

# ROMATOİD ARTRİTLİ OLGULARDA SERUM NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ VE HASTALIK AKTİVİTESİ İLE OLAN İLİŞKİSİ<sup>+</sup>

Yüksel ERSOY\*  
Ükü MERAL\*  
Zühal ALTAY\*  
Aysun BAY\*\*  
Elif ÖZEROL\*\*  
Özlem BAYSAL\*

\*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Turgut Özal Tıp Merkezi, Fiziksel Tıp  
ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı,  
MALATYA  
\*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Turgut Özal Tıp Merkezi Biyokimya  
Anabilim Dalı, MALATYA

<sup>+</sup>27-30 Eylül 2000 tarihleri arasında  
Kiriş / ANTALYA'da düzenlenen  
Romatizma Araştırma Savaş Derneği  
Geleneksel Sempozyumunda poster  
olarak sunulmuştur.

**Yazışma Adresi:**  
Yrd. Doç. Dr. Yüksel ERSOY  
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon  
Anabilim Dalı  
44069 MALATYA

Tel: 0 - 422 - 341 06 60 / 36 02  
Fax: 0 - 422 - 341 07 29  
E-mail: ftr@inonu.edu.tr

**Amaç:** Bu çalışma, inflamatuvar romatizmal hastalıklardan olan romatoid artrit (RA)'te serum nitrik oksit (nitrit ve nitrat) düzeylerinin hastalık aktivitesi ile olan ilişkilerinin saptanabilmesi amacı ile planlandı.

**Materyal ve Metot:** İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı polikliniklerine başvuran, klinik ve laboratuvar tanı yöntemleri ile "1987 ARA" kriterlerine göre RA tanısı konmuş 35 olgudan oluşan hasta grubu ile, yaş ve cinsiyetleri hasta grubu ile uyumlu olan 30 sağlıklı bireyin oluşturduğu kontrol grubu çalışmaya alındı. Hasta grubu ile kontrol grubunun serum nitrik oksit (NO) düzeylerinin karşılaştırılması yanısıra, hasta grubu serum ESR ve CRP değerlerine göre aktif ve inaktif olarak iki gruba ayrılarak serum NO (nitrit ve nitrat) düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişki de araştırıldı.

**Bulgular:** RA'li hasta grubunda serum NO düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek saptandı ( $p<0.001$ ). Yanısıra NO düzeylerinin hastalık aktivitesi parametreleri ile anlamlı derecede ilişki gösterdiği tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Elde edilen veriler; RA'li olgularda serum NO düzeylerinin arttığı ve hastalık aktivitesinin saptanmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Romatoid artrit, serum nitrit düzeyi, serum nitrat düzeyi, nitrik oksit.

## Serum nitric oxide level in rheumatoid arthritis and its correlation with activity of disease

**Objectives:** This study has been conducted to compare serum nitric oxide (nitrite and nitrate) levels in patients with rheumatoid arthritis (RA) and healthy volunteers and also to explore the correlation between these levels and the disease activity parameters.

**Materials and methods:** In this study we included 35 patients with RA who admitted to outpatient clinics of the department of PM&R and met 1987-ARA-Diagnostic Criteria according to clinical and laboratory findings. We included 30 healthy individuals as control group who were matched with patient group according to age and sex. We compared serum nitric oxide (NO) levels of patient with RA and control group and we divided patient's group into two groups according to serum ESR and CRP values as active and inactive to determine the correlation between serum NO (nitrite and nitrate) levels and disease activity, significantly higher in RA patients than the control group ( $p<0.01$ ). In addition, there was statistically significant correlation between serum NO levels and disease activity parameters ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** According to these findings serum NO levels were found to be elevated in RA patients and this test can be used as a diagnostic investigation for determining disease activity in these patients.

**Key words:** Rheumatoid arthritis, serum nitrite level, serum nitrate level, nitric oxide.

Serbest bir inorganik radikal gaz olan nitrik oksit (NO), arginin'in sitrülline dönüşümü esnasında nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) tarafından oluşturulur. Özellikle santral sinir sisteminde sinirsel iletilerin taşınmasında nöronal NOS (nNOS), damarsal tonusta vasodilatör etkilerden endotelial NOS (eNOS) ve yon ve hücre içi patojenlerin öldürülmesi sayılabilir<sup>2,3,5,6</sup>. İnflamasyonun olduğu birçok olayda rol aldığı belirlenen nitrik oksit, biyolojik sıvılarda kısa sürede nitrite ve daha sonrada nitrata okside olur. Bu nedenle serum nitrit ve

inflamatuvar, endotoksin ve sitotoksik uyarılara cevap olarak üretilen indüklenebilir NOS (iNOS) olmak üzere en az üç farklı yapıda NOS'un bulunduğu gösterilmiştir<sup>1-4</sup>. Önceki çalışmalar, NO'nin birçok fizyolojik rolünün olduğunu göstermektedir. Bunlar arasında trombosit fonksiyonlarının düzenlenmesi, nörotransmit nitrat düzeylerinin toplam NO düzeyini ifade etmektedir.

