

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SIÇANLARDA KOLLAJEN İLE OLUŞTURULAN ARTRİT
MODELİNDE KARANFİL, DEFNE, KANTARON VE ZENCEFİL
YAĞLARI KARIŞIMI İLE DİKLOFENAK SODYUM İÇEREN
JELİN ANTI-İNFLAMATUAR ETKİNLİĞİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Yaşar VURAL

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Şevket Ercan TUNÇ**

ISPARTA - 2012

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SIÇANLARDA KOLLAJEN İLE OLUŞTURULAN ARTRİT
MODELİNDE KARANFİL, DEFNE, KANTARON VE ZENCEFİL
YAĞLARI KARIŞIMI İLE DİKLOFENAK SODYUM İÇEREN
JELİN ANTI-İNFLAMATUAR ETKİNLİĞİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Yaşar VURAL

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Şevket Ercan TUNÇ

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından 2413-TU-10 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA - 2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmamda bana her türlü desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Ş. Ercan Tunç başta olmak üzere değerli hocalarım, Prof. Dr. M. Numan TAMER, Prof. Dr. M. Tuğrul SEZER, Prof. Dr. M. Cem Koçkar, Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN, Doç. Dr. Z. Dilek Aydın, Yrd. Doç. Güçhan Alanoğlu ile laboratuvar çalışmamda emeği geçen, Doç. Dr. Efkan Uz, Doç. Dr. Recep Sütçü, Uz. Dr. Sefa Kızıtanır, Arş. Gör. Özlem Yüksel, Arş. Gör. Ayşe Yiğit'e ve projemizi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine ve çalışmalarım sırasında manevi desteği ile hep yanımda olan sevgili eşime derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Romatoid Artrit	3
2.1.1. Etyoloji ve Patogenez.....	3
2.1.2. Romatoid Artritte Eklem Hastalığının Patogenezi.....	4
2.1.2.1. Sinoviyal Patoloji.....	4
2.1.2.1.1. Kronik İnflamatuvar Artritte Sinoviya.....	5
2.1.2.1.2. Pannus	6
2.1.2.2. Kemik Patolojisi.....	7
2.1.2.3. Tendon ve Bağ Patolojisi	8
2.1.2.4. Kıkırdak Patolojisi	8
2.2. Romatoid Nodül	9
2.3. Romatoid Artritin Klinik Özellikleri.....	9
2.4. Eklem Bulguarı	10
2.5. Romatoid Artritin Eklem Dışı Bulguları.....	11
2.6. Romatoid Artritin Non-Organ-Spesifik Özellikleri	12
2.7. Romatoid Artritin Organ ve Sistem Spesifik Özellikleri.....	12
2.8. Romatoid Artrit Tanı ve Prognozunda Kullanılan Laboratuvar Testleri.....	14
2.9. Romatoid Artritte Radyoloji	16
2.10. Romatoid Artritte Ayırıcı Tanı.....	16
2.11. 2010 ACR/EULAR Romatoid Artritin Tanı Kriterleri	18
2.12. Romatoid Artritin Tedavisi	20
2.12.1. Nonsteroid Antiinflatuvar İlaçlar (NSAİİ).....	20
2.12.2. Kortikosteroidler	21
2.12.3. Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar.....	21

2.12.3.1. Hidroksiklorokin	22
2.12.3.2. Sülfasalazin	22
2.12.3.3. Altın Tuzları	25
2.12.3.4. D-penisilamin	25
2.12.3.5. İmmünosupresifler	26
2.12.3.5.1. Azatiopürin	26
2.12.3.5.2. Siklofosfamid	26
2.12.3.5.3. Metotreksat	27
2.12.3.5.4. Leflunomid	28
2.12.3.6. Biyolojik Ajanlar	29
2.12.3.6.1. TNF İnhibitörleri	29
2.12.3.6.2. Anakinra	30
2.12.3.6.3. Abatasept	31
2.12.3.6.4. Rituksimab	31
2.12.4. Zingiber Officinale (Zencefil)	31
2.12.5. Laurus Nobilis (Defne)	32
2.12.6. Hypericum Perforatum (Binbirdelik Otu)	33
2.12.7. Eugenia Caryophyllata (Karanfil)	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Kullanılan Cihazlar	35
3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Kitler	35
3.3. Deney Hayvanları	36
3.4. Deney Düzenegi	36
3.5. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1. Gruplarda hsCRP Düzeyi	48
4.2. Gruplarda IL-1 β Düzeyi	49
4.3. Gruplarda IL-6 Düzeyi	50
4.4. Gruplarda TNF- α Düzeyi	51
4.5. Gruplarda COX-1 Düzeyi	52
4.6. Gruplarda COX-2 Düzeyi	53
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ	58
ÖZET	59

ABSTRACT	60
KAYNAKLAR	61

KISALTMALAR

ARA	: Amerikan Romatizma Cemiyeti
ACR	: Amerikan Romatizma Derneği
AÇB	: Arka Çapraz Bağ
AZT	: Azotiopürin
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
BUN	: Kan Üre Nitrojeni
COX	: Siklooksijenaz
CCP	: Siklik Sitrulinize Peptid
CDAI	: Klinikal Disease Activity Index
CRP	: C- Reaktif Protein
COMP	: Kartilaj Oligomerik Matriks Proteini
CIA	: Kollajenle Oluşturulan Artrit
DMARD	: Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar
FCA	: Freund'un Komplet Adjuvanı
ESR	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
HLA	: İnsan Lökosit Antigeni
HRCT	: Yüksek Rezolüsyonlu Kompetorize Tomografi
HCQ	: Hidroksiklorokin
HCV	: Hepatit C virusu
HTLV	: İnsan Lenfotropik Virus
GFR	: Glomeruler Filtrasyon Hızı
GİS	: Gastrointestinal Sistem
G6PD	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
KCFT	: Karaciğer Fosfat dehidrogenaz
KS	: Kortikosteroid
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MCV	: Modifiye Sitrulinize Vimentin
MTF	: Metotarsofalangial

MTX	: Metotreksat
M-CSF	: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
NSAİİ	: Nonstroid Antiinflamatuvar İlaçlar
Ig	: İmmün Globülin
IL	: İnterlökin
PTH	: Parathormon
USG	: Ultrasonografi
OA	: Osteoartrit
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
RA	: Romatoid Artrit
RANKL	: Reseptör-Aktivatör Nükleer Faktör
RF	: Romatoid Faktör
SLE	: Sistemik Lupus Eritematoz
SSZ	: Sülfasalazin
SDÜ	: Süleyman Demirel Üniversitesi
UDPGD	: Uridin Difosfoglukoz Dehidrogenaz

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmamızda oluşturduğumuz artrit grupları	37
Tablo 2. Kollajen ile oluşturulan artritın makroskopik sınıflaması Bakharevski ve ark'a göre klinik değerlendirme yapıldı(klinik değerlendirmede her ektremite 0-4 arasında puanlandı)	38
Tablo 3. Sıçanların tutulan eklemlerinin makroskopik skorlaması	39
Tablo 4. Çalışmamızdaki bulguların sonuçları.....	47

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubu 3. rat, tedavi öncesi	41
Resim 2. Kontrol grubu 3. rat, tedavi sonrası	41
Resim 3. Kontrol grubu 6. rat, tedavi öncesi	41
Resim 4. Kontrol grubu 6. rat, tedavi sonrası	41
Resim 5. FCA grubu 3. rat, tedavi öncesi.....	42
Resim 6. FCA grubu 3. rat, tedavi sonrası.....	42
Resim 7. FCA grubu 6. rat, tedavi öncesi.....	42
Resim 8. FCA grubu 6. rat, tedavi sonrası.....	42
Resim 9. Adjuvan grubu 5. rat, tedavi öncesi.....	43
Resim 10. Adjuvan grubu 5. rat, tedavi sonrası.....	43
Resim 11. Adjuvan grubu 9. rat, tedavi öncesi.....	43
Resim 12. Adjuvan grubu 9. rat, tedavi sonrası.....	43
Resim13. Diklofenak grubu 3.rat, tedavi öncesi.....	44
Resim14. Diklofenak grubu 3.rat, tedavi sonrası	44
Resim 15. Diklofenak grubu 6.rat, tedavi öncesi.....	44
Resim 16. Diklofenak grubu 6.rat, tedavi sonrası	44
Resim 17. Bitkisel krem grubu 5.rat, tedavi öncesi.....	45
Resim 18. Bitkisel krem grubu 5.rat, tedavi sonrası.....	45
Resim 19. Bitkisel krem grubu 6.rat, tedavi öncesi.....	45
Resim 20. Bitkisel krem grubu 6.rat, tedavi sonrası.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Romatoid artrit tedavisi için DMARD kullanımında Amerikan Romatoloji Cemiyeti tarafından önerilen yaklaşım planı	24
Şekil 2. Zingiber officinale (zencefil).....	31
Şekil 3. Laurus nobilis (defne).....	32
Şekil 4. Hypericum perforatum (Binbirdelik otu).....	33
Şekil 5. Eugenia caryophyllata (karanfil)	34
Şekil 6. Oluşturulan artritlerin fotoğrafları	45

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem grublarında hsCRP düzeyleri	48
Grafik 2. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem grublarında IL-1 β düzeyleri	49
Grafik 3. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem grublarında IL-6 düzeyleri	50
Grafik 4. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem grublarında TNF- α düzeyleri	51
Grafik 5. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve Artrit + Bitkisel krem grublarında COX-1 düzeyleri	52
Grafik 6. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem grublarında COX-2 düzeyleri	53

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Romatoid artrit (RA) yaygın bir hastalıktır, dünyada toplumun % 1-2'sini etkiler. RA kemik ve kıkırdak yıkımına yol açan, tercihen sinoviyumu tutan, kronik, sistemik, ilerleyici, otoimmün bir hastalıktır (1). Eklemlerde şişlik, ağrı, kemiklerde erozyon ve fonksiyon kaybı ile seyreder. Eklem lezyonları T lenfosit, makrofaj ve B lenfositin sinoviyuma infiltrasyonu ile karakterizedir (2). RA'li hastaların sinoviyal sıvılarında makrofajlar tarafından meydana getirilen interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) fazla miktarlarda saptanır (3). Hastalığın progresyonu ile birlikte eklem hasarı oluşur, eklem hareketlerinde yetenek kaybı ve hayat kalitesinde azalma olur. RA önemli derecede morbidite ve mortalite ile ilişkilidir (4, 5).

RA progresyonu oldukça değişkendir ve elimizde kesin istatistik verileri yoktur. RA ılımlı veya subklinik seyredebileceği gibi bazen spontan gerileyebilir veya tanı almayabilir. RA'lı hastaların büyük çoğunluğu alevlenme ve remisyonlarla seyreder, sonuçta progresif fonksiyon kaybı gelişir (6).

RA primer olarak eklemleri etkilemekle birlikte vücudun diğer organlarını da etkileyebilir. Hastalığın progresyonu ile birlikte eklem hasarı oluşur, eklem hareketlerinde yetenek kaybı ve hayat kalitesinde azalma olur (4, 5). RA tedavisinde, eklem ağrısı ve şişliğini azaltmak, eklem fonksiyonlarını düzeltmek için salisilatlar, diğer Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) veya selektif COX-2 inhibitörleri ile birlikte metotreksat, leflunomide, klorokin ve anti-TNF gibi biyolojik ajanlar da kullanılmaktadır (7).

Çalışmada kullanacağımız Bitkisel krem (BK) içinde Zingiber officinale (zencefil) yağı %2, Hypericum perforatum (kantaron) yağı %44, Eugenia caryophyllata (karanfil) yağı %11, Laurus nobilis (defne) yağı %23 ve kıvam sağlayıcı madde olarak balmumu %20 bulunmaktadır. Zencefil tüm dünyada yaygın olarak kullanılmakta olan bir baharattır. Zencefil yağının; antioksidan özelliğinin yanında COX ve lipooksijenaz inhibisyonu yaptığı (8), TNF ve inflamatuvar prostaglandinlerin sentezini azalttığı ve aynı zamanda osteoartritte ağrı kontrollünde faydalı olduğu gösterilmiştir (9, 10). RA ve osteoartritte 1-2 gr/gün kullanılmaktadır (11). Defne yağının antiinflamatuvar, analjezik ve antioksidan etkisi olduğu

gösterilmiştir (12, 13). Başka bir çalışmada Defne ekstraktının IL-1 β ve TNF- α biyosentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (14). Karragenan ile sıçanlarda pençe ödemi oluşturulmuş ve sıçanlara karanfil ekstraktı 400mg/kg verildiğinde pençe ödemini önemli derecede azalttığı gösterilmiştir (15). Ayrıca lipopolisakkarit ile indüklenen sıçan makrofajlarında da prostaglandin E₂'yi inhibe ettiği gösterilmiştir (16). Kantaron yağı geleneksel tıpta depresyon, küçük kesikler, deri ülserleri ve eklem ağrılarında kullanılmaktadır. Karragenan ile sıçanlarda oluşturulan pençe ödeminde (17), Kroton yağı ile fare kulaklarında oluşturulan ödemde antiinflamatuvar etkinliği olduğu gösterilmiştir (18).

Çalışmamızda Zencefil, kantaron, karanfil ve defne bitkilerinin yağlarının belirli oranda karışımından elde edilen kremin, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan artrit modelinde antiinflamatuvar etkisinin incelenmesi, etkisi var ise artrit hastalarında tedavi amaçlı kullanılmasına yönelik veriler elde etmeyi amaçladık. Bizim çalışmamız bu bitkilerin karışımından elde edilen kremin sıçanlarda oluşturulan deneysel artrit modelinde etkisinin incelendiği ilk çalışma olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Romatoid Artrit

RA nedeni bilinmeyen kronik, inflamatuvar ve multisistemik bir hastalıktır. Çeşitli sistemik bulguları olmasına rağmen RA'nın en karakteristik özelliği, genellikle periferik eklemlerde simetrik dağılım gösteren sürekli inflamatuvar sinovittir. Sinovial inflamasyon sonucunda kıkırdak hasarı, kemik erozyonu ve bunları takiben eklem bütünlüğünde oluşan değişiklikler hastalığın en belirgin özelliğidir. RA'nın seyri, yıkıcı potansiyeline rağmen oldukça değişken olabilmektedir. Bazı hastalarda çok az eklem hasarının eşlik ettiği kısa süreli, ılımlı, oligoartiküler bir hastalık olabilirken bazı hastalarda da belirgin fonksiyonel yetersizlik ile birlikte şiddetli, ilerleyici bir poliartritiküler hastalık olabilmektedir (19).

RA en yaygın inflamatuvar artrit olup, dünya nüfusunun % 1-2'ini etkiler (20). RA kadınlarda erkeklerden 2-3 kat daha fazla görülür, her yaşta olabilmekle birlikte 35-50 yaş arasında görülme sıklığı artmıştır (21). RA esas olarak eklemleri tutar, salgılanan sitokin, kemokin ve metalloproteinazlar aracılığı ile hasara neden olur. Karakteristik olarak metakarpofalanks gibi periferik eklemlerde simetrik inflamasyon, destruksiyona neden olur ve bu bulgulara genellikle sistemik semptomlar eşlik eder. Hastalığın tanısı spesifik klinik, laboratuvar ve görüntüleme ile konulur. RA'nın tedavisinde ilaçlar, fizyoterapi ve bazen de cerrahi uygulanır. Hastalığı modifiye eden antiromatizmal ilaçlar progresyon ve semptomların kontrolünde yardımcı olurlar (21).

2.1.1. Etyoloji ve Patogenez

RA eklem hastalığı olarak kabul edilmesine rağmen, anormal bağışıklık yanıt eklem dışı bulgularla da seyredebilir. RA'nın esas hedef olarak sinoviumu neden seçtiği hala gizemini korumaktadır. RA'nın başlangıcından itibaren kemik ve sinovium hasarı başlar ve geri dönüşümsüzdür. Tedaviye erken başlamanın morbidite ve mortalite üzerine büyük etkisi vardır (20).

RA'nın kesin olarak etyolojisi bilinmemekle birlikte, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle semptomların oluştuğu ancak hastalığın ortaya çıkması için tek başına genetik veya çevresel faktörlerin yeterli olmayacağı düşünülmektedir. Genetik yatkınlık için en ikna edici olan monozigotik ikizlerdir. RA'nın yaygınlığı dünya genelinde % 1 oranında iken ikizlerden birisi RA olduğu zaman diğerinin olma olasılığı % 12-15'dir. Çift yumurta ikizlerinde de % 2-5 gibi bu oran yüksek olmakla birlikte birinci derecede akrabalarında ki görülme olasılığından farklı değildir (20).

RA'nın risk faktörleri arasında en iyi bilinenini Human Leukocyte Antigen – İnsan lökosit Antijenidir (HLA). HLA genleri immün sistemde antijenlerin T hücrelerine sunulması ve bu hücrelerin aktivasyonlarında rol oynarlar. Ayrıca matür olmayan T hücrelerinin Timustaki seleksiyonunu da düzenlerler. 1978 yılında yapılan bir çalışmada, HLA-DR ve RA arasında genetik bir bağlantı tespit edilmiştir (22). Bu çalışmada HLA-DR4 RA hastalarında %70 oranında pozitif iken kontrol hasta grubunda %28 oranında pozitif olarak bulunmuştur. Sonuç olarak HLA-DR4 pozitif kişilerde RA oluşumu için relatif riskin 4-5 kat arttığı belirtilmiştir (22). Yeni yapılan çalışmalarda HLA ve RA arasındaki ilişkinin hastalığın gelişiminden ya da sinovite olan yatkınlığından çok, hastalığın şiddeti ve kronikleşme eğilimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin HLA-DRB1 pozitif hastalarda RA'nın daha ciddi bir formu olan Felty sendromu gelişme riski daha yüksektir (23).

2.1.2. Romatoid Artritte Eklem Hastalığının Patogenezi

2.1.2.1. Sinoviyal Patoloji

RA kronik poliartiküler sinovit, kıkırdak ve kemikte ilerleyici erozyon ile karakterizedir. Fibroblast benzeri sinoviositler ve sinoviyal makrofajlar kıkırdak ve kemik hasarının çoğundan sorumludur. Her iki hücre popülasyonu matriks metalloproteinazlar (MMP), IL-1, TNF- α ve cathepsin gibi RA patogenezinde önemli rol alan doku yıkımına neden olacak enzimleri üretebilirler (24).

Sinoviyumun en önemli fonksiyonu, eklem kıkırdağının beslenmesini sağlayan ve eklem sürtünmesiz hareketi için kayganlaştırıcı olan sinovial sıvıyı salgılamaktır. Sinoviyanın iki hücre katmanı vardır. İç hücre dizisi “intimal lining”

olarak adlandırılır, gevşek organize olmuştur ve avaskülerdir. Sinoviyal sıvının üretiminden sorumludur. İç hücre dizisinde iki temel hücre tipi mevcuttur. Tip A hücreler “makrofaj benzeri” hücrelerdir ve kemik iliğinden köken alırlar. Fagositoz, antijen sunumu, sitokinler, büyüme faktörleri ve inhibitörlerinin sentezi ve sekresyonu, birçok inflamatuvar mediatörün ve doku yıkımına neden olan enzimlerin üretimi gibi çok sayıda fonksiyonel karakteristikleri vardır. RA’de makrofajlar intimal, subintimal tabakalarda ve kıkırdak pannus birleşiminde birikirler (24). Başlıca IL-1 ve TNF- α salgırlar. Ayrıca yeni kan damarlarının oluşumunda (neoangiogenezi) önemli rol oynarlar. Yeni kan damarları kıkırdak ve kemiğe komşu daha derin alanlara girdikçe yıkıma neden olan maddeler daha fazla hasar oluştururlar. Diğer hücre tipi Tip B hücreler olup, mezenkimal kökenden gelirler ve “fibroblast benzeri” morfolojileri vardır. Granüllü (rough) endoplazmik retikulum ve ribozom dizileri gibi belirgin salgılayıcı elemanları vardır. Hyaluronik asit sentezinde rol oynayan Uridin difosfoglukoz dehidrogenaz (UDPGD) üretimini yaparlar. Sitokinler, MMP’ler ve araşidonik asit metabolitleri gibi birçok inflamatuvar ve yıkım mediatörlerini sentezleme kapasiteleri vardır. Kıkırdak ve kemik yıkımında birincil etkin rol oynayan hücrelerdir.

İkinci hücre katmanı dış hücre tabakası olup, “sublining” olarak adlandırılır göreceli olarak aselülerdir ve kan damarları ve fibroblastlar içerirler. Sinoviyal yüzeyin altında zengin bir mikrovasküler damar ağı mevcuttur. İntimal hücrelerin hemen yakınında kapiller damarlar mevcuttur. Bu kapiller damarlar çocukların sinoviyalarında belirgin olup yaşla beraber sayıları azalır ve doku fibrotik bir hal alır.

2.1.2.1.1. Kronik İnflamatuvar Artritte Sinoviya

RA’de sinoviyal doku ödem, çok sayıda katlantılar ve villuslar nedeniyle kalınlaşmıştır. Hastalığın erken döneminde doku ödemi, yeni kan damarı yapımı ve intimal hücrelerin hiperplazisi görülür. Kronik fazda ise intimal hücre hiperplazisi daha belirgin hale gelir ve on sıra hücreden daha kalın diziler oluşturur. Bu hiperplazi Tip B hücrelerin lokal olarak çoğalmasına ve makrofaj benzeri Tip A hücrelerinin kemik iliğinden migrasyonuna bağlıdır. Kronik inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonuna bağlı olarak sublining yani dış hücre sırası hiperplazisinde belirgindir. Bu tabakada T lenfositler (çoğunluğu CD4+), B-lenfositler, makrofajlar ve plazma

hücreleri birikir. Bu evrede artmış kan damarları gözlenir. Ancak bu bulgular RA için spesifik değildir ve bu nedenle sinoviyal biyopsi RA hastalığının tanısında yer almaz (25).

2.1.2.1.2. Pannus

Eklem kıkırdağı, subkondral kemiği sinoviyal invazyondan ve sinoviya tarafından salgılanan bir takım inflamatuvar maddelerin yıkıcı etkilerinden koruyan bir bariyer olarak görev yapar. Eklem kıkırdağı ve sinoviyum arasında yer alan “çıplak alanlar” hipertrofik sinoviyumun yıkıcı etkilerinden korunamaz. Romatoid sinoviyumun kıkırdağı, kemiği ve bağları erozyona uğratan invaziv kısmına “pannus” denir. Kıkırdak-pannus bileşkesinde, fibroblast benzeri sinoviositler ve makrofajlar kıkırdağı penetre eden dokuda kümeleşirler. Sinoviyal doku tarafından salgılanan yıkıcı enzimler ve pannus kıkırdak hasarına neden olur. Bu enzimler fibroblast benzeri Tip B hücreler tarafından salgılanan metalloproteinazlar (kolajenaz -1, kolajenaz-2, stromelysin), ve makrofaj benzeri (Tip A) ve fibroblast benzeri (Tip B) hücreler tarafından sentezlenen serin, sistin (katepsin-B) proteazlardır (26).

Pannustaki sitokinler IL-1, IL-6, ve TNF- α olup, pannositlerin (fibroblast benzeri sinoviyal hücre) çoğalmasına, kondrosit matriks üretiminin azalmasına ve metalloproteinaz üretiminin artışına neden olur. Polimorfonükleer hücreleri ortama çeken (chemoattractant) IL-8 veya T-hücre aktivasyonu yapan IL-15 gibi diğer sitokinler, inflamatuvar cevabın oluşmasında etkili olurlar. RA proteinazlar ve inhibitörleri arasındaki denge eklem yıkımına neden olan proteinazlar lehine bozulmuştur (27).

MMP'lerin kıkırdak ve kemiğin matriks yapısını yıkma özellikleri vardır. İnflamatuvar pannus kapsüler sınıra dayandığında komşu kıkırdak ve kemikte invazyon meydana gelir. Bu durum radyolojik incelemede, RA için tipik olan marjinal erozyon şeklinde görülür. Sitokinler, nitrik oksit ve prostaglandinler gibi inflamatuvar maddelerin etkileri sonucu eklem kıkırdağında inceltme görülür.

2.1.2.2. Kemik Patolojisi

Kemik döngüsü, kemik yapan (osteoblastlar) ve yıkan (osteoklastlar) hücreler arasındaki dengeye bağlıdır. Osteoblastlar farklılaşmamış mezenkimal hücrelerden köken alırlar. Parathormon (PTH), 1-25-OH, Vitamin D, glukokortikoidler, prostaglandinler ve östrojen için reseptörlere sahiptirler. Tip 1 kollajen ve osteokalsin üretirler. Kalsitonin tarafından inhibe edilirler. Osteoblastlar yeni oluşmuş osteoid tarafından çevrelendiklerinde osteosit halini alırlar, kemik yüzeyinde bulunan aktif hücreler de istirahat halindeki hücrelerle yer değiştirirler. Osteositler erişkin iskelet hücrelerinin %90 kadarını oluştururlar ve kemik stoğunun korunmasını sağlarlar. Ayrıca ekstrasellüler kalsiyum ve fosfor düzeylerinin korunmasına yardımcı olurlar. Kalsitonin tarafından uyarılıp, PTH tarafında inhibe edilirler. Osteoklastlar hematopoetik dokudan köken alırlar. Pürüzlü yüzeyleri kemik rezorpsiyonu için önemli role sahiptir. “İntegrin” adı verilen tutunma proteini aracılığıyla kemik yüzeylere tutunurlar. Organik matriksi proteolitik sindirim ile yıkarlar (sistein proteinaz, katepsin K) ve hidroksiapatit kristallerinin çözünürlüğünü arttırmak için hidrojen iyonları açığa çıkarırlar. Bu fonksiyon kalsitonin tarafından direk olarak regüle edilir. Kemikteki rezorptif ve sentetik olaylar sitokinler ve hormonlar tarafından hassas bir şekilde düzenlenir.

RA’de inflamasyon, inflamatuvar sitokinler aracılığıyla osteoklastik kemik yıkımını arttırır. İnflamasyon osteoklastların periferik kandan gelmelerini, maturasyon hızlarını ve aktivite seviyelerini arttırır. Osteoklastik farklılaşma için etkili olan faktörlerden, Reseptör-Aktivatör Nükleer faktör-B Ligand (RANKL), IL-1 ve TNF- α romatoid sinoviyumda bulunmuştur (28). RANKL osteoklastik farklılaşmada önemli role sahiptir. IL-1 ve TNF- α , RANKL üretimini artırır. Romatoid sinoviyumda fibroblastlar ve aktif T hücreleri, RANKL sentezler ve bu şekilde osteoklast migrasyonunu ve aktivitesini arttırırlar. IL-1 osteoklastların aktivasyonunu ve TNF- α erken osteoklast öncüllerinin farklılaşmasını uyarır. Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) osteoklast çoğalması ve farklılaşmasında önemlidir (29). IL-1 ve TNF- α osteoklast çoğalması ve farklılaşmasında önemlidir ve her iki faktör de osteoblast apoptozunu artırarak yeni kemik yapımını engellerler (30).

RA'da bu inflamatuvar sitokinler sinoviyumda, sinoviyal sıvıda ve sistemik dolaşımında artarak rezorpsiyonun artması ve kemik yapımının azalması sonucunda lokal ve sistemik kemik kaybına yol açarlar. Fokal ve sistemik kemik kaybı RA'in morbiditesine katkıda bulunur. Fokal erozyonlar eklemlerin iki farklı kısmında görülür. Bunlar eklem kenarları ve subkondral kemiktir. Pannus marjinal erozyonların oluşumundan direk olarak sorumludur. Pannus kemik iligine de geçebilir ve burada inflamatuvar maddeler subkondral kemikte rezorpsiyona neden olacak osteoklastik aktivasyona yol açarlar. Subkondral kemikteki mekanik yetersizlik sinoviyal eklemlerde çökme ve deformiteye neden olur. Bu da kıkırdak kaybını hızlandırır. Eklem kıkırdağı kenarındaki kemik kaybı damarlanmada artışa, pannusun direk invazyonuna ve inflamatuvar moleküllerin eklem içinde veya çevresinde dolaşımına bağlıdır (31). Sistemik kemik kaybı inflamatuvar olay sonucu üretilen sitokinlere bağlıdır ve fonksiyonel yetersizliğe bağlı olarak azalmış mobiliteye neden olurlar (32, 33).

2.1.2.3. Tendon ve Bağ Patolojisi

Proliferatif sinovit, tendonları infiltre eder, nodüller oluşturur, yapısal özelliklerini değiştirir, fonksiyon bozukluğuna ve bazen de spontan rüptürlere neden olur. RA'li hastaların %50 kadarında el ve el bileği tendonlarını çevreleyen tenosinoviyal dokularda çoğalma görülür. Tendon tutulumu olan hastaların yarısında tenosinovyum tendona invaze olur ve bu invazyon rüptüre neden olur (34).

Romatoid sinovitte eklem yan bağları da etkilenmiştir. Ancak diz eklem kapsülü içindeki inflamatuvar olaylardan direkt etkilenmezler, çünkü eklem dışı yapılardır. RA'da, proliferatif sinovit ligamentöz yapıları gerer ve bu da uzamaya ve sonunda kopmaya neden olabilir (35). Bu ligamentöz gevşeme eklem stabilitesini azaltır ve progresif eklem deformitesine neden olan erken faktörlerden biridir (36).

2.1.2.4. Kıkırdak Patolojisi

RA'deki fonksiyon kaybı, kronik infalamatuvar olayın neden olduğu eklem kıkırdağındaki geri dönüşsüz hasarın sonucudur. Kıkırdak erozyonu, kıkırdak ile sinovyum birleşme yüzünde bulunan "çıplak alandan" başlar. Eklem kıkırdağının yapısında eklem tensil gücü ve yük taşıma kapasitesinde sorumlu olan ve temelde

tip II kollajen ile proteoglikanlardan meydana gelen hücre dışı matriks bulunmaktadır. Matriks içerisinde yer alan kondrosit hücrelerinin fonksiyonu, ekstraselüler yapıyı sentezlemek ve yıkmaktır. Normal koşullarda matriksin sentezi ve yıkımı sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından bir dengede tutulur. RA'de ise bu denge yıkım lehine bozulmuştur ve IL-1 ile TNF- α bu yıkımda en önemli rolü oynarlar (27).

2.2. Romatoid Nodül

RA'da subkutan nodüllerin varlığı yaygın olarak hastalığın eklem dışı tezahürü olarak kabul edilir. Romatoid nodüller hastaların % 20-30'unda sıklıkla mekanik irritasyona maruz kalan ektansör yüzeylerde; proksimal ulna, olekranon, elin ektansör tendonlarında, baş, kulak ve topukların arkasında bulunur. Nodüller tendon içinde veya visseral organlarda da gelişebilir. Romatoid nodülü olan hastalarda serum RF hemen hemen daima yüksek titrede bulunur. Romatoid nodül oluşumunun mekanizması açık değildir. Romatoid nodül histolojik olarak 3 zon içerir; en içte santral nekroz, bu nekrotik alanı saran hüresel zon(büyük oranda makrofaj ve değişen oranlarda T lenfositler içerir) ve en dışta kronik inflamatuvar hücreler yer alır (37).

2.3. Romatoid Artritin Klinik Özellikleri

RA herhangi bir eklemi etkilemekle birlikte genellikle metacarpofalangeal, proksimal interfalangeal, metatarsofalangeal eklemlerin yanında bilek ve diz eklemlerini etkiler. Hastalık eklemlerde şişlik, palpasyon ile hassasiyet, sabah tutukluğu ve hareket kısıtlılığı ile seyredir. RA'nın klinik prezentasyonu çeşitlidir. RA sinsi başlangıçlıdır, küçük eklemlerin simetrik şişlik ve ağrı en sık bulgulardır. RA hastaların %25'inde akut veya subakut başlar. Hastalığın görülme paterni tekrarlayıcı, monoartiküler, eklem dışı sinovit(tenosinovit, bursit), polimiyalji benzeri başlangıç ve genel semptomlar (kırıklık, yorgunluk, kilo kaybı, ateş) ile ortaya çıkabilir. Ağrı sıklıkla sabahları, eklem tutukluğu ile beraber olup genellikle bir saatten fazla sürer. Sabah tutukluğu süresi hastalık aktivitesi ile ilişkilidir. El eklemlerinin tutulumu tipik olarak RA'nın erken bulgusudur. RA'da Radyolojik kemik hasarı oluşmadan metaakropofalangeal, proksimal interfalangeal ve el bileği

eklemlerinde palpasyonda hassasiyet tespit edilebilir. Yorgunluk, ateş, kilo kaybı, kırıklık gibi semptomlar sıktır. Bu semptomlar RA'nın ekstra-artiküler tezahürü(romatoid nodül, vaskülit, hematolojik anormallik, Felty sendromu, visseral tutulum) ile ilişkili olabilir. RA tanısı koyduracak veya dışlayacak labaratuvar tetkiki olmamakla birlikte bazı labaratuvar anormallikleri belirlenebilir. Akut faz cevabı hakkında en iyi bilgiyi C-reaktif protein (CRP) ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) sağlar. CRP doğrudan klinik değerlendirme ve radyografik değişiklikler ile koreledir. RA'da düz grafi hastalığın yaygınlığının değerlendirilmesi amacı ile kullanılan standart bir yöntemdir. Hastalığın erken evresinde el eklemlerinin radyolojik bulguları yumuşak doku şişliği ve ılımlı periartiküler osteoporozdur. Son yıllarda eklem, tendon ve bursaların değerlendirilmesi amacı ile USG'de kullanılmaktadır (38).

2.4. Eklem Bulguları

RA birçok eklemi birden tutmasına rağmen, çok ve az sevdiği eklemler vardır. El bilekleri, eller, dirsek ve diz eklemleri en sık tuttuğu eklemler iken, distal interfalangeal, sakroiliak eklemleri daha az ve hafif şiddette tutar, servikal vertebra dışındaki omurgayı tutması ise nadirdir.

RA, en zengin ve karakteristik değişikliklerini ellerde yapar. Ellerde erken dönem belirtileri, ekstansör ve fleksör tendonlarda şişme (tenosinovit), metokarpofalangeal eklemlerin şişmesi sonucu yumruk yapıldığında bu bölgedeki girintilerin kaybolması, proksimal interfalangeal eklemlerin iç şeklinde (fusiform) şişmeleri, ulnar stiloid çevresinin şişmesi ile bu bölgenin düzleşmesi olarak özetlenebilir. Bir diğer erken dönem bulgusu, el bileğindeki sinovite bağlı olarak medyan sinirin sıkışması sonucu gelişen karpal tünel sendromudur. Hastalığın ilerlemesi sonucu klasik el bozuklukları görülür. Bunlar; el sırtı adalelerinde atrofi sonucu bu bölgenin iç bükey bir görünüm kazanması, metokarpofalangeal eklemlerde subluksasyon, parmakların metokarpofalangeal eklemlerden itibaren ulnar deviasyon (%45); parmaklarda kuğu boynu (swan neck; %20), düğme iliği (boutonniere; %10) ve baş parmakta Z deformitesi (%40) olarak tanımlanan şekil bozukluklarıdır. Ayrıca ekstansör tendonlarda gevşeme ve/veya kopma sonucu düşük parmaklar görülebilir.

RA, dizlerin hem medial, hem de lateral bölümlerini tutması ile çoğunlukla sadece medial bölümü tutan osteoartrozdan ayrılır. Diz tutulmasında karşılaşılabilecek bir tablo Baker kisti gelişimi ve bunun yırtılmasıdır. Popliteal mesafede sert bir şişlikle kendisini belli eden bu kist diz içi basıncının artması sonucu yırtıldığında bacakta aynen tromboflebiti taklit eden bir tabloya neden olur. Eklem içi kortizon ile kolayca tedavi edilebilecek bu tablo tromboflebit geçirdiğinden şüphe edilen tüm hastalarda düşünülmelidir. Ultrasonografi ayırıcı tanıda oldukça yararlıdır.

Ayaklar, hastaların %20'sinde ilk tutulan eklemlerdir. Yük taşımaları nedeni ile bu eklemlerin tutulması üst taraf eklemlerine göre daha fazla ağrı ve sakatlığa yol açar. Ayaklarda en sık metotarsal, daha sonra sırası ile subtalar ve tibiotalar eklemler tutulur. Metotarsal eklemlerin tutulması sonucu ayak ön kısmında genişleme, hallux valgus ve çekiç parmak şeklinde bozukluklar gelişir.

RA hastaların üçte birinde görülen servikal vertebra tutulumu, korkutucu komplikasyonlara yol açabilmesi açısından önemlidir. Normalde aksisin odontoid çıkıntısı ile atlasın arkusu arasında 3 mm'yi geçmeyen bir boşluk vardır. Sinovit sonucu instabilite gelişmesi ile genişleyen bu alanda odontoid çıkıntının foramen magnuma doğru hareket etmesi ile çeşitli nörolojik semptomlar oluşabilir. Bu tabloyu düşündürülen uyarıcı semptomlar oksipital bölgeye yayılan ağrı, ağrılarda boyun hareketleri ile olan değişiklik, üst ekstremitelerde parestezi, pozisyon hissini kaybetme, reflekslerde artış ile mesane ve barsak fonksiyon bozukluğu olarak özetlenebilir. RA'li hastalarda temporo mandibüler eklemlerin tutulması sonucu çenede ağrı, krikoid aritenoid kıkırdağın tutulması sonucu ses kısıklığı, omuz eklemlerinin tutulması ile donmuş omuz tablosu, lenfödem gelişmesine bağlı olarak kol ve bacaklarda şişme gelişebileceği akılda tutulmalıdır (39).

2.5. Romatoid Artrit'in Eklem Dışı Bulguları

RA sistemik bir hastalıktır, vücutta hemen hemen her organ ve sistemi tutabilir. RA'nın sistemik tutulumu erkeklerde daha sık, ciddi ve bazı komplikasyonlar nedeni ile mortalitesi daha fazladır. Sistemik tutulum genel ve organ sipesifik tutulum olarak ikiye ayrılabilir (40-42).

2.6. Romatoid Artritin Non-Organ-Spesifik Özellikleri

Aktive RA'lı bir çok hastada spesifik olmayan letarji, depresyon, kırıklık gibi şikayetler olabilir. Ateş özellikle sistemik tutulumlu RA'da sık ve erken bir bulgudur. Yaşlılarda iştah azalmasına bağlı olarak belirgin kilo kaybı olabilir. Kuvvetsizlik ve hareket sırasında ağrı nedeni ile myopati gelişebilir. Bir çok faktör nedeni ile yorgunluk görülebilir (40-42).

RA'da mortalite artmıştır, hayat beklentisi ortalamadan hafifçe azalmıştır, bu etki daha çok kardiyovasküler ölümler ile ilişkilidir. RA hastalarında malignite sıklığıda bir miktar artmıştır; primer olarak hematolojik malignite ile ilişkili bulunmuştur. Bazı solid organ tümörlerinin de görülme sıklığı (örneğin: akciğer adenokarsinomu) artmıştır. Hastalığın aktivitesi, ciddiyeti ve kortikosteroid kullanımına bağlı olarak azalan kemik dansitesi kırık riskinde artmaya neden olur. Postmortem yapılan çalışmalarda amiloidoz yaygın bir bulgu olmakla birlikte nadiren semptomatik olmakla birlikte az sayıda hastada böbrek veya karaciğer yetmezliğine neden olabilir (40-42).

2.7. Romatoid Artritin Organ ve Sistem Spesifik Özellikleri

Sjögren sendromu: RA ile bazı sendromlar ilişkili bulunmuştur. En yaygın olanı Sjögren sendromudur. Hastaların % 40 kadarında oluşur. Klinik özellikleri kuru ve rahatsız edici göz, burun, ağız kuruluğu ile seyredir. Bu süreç diğer organların sekretuar fonksiyonlarını da etkileyebilir (40-42).

Felty Sendromu: yaklaşık %1 görülür ve daha az yaygındır. Felty Sendromu ciddi RA, splenomegali ve nütropeni ile karakterizedir. Bu hastalarda sistemik infeksiyon ve kronik bacak ülserleri riski artmıştır. Bazı hastalarda hastalığı modifiye edici ilaçların kullanılması problem olabilir ve bu hastalarda eklemlerin prognozu genellikle kötüdür (40-42).

Hematolojik bulgular: RA hastalarının yaklaşık yarısında hastalığın herhangi bir evresinde anemi gelişir. Anemi sıklıkla normokromik ve normositiktir, genellikle eklem hastalığının ciddiyeti ile koreledir. Mikrositik anemide görülebilir fakat çoğu zaman demir eksikliği ile ilişkilidir. Demir eksikliği genellikle NSAİİ kullanımına bağlı gastrointestinal sistem kanaması sebebi ile oluşur. Makrositik

anemi ise daha az görülür. Makrositik enemi malabsorbsiyon, tiroid bozuklukları veya ilaçlar tarafından indüklenen hemolize bağlı olabilir. Hastaların % 20 kadarında özellikle boyun ve aksiler bölgede lenfadenopati saptanabilir (40-42).

Bağ doku: RA'nın başlangıcında el ve el bileklerinin tendon kılıfı sık olarak tutulur. Hastaların % 20 kadarında romatoid nodül oluşur. Romatoid nodül klasik olarak dirsek ve diğer basınca maruz kalan ektansör yüzeyleri etkiler. Romatid nodül seropozitivite ve kötü prognoz ile ilişkilidir, çeşitli iç organlar kalp, akciğer, spinal kort etkilenebilir (40-42).

Cilt bulguları: Aktif RA'lı hastalarda sıklıkla palmar eritem görülür fakat zaman içinde kaybolur. Livedo retikularis ise daha çok kalçada yüzeysel venöz ağın genişlemesi ile oluşur. Raynaud fenomeni gibi vazospastik özellikler esas olarak kadınlarda bulunur. Daha az olarak yüzeysel siyahlık olarak pyoderma gangrenozum görülür (40-42).

Akciğer bulguları: RA'da akciğer tutulumu fizyolojik ve radyolojik olarak saptanandan daha fazla bulunmaktadır. Akciğer tutulumunun şiddeti eklem hastalığının şiddetine ve yılda tüketilen sigara miktarına bağlıdır. Bronşiolitis obliterans oldukça nadir görülür. Klinik olarak önemli sayılacak plevral efüzyon daha önceden rapor edilenden fazla değildir. Bazen yaygın seroziti olan hastalarda görülebilir. RA'da interstisyel akciğer hastalığı çomak parmak olmaksızın seropozitiflik ve bilateral bazellerde ral ile birlikte, HRCT göğüs grafisinden daha sensitiftir (40-42).

Kalp bulguları: RA'da kalp tutulumu daha az yaygındır. Miyozit ve koroner vaskülit oldukça nadir olmakla birlikte amiloidoz veya romatoid nodüle bağlı iletim defekti sıkça rapor edilmektedir. Ekokardiyografide RA'lı hastalarda % 6 oranında mitral valv regürjitasyonu izlenir. Perikardiyal hastalık kısmen daha sık görülen bir bulgudur ve sıklıkla perikardiyal efüzyon ile komplike olur (40-42).

Damar bulguları: RA'da orta ve küçük boy damarlar etkilenir. Tırnak dibindeki küçük damarları tutar ve infarkta neden olabilir. Küçük damarların tutulması sonucu periferik nöropati ve daha seyrek olarak mononöritis multipleks görülür (40-42).

Nörolojik bulgular: Romatolojik nedene bağlı ölümlerin en yaygın nedeni servikal miyelopatidir. Ektremitelerde parestezi, motor zayıflık, üriner semptomlar varlığında spinal kord basısı düşülmeli ve erken tanı için MRI istenmelidir. RA'lı hastalarda karpal tünel sendromu yaygındır. Tipik klinik özelliği ellerde parestezi ve ağrıdır (40-42).

Göz bulguları: Kuru göz ile kendini belli eden *keratokonjonktivitis sicca*, en sık görülen göz bulgusudur, episklerit ise nadiren görülür. Agresif RA'lı hastalarda sklerit gelişebilir fakat nadiren skleromalaziye ilerler (40-42).

2.8. Romatoid Atrit Tanı ve Prognozunda Kullanılan Laboratuvar Testleri

RA'in tanısı ve hastalığın şiddetini öğrenmede yararlanılan çeşitli laboratuvar testlerinden hiçbiri hastalığa özgü değildir. Akut faz yanıtı göstergeleri olan ESH ve CRP ile akut ve kronik enflamasyon arasındaki ilişki iyi bilinmektedir (43). ESH'nin kadınlarda 30, erkeklerde 20'nin altında olması Amerikan Romatizma Derneği (ACR) remisyon kriterlerini karşılar. RA'nın başarılı tedavisinde ESH ve CRP değerleri düşer. Bu değerler verdiğimiz tedavi ile kontrol tedavinin etkinliğini karşılaştırma imkanı tanır (44).

Tanı ve takip sırasında kullanılan bu laboratuvar testleri aynı zamanda kendi içinde önemli sınırlamaları da barındırır. Wolfe ve Michoud tarafından rapor edilen RA'lı hastalarda %40 oranında ESH ve CRP'nin normal olması bu tetkiklerin primer sınırlamasıdır. Bu testlerin önemini sınırlayan diğer bir durum ise bazı hastalarda klinik iyileşme ile birlikte ESH ve CRP düşerken bazı hastalarda da klinik iyileşme görülürken ESH ve CRP'nin stabil kalmasıdır (44).

Serolojik testlerden Anti-siklik sitrulinize peptid (anti-CCP) ve RF araştırma sırasında RA tanısının doğrulanması amacı ile kullanılır (44). RF IgG molekülünün Fc kısmına karşı oluşan otoantikordur. IgG, M ve A yapısında olabilir. ACR tarafından kabul edilen tek serolojik sınıflandırma kriteri olmasına rağmen, sistemik lupus eritematoz (SLE), Sjögren sendromu, skleroderma, mikst bağ doku hastalığı, sarkoidoz, tüberküloz ve diğer bazı kronik hastalıkların seyrinde pozitif bulunabilmektedir. Ayrıca sağlıklı bireylerde %3-5 yaşla orantılı olarak artarak %10-

30 oranında pozitiflik bildirilmektedir. Bu nedenle özgüllüğü sınırlı olan RF'nin RA için duyarlılığı %75-80'dir. Yüksek RF düzeyleri ağır hastalık, radyolojik erezyon gelişimi, hızlı klinik seyir, romatoid nodül ve vaskülit gibi eklem dışı tutulumlar ile ilişkilidir (43, 45-47).

Anti-CCP antikolar sitrülünli proteinlerin sirküler formuna karşı gelişen antikordur. Bu proteinler hem normal bireylerde hem de RA'lilerin sinovial sıvısında bulunur ve RA'de otoimmün yanıtın temel hedefidir. Anti-CCP antikoları sinovial B hücreleri tarafından üretilmektedir. Çalışmalarda Anti-CCP antikolarının RA tanısı için özgüllüğünün %88-96, duyarlılığının ise %48-68 olduğu bildirilmektedir. Anti-CCP RF ile birlikte değerlendirildiğinde RA tanısı için özgüllüğü %98'e çıkmaktadır. Anti-CCP, RA kliniği ortaya çıkmadan 5 yıl önce kan örneklerinde %39 oranında pozitif saptanmıştır. Beş ve on yıllık izlemlerde radyolojik değişikliklerle serolojik testler arasındaki en anlamlı ilişki anti-CCP için gösterilmiştir. Günümüzde ilk geliştirilen test olan anti-CCP1 yerine daha duyarlı, ikinci kuşak test olan anti-CCP2 kullanılmaktadır (43, 47, 48).

RA tanısında özgüllüğü yüksek olan anti-modifiye sitrülünize vimentin (anti-MCV), sitrülünize proteinlere karşı oluşan otoantikor ailesinin bir üyesidir. Anti-Sa antikoru da denilen bu antikorun RA için özgüllüğü %95'in üzerinde, duyarlılığı ise %20-25'dir. Vimentin mezenkimal hücrelerden ve makrofajlardan salınan, sinoviyum ve fibroblast benzeri sinovya hücrelerinde kolayca saptanabilen ara filamandır (43).

Kartilaj oligomerik matriks proteini (COMP) eklem kıkırdağındaki tip 2 kollajen liflerini bağlayarak stabilizasyonu sağlayan bir glikoproteindir. Serum COMP düzeyindeki artış kıkırdak döngüsündeki değişiklikleri gösteren bir belirteçtir. Eklem sıvısındaki ve serumda artmış COMP düzeyi eklem hasarı ve klinik seyri öngören bir prognostik belirteç olarak değerlendirilmektedir (43).

İnterlökin -1 α (İL-1 α), RA'in patenezinde rol oynayan önemli bir proinflatuvar sitokindir. Anti-İL-1 α antikoları yüksek bir afinite ile İL-1 α 'ya bağlanarak, İL-1 α 'nın reseptöre bağlanmasını engellemekte ve biyolojik aktivitesini önlemektedir. Bu antikorun pozitif olduğu RA hastalarında daha az eklem hasarının geliştiği gösterilmiştir (43, 49).

2.9. Romatoid Artritte Radyoloji

Radyografi RA'nın bazı özelliklerin değerlendirilmesinde yardımcı olur. Eklemlerde erozyon veya eklem aralığında daralma gibi patognomonik işaretler gösterilebilir fakat bazı insanlarda yanlış pozitiflik olabilir.

Radyografi inflamasyonun neden olduğu kümülatif hasarı gösterir. Bir çok insanda grafi bulgularındaki değişiklik yavaş yavaş ortaya çıkar. Hastaların bir çoğunda grafi değişiklikleri 12. haftadan sonra çıkmaya başlarken bazılarında 6 ay veya 1 yılı bulabilir (44).

Kemik erozyonlarını belirlemede manyetik rezonans görüntüleme (MRG) daha duyarlı bir yöntemdir (49). RA'da semptomların başlamasından 4 ay sonra yaklaşık hastaların %45'inde MRG ile erozyon tespit edilebilir. MRG'de T1-intens ağırlıklı görüntüleme azalmış sinyal izlenirken gadolinium uygulanmasından sonra yapılan değerlendirmede kemik iliği ödemi izlenir (50). Hipertrofik sinovial doku miktarını MRG kullanarak saptamak mümkündür. MRG'de sinoviyal proliferasyon olması sonrasındaki kemik erozyonu gelişimi ile koreledir. GFR<30 ise gadolinium kontrast maddesi nefrojenik fibrozis yapabileceğinden MRG'den kaçınılmalıdır.

İnflame dokunun volümü ve inflamasyon derecesini tahmin etmede kullanılan diğer bir yöntem de USG'dir. Dopler USG ve MRG 29 hastalık bir grupta karşılaştırılmış ve her iki tetkikte el ve bilek eklemlerinde %75 oranında inflamasyon saptanmış. Her iki görüntüleme yöntemi ile fizik muayenede şişlik veya hassasiyet yokken inflamasyon bulguları saptanmıştır. USG MTP eklemlerinde değerlendirmede kullanılabilir (51).

2.10. Romatoid Artritte Ayırıcı Tanı

Bazı hastalıkların klinik özellikleri ve seyri sırasında RA ile benzerlikleri olması nedeni ile ayırıcı tanısında bir çok farklı durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Rubella, parvovirus, hepatit B gibi bazı viral enfeksiyonlar birkaç günden birkaç haftaya kadar süren poliartrite neden olabilir, nadiren 6 haftaya kadar devam edebilir. Hepatit C virüslü (HCV) hastaların çok az bir kısmında poliartrit veya

oligoartrit olabilmekle birlikte daha yaygın olarak atralji ile ilişkilidir. HTLV-1'in büyük eklemeleride tutabileceğini ifade eden yayımlar vardır (52, 53). İnfeksiyöz artritler genellikle monoartiküler olmakla birlikte poliartiküler de olabilir. Ayırıcı tanıda eklem sıvısından yapılan kültürde patojen üretilebilir. RA'lı hastalarda da eklem enfeksiyonuna yatkınlık vardır (54). RA diz gibi büyük eklemlerde prezente olabilir. Hem reaktif artrit hem RAnın dizdeki semptomları benzerdir. Hikaye, fizik muayane ve diğer yöntemler ile artrit değerlendirilmelidir. Geçirilmiş uretrit veya enterik enfeksiyon, asimetric eklem tutulum paterni, entesopati semptom veya bulguları, circinate balanitis (özellikle Reiter sendromu), sakroileit ve veya spondlite dair radyolojik bulgu, HLA B27 pozitifliği İnflamatuvar bağırsak hastalığı ile ilişkili artrit gelişebilir. Bu durum abdominal semptomlar baskın değilse veya hikaye de sorgulanmaz ise atlanabilir (55).

Bağ doku hastalıkları ve sarkoidoz: RA tanısında SLE, Sjögren sendromu, overlap sendromu ve sarkoidoz da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu hastalıklar kronik olmakla birlikte sabah tutukluğu, simetrik artrit, subkutan nodül ve deformite gibi RA nın karakteristik özellikleri olmaması ile ayrılır. Bazı overlap sendromlarında eroziv artrit tanımlanmıştır. Sjögren sendromu ve SLE'li hastaların %5-10'unda Jaccoud artropatisi oluşabilmektedir. Ayırıcı tanıda bu iki durum göz önünde bulundurulmalıdır (56, 57). Hipermobile ve fibromyaljide ağrı, tutukluk ve şişlik şikayetinden daha dominant bir semptomdur. Buna rağmen hipermobile sendromu ve fibromyalji hastalıklarının her ikisinde RA ile benzerlik taşımakla birlikte önemli ayırıcı özellikleri mevcuttur. Hipermobile sendromu eklemlerde aşırı elastisite ile karakterizedir. Fibromyalji sendromu ise nonartiküler alanlarda hassas noktalar ile karakterizedir. Bu hastalıklar da gerçek artrit, ciddi RF ve Anti-CCP yüksekliği veya akut faz reaktan yüksekliği ile ilişkili değildir (58, 59).

Psöriatik artrit, RA ile yakın benzerlik gösterebilir. RF ve Anti-CCP negatifliği olan hastalarda bu iki hastalığın ayrımı oldukça zor olabilir. Bu hastalığın ayrımı psöriatik artritte cilt lezyonlarının olması ile yapılabilir. Bazı hastalarda psöriatik artrit ayrımında sadece aile hikayesi tanıya yardımcı olabilir. Bunların yanında cilt bulguları, tırnak değişiklikleri, sosis benzeri el ve ayak parmakları, spinal tutulum, artiritis mutilans gibi bulgular ayırıcı tanıda yardımcı olur (60). Kristal artropatisi kronik ve poliartiküler olarak görülebilir. Ayırıcı tanıda sinovial

sıvıda ürat veya kalsiyum pirofosfat kristalleri gösterilebilir. Fizik muayenede tofus varlığı veya karakteristik gut erozyonu varlığı ayırıcı tanıda yardımcı olabilir.

Orta yaşlı veya yaşlı hastalarda küçük el eklemleri tutulduğunda osteoartrit (OA) ile RA karışabilir. OA tipik olarak distal interfalangeal eklemleri tutar ve Heberden nodülleri görülür. RA'da ise PİF ve MKF eklemler tutulur ve Heberden nodülü ile ilişkisi yoktur. OA'de başparmağın karpometakarpal eklemleri tipik olarak tutulur. OA'de eklem şişliği sert ve kemiksi olurken, RA'da ise sıcak, yumuşak ve hassasdır. RA'da olan eklem sertliği karakteristik olarak dinlenmekle kötüleşir (sabah sertliği), OA'de tipik olarak efor sonrası kötüleşir ve hastalar akşam şikayetlerinin arttığını söylerler. OA'de karakteristik olarak eklem aralığı daralmış ve akut faz reaktanları normal olarak saptanır (54).

2.11. 2010 ACR/EULAR Romatoid Artrit Tanı Kriterleri

Hedef popülasyon(kimler sorgulanmalı?): hasta kim

- 1) En az bir eklemden saptanan klinik sinovit (şişlik)*
- 2) Sinovitin başka bir hastalıkla açıklanamaması †

RA tanı kriterleri (Puan algoritması: puan eklenen kategoriler A-D;

Skor \geq 6/10 ise RA tanısı konulur) ‡

Skor

A. Eklem tutulumu§

1 büyük eklem¶	0
2-10 büyük eklem	1
1-3 küçük eklem (büyük eklem tutulumu olsun ya da olmasın) #	2
4-10 küçük eklem (büyük eklem tutulumu olsun ya da olmasın)	3
>10 eklem(en az 1 küçük eklem)**	5

B. Seroloji (tanı için en az bir test sonucuna ihtiyaç vardır) ††

Negatif RF ve negatif ACPA	0
Düşük pozitif RF veya düşük pozitif ACPA	2

Yüksek pozitif RF veya yüksek pozitif ACPA	3
C. Akut faz reaktanları (tanı için en az bir test sonucuna ihtiyaç vardır) ††	
D. Normal CRP venormal ESH	0
Yüksek CRP veya yüksek ESH	1
E. Semptomların süresi §§	
<6 hafta	0
>6 hafta	1

*Bu kriterler yeni tanı konulacak hasta için planlanmıştır. Bununla birlikte, RA gibi tipik erozyona sahip hastalarda önceki bulguları RA ile uyumlu ise bu hastalar RA olarak sınıflandırılırlar. Uzun süreli hastalığı olanlar, tedavi alsın ya da almasın hastalık inaktif ise daha önceden 2010 kriterlerini tamamlayan hastalar RA olarak sınıflandırılırlar.

†RA'nın farklı prezentasyonu göz önünde bulundurularak SLE, psöriatik artrit ve gut gibi hastalıklar ile ayırıcı tanısı hastalar arasında farklılık göstermektedir.

‡Eğer hastaların skoru <6/10 ise daha sonra tekrar değerlendirilmelidir.

§Eklemlerin değerlendirilmesinde saptanan şişlik veya hassasiyet saptanırsa görüntüleme yöntemi ile sinovit kanıtlanmalıdır. DİF eklem, ilk karpometakarpal eklem ve ilk MTF eklem değerlendirme dışında tutulmalıdır.

¶“Büyük eklemler” omuz, el bileği, kalça, diz ve dirsek tercih edilir.

“Küçük eklemler” metakarpofalangeal eklemler, proksimal interfalangeal eklemler, 2.-5. metatarsofalangeal eklemler, başparmak interfalangeal eklem ve el bileği eklemi tercih edilir.

** Bu kategoride, en az bir küçük eklem tutulumu olmalı; diğer eklem tutulumları büyük ya da küçük eklemlerin kombinasyonu, başka yerde liste edilmeyen sipesifik olmayan eklemler (örn. Temporomandibular, akromioklavikular, sternoklavikular).

††Laboratuar testlerini değerlendirmede negatif değerler normal değerlerin üst limitine eşit ya da altında olmalıdır. Düşük pozitif değer ise normalden yüksek ama

üst limitin 3 katından az değerler, yüksek pozitif değer ise üst limitin 3 katından yüksek olan değerlerdir.

‡‡ CRP ve ESH'de normal değerler lokal laboratuvar değerlerine göre belirlenmelidir.

§§ Sinovitin belirti veya semptomlarının süresi hastanın ifadelerine göre belirlenir (61).

ACPA: Anti-sitrülinize protein antikoru

2.12. Romatoid Artrit Tedavisi

Hastalığın erken tanısı ve tedavisi oldukça önemlidir ve tedavide multidisipliner yaklaşım gereklidir (62). RA tedavisinde ilaç tedavisine ek olarak fizik tedavi, iş-uğraşı terapisi, ortopedik girişimler, eğitim programları, psikolojik destek ve mesleki danışmanlık da önemli rol oynar. RA'nın tedavisi son on yılda belirgin şekilde değişmiştir. Hastalığın çok erken döneminde tedavinin başlaması, hastalığı modifiye edici ilaçların (DMARD) kombinasyonunun kullanımı ve tümör nekrozis faktör-alfa(TNF- α) inhibitörlerinin ortaya çıkışı RA'lı hastaların çoğunda sinovitin kontrolünü sağlamayı ve hayat kalitesinde iyileşmeyi mümkün kılmıştır. RA'da tedavinin hedefi hastalığın tam remisyonu olmalıdır. Remisyon sağlanamıyorsa, hastalık bulgularını kontrol etmek, ağrıyı azaltmak, günlük yaşam aktiviteleri için gerekli fonksiyonları sürdürmek, yaşam kalitesini arttırmak ve eklem hasarını yavaşlatmak hedeflenmelidir.

2.12.1. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)

Kısa yarılanma ömrü olan asetil salisilik asit, diklofenak, ibuprofen, indometazin, ketoprofen, tolmetin, vb. ile uzun yarılanma ömrü olan piroksikam, tenoksikam, vb. NSAİİ'lerin kullanımı, en sık tercih edilen ve hem analjezik hem de antiinflamatuvar etkisinden dolayı belki de RA'da en etkili olan yardımcı tedavi şeklidir (63). NSAİİ'lar, genellikle oral, rektal, intramuskuler uygulanır; siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimlerini inhibe ederek prostoglandin oluşumunu bloke eder ve böylece terapotik etkilerini oluşturur (64). Ancak RA'da

hastalığın seyrini değiştirebildikleri ya da eklem hasarını önleyebildikleri gösterilememiştir (65).

2.12.2. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler (KS), inflamasyon semptomlarını güvenilir ve hızlı bir şekilde azaltabildikleri için RA tedavisinde sıklıkla oral, intravenöz ve intraartiküler enjeksiyon şeklinde kullanılırlar. Düşük doz oral(<10mg/gün prednizolon veya eşdeğeri diğer kortikosteroidler), pulse (100-1000mg/gün intravenöz metil prednizolon) ve yetişkin bir insan için bir seferde 1-2mg olacak şekilde lokal intraartiküler steroid enjeksiyonları, RA'nın aktif dönemlerinde semptomların giderilmesinde çok etkilidirler (65). RA'da düşük doz prednizon, DMARD grubu ilaçların etkinliği ortaya çıkana kadar semptomatik amaçla 'köprü tedavisi' olarak kullanılmaktadır (65). Yan etki riskinin kullanılan dozla ilişkili olduğunu gösteren veriler sonucunda toksisiteyi azaltmak için düşük doz steroidlere meyil olmuştur. Düşük doz steroid tedavisi ile bile kutanöz atrofi, katarakt, glokom ve hafif glukoz intoleransı bildirilmiştir. Diğer muhtemel yan etkiler miyopati, rebound etkisi, hipotalamo-pituitaradrenal aks disfonksiyonu ve osteoporozdur (62). Düşük doz glukokortikoidin RA'nın radyolojik progresyonunu geciktirdiği ve DMARD'lerin yan etkilerinin derecesinde ve DMARD'lere devamda farklı bir etki gösterdiği saptanmıştır (66).

2.12.3. Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar

Hastalığı modifiye edici ilaçlar, eklem hasarını önleyebilme ve azaltabilme, eklem bütünlüğünü ve fonksiyonunu koruyabilme, RA'lı hastaların ekonomik üretkenliğini sürdürebilmelerini sağlama gücüne sahiptir. RA tedavisine DMARD eklerken özellikle metotreksat(MTX) en sık tercih edilen DMARD'dir. DMARD'ler semptomları düzeltir, eklem şişliği ve hassasiyetini, eklem ağrısını, radyolojik bulguları ve RF ve akut faz proteinlerinin serum konsantrasyonlarını düşürerek RA bulgularını azaltabilir. DMARD'lerin kullanımı için ACR tarafından algoritmik bir yaklaşım ileri sürülmüştür (Şekil 1) (65). Algoritim kullanırken ilk ve en önemli karar hastaları hastalık bulgularının şiddetine göre ayırmaktır. Hafif şiddetli hastalığı olanlar için ilk tedavi NSAİİ, oral düşük doz steroidler, intraartiküler steroidler

ve/veya hidroklorokin (HCQ) oluşur. Daha agresif hastalığı olanlar için daha hızlı bir şekilde genellikle metotreksat (MTX) olmak üzere DMARD'lere başlamak ve eğer cevap alınmazsa bir diğerine geçmek gerekli olabilir. Ancak DMARD'lerin analjezik etkileri yoktur, herhangi bir klinik fayda sağlamadan önce haftalar aylar geçebilir.

2.12.3.1. Hidroklorokin

Hidroklorokin (HCQ) düşük toksisite profili, kolay uygulanması, düşük maliyeti ve hamilelikte görünür güvenilirliği RA'da kullanımını çekici kılar (67). Önemli bir nokta ise ilacın immünyosüpresif etkisi olmadığı için hastalarda enfeksiyon riski artmaz. İlacın klinik cevabını görmek için 6 ay beklemek gerekir (68). Hidroklorokin eklem ağrısını, şişliğini ve fiziksel fonksiyonu iyileştirir ve radyografik progresyonu azaltır fakat monoterapi olarak HCQ hafif hastalığı olanlarla sınırlanmalıdır. Daha sıklıkla yardımcı tedavi olarak kullanılır. Alışılmış oral günlük dozu 200-400mg'dir (67). Genellikle hafif olan yan etkileri GİS bozukluklar, baş ağrısı, baş dönmesi, huzursuzluk ve kulak çınlaması, deri döküntüleri ve özellikle güneş gören yerlerde pigmentasyondur. Asıl önemli olan yan etki ise retinopatidir. Bu korkulan yan etki, yüksek ilaç dozuyla ilişkilidir. En az 6 ayda bir görme alanı dahil göz muayenesi ile retinal toksisitenin denetlenmesi gerekir (68).

2.12.3.2. Sülfasalazin

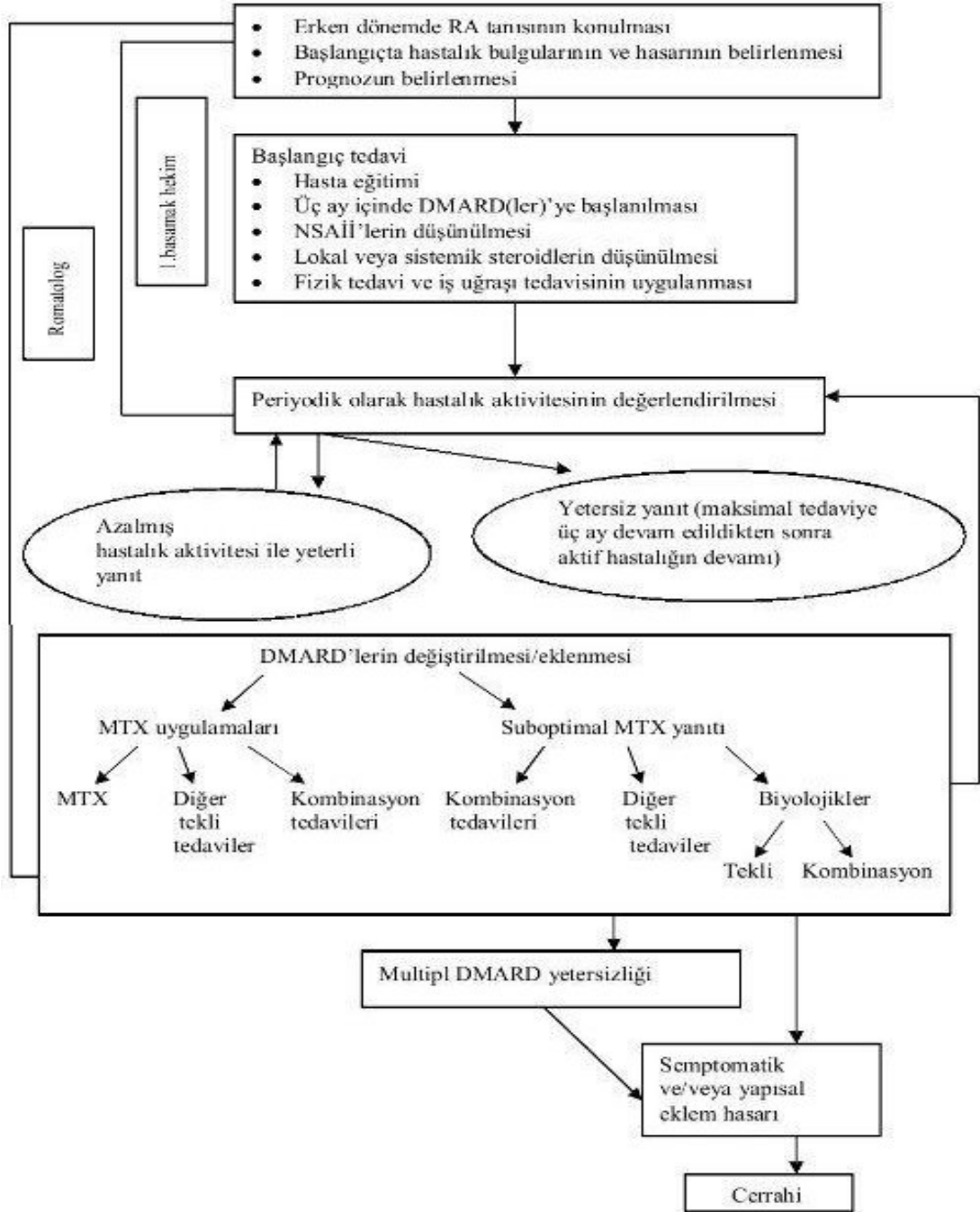
Sülfasalazin (SSZ), salisilat ve sülfapiridin molekülünün kombinasyonudur. Salisilat içeriğine bağlı antiinflamatuar etkinliğine ek olarak, MTX'a benzer immünomodülatör etkinliğe sahip görünmektedir. SSZ sıklıkla diğer DMARD'lerle kombine olarak kullanılmaktadır (69).

İlaca başlama dozu genellikle günde iki doz oral 500mg şeklindedir, birer hafta ara ile 500mg'lık artışla tedrici olarak günde 2-3gr doza erişilir. Bu şekilde ilacın oluşturduğu gastrointestinal (GİS) intolerans daha azdır (70). Sülfalalerjisi olanlarda ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz(G6PD) eksikliği olanlarda SSZ kontrendikedir. SSZ'nin MTX üzerine potansiyel avantajları düşük maliyet, hamilelik süresince rölatif güvenilirlik ve düşük hepatotoksisite ve daha düşük kemik

iliği toksisitesi insidansını kapsar (67). SSZ'nin etkinliği diğer uzun etkili olan altın tuzları, D-penisilamin, metotreksat ve leflunomidin etkinliğine eşdeğerdir. Etkisi genelde bir-iki ay içinde görülmeye başlar (68).

Hafif şiddette hastalığı olan ve eklem radyografilerinde az oranda erozyonu olan hastalarda SSZ monoterapi için özellikle tercih edilebilir (71). RA'da gerek klinik gerek laboratuvar iyileşme yanında radyolojik olarak erozyon oluşumunu da yavaşlattığı saptanmıştır (68).

İlacın yan etkileri, çoğunlukla ilaç başlangıcının ilk 3 ayında bulantı, kusma, iştahsızlık, karın ağrısı ve dispepsi, baş ağrısı, baş dönmesi şeklinde olabilir ve genellikle doza bağlıdır. Erkeklerde, sperm sayısında ve motilitesindeki azalmaya bağlı geçici infertilite olabilir (68).



Şekil 1. Romatoid artrit tedavisi için DMARD kullanımında Amerikan Romatoloji Cemiyeti tarafından önerilen yaklaşım planı (65)

2.12.3.3. Altın Tuzları

Ülkemizde mevcut olmayan altın tuzlarının iki parenteral şekli gold sodium tiomolate ve gold sodium thioglucose ve bir oral formu triethylphosphine gold thioglucosetetraacetate (Auranofin) vardır. Altın tuzlarının antimikrobiyal, immun reaksiyonlarda değişiklik, iltihapta baskılanma ve enzim inhibisyonu gibi bazı özellikleri vardır (72).

Kontrollü çalışmalarda parenteral altın tuzlarının MTX kadar etkili olduğu ve radyolojik kötüleşmeyi de yavaşlattığı kanıtlanmıştır (68). Altın tuzları etkisi yavaş başladığı, intramuskuler uygulandığı, sık monitorizasyon gerektirdiği (tam kan sayımı ve tam idrar analizi) ve sıklıkla toksisiteleri olduğu için daha az kullanılırlar.

Intramuskuler altın ile yan etki görülme sıklığı yüksektir. Potansiyel yan etkiler döküntü, stomatit, trombositopeni, lökopeni, proteinüri ve nefrotik sendromdur. İnterstisyel pnömoni, böbrek yetmezliği, kemik iliği depresyonu da az görülen yan etkilerdir (68).

2.12.3.4. D-penisilamin

D-penisilamin oral yolla kullanılır; MTX, enjektabl altın, azatiopürin ve HCQ ile benzer ve auranofinden daha çok etkinliğe sahiptir. RA'deki tedavi klinik etkisini 3-6 ay sonra göstermeye başlar. Tedaviye, başlangıçta 125mg gibi düşük dozla başlanır ve yavaş yavaş ayda bir 125mg arttırılır (68). Genellikle 500-1000mg/gün ile etkin doza ulaşılır. Yemeklerde, antiasitlerle ve oral demir preparatları ile birlikte alınması emilimini azaltır. Yemeklerden bir saat önce alınmalıdır. İlk 6 ay 2 haftada bir, daha sonra ayda bir kez tam kan sayımı ve idrar tahlilleri yapılmalıdır (73).

D-penisilaminin etki mekanizması tam bilinmemektedir. B6 vitamininin etkinliğini antagonize eder. Fibroblast üzerinden iltihabı baskılar. En çok deri ve tendon gibi kollajen içeren dokularda birikmeye meyillidir. Kontrollü klinik çalışmalarda RA'daki etkinliği gösterilmiş olmasına rağmen ne yazık ki radyolojik ilerlemeyi engellediğini gösteren yeterli bilgi yoktur (74).

Yan etkileri kaşıntı, döküntü, alopesi, stomatit ve GİS problemler ve tad bozukluklarıdır. En ciddi fakat seyrek görülen komplikasyonlar kemik iliği

depresyonu (trombositopeni, lökopeni, aplastik anemi), nefrotik sendrom ve otoimmün sendromlardır (SLE, polimiyozit, Good Pasture sendromu, miyastenia gravis ve pemfigus) (73).

2.12.3.5. İmmünosupresifler

RA tedavisinde sıklıkla kullanılan immünosupresifler azatiopürin, siklofosfamid, metotreksat ve leflunomidir.

2.12.3.5.1. Azatiopürin

Azatiopürin (AZT), RA'da 1,5-2,5mg/kg/gün dozlarda, çoğu kez "steroidden sakınma ajanı" olarak tek başına veya kombinasyon biçiminde oral olarak kullanılır (64). Azatiopürinin enjektabl altın, HCQ, D-penisilamine denk bir etkinliği vardır. MTX'in ise istatistiksel olarak kanıtlanamamış olmakla birlikte AZT'den daha etkin olduğu düşünülmektedir. Radyolojik progresyonda eşlik eden bir azalma sağlamaz. İmmünosupresif etkisi yanında nonspesifik antiinflamatuvar etkisi de vardır. Yan etkileri bulantı, kusma, karın ağrısı, hipersensitivite reaksiyonları, kemik iliği depresyonu, böbrek yetersizliğidir (68).

2.12.3.5.2. Siklofosfamid

Günümüzde siklofosfamid, RA tedavisinde ciddi yan etkileri ve farklı ilaç seçeneklerinin olması nedeniyle artık pek kullanılmamaktadır. Bununla beraber diğer tedavilere dirençli ve vasküitle seyreden ağır RA'da verilmektedir. Günlük doz oral 1,5-2,5 mg/kg'dir (68). Genelde oral yolla 50-150 mg/gün, parenteral yolla 500-1000 mg/m²/ay pulse olarak uygulanır. Yan etkileri kemik iliği depresyonu, bulantı, kusma, ishal, saç dökülmesi ve enfeksiyonlara eğilim artışı, hemorajik sistit ve mesane kanseridir. Aylık kan sayımı ile kemik iliği, idrar tetkiki ile mesane toksisitesi izlenmelidir. Hemorajik sistit riskini azaltmak için intravenöz pulse kullanımlarda 1mg siklofosfamide karşılık 1mg mesna olacak şekilde 24 saatte 4 doza bölünerek verilir. Tedavide sıklıkla oluşan yan etkiler erkek ve kadında irreversibl infertilite ve ikincil malign hastalık ortaya çıkmasıdır (73).

2.12.3.5.3. Metotreksat

Metotreksat (MTX), hem tek başına hem de diğer başka uzun etkili ilaçlarla birlikte RA tedavisinde kullanılan en sık ve genellikle de ilk seçilen ilaçtır (68). MTX bir folik asit antagonistidir. Dihidrofolat redüktazı inhibe ederek, hücre proliferasyonunda önemli olan pürin metabolitlerinin sentezini azaltır (75). Etkisi erken dönemde (ilk aylarda) başlar ve ilaca devam oldukça iyidir. Hastalarda beş sene sonra MTX'a devam oranı %50 iken, bu oran diğer DMARD'larda %20 civarındadır. MTX RA'da radyolojik erozyonların ilerlemesini yavaşlatmaktadır (76).

Başlangıç dozu 7.5-10mg/haftadır. Haftada bir tek doz veya 12 saat aralarla verilen 2-3 doz şeklinde uygulanır. 4-8 hafta içinde pozitif yanıt alınmaz ise ve toksisite yoksa, doz arttırılır (2.5-5mg/hafta, her ay). Tedaviye yanıtın yetersiz olduğuna karar verilmesi için dozun 20-25 mg/haftaya çıkarılması veya oral tedavide olan ve yanıt alınamayan hastalarda subkutan veya intramuskuler enjeksiyona geçilmesi önerilmektedir (77).

Tedaviye başlamadan önce tam kan sayımı, kreatinin, aspartat aminotransferaz(AST) ve alanin aminotransferaz(ALT) ve postero-anterior akciğer grafisi ve hepatit serolojisi değerlendirilir. Lökosit sayısı 3500/mm³ altında ise, kreatinin 2 mg/dl'nin üzerinde veya kreatinin klirensi 60 ml/dk'nin altında ise veya transaminazlar yüksek veya bilinen bir karaciğer hastalığı var ise MTX verilmemelidir (73). Yan etkileri kontrol etmek için başlangıçta ve doz artışları süresince aylık, daha sonra ise 2 ayda bir, kan sayımları ile birlikte karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT) yapılır. İlaç dozu sabitleşince üç ayda bir kontrol yapılması yeterli olur (68). Üreme çağındaki kadınlara MTX tedavisi ile uygun kontrasepsiyon önerilmelidir, emziren kadınlarda kullanılmaz. Gebe kalmak isteyen kadınlarda tedavi 6 ay önce kesilmelidir. Erkeklerde ise konsepsiyondan üç ay önce tedavinin kesilmesi önerilmektedir (77). Cerrahi müdahaleler esnasında ilaca ara verilmesine gerek olmadığı savunulmaktadır (78).

En sık görülen yan etkileri iştahsızlık, bulantı, kusma, ishal ve oral afttır. Günlük 1mg folik asit ilave edilmesi yan etki oluşumunu azaltırken MTX'in etkisinde hafif azalma olduğu öne sürülmektedir. Diğer bir yol oral dozu 2-3'e

bölerek 12 saatte bir vermektir. Bir başka seçenek de parenteral yola geçmektir (68). Hematolojik toksisite (lökopeni, trombositopeni, pansitopeni, megaloblastik anemi) hastaların %5'inden azında görülür. MTX'a bağlı pnömonit, karaciğer toksisitesi gelişebilir. Hamileler için teratojenik etkilidir. Erkeklerde ise reversibl oligospermi yapabilir (73). Diğer yan etkileri nodülozis, döküntü, alopesi, ilaç alımından sonra baş ağrısı, baş dönmesi, eklem ağrılarında artıştır (69).

2.12.3.5.4. Leflunomid

Primidin sentez inhibitörüdür. Yerleşik RA'lı hastalarda yapılan birebir çalışmalarda, MTX veya SSZ'ye sinoviti baskılamada ve radyografik progresyonu inhibe etmede eş etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Yalnız bu çalışmalarda hem MTX'in hem de SSZ'nin düşük dozda olduğu ileri sürülmüştür (67).

Üç gün süreli oral 100mg'lık yükleme dozu ile başlanır. İdame dozu 20 mg/gündür. Bu doz klinik olarak tolere edilemezse 10mg/güne inilir. Etkisini birinci ayda göstermeye başlar. Yükleme dozu verilmeyen hastalarda kararlı plazma düzeyine ulaşmak için 2 ay beklemek gerekir. Ülkemizde 10-20-100mg'lık tablet formu bulunmaktadır.

Leflunomid kullanımı ile diyare, dispepsi, bulantı, kusma gibi Gİ yakınmalar olabilir. Döküntü, kaşıntı, alopesi gibi dermatolojik reaksiyonlar %10 civarındadır (77). En önemli yan etkisi karaciğer üzerinedir. Hastaların %5-10'unda görülen KC enzimlerinde yükselme genellikle doz azaltılınca veya ilaç kesilince normale döner (73). MTX ve leflunomid birlikte kullanıldığında hepatotoksisite riskinin arttığına dair kanıt yoktur ve aktif RA tedavisinde kombinasyon başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (71). İlk 2 ay içinde hastaların %10-20'sinde hipertansiyona neden olur (68). Pansitopeni, periferik nöropati, interstisyel pnömoni, baş ağrısı, sersemlik, parestezi diğer yan etkileridir (68, 77).

Tam kan sayımı ilk 6 ay 2 haftada bir, daha sonra 8 haftada bir, AST ve ALT tedavi başlangıcında ve ilk 6 ay ayda bir, daha sonra 2-3 ayda bir değerlendirilmelidir. MTX ile birlikte kullanımda daha sık izlem gerekir (77).

Kontrendikasyonları alkolizm, hamilelik, aktif karaciğer hastalığı ve renal yetersizliktir (67). Gebelikte veya gebelik istendiğinde ve ciddi yan etki oluştuğunda

ilaç eliminasyon işlemi uygulanır. Bunun için 11 gün süreyle günde 3 kez 8gr kolestimamin veya 4 kez 50gr aktif kömür verilir. Çocuk sahibi olmak isteyen erkekler için de durum aynıdır (68).

2.12.3.6. Biyolojik Ajanlar

2.12.3.6.1. TNF İnhibitörleri

RA'de, inflamatuvar cevabın oluşmasında ve bunun artarak devam etmesinde TNF- α merkezi rol oynar. RA'lı hastaların sinoviyumlarında TNF- α ve TNF- α reseptörlerinin aşırı miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (79). RA tedavisinde 3 TNF- α inhibitörü (infliksımab, etanersept ve adalimumab) Besin ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration-FDA) tarafından onaylıdır. Her birinin RA tedavisinde monoterapi şeklinde etkili olduğu gösterilmiştir (67). Üç TNF- α inhibitörünün her biri hastaların çoğunda RA'nın belirti ve semptomlarını azaltır ve olguların çoğunda kemik erozyonlarının progresyonunu durdurur. Ancak hiçbiri hastalığın tam remisyonuna neden olmaz ve çoğu bireyde ilaç kesildikten birkaç hafta sonra eklem semptomları tekrarlar (71).

İnfliksımab kimerik anti TNF- α monoklonal antikorudur. Antikor 3-10mg/kg/8 hafta intravenöz infüzyon yolu ile verilir. Önerilen doz rejimi ilk uygulamadan sonra (0. hafta) 2. ve 6. haftalarda ve sonrasında ise 8 haftada bir infüzyonlar şeklinde 3mg/kg'dir. Eğer hastada belirgin bir yarar sağlanamaz ise, doz arttırılabilir veya doz aralığı kısaltılabilir (77). Yarı ömrü 8-9.5 gündür (73). Ülkemizde 100mg'lik flakon formu mevcuttur.

Etanersept, iki p75 (tip II) TNF reseptörünü IgG'nin Fc kısmına bağlayan dimerik bir füzyon yapısıdır. Yarı ömrü ortalama 102 saattir (80). Etkinlik 2 hafta sonra başlar ve 3 ay süre ile giderek artar (81). Ülkemizde 25mg'lik flakon formu mevcuttur. Uygulama ya haftada bir kez 50 mg ya da haftada 2 kez 25mg'lik cilt altı enjeksiyon şeklindedir (80).

Daha önceden monoterapi ile tedavi edilmiş orta derecede aktif RA'lı hastalarda etanersept ve MTX kombine tedavisinin radyografik progresyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (82).

Adalimumab TNF- α 'ya karşı etkili, tamamen insan kaynaklı bir monoklonal antikordur (64). Bu rekombinan insan IgG1 monoklonal antikorunun en önemli avantajı daha az immünojenik olması ve daha uzun yarı ömrünün olmasıdır (79). Yarı ömrü ortalama 14 gündür. 40 mg dozunda 15 günde bir deri altı enjeksiyon olarak verilir veya yetersiz olan hastalarda haftada bir verilebilir. Bu ajanla birlikte zeminde MTX kullanımının, olasılıkla ilaç klirensini yavaşlatma yoluyla yanıt süresini uzattığı gözükmemektedir (80). Ülkemizde 40mg'lık flakon formu mevcuttur. PREMIER çalışmasında erken agresif RA hastalarında adalimumab ve MTX kombinasyonunun adalimumab ve MTX'in tek başına kullanımına göre hastalığın semptomlarını ve belirtilerini iyileştirmede, radyografik progresyonu inhibe etmede ve klinik remisyonu sağlamada daha üstün olduğu bildirilmiştir (83).

TNF- α inhibitörleri ile kombinasyonda şu an klinik uygulamada ilk seçeneğin MTX olduğu, MTX'in kontrendike olması durumunda leflunomidin yararlı bir alternatif olduğu bildirilmiştir (84). TNF- α antagonistlerinin yan etkileri arasında enfeksiyonlara yatkınlık, tüberküloz reaktivasyonu, konjestif kalp yetmezliği, malignensiler, demiyelinizan hastalıklar, enjeksiyon yeri reaksiyonları ve deri erupsiyonları yer almaktadır (85).

2.12.3.6.2. Anakinra

IL-1 artrit oluşturulan hayvan modellerinde önemli bir sitokindir ve RA'da kemik ve kartilaj hasarında önemli bir rolü vardır. İnsan IL-1Ra' nın rekombinant bir formu olan anakinra IL-1 reseptöre bağlanan IL-1'in yarışmalı antagonistidir ve IL-1'in etkisini antagonize eder. RA tedavisinde anti-TNF tedaviden klinik olarak daha az etkilidir fakat kemik kaybının gelişimini geciktirebilir. Anakinra 100 mg/gün dozda derialtı enjeksiyonla uygulanır (70). Yakın zamanda yayınlanan bir sistematik bir derlemede anakinranın RA tedavisinde göreceli olarak güvenli ve ılımlı şekilde etkili bir biyolojik ajan olduğu belirtilmiştir ve güvenlik ve etkinliği değerlendirmede özellikle diğer tedavilerle karşılaştırma yapan daha fazla çalışma yapılması gerektiğine değinilmiştir (86).

2.12.3.6.3. Abatasept

Abatasept, rekombinant bir CTLA4Ig füzyon proteindir ve seçmeli olarak CD28:CD80/86 yolağını kırması üzerinden kostimülasyonu bloke eder, sonuçta T hücre aktivasyonu ve sonrasındaki çok sayıda efektör mekanizmaları baskılar. Abatasept tek başına veya MTX ile kombine olarak verildiğinde, anti TNF tedavi ile rahatlamayan hastalar dahil aktif RA hastalarında etkili olduğu gösterilmiştir. Klinik çalışmalarda, klinik bulgu ve semptomlarda düzelme, radyolojik ilerlemede yavaşlama ve hasta işlevleri ile ağrıda düzelme bildirilmektedir (69). Abatasept 10 mg/kg dozda 0.-15. gün ve sonra ayda bir, 30 dakikadan daha uzun sürede, intravenöz infüzyonla uygulanır. MTX'la veya diğer sentetik DMARD'larla kombine verilir (87).

2.12.3.6.4. Rituksimab

Olgun B hücrelerine özgül gösterge olan CD 20'ye karşı kimerik bir monoklonal antikordur. Anti TNF tedaviye refrakter RA'lı hastaların tedavisi için FDA onayı almıştır (69). RA'da rituksimabın etkinliği çift kör plasebo kontrollü klinik çalışmalarda gösterilmiştir (88, 89). Keystone ve arkadaşları (90) RA'da rituksimabın tekrarlayan dozlarının yeni yan etki olmaksızın kinik yanıtı devam ettirdiğini bildirmişlerdir.

2.12.4. Zingiber Officinale (Zencefil)



Şekil 2. Zingiber officinale (zencefil)

Zingiber officinale (zencefil): Yöremizde zencefil olarak bilinir. Vatanı Güney Asya olmakla beraber birçok tropikal ülkede ekilir. 100 cm yüksekliğinde,

kamış görünümünde çok yıllık otsu bir bitki olan *Zingiber officinale*'nin kurutulmuş rizomları baharat olarak kullanılır. Yapraklar mızrak biçiminde, sivri uçlu, tarçın kokuludur. Çiçeklerinin birçoğu bir arada ve sarı renklidir. Yatıştırıcı ve gaz söktürücü özelliklere sahiptir (91).

K.C.Srivastava, T. Mustafa ve ekipleri 1989 ve 1992'de toplam 56 romatizmalı hasta üzerinde Zencefil tozu ile tedavi denemesi yapmışlar ve hastaların fayda gördüğünü tespit etmişlerdir. 1970'lerden beri zencefilin antiinflamatuvar etkinliği bilinmektedir. Zencefil antiinflamatuvar etkinliğini COX-1, COX-2 ve 5-Lipoksijenaz inhibisyonu ile yapar (92). Zencefil ekstaktı ve İbuprofen ile yapılan bir başka çalışmada ibuprofenin plasebodan daha etkili olduğu bulunmuş, Zencefil ekstaktı ile plasebo arasında fark bulunmamış. Zencefil ekstaktında ciddi bir yan etkiye rastlanmamış (93).

2.12.5. *Laurus Nobilis* (Defne)



Şekil 3. *Laurus nobilis* (defne)

Laurus nobilis, yöremizde defne olarak isimlendirilir. 10 m kadar boylanabilen, herdem yeşil, sarı çiçekli bir ağaçtır. Yapraklar 5-10 cm uzunlukta ve 2-5 cm genişlikte, derimsi, sert, kenarları dalgalı ve kısa saplıdır (91).

Defne çeşitli ülkelerde bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Geleneksel olarak defne yaprağı romatolojik ağrıların tedavisinde topikal olarak kullanılır. Ratlarda yapılan çalışmalarda defne yaprağı yağı uygulanmış analjezik ve antiinflamatuvar etkinliği olduğu gösterilmiştir (94). Defne yaprağından izole edilen ekstaktın çeşitli konsantrasyonlarda in vitro ortamda IL-1 α , IL-1 β ve TNF- α üzerine potent inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir (95)

2.12.6. Hypericum Perforatum (Binbirdelik Otu)



Şekil 4. Hypericum perforatum (Binbirdelik otu)

Hypericum perforatum Türkiye’de yöresel olarak Binbirdelik otu, Kan otu, Kılıç otu, Mayasıl otu, Yara otu ve Kuzu kıran adıyla bilinen *Hypericum perforatum* çok yıllık bir bitkidir (96). Kantaron yağı geleneksel tıpta depresyon, küçük kesikler, deri ülserleri ve eklem ağrılarında kullanılmaktadır (97).

Hypericum perforatumdan lipofilik ekstrakt, etilasetik fraksiyon ve hidroalkolik ekstrakt elde edilmiş. Kroton yağı ile fare kulaklarında oluşturulan ödeme uygulanmış. Lipofilik ekstrakta daha fazla olmak üzere doz bağımlı olarak ödeme azaltmış (18). Hypericum perforatumdan yağ ekstraktı elde edilmiş. Kanrenan ile sıçanlarda pençe ödeme oluşturulmuş ve elde edilen yağ ekstraktı oral olarak verilmiş. Yağ ekstraktının pençe ödemi önemli oranda azalttığı görülmüş (97).

2.12.7. *Eugenia Caryophyllata* (Karanfil)



Şekil 5. *Eugenia caryophyllata* (karanfil)

Bu bitki, 10-20 m yüksekliğinde, yaprak dökmeyen ağaçlardan elde edilir. Bu çiçeklerin kurutulmuş tomurcukları “karanfil” adını alır. Eugenol, karanfil ekstraktının büyük bir kısmını oluşturur ve söz konusu bitkinin antioksidatif ögesidir. Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada karanfilin BHT ve BHA kadar güçlü antioksidatif etki gösterdiği ortaya konmuştur (98). Lee ve Shibamoto (99), karanfilin tomurcuklarından izole edilen ekstraktların antioksidan özelliklerini incelemişlerdir.

Karanfil ekstraktının büyük kısmını oluşturan eugenolün COX antagonistine (indometazin) ve selektif COX 2 antagonistine(celecoxib) benzer etkili olduğu gösterilmiş. Eugenolün COX-2 inhibitör etkisi olduğu Huss et al., (2002) tarafından tanımlanmıştır. Lipopolisakkarit ile indüklenen sıçan makrofajlarında prostaglandin E₂'yi inhibe ettiği gösterilmiştir (100).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (17.05.2011/08) alınmıştır ve çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (SDÜBAP, 2413-TU-10) tarafından desteklenmiştir.

3.1. Kullanılan Cihazlar

- Mikropipet Seti (Eppendorf Research 10, 100, 1000, 5000, Almanya)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich Universal 32 R, Hettich Universal 320, Almanya)
- Buzdolabı (Arçelik-8188 NF, Türkiye)
- Bidistile Su Cihazı (Millipore Simlicity 185, France)
- Laminar Hava Kabini (ESCO, Türkiye)
- Vorteks (Nüve NM 110, Türkiye)
- Hassas Terazı (Shimadzu AX200, Japan)
- Manyetik Karıştırıcı (IKA RH-KT/C, Brazil)
- ELISA yöntemi, ORGANON TEKNİKA microwell system (Avusturya)

3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Kitler

- Acetic acid (Glacial) MERCK K32585956344
- Freund's Complete Adjuvant, cell suspension, FCA, 10 mg/ml, Sigma F5881
- Collagen from bovine tracheal cartilage 10 mg. Sigma C1188
- Diklofenak sodyum, Voltaren jel, Novartis
- Actiflex krem (Zingiber officinale, Hypericum perforatum, Eugenia caryophyllata, Laurus nobilis), Manolya Dogal ve Aromatik Urunler Gıda Sanayi ve Ticaret Ltd. Sti.
- Xysilazin % 2'lik Ege Veteriner Hekimlik Sanayi ve Ticaret Lti. Şti

- Alfamine % 10'luk Ege Veteriner Hekimlik Sanayi ve Ticaret Lti. Şti
- ELISA Kit for Rat cyclooxygenase-1 (COX1), Usen Life Science Inc. Wuhan, Cat. No: E93283Ra
- ELISA Kit for Rat cyclooxygenase-2, COX-2, Usen Life Science Inc. Wuhan Cat. No.: E0699Ra
- CRP ELISA kiti high sensitive rat spesifik RH951CRP01
- İL-1 ELISA kiti rat spesifik, İnvitrogen
- İL-6 ELISA kiti rat spesifik, Raybiotech
- TNF- α ELISA kiti rat spesifik, Invitrogen

3.3. Deney Hayvanları

Çalışmamızda SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı (SDÜ-HÜDAL) biriminde üretilmiş olan, ortalama 170-220 gr ağırlığında 60 adet Wistar-Albino dişi sıçan kullanılmıştır. Tüm denekler standart laboratuvar koşullarında (22 °C, %50-60 nem ve 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda) barındırılmıştır. Beslenmeleri için günlük standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanılmıştır.

3.4. Deney Düzenegi

Çalışmamızda sığır trakeasından elde edilen tip 2 kollajen (Sigma C1188) küçük parçalara ayrılarak 2 mg/ml olacak şekilde 0,01 M glasiyal asetik asit içinde bir gece boyunca buzdolabının +4 °C rafına konulup her saat başı nazikce alt-üst yapılarak çözüldü [113]. Isıda öldürülmüş ve kurutulmuş Mycobacterium tuberculosis içeren sıvı parafin emülsiyonu (Freund's Complete Adjuvant, FCA, 10 mg/ml), elde edilen tip 2 kollajen çözeltisi ile 1/1 oranında emülsifiye edildi. Elde edilen emülsiyondan hayvanların kuyruk tabanına, insülin iğnesi ile 300 µl'lik tek doz 5-6 yere intradermal dairesel enjeksiyonu ile artrit oluşumu uyarıldı.

Tüm gruplarda 10'ar hayvan kullanıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak ayrıldı, 0. gün insülin iğnesi ile 300 µl'lik tek doz 5-6 yere intradermal olarak SF enjeksiyonu sonrası pençe takibi yapıldı ve 20. gün kalpten kan alındı. İkinci grup FCA grubu olarak ayrıldı, insülin iğnesi ile 300 µl'lik tek doz 5-6 yere intradermal

olarak FCA ile glasiyal asetik asitin 1/1 karışımının 0. gün injeksiyonu sonrası pençe takibi yapıldı ve 20. gün kalpten kan alındı. Üçüncü grup artrit grubu olarak ayrıldı, insülin iğnesi ile 300 µl'lik tek doz 5-6 yere intradermal olarak FCA ile tip 2 kollajen çözeltisinin 1/1 emülsiyonunun 0. gün injeksiyonu sonrası pençe takibi yapıldı ve 20. gün kalpten kan alındı. Dördüncü grup Diklofenak jel grubu olarak ayrıldı, insülin iğnesi ile 300 µl'lik tek doz 5-6 yere intradermal olarak FCA ile tip 2 kollajen çözeltisinin 1/1 emülsiyonunun 0. gün injeksiyonu sonrası pençe takibi yapıldı. 14. günden sonra eklemlere 5 gün 2x1 diklofenak jel uygulandı ve pençe takibi yapıldı. 20. gün kalpten kan alındı. 5. grup Bitkisel krem grubu olarak ayrıldı, 14. günden sonra eklemlere 5 gün 2x1 Bitkisel krem uygulandı ve pençe takibi yapıldı 20. gün kalpten kan alındı.(Toblo 1.)

Tablo 1. Çalışmamızda oluşturduğumuz artrit grupları

Grup I: Kontrol grubu	0. günde tek doz kuyruk etrafına 5-6 yere intradermal salin 300 µL uygulandı ve takip edildi
Grup II: FCA grubu	0. günde tek doz kuyruk etrafına 5-6 yere intradermal CFA + Asetik asit 300 µL uygulandı ve takip edildi.
Grup III: Artrit grubu	0. günde tek doz kuyruk etrafına 5-6 yere Kollajen Tip II'nin FCA emülsiyonu intradermal uygulandı ve takip edildi.
Grup IV: Artrit + Diklofenak jel grubu	0. günde tek doz kuyruk etrafına 5-6 yere Kollajen Tip II'nin FCA emülsiyonu intradermal uygulandı ve 14. günden sonra eklemlere 5 gün 2x1 Diklofenak jel uygulanarak takip edildi.
Grup V: Artrit + Bitkisel krem grubu	0. günde tek doz kuyruk etrafına 5-6 yere Kollajen Tip II'nin FCA emülsiyonu intradermal uygulandı ve 14. günden sonra eklemlere 5 gün 2x1 Bitkisel krem uygulanarak takip edildi.

Deney hayvanları enjeksiyon günü 0. gün kabul edilerek; 0, 14. ve 20. günlerde tablo 1'e göre değerlendirildi ve her pençe artiritin derecesine göre 0-4 arasında puanlandı. Ayrıca hayvanlar deney sonunda ksilazin/ketamin (10/50 mg/kg, i.P.) anestezisi altındayken kalpten ponksiyon ile kan alındı. Alınan kan soğutmalı santrifüjde 4000/dk devirde 18 °C'de 10 dk çevrildi ve üstte kalan serum 3 ayrı

ependorf tüpüne eşit miktarda alındı. Tüm gruplarda pençe eklemleri görsel olarak ve serumda ELISA yöntemi ile IL-1 , IL-6, TNF- , COX-1, COX-2, hsCRP düzeyleri  l lerek istatistiksel olarak değerlendirildi.

Oluşturulan artrit Bakharevski ve ark'a göre görsel olarak değerlendirilmesi (102).

Tablo 2. Kollajen ile oluşturulan artrit makroskopik sınıflaması Bakharevski ve ark'a göre klinik değerlendirme yapıldı(klinik değerlendirmede her ektremite 0-4 arasında puanlandı)

Artritin derecesi	
0	Artrit yok
1	Şişlik ve/veya bir ya da iki interfalangial eklemdede kızarıklık.
2	�� ya da dört interfalangial eklemdede veya büyük eklemdede artrit.
3	Dörtten fazla eklemdede şişlik veya kızarıklık
4	Pen�enin tümünde artrit.

Tablo 3. Sıçanların tutulan eklemlerinin makroskopik skorlaması

Rat	Tedavi öncesi sıçan ağırlıkları ve tutulan eklem sayısı					Tedavi sonrası sıçan ağırlıkları ve tutulan eklem sayısı					Ted. Sonu 19. gün sıçan ağırlığı (gr)	
	0. gün sıçan ağırlığı (gr)	Sıçanların tutulan eklem Sayısı	Sıçanların tutulan pençesi				Tedavi Başlangıcı 14. gün ağırlığı (gr)	Sıçanların tutulan eklem sayısı	Sıçanların tutulan pençesi			
			Sağ ön	Sağ arka	Sol ön	Sol arka		Sağ Ön	Sağ Arka	Sol Ön	Sol Arka	
I-1	184	0	0	0	0	0	198	0	0	0	0	200
I-2	177	0	0	0	0	0	191	0	0	0	0	190
I-3	172	0	0	0	0	0	175	0	0	0	0	177
I-4	193	0	0	0	0	0	201	0	0	0	0	200
I-5	197	0	0	0	0	0	210	0	0	0	0	220
I-6	188	0	0	0	0	0	214	0	0	0	0	213
I-7	175	0	0	0	0	0	200	0	0	0	0	202
I-8	198	0	0	0	0	0	202	0	0	0	0	210
I-9	181	0	0	0	0	0	201	0	0	0	0	206
I-10	183	0	0	0	0	0	218	0	0	0	0	225
II-1	184	0	0	0	0	0	195	0	0	0	0	200
II-2	191	0	0	0	0	0	185	0	0	0	0	185
II-3	174	0	0	0	0	0	212	0	0	0	0	210
II-4	178	0	0	0	0	0	210	0	0	0	0	210
II-5	187	0	0	0	0	0	230	0	0	0	0	220
II-6	187	0	0	0	0	0	190	0	0	0	0	190
II-7	200	0	0	0	0	0	181	0	0	0	0	180
II-8	195	0	0	0	0	0	193	0	0	0	0	194
II-9	198	0	0	0	0	0	202	0	0	0	0	196
II-10	195	0	0	0	0	0	215	0	0	0	0	224
III-1	211	0	0	0	0	0	190	0	0	0	0	190
III-2	198	0	0	0	0	0	192	0	0	0	0	183
III-3	212	2+	0	2	0	2	225	0	2	0	2	225
III-4	187	0	0	0	0	0	200	0	0	0	0	200
III-5	178	4+	4	4	4	4	166	4	4	4	4	167
III-6	186	2+	0	4	0	4	170	0	4	0	4	172

III-7	213	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	176	0	0	0	0	0	0	0	170
III-8	182	2+	0	4	4	0	4	0	4	0	4	198	3+	0	4	3	4	4	4	192
III-9	173	2+	0	4	4	0	4	0	4	0	4	200	4+	4	4	4	4	4	4	190
III-10	178	4+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	192	4+	4	4	4	4	4	4	188
IV-1	208	2+	0	4	4	0	4	0	4	0	4	158	0	0	0	0	0	0	0	152
IV-2	194	1+	0	2	4	0	0	0	0	0	0	191	0	0	0	0	0	0	0	172
IV-3	174	3+	3	4	4	0	4	0	4	0	4	175	1+	0	0	0	3	0	0	185
IV-4	191	3+	0	4	4	4	4	4	4	4	4	155	0	0	0	0	0	0	0	183
IV-5	186	4+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	153	1+	0	0	0	3	0	0	165
IV-6	179	2+	0	2	4	0	4	0	4	0	4	191	0	0	0	0	0	0	0	176
IV-7	183	1+	0	2	4	0	0	0	4	0	0	185	0	0	0	0	0	0	0	156
IV-8	184	4+	3	4	4	4	4	4	4	4	4	170	0	0	0	0	0	0	0	187
IV-9	206	1+	0	0	0	0	2	0	0	0	0	199	0	0	0	0	0	0	0	168
IV-10	176	4+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	165	1+	0	3	0	0	0	0	156
V-1	197	4+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	176	4+	4	4	4	4	4	4	186
V-2	196	4+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	177	4+	4	4	4	4	4	4	172
V-3	188	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	211	0	0	0	0	0	0	0	205
V-4	199	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	184	4+	3	4	2	4	4	4	167
V-5	210	2+	0	4	4	0	4	0	4	0	4	181	2+	0	4	0	4	4	4	174
V-6	191	3+	0	4	4	4	4	4	4	4	4	177	3+	0	4	4	4	4	4	172
V-7	191	2+	0	4	4	0	4	0	4	0	4	182	2+	0	4	0	4	4	4	186
V-8	191	4+	1	4	4	1	4	4	4	4	4	170	4+	3	4	2	4	4	4	166
V-9	183	4+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	165	4+	4	4	4	4	4	4	158
V-10	195	4+	1	4	4	1	4	4	4	1	4	166	4+	3	4	3	4	4	4	150

TEDAVİ ÖNCESİ



Resim 1. Kontrol grubu 3. rat, tedavi öncesi

TEDAVİ SONRASI



Resim 2. Kontrol grubu 3. rat, tedavi sonrası



Resim 3. Kontrol grubu 6. rat, tedavi öncesi



Resim 4. Kontrol grubu 6. rat, tedavi sonrası

TEDAVİ ÖNCESİ



Resim 5. FCA grubu 3. rat, tedavi öncesi

TEDAVİ SONRASI



Resim 6. FCA grubu 3. rat, tedavi sonrası



Resim 7. FCA grubu 6. rat, tedavi öncesi



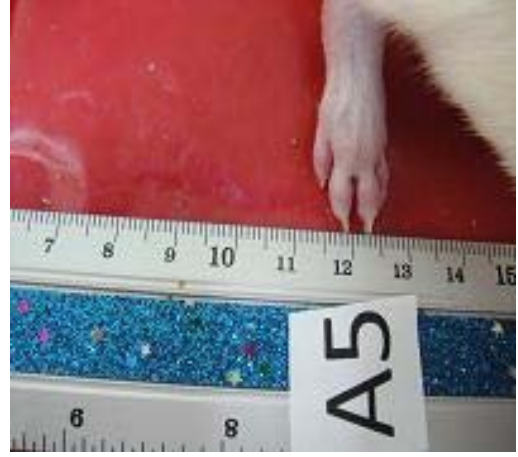
Resim 8. FCA grubu 6. rat, tedavi sonrası

TEDAVİ ÖNCESİ

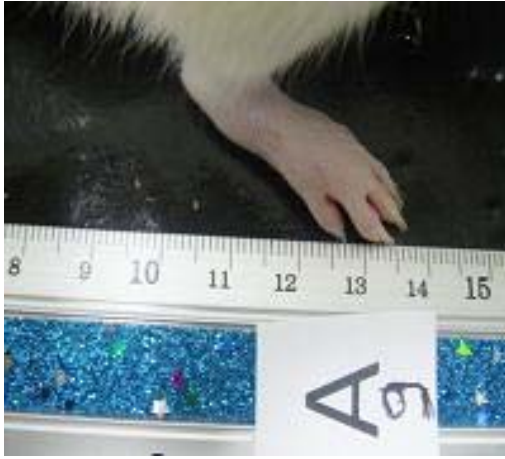


Resim 9. Adjuvan grubu 5. rat, tedavi öncesi

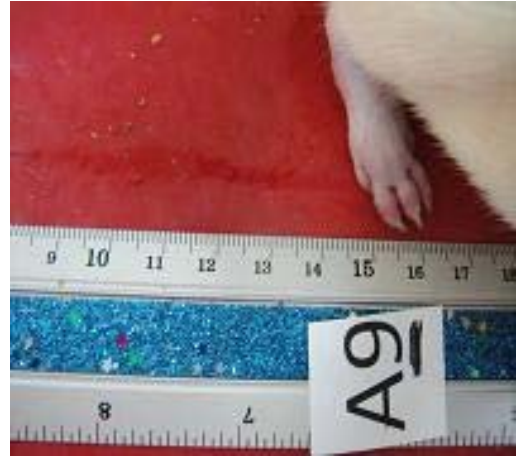
TEDAVİ SONRASI



Resim 10. Adjuvan grubu 5. rat, tedavi sonrası



Resim 11. Adjuvan grubu 9. rat, tedavi öncesi



Resim 12. Adjuvan grubu 9. rat, tedavi sonrası

TEDAVİ ÖNCESİ

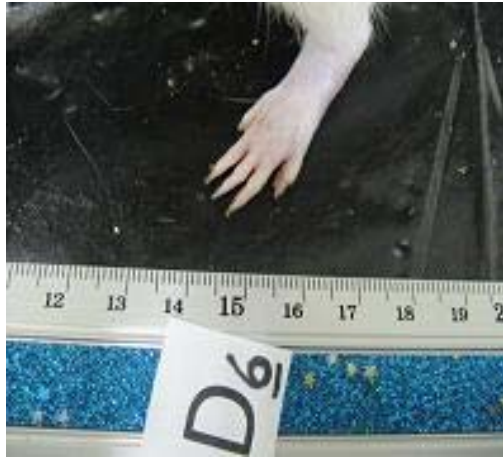


Resim13. Diklofenak grubu 3.rat, tedavi öncesi

TEDAVİ SONRASI



Resim14. Diklofenak grubu 3.rat, tedavi sonrası



Resim 15. Diklofenak grubu 6.rat, tedavi öncesi



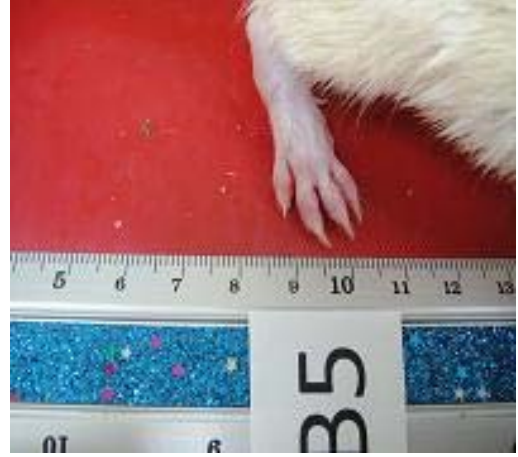
Resim 16. Diklofenak grubu 6.rat, tedavi sonrası

TEDAVİ ÖNCESİ



Resim17. Bitkisel krem grubu 5.rat, tedavi öncesi

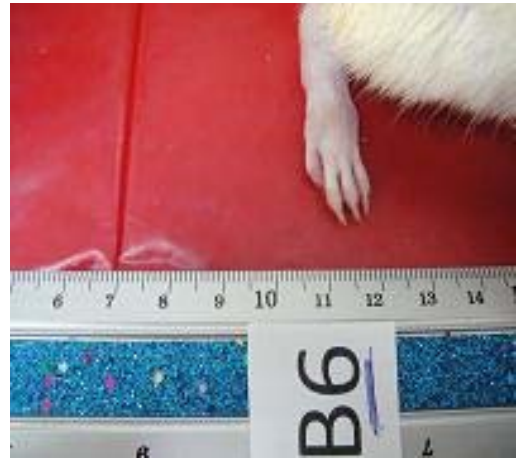
TEDAVİ SONRASI



Resim18. Bitkisel krem grubu 5.rat, tedavi sonrası



Resim 19. Bitkisel krem grubu 6.rat, tedavi öncesi



Resim20. Bitkisel krem grubu 6.rat, tedavi sonrası

Şekil 6. Oluşturulan artritlerin fotoğrafları

3.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar SPSS 15.0 kullanılarak tanımlayıcı istatistik verileri elde edildi.

İstatistiksel analizler için önce grupların dağılımlarının normal olup olmadığını incelemek amacıyla one-sample Kolmogorov-Smirnov testi yapıldı. Gruplar arasında fark olup olmadığı Kruskal Wallis, ortaya çıkan farkın hangi gruptan kaynaklandığı ise non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. Sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tablo 4. Çalışmamızdaki bulguların sonuçları

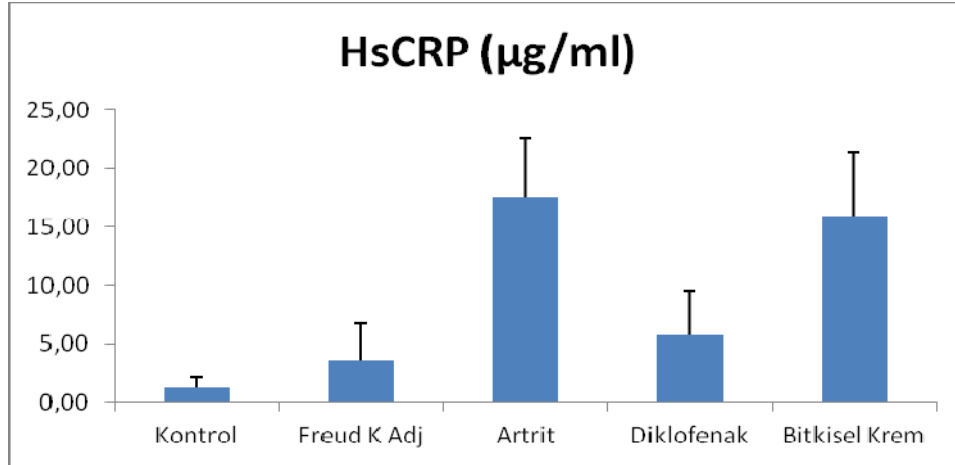
Gruplar	hsCRP µg/ml	İL-1β pg/ml	İL-6 pg/ml	TNF-α pg/ml	COX-1 pg/ml	COX-2 ng/ml
I-Kontrol (N=10)	1,29 ± 0,89	117,40 ± 22,65	340 ± 145	11,56 ± 3,65	15,94 ± 3,51	1,24 ± 0,79
II-Fre. Adj (N=10)	3,51 ± 3,25	130,12 ± 25,32	1372 ± 286	12,86 ± 4,37	20,70 ± 4,22	2,52 ± 1,78
III-Artrit (N=10)	17,52 ± 5,02	133,9 ± 19,49	2451 ± 845	13,20 ± 3,77	26,25 ± 6,96	3,88 ± 2,12
IV-Artrit + Diklofenak (N=8)	5,77 ± 3,71	122,9 ± 20,19	583 ± 305	13,52 ± 4,63	15,91 ± 6,49	1,54 ± 0,96
V-Artrit + Bitki. Krem (N=9)	15,91 ± 5,44	126,6 ± 13,59	586 ± 182	12,37 ± 2,93	23,25 ± 5,99	1,40 ± 1,35
P						
I-II	A.D	A.D	0,0001	A.D	0,019	0,019
I-III	0,0001	A.D	0,0001	A.D	0,0001	0,0001
I-IV	0,0001	A.D	A.D	A.D	A.D	A.D
I-V	0,0001	A.D	0,003	A.D	0,008	A.D
II-III	0,0001	A.D	0,0001	A.D	0,029	A.D
II-IV	A.D	A.D	0,0001	A.D	A.D	A.D
II-V	0,0001	A.D	0,0001	A.D	A.D	A.D
III-IV	0,0001	A.D	0,0001	A.D	0,004	0,009
III-V	A.D	A.D	0,0001	A.D	A.D	0,001
IV-V	0,001	A.D	A.D	A.D	0,036	A.D

A.D: Anlamlı değil, hsCRP: Yüksek-duyarlı C-reaktif protein, İL-1β: İnterlökin-1β, İL-6: İnterlökin-1, TNF-α: Tümör nekrozu faktörü- α, COX-1: siklooksijenaz-1, COX-2: siklooksijenaz-2

Tablo 4'de verilen sonuçların değerlendirilmesini kolaylaştırmak amacı ile çalışılan her bir parametre ayrı grafikler halinde gösterildi.

4.1. Gruplarda hsCRP Düzeyi

Grafik 1'de gösterilmiştir.

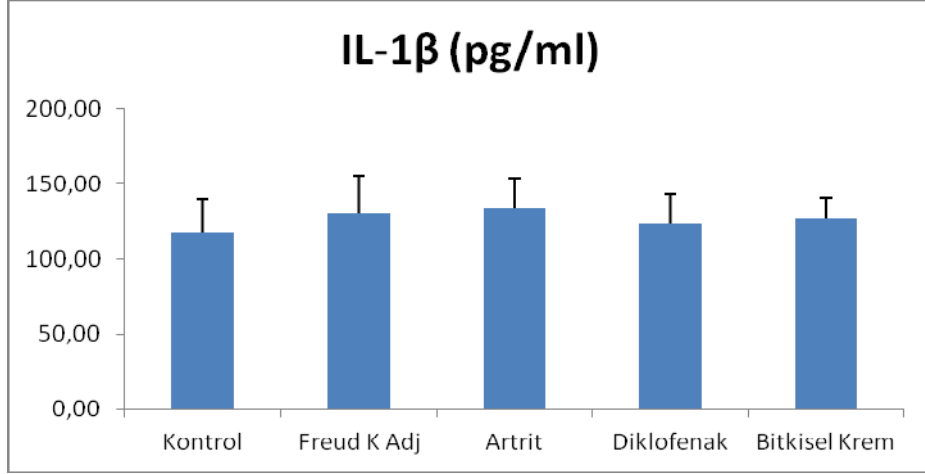


Grafik 1. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem gruplarında hsCRP düzeyleri

Kontrol grubuna göre Artrit grubunda ($P < 0,0001$), Artrit + Diklofenak jel grubunda ($p < 0,0001$), Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p < 0,0001$) hsCRP düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Freund adjuvan grubuna göre Artrit grubunda ($p < 0,0001$), Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p < 0,0001$) hsCRP düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ile Freund adjuvant grubu, Freund adjuvant grubu ile Artrit + Diklofenak jel grubu ve Artrit grubu ile Artrit + Bitkisel krem grubu karşılaştırıldığında hsCRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığa rastlanmamıştır.

4.2. Gruplarda IL-1 β Düzeyi

Grafik 2’de gösterilmiştir.

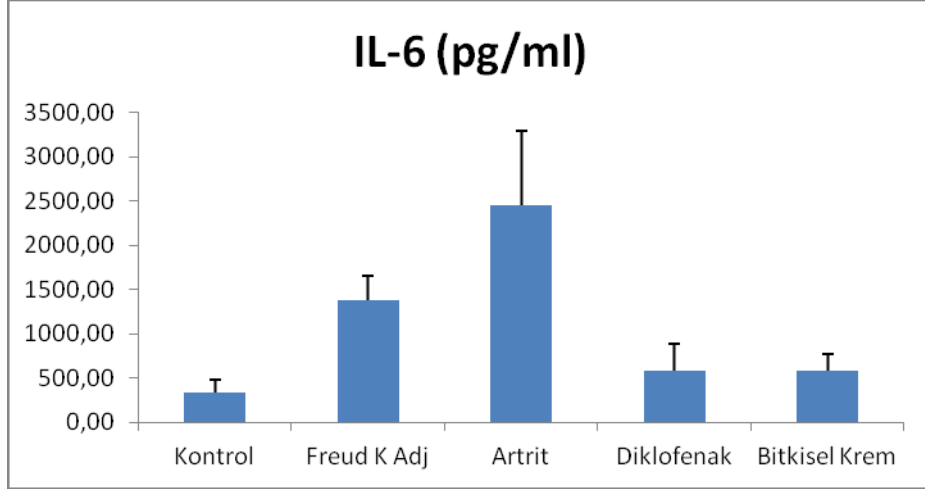


Grafik 2. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem gruplarında IL-1 β düzeyleri

Grafik 2’den anlaşılacağı gibi Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında IL-1 β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığa rastlanmadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasada kontrol grubuna göre diğer grupların IL-1 β düzeylerinde minimal bir artış sözkonusudur. Artrit grubuna göre Artrit + Bitkisel krem grubunda ve artrit+ diklofenak grubunda IL-1 β istatistiksel olarak anlamlı olmasada düşük bulunmuştur.

4.3. Gruplarda IL-6 Düzeyi

Grafik 3'de gösterilmiştir.

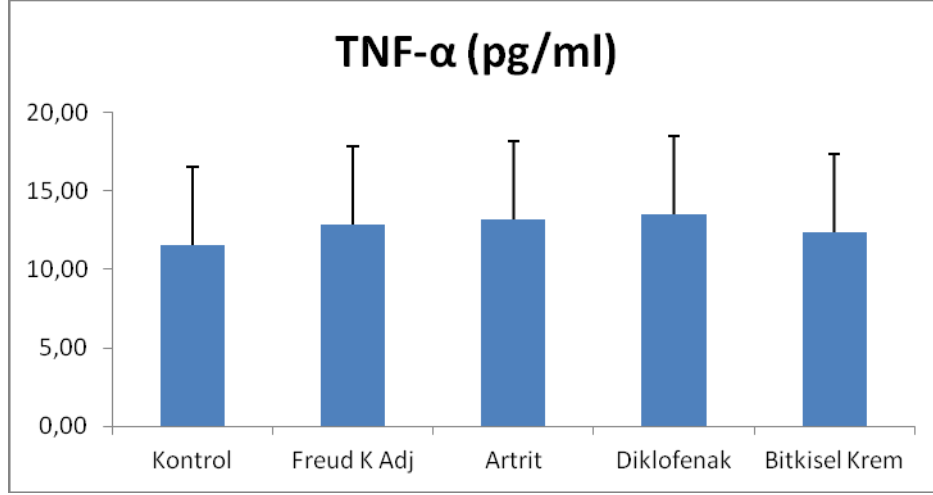


Grafik 3. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem gruplarında IL-6 düzeyleri

Grafik 3'de görüldüğü gibi IL-6 düzeyi kontrol grubuna göre tüm gruplarda artmıştır. Kontrol grubuna göre IL-6 düzeyinde en fazla artış Artrit grubu ($p < 0,0001$) ve Freund adjuvant grubunda ($p < 0,0001$) görülmüştür. İstatistiksel olarak daha az anlamlı olmakla birlikte Kontrol grubuna göre Bitkisel krem ($p < 0,003$) grubunda da IL-6 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Artrit grubuna göre Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p < 0,0001$) ve Artrit + Diklofenak jel grubunda ($p < 0,0001$) IL-6 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermiştir. Artrit + Bitkisel krem ile Artrit + Diklofenak jel grubu karşılaştırıldığında IL-6 düzeyleri arasında anlamlı bir farka rastlanmamıştır.

4.4. Gruplarda TNF- α Düzeyi

Grafik 4’de gösterilmiştir.

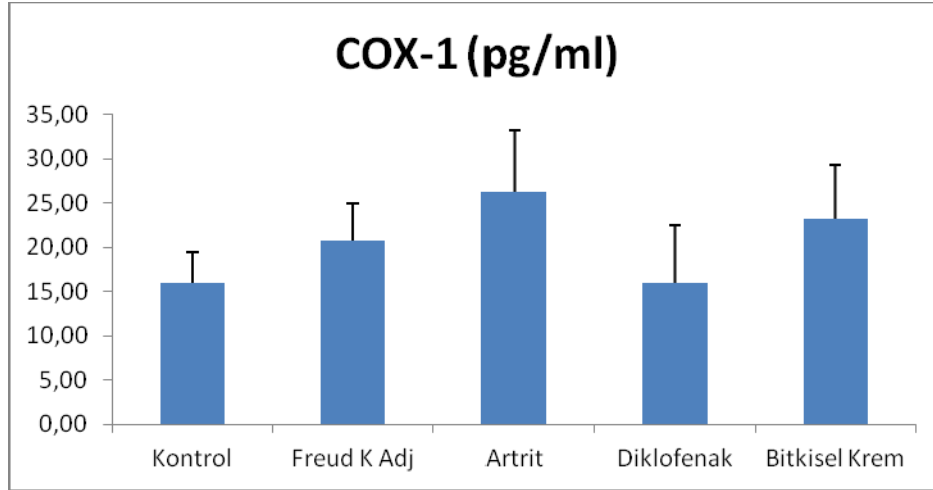


Grafik 4. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem gruplarında TNF- α düzeyleri

Grafik 4’den anlaşılacağı gibi Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında TNF- α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığa rastlanmadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna göre diğer grupların TNF- α düzeylerinde minimal bir artış sözkonusudur. Artrit grubuna göre Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p>0,05$) TNF- α istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşük bulunmuştur.

4.5. Gruplarda COX-1 Düzeyi

Grafik 5’de gösterilmiştir.

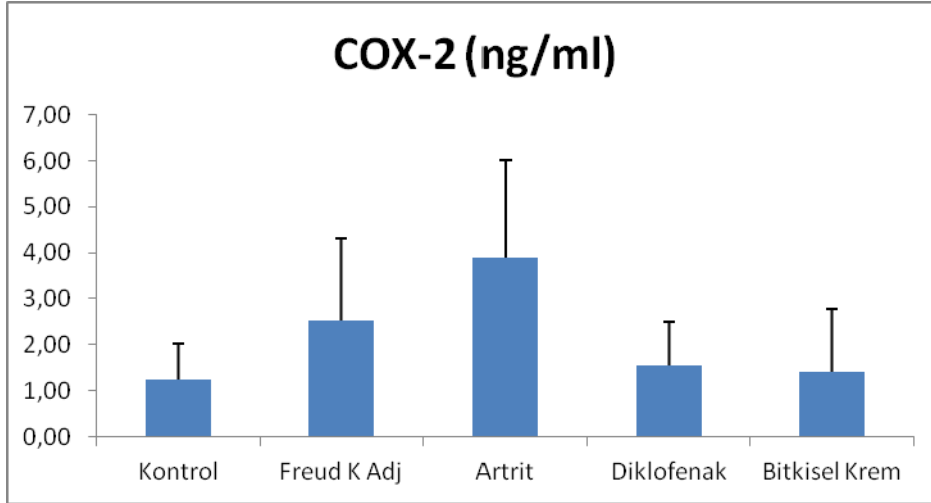


Grafik 5. Kontrol, Freund Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve Artrit + Bitkisel krem gruplarında COX-1 düzeyleri

Sonuçlar grafik 5’de görüldüğü gibi Kontrol grubuna göre Artrit grubunda ($p<0,0001$) daha fazla olmak üzere, Freund adjuvan grubunda ($p<0,019$) ve Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p<0,008$) COX-1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Artrit grubuna göre Freund adjuvant grubunda ($p<0,029$) ve Artrit + Diklofenak jel grubunda ($p<0,004$) COX-1 seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Artrit + Diklofenak jel grubuna göre Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p<0,036$) COX-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

4.6. Gruplarda COX-2 Düzeyi

Grafik 6'de gösterilmiştir.



Grafik 6. Kontrol, Freud Adj, Artrit, Artrit + Diklofenak jel ve artrit + bitkisel krem gruplarında COX-2 düzeyleri

Kontrol grubuna göre COX-2 düzeyinde en fazla artış Artrit grubu ($p < 0,001$) ve Freund adjuvant grubunda ($p < 0,019$) görülmüştür. Kontrol grubu ile Artrit + Diklofenak jel grubu ($p > 0,05$) ve Artrit + Bitkisel krem grubu ($p > 0,05$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. COX-2 düzeyleri artrit grubu ile karşılaştırıldığında hem artrit + bitkisel krem ($p < 0,001$) hem de artrit + diklofenak grubunda ($p < 0,009$) anlamlı oranda düşüş bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

RA primer olarak eklemleri etkilemekle birlikte vücudun diğer organlarını da etkileyebilir. Hastalığın progresyonu ile birlikte eklem hasarı oluşur, eklem hareketlerinde yetenek kaybı ve hayat kalitesinde azalma olur. RA önemli derecede morbidite ve mortalite ile ilişkilidir (4,5). RA tedavisinde, eklem ağrısı ve şişliğini azaltmak ve eklem fonksiyonlarını düzeltmek için NSAİİ'lar veya selektif COX-2 inhibitörleri (101), daha ağır tablolarda metotreksat, leflunomide, klorokin ve anti-TNF gibi ajanlar kullanılmaktadır (7).

RA tedavisinde kullanılan ajanların potansiyel yan etkileri bilinmektedir. Bu konuda daha az yan etkiye sahip ajanlara ihtiyaç olduğu aşikardır. Bu çalışmayı RA tedavisinde kullanılacak alternatif ajanların araştırılması amacıyla planladık.

RA'nın tedavisini araştırmak için birçok deneysel artrit modeli geliştirilmiştir. FCA'nın Kollajen Tip II emülsiyonunun sıçana injeksiyonu ile oluşturulan artritde bunlardan biridir. İnsanlardaki RA ve Reiter Sendromu'na histopatolojik ve immün komponentlerinin benzemesinden dolayı sıkça kullanılan bir model durumuna gelmiştir (103,104).

CRP bir akut faz reaktanıdır. Klinikte CRP yaygın olarak RA'lı hastaların aktif inflamasyon belirteci olarak kullanılır. Kontrol grubuna göre kollajeni cilt altına uygulayarak oluşturduğumuz kollajen ile oluşturulan Artrit grubunda ($p<0,0001$) hsCRP seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı yükseldiğini gözlemledik. Amerika'da yapılan bir çalışmada maymunlarda kollajen ile oluşturulan artritte artrit şiddeti ile CRP yükseliğinin ilişkili olduğu gösterilmiş (105). Bizim çalışmamızda da artrit oluşan grupta hsCRP istatistiksel olarak anlamlı yükseldiğini gözlemledik. Artrit grubu ile Artrit + Bitkisel krem grubu karşılaştırılığında ($p>0,05$) hsCRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Ancak, hsCRP düzeylerinin Artrit Grubuna göre Artrit + Bitkisel krem grubunda minimal olarak daha düşük olduğunu gözlemledik. *Laurus nobilis*in içerdiği kamferol ve quercetin ekstraktlarının CRP'yi inhibe ettiği gösterilmiştir (106). İran'da yapılan bir başka çalışmada *Hypericum perforatum* ekstraktının Hiperkolesterolemik tavşanlarda CRP'yi düşürdüğü gösterilmiştir (107). Literatürde uyguladığımız Bitkisel kremin içinde bulunan ekstraktların lokal uygulandığı bir çalışmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızda hsCRP

düzeylerinin düşmemesinin nedeni lokal uygulanmasından dolayı emilim yetersizliği olabilir. Bir başka nedenide kollajen ile oluşturduğumuz artritte biz Bitkisel kremi sadece pençelere uyguladık artrit oluşabilecek diğer eklemlere uygulamadığımız için istatistiksel olarak anlamlı bulamamış olabiliriz.

IL-6, RA'li eklemlerden alınan inflamatuvar sıvılarda, serumdaki seviyelerinin 1000 katına ulaşan değerlere kadar saptanabilmektedir. Sinovial sıvıdaki sitokinlere bakarak TNF'ün, IL-1 düzeylerini arttırdığı, bunu takiben de IL-6 seviyelerinde yükselme meydana geldiği ve böylece eklemdaki akut inflamasyonun aracısı olduğu öne sürülmüştür (108). Kollajen ile oluşturduğumuz artrit modelinde Kontrol grubuna göre Artrit grubunda ($p<0,0001$) ve Freund adjuvant grubunda ($p<0,0001$) IL-6 düzeyi belirgin artış göstermiştir. İtalya'da yapılan bir çalışmada kollajen ile immünize edilerek makroskopik artrit oluşturulmuş farelerde Kontrol grubundaki farelere göre IL-6 seviyeleri belirgin yüksek saptanmıştır ($p<0,001$) (109). Bu çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda da IL-6 seviyeleri Artrit grubunda yüksek bulundu. Yine bizim çalışmamızda Artrit grubuna göre Artrit + Diklofenak grubunda ($p<0,0001$) IL-6 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı oranda belirgin düşüş gösterdi. Literatürde Diklofenak jel'in topikal uygulanıp IL-6 ile olan ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık fakat major cerrahi yapılan hastaların plasebo grubuna göre Diklofenak verilen grupta IL-6 düzeyleri önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,0001$) (110). Bizim çalışmamızda da Diklofenak verilen Artrit + Diklofenak jel grubunda IL-6 düzeyini bu çalışmaya benzer şekilde düşük bulundu. Artrit grubu ile Artrit + Bitkisel krem grubu karşılaştırıldığında bitkisel krem grubunda da ($p<0,0001$) IL-6 düzeyleri oldukça düşük idi, literatürde benzer bir çalışmaya rastlamadık.

IL-1 ve TNF- α birçok ortak biyolojik özellikleri paylaşır. Her ikisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırlar. Aktive makrofajlardan salınan IL-1 ve TNF- α akut faz proteinlerinin artışı ateş oluşumu ve iştah kaybından sorumludurlar (1). Çalışmamızda kollajen ile oluşturulan Artrit grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında ($p>0,05$) TNF- α ve IL-1 β düzeyleri arasında anlamlı bir farka rastlamadık. Ancak RA'da IL-1 β ve TNF- α 'nın serum seviyelerinin yükseldiği (28,31) bilinmektedir. Kollajen ile oluşturulan artritte soya proteininin etkisinin

araştırıldığı çalışmada TNF- α düzeyi Kontrol grubuna göre Artrit grubunda ($p<0.001$) anlamlı oranda yüksek bulunmuş. Çin’de yapılan bir başka çalışmada Osbeck ekstraktının kollajen ile oluşturulan artrit üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (111); serumda TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak kollajenle artrit yapılan grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da Artrit grubunda 10 sıçanın 6’sında kollajen ile artrit oluşturuldu fakat istatistiksel olarak TNF- α ve IL-1 β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlamadık. Bunun nedeni kitlerin taşınması sırasında soğuk zincire uyulmamış olması veya serumların şartlara uygun olarak dilüe edilmemiş olması olabilir.

Kontrol grubuna göre Artrit grubunda ($p<0,0001$) daha fazla olmak üzere, Freund adjuvan grubunda ($p<0,019$) ve Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p<0,008$) COX-1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Artrit grubuna göre Freund adjuvant grubunda ($p<0.029$) ve Artrit + Diklofenak jel grubunda ($p<0,004$) COX-1 seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Artrit + Diklofenak jel grubuna göre Artrit + Bitkisel krem grubunda ($p<0,036$) COX-1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu sonuca göre Bitkisel krem grubu COX-1 seviyesini düşürme konusunda diklofenak ile kıyaslandığında etkisiz kalmıştır.

Bilindiği gibi RA’da COX-2’nin serum seviyelerinin yükseldiği (28,31) bilinmektedir. Çin’de yapılan Osbeck ekstraktının kollajen ile oluşturulan artrit üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (111); sinovyal dokuda COX-2 düzeyinin kontrol grubuna göre kollajenle artrit yapılan grupta anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da COX-2’nin serum seviyesinin anlamlı olarak bitkisel krem grubunda düşük olduğunu tespit ettik.

Kontrol grubuna göre COX-2 düzeyinde en fazla artış Artrit grubu ($p<0,001$) ve Freund adjuvant grubunda ($p<0,019$) görülmüştür. Kontrol grubu ile Artrit + Diklofenak jel grubu ($p>0.05$) ve Artrit + Bitkisel krem grubu ($p>0,05$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Artrit grubu ile Artrit + Bitkisel krem grubu ($p<0,001$), Artrit + Diklofenak jel grubu ($p<0,009$) karşılaştırıldığında COX-2 düzeyi tedavi uygulanan her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Bu sonuca göre Bitkisel krem grubu COX-2 seviyesini düşürme konusunda diklofenak grubundan daha etkin bulunmuştur.

Literatürde diklofenak'ın topikal etkisinin serolojik markerler ile değerlendirildiği başka bir çalışmaya rastlamadık. Ayrıca diklofenak'ı sadece pençelere uyguladık, kollagenin etkisi ile pençe dışında artrit oluşan/oluşabilen eklem bölgelerine tatbik etmedik. Buna rağmen hem COX-1 hem de COX-2 seviyesini artrit oluşturulan ratlarda anlamlı olarak düşürdüğünü saptadık. Diklofenak'ın birçok çalışmada ispatlanmış olan antiinflamatuvar etkisi bilinmektedir (oral uygulamalarda) (112-114). Uzun yarılanma ömrü olan diklofenak hem analjezik hem de antiinflamatuvar etkisinden dolayı belki de RA'da en etkili olan yardımcı tedavi şekillerindedir (63). NSAİİ ilaçlar, genellikle oral, rektal, intramuskuler uygulanır; Siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimlerini inhibe ederek prostaglandin oluşumunu bloke eder ve böylece terapötik etkilerini oluşturur (64). Ancak RA'da hastalığın seyrini değiştirebildikleri ya da eklem hasarını önleyebildikleri gösterilememiştir (65).

Literatürler incelendiğinde; Zencefilin antiinflamatuvar etkinliğini COX-1, COX-2 ve 5-Lipoksijenaz inhibisyonu yaparak gösterdiği tespit edilmiştir (92). Zencefil ekstrektı ve İbuprofen ile yapılan bir başka çalışmada ibuprofenin plasebodan daha etkili olduğu bulunmuş, Zencefil ekstrektı ile plasebo arasında fark bulunmamış. Zencefil ekstrektında ciddi bir yan etkiye rastlanmamış (93). Ratlarda yapılan çalışmalarda defne yaprağı yağı uygulanmış analjezik ve antiinflamatuvar etkinliği olduğu gösterilmiştir (94). Karanfil ekstrektının büyük kısmını oluşturan eugenolün COX antagonistine (indometazin) ve selektif COX-2 antagonistine (celecoxib) benzer etkili olduğu gösterilmiş. Eugenolün COX-2 inhibitör etkisi olduğu Huss ve ark., (2002) tarafından tanımlanmıştır. Lipopolisakkarit ile indüklenen sıçan makrofajlarında prostaglandin E₂'yi de inhibe ettiği gösterilmiştir (100).

Kullandığımız bitkisel krem (BK) içinde Zingiber officinale (zencefil) yağı % 2, Hypericum perforatum (kantaron) yağı % 44, Eugenia caryophyllata (karanfil) yağı % 11, Laurus nobilis (defne) yağı % 23 ve kıvam sağlayıcı madde olarak balmumu % 20 bulunmaktadır. Kullandığımız bitkisel karışımın bileşenlerinin çeşitli çalışmalarda antiinflamatuvar ve analjezik özelliklerinin saptandığını bilmekteyiz. Literatürde zencefil, karanfil, defne ve kantaron otu ile yapılan çalışmalarda bitkiler yalnız başlarına ve ekstrektları çıkartılarak kullanılmıştır.

6. SONUÇ

Bu çalışmamızda, CIA modelini uyguladığımız ratlarda IL-1 β ve TNF- α seviyelerinin beklendiği kadar yükselmediğini ancak hsCRP, IL-6, COX-1 ve COX-2 düzeylerinin literatürle uyumlu şekilde yükseldiğini tespit ettik. IL-1 β ve TNF- α 'nın artmamasını, kitlerde bir sorun olabileceği ya da test sırasında serumların şartlara uygun olarak dilüe edilmemiş olması nedeniyle olabileceği şeklinde açıklayabiliriz.

Bitkisel krem uygulamasının CIA oluşturulan ratlarda selektif COX-2 inhibitörü şeklinde etki ettiğini, IL-6 seviyelerini de anlamlı derecede düşürebildiğini ancak, h sCRP'yi anlamlı oranda düşüremediğini tespit ettik.

Diklofenak jel uygulamasının ise beklendiği gibi hem hsCRP'yi hem IL-6'yı, hem de COX-1 ve COX-2'yi anlamlı oranda düşürdüğünü yeniden göstermiş olduk.

Literatürler incelendiğinde; Zencefil, defne yağı, Karanfil ekstraktının kullanıldığı çalışmalarda da bizim çalışmamıza paralel sonuçlar bulunmuştur.

ÖZET

Sıçanlarda Kollagen ile Oluşturulan Artrit Modelinde Karanfil, Defne, Kantaron ve Zencefil Yağları Karışımı ile Diklofenak Sodyum İçeren Jelin Anti-inflamatuar Etkinliğinin Karşılaştırılması

Kontrol grubuna; 0. günde ve kuyruk etrafındaki 5-6 yere, intradermal tek doz 300 µL salin verildi. Komplet Freund adjuvant grubuna; 0. günde ve kuyruk etrafındaki 5-6 yere, tek doz 300 µL intradermal CFA + Asetik asit verildi. Artrit grubuna; 0. günde ve kuyruk etrafındaki 5-6 yere, tek doz intradermal kollajen Tip II'nin CFA emülsiyonu verildi. Diklofenak jel grubuna; 0. günde ve kuyruk etrafındaki 5-6 yere, tek doz intradermal kollajen tip II'nin CFA emülsiyonu verildi ve 14. günden sonra eklemlere, 5 gün 2x1 Diklofenak jel uygulandı. Bitkisel krem grubuna; 0. Günde ve kuyruk etrafındaki 5-6 yere, tek doz intradermal kollajen Tip II'nin CFA emülsiyonu verildi ve 14. günden sonra eklemlere, 5 gün 2x1 Bitkisel krem uygulandı. Deney sonunda hayvanların kalbinden, ponksiyon ile kan alındı. Bu kandan elde edilen serumda, ELISA yöntemi ile IL-1β, IL-6, TNF-α, COX-1, COX-2, hsCRP düzeyleri ölçülerek istatistiksel olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda Artrit grubunda kontrol grubuna göre hsCRP düzeyleri anlamlı olarak yüksekti. Artrit grubu ile Artrit + Bitkisel krem grubu karşılaştırılığında hsCRP düzeyleri düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Kollajen ile oluşturduğumuz artrit modelinde Kontrol grubuna göre Artrit grubunda ve Freund adjuvant grubunda IL-6 düzeyi belirgin artış gösterdi. Yine çalışmamızda Artrit grubuna göre Artrit + Diklofenak grubunda IL-6 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterdi. Artrit grubu ile Artrit + Bitkisel krem grubu karşılaştırıldığında bitkisel krem grubunda IL-6 düzeyleri oldukça düşük olduğunu bulduk.

Artrit grubunda 10 sıçanın 6'sında kollajen ile artrit oluşturuldu fakat istatistiksel olarak TNF-α ve IL-1β düzeyleri artrit grubunda anlamlı olarak yükselmedi.

Diklofenakın hem COX-1 hem de COX-2'yi artritli sıçanlarda düşürdüğünü gördük. COX-1 ve COX-2 seviyelerine bakıldığında Bitkisel krem karışımının selektif COX-2 inhibitörü özellikte olduğunu, IL-6'yı anlamlı oranda azaltsa da yeterli oranda hsCRP'yi düşüremediği için zayıf antiinflamatuar etkide olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kollajenle oluşturulan artrit, Sıçan, Bitkisel yağ karışımı, Diklofenak jel.

ABSTRACT

The Comparison of The Anti-Inflammatory Effects of the Gel Included Diclofenac Sodium and the Mixture of Zingiber Officinale, Hyperricum Perforatum, Eugenia Caryophyllata and Laurus Nobilis Oil in Collgen-Induced Arthritis Model in Rats

On day 0, the Control group was administered a single dose of saline, 300 μ L intradermally to 5-6 separate sites around the tail. The Complete Freund's Adjuvant (CFA) group received a single dose of CFA + acetic acid, 300 μ L intradermally to 5-6 separate sites around the tail, on day 0. The Arthritis group received a single dose of collagen Type II and CFA emulsion intradermally to 5-6 separate sites around the tail on day 0. The Diclofenac Gel group was given, on day 0, a single dose of collagen Type II and CFA emulsion injected intradermally to 5-6 separate sites around the tail and, starting on day 14, for five consecutive days, local applications of diclofenac gel b.i.d. The Vegetal Cream group was given, on day 0, a single dose of collagen Type II and CFA emulsion injected intradermally to 5-6 separate sites around the tail and, starting on day 14, for five consecutive days, local application of vegetal cream b.i.d. Blood was collected from all animals at the end of the experiment by cardiac puncture. IL-1 β , IL-6, TNF- α , COX-1, COX-2 and hsCRP levels were measured by an ELISA method in the serum obtained from the blood sample and evaluated statistically.

In our study, when comparing the Arthritis group to the Control group hsCRP level was found to be significantly more elevated in the Arthritis group. In comparison between Arthritis group and Arthritis + Vegetal cream groups, there was no significant differences between them according to the levels of hsCRP.

In the model of collagen induced arthritis and CFA group levels of IL-6 was significantly higher than Control group. Even so in our study; when comparing the Arthritis group to the Arthritis + Diclofenac group. IL-6 level was found to be significantly lower in the latter. In comparison between Arthritis group and Arthritis + Vegetal cream group, it showed significantly lower concentration of IL-6 in Arthritis + Vegetal cream groups.

In arthritis group, collagen induced arthritis was developed at six rats of ten rats. However there were statistically no significant differences between the levels of TNF- α and IL-6.

We observed Diclofenac decreased COX-1 and COX-2 levels in rats with arthritis. When we looked at the levels of COX-1 and COX-2, we found that Arthritis + Vegetal cream group was more effective to decrease the levels of COX-2 than Arthritis + Diclofenac group.

Keywords: Collagen-induced arthritis, Rat, Mixture of vegetable oil, Diclofenac gel

KAYNAKLAR

1. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2001;358:903-11.
2. Calder PC. Joint Nutrition Society and Irish Nutrition and Dietetic Institute Symposium on 'Nutrition and autoimmune disease' PUFA, inflammatory processes and rheumatoid arthritis. *Proc Nutr Soc*. 2008; 67(4): 409-18
3. Özoran K, Tülek N, Düzgün N. Romatoid artrit ve sitokinler: İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6), Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve İnterferon- γ (IFN- γ) Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of the Faculty of medicine) Vol. 47: 1994, 495-504.
4. Gabriel SE. Heart disease and rheumatoid arthritis: understanding the risks. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(Suppl 1):61-64.
5. Wong JB, Ramey DR, Singh G. Long-term morbidity, mortality, and economics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2001;44(12):2746-49,.
6. Scott DL, Smith C, Kingsley G. What are the consequences of early rheumatoid arthritis for the individual? *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2005;19:117-36.
7. Josef S Smolen, Robert Landewe, Ferdinand C Breedveld et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis* 2010 69:964-975
8. Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Savan SM, Alnageeb MA, Khan I, Ali M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential antiinflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;67:475-8.
9. Bliddal H, Rosetzsky A, Schlichting P, et al. A randomized, placebo-controlled, cross-over study of ginger extracts and ibuprofen in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000;8(1):9-12.
10. Altman RD, Marcussen KC. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2001;44(11):2531-2538.
11. Konuklugil B, Özçelikay G. Zencefil'in tarih boyunca önemi ve günümüzdeki kullanımı. <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/19/1273/14665.pdf>
12. Sayyah M, Saroukhani G, Peirovi A, Kamalinejad M. Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. 2003 Aug;17(7):733-6.
13. Simic M, Kundakovic T, Kovacevic N. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*. 2003 Sep;74(6):613-6.
14. Yeşilada E, Taninaka H, Takaishi Y, Honda G, Sezik E, Momota H, Ohmoto Y and Taki T. In vitro inhibitory effects of *Daphne oleoides* ssp. *oleoides* on inflammatory cytokines and activity-guided isolation of active constituents. *Cytakine* Volume 13, Issue 6, March 2001, Pages 359-354.
15. Aparecido N. Daniel, Simone M. Sartoretto, Gustavo Schmidt, Silvana M. Caparroz-Assef, Ciomar A. Bersani-Amado, Roberto Kenji N. Cuman. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19(1B): 2009, 212-217
16. Sun Suk Kim, O-Jin Oh, Hye-Young Min, Eun-Jung Park, Youngleem Kim, Hyen Joo Park, Yong Nam Han and Sang Kook Lee Eugenol suppresses cyclooxygenase-2

expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells. *Life Sciences* 73 (2003) 337-348.

17. Zdunic D, Godevac M, Milenkovic D, Vucicevic K, Savikin N, Menkovic S. Evaluation of *Hypericum perforatum* Oil Extracts for an Antiinflammatory and Gastroprotective Activity in Rats. *PHYTOTHERAPY RESEARCH Phytother. Res.* 23: 1559-1564 (2009).
18. Sosa S, Pace R, Bornancin A, Morazzoni P, Riva A, Tubaro A. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Hypericum perforatum* L. *J Pharm Pharmacol.* <javascript:AL_get(this,%20'jour',%20'J%20Pharm%20Pharmacol.');">2007 May;59(5): 703-9.
19. Sayarlıoğlu M. Romatoid artrit. Soy M. Harrison İç Hastalıkları Temelleri. 16. baskı. 2007; 85-104. .
20. Gary S. Firestein. Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. By Gary S. Firestein, MD, Ralph C. Budd, MD, Edward D. Harris, Jr., MD, Iain B. McInnes, Shaun Ruddy, MD and John S. Sergent, MD. Kelley's textbook of rheumatology. 2009 Volume-II, Part 9, