBC (10e6/uL)*	4.70±0.47	4.85±0.49	0.141 [†]
MCV (fL) [#]	88.70(65.70-106.80)	85.0(59.10-94.0)	0.013 ^x
MCH (pg)*	28.56±2.78	27.98±2.38	0.275 [†]
RDW (%) [#]	14.70(12.80-21.90)	13.90(10.0-17.70)	0.002 ^x
PDW (%) [#]	16.70(10.70-18.0)	16.70(10.0-18.40)	0.883 ^x
MPV (fL) [#]	8.0(6.20-11.30)	8.40(7.40-10.40)	0.008 ^x
NEU (K/uL) [#]	5.0(1.67-22.47)	4.13(2.03-8.0)	0.049 ^x
LYM (K/uL) [#]	2.26(1.32-4.51)	2.47 (1.27-4.09)	0.072 ^x
ALT (U/L)*	20.09±7.9	21.47±8.3	0.463 [†]
CREA (mg/dL) [#]	0.73(0.40-1.71)	0.71(0.54-1.51)	0.314 ^x
MG (ng/mL)*	33.07±6.85	18.16±6.53	<0.001 [†]
Prolidaz (U/L)*	979.56±197.41	910.32±122.44	0.040 [†]
İMA (ABSU)*	0.64±0.13	0.48±0.15	<0.001 [†]
NLO [#]	2.28(0.63-6.34)	1.81(0.50-3.55)	<0.001 ^x
PLO*	144.62±43.64	120.31±54.08	0.017 [†]
ESR (mm/hr) [#]	23.0(3.0-102.0)	10.0(2.0-38.0)	<0.001 ^x
CRP (mg/L) [#]	9.95(2.30-85.0)	3.40(1.34-15.0)	<0.001 ^x

*: değerler ortalama (± SD) olarak verilmiştir, #: değerler Median(min-max) olarak verilmiştir, †: p değeri Independent Samples Test ile bulunmuştur. ^x: p değeri Mann-Whitney U Test ile bulunmuştur. ABSU, Absorbans ünitesi.

RA grubunda serum İMA (p<0.001), MG (p<0.001), NLO (p <0.001), PLO (0.017), ESR (p <0.001), CRP (p <0.001), RDW (p=0.002), NEU (p=0.049), MCV (p=0.013), PLT (p=0.020) düzeyleri ve SPA (p=0.040) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunurken MPV (p=0.008) değeri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Düşük düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireyler (DAS 28 ≤ 3.2, n=24) ile orta düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireyler (DAS-28: 3.2-5.1, n=26) kıyaslandığında ise, düşük düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireylerin MG, İMA, NLO, ESR ve CRP düzeyleri orta düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (Tablo 3).

Spearman korelasyon analizine göre ise, SPA ile ESR (r= 0.285, p=0.005), WBC (r=0.272, p=0.007), NLO (r=0.205, p=0.045) düzeyleri arasında pozitif korelasyon; İMA düzeyleri ile DAS-28 skoru (r=0.282, p=0.045), hastalık süresi (r=0.393, p=0.004), ESR (r=0.337, p=0.001), CRP (r=0.252, p=0.013) ve WBC (r=0.303, p=0.003) düzeyleri arasında pozitif korelasyon, MPV (r= -0.215, p=0.035) düzeyleri arasında negatif korelasyon ve MG düzeyleri ile DAS-28 skoru (r=0.283, p=0.044), hastalık süresi (r= 0.414, p=0.003), ESR (r= 0.438, p<0.001), CRP (r= 0.467, p<0.001) WBC (r= 0.242, p=0.017), RDW (r= 0.285, p=0.005) PLT (r= 0.215, p=0.035), MCV (r= 0.289, p=0.004), NEU (r= 0.223, p=0.029), NLO (r= 0.267 p=0.009) ve PLO (r= 0.225, p=0.027) düzeyleri arasında pozitif korelasyon, MPV (r= -0.274, p=0.007) düzeyleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 3. Düşük ve orta düzeyde hastalık aktivitesine sahip RA'lı bireylerde çeşitli biyokimyasal parametrelerin kıyası.
Table 3. Comparison of various biochemical parameters in RA individuals with low and moderate disease activity.

Parametre	Düşük hastalık aktivitesi (n=24)	Orta hastalık aktivitesi (n=26)	p
WBC (K/uL)*	8.99±4.73	9.41±2.79	0.702 [*]
HGB (g/dL)*	13.38±1.33	13.46±1.61	0.835 [*]
HCT (%)*	39.67±6.87	41.64±4.29	0.220 [*]
PLT (K/uL)*	299.83±59.96	307.37±64.67	0.668 [*]
RBC (10e6/uL)*	4.63±0.49	4.77±0.45	0.329 [*]
MCV (fL) [#]	89.80(75.50-106.80)	88.20(65.70-99.80)	0.565 [□]
MCH (pg)*	29.02±2.69	28.16±2.85	0.274 [*]
RDW (%) [#]	14.35(12.80-21.90)	15.0(12.80-21.0)	0.219 [□]
PDW (%) [#]	16.70(10.70-18.0)	16.40(15.90-17.60)	0.316 [□]
MPV (fL) [#]	8.05(6.80-11.30)	8.0(6.20-9.60)	0.887 [□]
NEU (K/uL) [#]	4.76(1.67-22.47)	5.41(1.91-10.41)	0.124 [□]
LYM (K/uL) [*]	2.31±0.73	2.19±0.62	0.535 [*]
ALT (U/L)*	21.12±8.1	19.18±7.6	0.394 [*]
CREA (mg/dL) [#]	0.73(0.40-1.90)	0.73(0.48-1.71)	0.872 [□]
MG (ng/mL)*	30.96±6.35	34.94±6.84	0.037[*]
Prolidaz (U/L)*	932.45±201.63	1021.43±187.38	0.109 [*]
İMA (ABSU)*	0.59±0.14	0.67±0.10	0.028[*]
NLO [#]	1.79(0.63-6.30)	2.81(0.79-6.34)	0.022[□]
PLO*	141.69±50.64	147.21±37.13	0.597 [*]
ESR (mm/hr) [#]	19.0(3.0-41.0)	26.0(9.0-102.0)	0.004[□]
CRP (mg/L) [#]	8.0(2.30-79.0)	11.80(5.0-85.0)	0.040[□]

: değerler ortalama (± SD) olarak verilmiştir, #: değerler Median(min-max) olarak verilmiştir, ^{}: p değeri Independent Samples Test ile bulunmuştur. ^{*}: p değeri Mann-Whitney U Test ile bulunmuştur. ABSU, Absorbans ünitesi.

Tablo 4. MG, İMA düzeyleri ve SPA ile diğer biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar.
Table 4. Correlations between MG, İMA levels and SPA and other biochemical parameters

	MG (ng/mL)		İMA (ABSU)		SPA (U/L)	
	r	p	r	p	r	p
DAS-28	0.283	0.044	0.282	0.045	0.217	0.127
Hastalık süresi (yıl)	0.414	0.003	0.393	0.004	0.192	0.172
CRP (mg/L)	0.467	<0.001	0.252	0.013	0.174	0.090
ESR (mm/hr)	0.438	<0.001	0.337	0.001	0.285	0.005
WBC (K/uL)	0.242	0.017	0.303	0.003	0.272	0.007
RDW (%)	0.285	0.005	0.041	0.692	0.034	0.745
PDW (%)	0.048	0.639	0.135	0.190	0.034	0.745
NEU (K/uL)	0.223	0.029	0.176	0.087	0.190	0.064
PLT (K/uL)	0.215	0.035	0.105	0.311	0.097	0.347
MPV (fL)	-0.274	0.007	-0.215	0.035	-0.12	0.245
MCV (fL)	0.289	0.004	0.154	0.133	0.158	0.125
LYM (K/uL)	-0.123	0.233	0.114	0.263	-0.098	0.341
NLO	0.267	0.009	0.065	0.527	0.205	0.045
PLO	0.225	0.027	-0.190	0.855	0.122	0.238

TARTIŞMA

RA kronik, otoimmün bir hastalık olup ilerleyici eklem hasarıyla ilişkilidir ve henüz etiyo-lojisi tam olarak aydınlatılamamıştır (1). Bununla birlikte, doğuştan gelen immün sistem aktivasyonu RA başlangıcında en erken evrelerden birisi olup, sitrülline prote- inlere karşı T-hücre yanıtının başlatılmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Sinovyal tabakaya nüfuz eden T- hücreleri makrofajları, monositleri ve sinovyal fibro- blastları aktive etmekte ve bu hücreler tarafından üretilen interlökin-1 (IL-1), IL-6, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi pro- enflamatuvar sitokinlerde ROS üretimini indükleyerek RA patogenezinde rol oynayan enflamasyon ve oksidatif stres aracılı meka- nizmaları tetiklemektedir (6, 23). RA'da oksidatif/nitrozatif stresin ve lipid peroksidasyonunun arttığı, antioksidan savunma hattının zayıfladığı bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalar RA'lı hastalarda süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, nitrik oksit, peroksinitrit gibi oksidatif stres mediyatörlerinin düzeylerinin yükseldiğini ve bu mediyatörlerin eklem hasarına katkıda bulunduğunu gösterirken, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi antioksidanların düzeylerinin ise azaldığını göstermiştir (24-27). Bizde çalışmamızda oksidatif stresle ilişkili markırlar olan İMA, MG düzeylerini ve SPA'yı ölçerek bu markırlar ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Miyokardiyal enfarktüs, pulmoner emboli, serebrovasküler iskemik hastalıklar, kanser, diyabet, multiple skleroz, psöriyazis gibi iskemi, hipoksi veya enflamasyonun dahil olduğu hastalıklarda serum İMA düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, ankilozan spondilit, sjögren sendromu, Behçet gibi çeşitli enflamatuvar romatolojik hastalıklarda da İMA düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. RA'lı hastalarda İMA'nın oksidatif stres mediyatörü olarak kullanılabileceği bulgusunu destekleyen birkaç çalışma mevcuttur. Leitemperguer ve ark. RA'lı hastalarda İMA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmiştir (28). Uslu ve ark. İMA

düzeylerinin RA'lı hastalarda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu gösterirken, ayrıca İMA düzeyleri ile karotis intima media kalınlığı ve DAS-28 skoru arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmiştir (29). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, İMA düzeyleri RA'lı hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Tablo 2). Düşük düzeyde (DAS 28 \leq 3.2) hastalık aktivitesine sahip olan bireyler ile orta düzeyde (DAS-28: 3.2-5.1) hastalık aktivitesine sahip olan bireyler kıyaslandığında ise, orta düzeyde hastalık aktivitesi olan bireylerde serum İMA düzeylerinin düşük düzeyde hastalık aktivitesine sahip bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3). Korelasyon analizi, İMA düzeyleri ile DAS-28 skoru, hastalık süresi, WBC, ESR ve CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir (Tablo 4). Bu bulgular, hasta grubundaki yüksek İMA düzeylerinin RA'lı hastalarda sistemik enflamasyon süreci boyunca salınan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif stres ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Sistemik enflamasyon sürecinde fazla miktarda üretilen ROS'lar albuminde modifikasyonlara yol açarak albuminin geçiş metalleirne bağlanma yeteneğinin azalmasıyla oluşan İMA düzeylerinde artışa yol açmaktadır. İMA düzeyleri ile enflamasyon markırları arasındaki korelasyonda bu bulguyu desteklemektedir. DAS-28 skoru ile İMA düzeyleri arasındaki korelasyon ise İMA düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasında bir ilişki olduğunu ve RA'lı hastalarda İMA'nın bir aktivasyon markırı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Prolidaz sitozolik bir ekzopeptidaz olup kollajen metabolizması ve hücre büyümesinde önemli bir rol oynamaktadır (30). Kollajen döngüsü hızlandığında prolidaz aktivitesi de artmaktadır (31). Prolidaz, büyüme ve transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu regüle ederek enflamasyon, anjiyogenez, yara iyileşmesi, gibi birçok fizyolojik ve patofizyolojik prosese dahil olmaktadır (32). Romatolojik hastalıklarda SPA ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Marotta ve ark.

prolidaz enzim eksikliğinin artrit patolojisi-nde rol oynayabileceğini bildirirken (33), Butbul ve ark. prolidaz enzim eksikliğinin sistemik lupus ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. RA'lı hastalarda SPA'ya y6nelik 7elişkili bulgular mevcuttur (34). Ucar ve ark. RA'lı hastalarda SPA'nın kontrol grubuna g6re d6şuk olduğunu ancak bu farklılığın istatikselsel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir (35). Ugan ve ark. RA'lı hastalarda SPA'nın kontrol grubuna g6re y6ksek olduğunu romatoid fakt6r (RF) ve anti sitr6line protein antikoru (anti-CCP) d6zeyleri ile SPA arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirirken d6şuk ($DAS\ 28 \leq 3.2$) ve y6ksek ($DAS\ 28 > 5.1$) hastalık aktivitesine sahip bireylerin SPA d6zeyleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmiştir (36). Jassim ve ark. RA'lı hastalarda SPA'nın kontrol grubuna g6re istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde d6şuk olduğunu bildirmiştir (37). Bizim bulgularımız ise, SPA'nın RA'lı hastalarda kontrol grubuna g6re istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde y6ksek olduğunu g6sterirken (Tablo 2), orta ve d6şuk d6zeyde hastalık aktivitesine sahip bireylerin SPA'ları arasında istatikselsel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Tablo 3). Korelasyon analizi sonucunda ise SPA ile DAS-28 skoru ve CRP d6zeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamazken, SPA ile WBC, ESR d6zeyleri ve NLO arasında istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde pozitif korelasyon bulunmuştur (Tablo 4). Prolidaz kollajen turnoverında 6nemli bir role sahiptir ve 7eşitli 7alışmalar SPA ile oksidatif stres markırları arasında korelasyon olduğunu g6stermektedir (13, 38, 39). İnsan v6cudunda 16 tip kollajen bulunmakta olup, tip I, II ve III bunlar arasında en bol bulunandır. Tip 1 kollajen ise en yaygın kemikte bulunmaktadır (40). RA'lı hastalarda ise kemik turnoverı sağlıklı bireylere g6re daha hızlıdır (41). Dolayısıyla RA'lı hastalarda artmış kemik turnoverı ve oksidatif stres SPA'daki artışla ilişkili olabilir. Bununla birlikte DAS-28 skoru ile SPA arasında anlamlı d6zeyde bir korelasyon bulunamamıştır, dolayısıyla bulgularımız RA'lı hastalarda SPA'nın bir aktivasyon markırı olarak kullanılamayacağını g6stermektedir.

Reaktif karbonil t6revlerinden birisi olan ve endojen olarak 6retilen MG, AGE'lerin 6zel-

likle de pentosidinin en 6nemli prek6rs6r6d6r. MG oksidatif stresi, h6cresel hasarı, proteinlerin 7apraz bağlanmasını ve glikasyonu ind6kleyerek bir 7ok hastalığın patogene- zine dahil olmaktadır (42). Mukhopadhyay ve ark. hem akut hemde remisyon d6nemindeki RA'lı hastalarda MG d6zeylerinin kontrol grubuna g6re istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde y6ksek olduğunu g6stermiştir. Ayrıca bu 7alışmada MG d6zeyleri akut d6nemdeki hastalarda remisyondakilere g6re anlamlı d6zeyde y6ksek bulunurken seropozitif ve seronegatif hastaların MG d6zeyleri arasında ise anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (43). Knani ve ark. da benzer şekilde RA'lı hastalarda serum MG d6zeylerinin kontrol grubuna g6re y6ksek olduğunu bildirmiştir, ayrıca bu 7alışmada y6ksek ($DAS\ 28 > 5.1$) hastalık aktivitesine sahip bireylerde orta d6zeyde ($DAS-28: 3.2-5.1$) hastalık aktivitesine sahip bireylere g6re MG d6zeylerinin anlamlı d6zeyde y6ksek olduğu g6sterilmiştir (44). Bizim bulgularımız ise, serum MG d6zeylerinin RA'lı hastalarda kontrol grubuna g6re istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde y6ksek olduğunu g6stermektedir (Tablo 2). Orta d6zeyde hastalık aktivitesine sahip bireylerde ise serum MG d6zeyleri d6şuk d6zeyde hastalık aktivitesine sahip bireylere g6re istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde y6ksekti (Tablo 3). Ayrıca, serum MG d6zeyleri ile WBC, PLT, ESR, CRP, NEU, RDW, MCV d6zeyleri, NLO, PLO, hastalık s6resi ve DAS-28 skoru arasında istatikselsel olarak anlamlı d6zeyde pozitif korelasyon vardı (Tablo IV). MG insan v6cudunda oksidatif stresin ve karbonil stresinin tetiklenmesinde 6nemli bir rol oynamaktadır. Proteinlerdeki lizin, arjinin, histidin ve sistein rezid6lerinin amino gruplarıyla reaksiyona girerek AGE 6retimine yol a7maktadır. Dolayısıyla proteinlerde yapısal, fonksiyonel değişikliklere yol a7makta, serbest radikal 6reten N- karboksietillisin (CEL), gibi toksik metabolitlerin oluşmasına neden olmaktadır. AGE'ler ROS 6retimini ve enflamasyonu arttırarak h6cresel hasarı tetiklemektedir (45). Dolayısıyla, RA'lı hastalarda artmış MG konsantrasyonlarının enflamasyon ve oksidatif stresi ind6kleyerek RA patogene- zine dahil olduğunu d6ř6nmek-

teyiz. Enflamasyon markırları ile MG düzeyleri arasındaki korelasyonlarda bu bulgumuzu desteklemektedir. Ayrıca DAS-28 ile MG düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon MG ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi desteklemekte ve MG'nin hastalık aktivasyon markırı olarak kullanılabilceğini ortaya koymaktadır. Hastalık süresi ile MG ve İMA düzeyleri arasındaki pozitif korelasyonlar ise hastalık süresi ilerledikçe oksidatif hasarın artabileceğini göstermektedir.

Özetle, Bulgularımız RA patolojisinde enflamasyon ve oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını gösterirken, hastalık aktivitesi ve süresiyle serum İMA ve MG düzeyleri arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

1. Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ, Xu J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Research*. 2018;6(1):15.
2. Intriago M, Maldonado G, Cárdenas J, Ríos C. Clinical Characteristics in Patients with Rheumatoid Arthritis: Differences between Genders. *ScientificWorldJournal*. 2019;2019:8103812.
3. Bullock J, Rizvi SAA, Saleh AM, Ahmed SS, Do DP, Ansari RA, et al. Rheumatoid Arthritis: A Brief Overview of the Treatment. *Med Princ Pract*. 2018;27(6):501-7.
4. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, et al. Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:18001.
5. Xu B, Lin J. Characteristics and risk factors of rheumatoid arthritis in the United States: an NHANES analysis. *PeerJ*. 2017;5:e4035.
6. Da Fonseca LJS, Nunes-Souza V, Goulart MOF, Rabelo LA. Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis: What the Future Might Hold regarding Novel Biomarkers and Add-On Therapies. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:7536805.
7. Allaman I, Bélanger M, Magistretti PJ. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. *Front Neurosci*. 2015;9:23.
8. Nokin MJ, Durieux F, Bellier J, Peulen O, Uchida K, Spiegel DA, et al. Hormetic potential of methylglyoxal, a side-product of glycolysis, in switching tumours from growth to death. *Sci Rep*. 2017;7(1):11722.
9. Oliveira MGd, Medeiros MLd, Tavares EBG, Mónica FZ, Antunes E. Methylglyoxal, a Reactive Glucose Metabolite, Induces Bladder Overactivity in Addition to Inflammation in Mice. *Frontiers in Physiology*. 2020;11(290).

Çalışmamızın en önemli avantajı oksidatif stres, enflamasyon ve kollajen metabolizmasıyla ilişkili parametreleri hastalık aktivitesiyle birlikte değerlendiren kapsamlı bir çalışma olmasıdır, kısıtlı hasta sayısı, kemik yapım-yıkım markırlarının eksikliği çalışmamızın en önemli dezavantajlarıdır. Bu markırların hastalık aktivasyon markırı olarak kullanılabilceği bulgusunu güçlendirmek için daha geniş bir hasta popülasyonunda ileri çalışmalara gereksinim vardır.

AÇIKLAMALAR

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedirler. Çalışmamız herhangi bir finansal destek almamıştır

10. Fournet M, Bonté F, Desmoulière A. Glycation Damage: A Possible Hub for Major Pathophysiological Disorders and Aging. *Aging Dis*. 2018;9(5):880-900.
11. Sena CM, Matafome P, Crisóstomo J, Rodrigues L, Fernandes R, Pereira P, et al. Methylglyoxal promotes oxidative stress and endothelial dysfunction. *Pharmacol Res*. 2012;65(5):497-506.
12. Lee JH, Parveen A, Do MH, Kang MC, Yumnam S, Kim SY. Molecular mechanisms of methylglyoxal-induced aortic endothelial dysfunction in human vascular endothelial cells. *Cell Death Dis*. 2020;11(5):403.
13. Aslan M, Duzenli U, Esen R, Soyoral YU. Serum prolidase enzyme activity in obese subjects and its relationship with oxidative stress markers. *Clin Chim Acta*. 2017;473:186-90.
14. Piriñçi N, Kaba M, Geçit İ, Güneş M, Yüksel MB, Tanık S, et al. Serum prolidase activity, oxidative stress, and antioxidant enzyme levels in patients with renal cell carcinoma. *Toxicol Ind Health*. 2016;32(2):193-9.
15. Ekinci A, Kamasak K. Evaluation of serum prolidase enzyme activity and oxidative stress in patients with tinnitus. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2020;86(4):405-10.
16. Hilali N, Vural M, Camuzcuoglu H, Camuzcuoglu A, Aksoy N. Increased prolidase activity and oxidative stress in PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79(1):105-10.
17. Beyazit F, Pek E, Türkön H. Serum Ischemia-Modified Albumin Concentration and Ischemia-Modified Albumin/Albumin Ratio in Hyperemesis Gravidarum. *Medical Bulletin of Haseki*. 2018;56:292-8.
18. Savci U, Senel E, Oztekin A, Sungur M, Erel O, Neselioglu S. Ischemia-modified albumin as a possible marker of oxidative stress in patients with telogen effluvium. *An Bras Dermatol*. 2020;95(4):447-51.

19. van der Linden MP, Knevel R, Huizinga TW, van der Helm-van Mil AH. Classification of rheumatoid arthritis: comparison of the 1987 American College of Rheumatology criteria and the 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria. *Arthritis Rheum.* 2011;63(1):37-42.
20. Wang X, Desai K, Clausen JT, Wu L. Increased methylglyoxal and advanced glycation end products in kidney from spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int.* 2004;66(6):2315-21.
21. Myara I, Myara A, Mangeot M, Fabre M, Charpentier C, Lemonnier A. Plasma prolidase activity: a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem.* 1984;30(2):211-5.
22. 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(4):311-5.
23. Phull AR, Nasir B, Haq IU, Kim SJ. Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis. *Chem Biol Interact.* 2018;281:121-36.
24. Mateen S, Moin S, Khan AQ, Zafar A, Fatima N. Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PLoS One.* 2016;11(4):e0152925.
25. Filippin LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM. Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2008;152(3):415-22.
26. Kalpakcioglu B, Senel K. The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2008;27(2):141-5.
27. Altindag O, Karakoc M, Kocyigit A, Celik H, Soran N. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem.* 2007;40(3-4):167-71.
28. Leitemperguer MR, Tatsch E, Kober H, De Carvalho JA, Moresco RN, Da Silva JE. Assessment of ischemia-modified albumin levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Lab.* 2014;60(6):1065-70.
29. Uslu AU, Kucuk A, Balta S, Ozturk 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;22(1):32-7.
30. Bhatnager R, Dang AS. Comprehensive in-silico prediction of damage associated SNPs in Human Prolidase gene. *Sci Rep.* 2018;8(1):9430.
31. Kösem A, Ögüş E, Duranay M, Yücel D. Evaluation of prolidase activity in uremic bone disease. Üremik kemik hastalığında prolidase aktivitesinin değerlendirilmesi. 2017;42(1):23-9.
32. Bozkurt M, Yüksel H, Em S, Oktayoglu P, Yildiz M, Akdeniz D, et al. Serum prolidase enzyme activity and oxidative status in patients with Behçet's disease. *Redox Rep.* 2014;19(2):59-64.
33. Marotte H, Gineyts E, Miossec P. Prolidase deficiency: a rare aetiology of arthritis. *Joint Bone Spine.* 2010;77(1):88-9.
34. Butbul Aviel Y, Mandel H, Avitan Hersh E, Bergman R, Adiv OE, Luder A, et al. Prolidase deficiency associated with systemic lupus erythematosus (SLE): single site experience and literature review. *Pediatric Rheumatology.* 2012;10(1):18.
35. Uçar D, Em S, Bozkurt M, Oktayoglu P, Yüksel HK, Çağlayan M, et al. Serum prolidase activity in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord.* 2013;6:29-33.
36. Ugan Y, Sezen H, Dogru A, Kucuk A. Is prolidase an activation marker in patients with rheumatoid arthritis? *Acta Medica Mediterranea.* 2016;32:313-6.
37. Jassim H, Alnassiri S, Mawlood A, Shnak Q. Relationship of erythrocyte sedimentation rate with the activity of prolidase and liver enzyme in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Materials Today: Proceedings.* 2021;43.
38. Bozkurt M, Çağlayan M, Oktayoglu P, Em S, Batmaz İ, Saryıldız MA, et al. Serum prolidase enzyme activity and oxidative status in patients with fibromyalgia. *Redox Report.* 2014;19(4):148-53.
39. Toy H, Camuzcuoglu H, Arioz DT, Kurt S, Celik H, Aksoy N. Serum prolidase activity and oxidative stress markers in pregnancies with intrauterine growth restricted infants. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research.* 2009;35(6):1047-53.
40. Boraschi-Diaz I, Wang J, Mort JS, Komarova SV. Collagen Type I as a Ligand for Receptor-Mediated Signaling. *Frontiers in Physics.* 2017;5(12).
41. Watanabe T, Takase-Minegishi K, Ihata A, Kunishita Y, Kishimoto D, Kamiyama R, et al. (18)F-FDG and (18)F-NaF PET/CT demonstrate coupling of inflammation and accelerated bone turnover in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 2016;26(2):180-7.
42. Chaudhuri J, Bains Y, Guha S, Kahn A, Hall D, Bose N, et al. The Role of Advanced Glycation End Products in Aging and Metabolic Diseases: Bridging Association and Causality. *Cell Metab.* 2018;28(3):337-52.
43. Mukhopadhyay S, Sen S, Majhi B, Das KP, Kar M. Methyl glyoxal elevation is associated with oxidative stress in rheumatoid arthritis. *Free Radical Research.* 2007;41(5):507-14.
44. Knani I, Bouzidi H, Zrour S, Bergaoui N, Hammami M, Kerkeni M. Methylglyoxal: A Relevant Marker of Disease Activity in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Dis Markers.* 2018;2018:8735926.
45. Islam S, Mir AR, Abidi M, Talha M, Zafar A, Habib S, et al. Methylglyoxal modified IgG generates autoimmune response in rheumatoid arthritis. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2018;118:15-23.