NO'nin inflamatuvar eklem hastalıklarındaki önemi ile ilgili bilgiler yetersizdir<sup>7</sup>. Birçok

çalışma doku harabiyeti ve inflamasyon süreçlerinde NO'nin rol oynadığını göstermektedir<sup>6,8</sup>. İnflamatuvar bir süreç olarak kabul edilmemekle birlikte osteoartritik sinovial sıvıda proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 ve tümör nekroz faktörü'nün varlığı gösterilmiştir<sup>8</sup>.

NO'nin immün sistemdeki düzenleyici rolü, inflamasyon, otoimmünite ve artritlerdeki rolü, son zamanlarda romatizmal hastalıklarla ilgilenen hekimlerin ilgi odağı haline gelmiştir<sup>6</sup>. Birçok çalışmada RA ve OA'li hastalarda serum ve sinovial sıvı NO düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir<sup>6,9</sup>.

Vücut sıvılarında NO'nin çok kısa sürede son ürünleri olan nitrit ve nitrata metabolize olması nedeni ile NO yapımı ve miktarı hakkında bu ürünlerinin düzeylerinin tayin edilmesi önem kazanır<sup>1,3,4,6,7</sup>. Normal diyet koşullarında, NO'nin son ürünleri olan nitrit ve nitratın serum düzeylerini RA'li olgular ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırmak ve RA'li hastalarda sistemik aktivite parametreleri ile serum NO seviyesi arasında ilişki olup olmadığını belirlemek amacı ile bu çalışma planlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

**Hastalar:** Hastanemiz Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon departmanı polikliniklerine başvurmuş, klinik ve laboratuvar değerlendirmeler sonunda Amerikan Romatizma Derneği (ARA) kriterlerine göre<sup>10</sup> tanı konmuş olan 35 RA'li olgunun yanısıra yaş ve cinsiyetleri uyumlu 30 sağlıklı gönüllü bu çalışmaya dahil edildi.

**Çalışma protokolü:** Tüm hastalara ve kontrol grubunu oluşturan gönüllülere çalışma hakkında bilgi verildi. Rutin kan analizlerinden birkaç gün önceden başlamak üzere yüksek oranda nitrat içeren et mamülleri ve sebze yiyeceklerin tüketilmemesi sağlandı. Yaklaşık 10 saatlik açlığı takiben sabah 8-10 saatleri arasında venöz kan örnekleri alındı. Bu kan örneğinden ESR incelemeleri için antikoagülanlı tüplere, diğer parametreler için ise kuru tüplere gerekli miktarda kan örnekleri paylaştırıldı. Anamnez, klinik muayene ve laboratuvar analiz sonuçları doğrultusunda; RA dışında başka bir inflamatuvar hastalığı olanlar, >10 mg/gün prednizolon tedavisi uygulananlar ve diyet

önerilerimize uymadığı tespit edilen olgular çalışma dışı bırakıldı.

**Laboratuvar analizler:** Serumda nitrit düzeyinin tespiti amacı ile direkt Griess reaksiyonu kullanıldı<sup>3</sup>. Nitrat düzeyi ise; indirekt Griess reaksiyonu ile belirlenen total NO miktarından nitrit'in çıkarılması ile elde edildi. Sistemik aktivite parametreleri olarak, RA'li olgularda nefelometri yöntemi ile serum CRP düzeyi ve Westergren yöntemi ile de ESR belirlendi. Erkekler için; ESR >yaş/2 ve/veya CRP >6 mg/L, kadınlar için; ESR >(yaş+10)/2 ve/veya CRP >6 mg/L sistemik aktivite kriterleri olarak kabul edildi.

**İstatistiksel analizler:** Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 10.0 paket programı kullanılarak, ortalama±standart sapma belirlendi. Analizlerde; bağımsız örneklerde t testi, Mann-Whitney U testi ve Spearman nonparametrik korelasyon testleri kullanıldı. Anlamlılık derecesi olarak p <0.05 kabul edildi.

## BULGULAR

RA'li olgularla kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Serum nitrit ve nitrat düzeyleri RA'li hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu (p<0.01) (Tablo 1 ve Grafik 1-2).

Sistemik aktivite parametrelerine göre aktif olan RA'li olgularda inaktif olanlarına göre serum nitrit ve nitrat düzeylerinin yaklaşık 1.5 kat daha yüksek olduğu (p<0.05) saptandı. Yanısıra, serum nitrit-ESR (r=0.3588) ve serum nitrit-CRP (r=0.3875) ile serum nitrat-ESR (r=0.4892) ve serum nitrat-CRP (r=0.4783) parametreleri arasında pozitif yönde bir korelasyon bulundu (p<0.05) (Tablo 2 ve Grafik 3-4).

## TARTIŞMA

Sepsis, ülseratif kolit, psöriazis, artrit, multiple sklerozis, tip I DM, dev hücreli arterit, SLE ve Sjögren sendromunda fazla miktarda NO üretiminin saptandığı bilinmektedir. NO üretimindeki artışın, spesifik olarak bir hastalığı göstermemesine rağmen inflamatuvar sitokinlerin ve diğer mediyatörlerin açığa çıktığı ve

immün olarak aktif bir dönemin göstergesi olabileceği kabul edilmektedir. Ayrıca, deneysel hayvan modellerinde NO üretiminin engellenmesi ile SLE, inflamatuvar artritler ve OA'ın klinik bulgularında gerileme tespit edilmesi, bu hastalıkların tedavisi için umut verici gelişmeler olarak görülmektedir<sup>4</sup>.

**Tablo 1.** Demografik veriler.

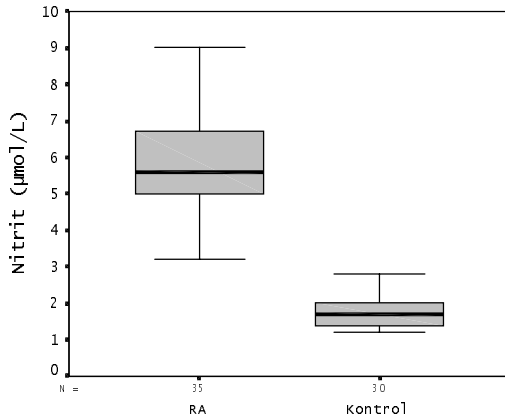
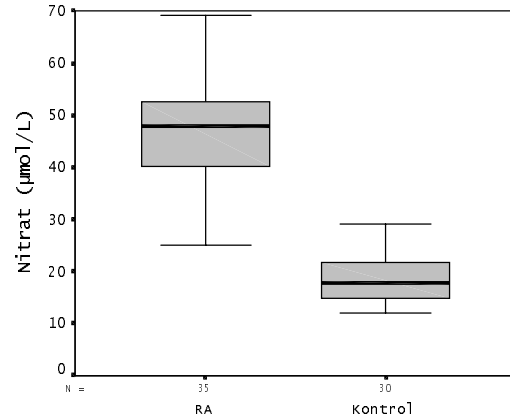
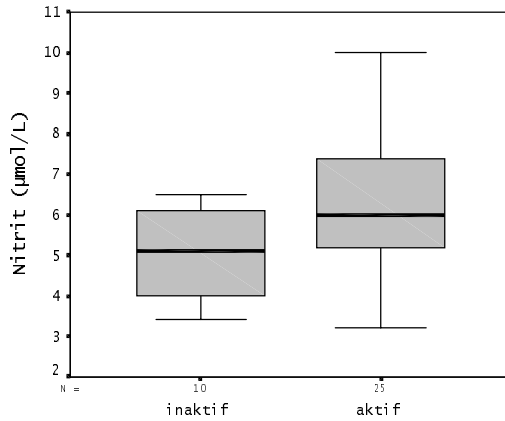
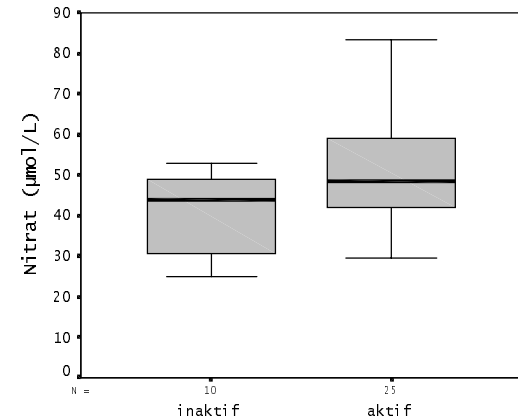
Parametreler	RA	Kontrol	P
Cinsiyet (E/K)	9 / 26	12 / 18	>0.05
Yaş (yıl)	51.05±10.38	49.22±10.43	>0.05
Ağırlık (kg)	68.62±10.13	70.12±11.14	>0.05
Nitrat (µmol/L)	51,52±19,97	18,48±4,95	<0.01
Nitrit (µmol/L)	6,14±1,98	1,73±0,45	<0.01

**Not:** Veriler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Tablo 2.** RA'li olgularda sistemik aktivite parametrelerinin serum nitrit ve nitrat düzeyleri ile ilişkisi.

Parametreler	RA			P
	Genel	Aktif (n=25)	İnaktif (n=10)	
ESR (mm/h)	49.0±25.26	56.48±25.71	30.30±10.23	<0.05
CRP (mg/L)	11.97±5.08	13.68±3.68	4.16±3.53	<0.01
Nitrat (µmol/L)	51,52±19,97	55,73±21,47	40,98±10,24	<0.01
Nitrit (µmol/L)	6,14±1,98	6,56±2,10	5,09±1,12	<0.01

**Not:** Veriler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Grafik 1.** RA ve kontrol gruplarında nitrit düzeyleri.**Grafik 2.** RA ve kontrol gruplarında nitrat düzeyleri.**Grafik 3.** İnaktif ve aktif RA'li olgularda nitrit düzeyleri.**Grafik 4.** İnaktif ve aktif RA'li olgularda nitrat düzeyleri.

Önceki çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da; serum NO konsantrasyonunun RA'li olgularda yaş ve cinsiyet yönünden uyumlu kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek olduğu tespit edildi<sup>9,11,12</sup>.

Bu yüksek düzeyler-deki NO'in kaynağını açıklamaya çalışan çeşitli görüşler vardır. Bunlar arasında en fazla kabul gören görüş, sinovial sıvıda yüksek konsantras-yonda bulunan NO'in lenfatik drenaj ile dolaşıma katılmasıdır. Bu görüş, inflamatuvar hastalıklardan olan RA ve AS'deki sistemik inflamasyon nedeni ile dolaşım sisteminde bulunan fazla miktardaki sitokinlerle açıklanmaya çalışılmaktadır<sup>9</sup>.

Çalışmamızın verileri, daha önceki çalışmalarda elde edilmiş olanlarla paralellik göstermekte ve sağlıklı kişilerle kıyaslandığında RA'li hastalarda serum NO düzeyinin artmış olduğunu vurgulamaktadır. Farrel ve arkadaşları<sup>9</sup>, RA ve OA'li hastaların serum ve sinovial sıvı örneklerinde NO üretiminin arttığını gösteren yüksek düzeyde nitrit saptamışlardır. Çalışmamızda ilave olarak, RA'li hastalarda sistemik aktivite parametreleri ile serum nitrit ve nitrat düzeyleri arasında pozitif yönde bir korelasyonun olduğu da saptanmıştır. Benzer ilişkiler Ueki ve arkadaşları<sup>12</sup> ile Nakamura ve arkadaşları<sup>11</sup> tarafından da bildirilmiştir. Yine aynı araştırmacılar yaptıkları çalışmada, erken dönemdeki RA'li olgularında serum NO düzeyini azaltan ajanların tatbik edilmesinin klinik bulguları geriletmişti ve erken dönemdeki RA'li olgularda serum NO seviyesinin hastalığın takibinde kullanılabilir bir parametre olabileceğini bildirmişlerdir<sup>11</sup>.

Sonuç olarak; yüksek düzeyde tespit edilen serum nitrit ve nitratın, RA'li hastalarda NO üretiminin arttığını ve RA etiopatogenezinde de rolünün olabileceği yönündeki düşünceleri desteklemektedir. Bu veriler aynı zamanda, gelecekte tedavi amacı ile iNOS inhibitörlerinin kullanımı ile ilgili umutları arttırmakta ve özellikle erken dönemdeki RA'li hastalarda hastalığın aktivitesini belirlemek amacı ile serum nitrit ve nitrat düzeylerinin tayin edileceğini düşündürmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Fletcher DS, Widmer WR, Luell S, et al. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284: 714-21.
2. Hobbs AJ, Higgs A, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthase as a potential therapeutic target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 191-220.
3. Stichtenoht DO, Frolich JC. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 246-57.
4. Clancy RM, Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1141-51.
5. Murrell GA, Doland MM, Jang D, et al. Nitric oxide: an important articular free radical. *J Bone Joint Surg Am* 1996; 78: 265-74.
6. Stefanovic-Racic M, Stadler J, Evans CH. Nitric oxide and arthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1036-44.
7. Stichtenoht DO, Wollenhaupt J, Andersone D, et al. Elevated serum nitrate concentrations in active spondyloarthropathies. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 616-9.
8. Grabowski PS, Wright PK, 't Hof RJ, et al. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in synovium and cartilage in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 651-5.
9. Farrel AJ, Blake DR, Palmer RM, et al. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 1219-22.
10. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
11. Nakamura H, Ueki Y, Sakito S, et al. Clinical effects of actarit in rheumatoid arthritis: improvement of early disease activity mediated by reduction of serum concentrations of nitric oxide. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 445-50.
12. Ueki Y, Miyake S, Tominaga Y, et al. Increased nitric oxide levels in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1996; 23: 230-6.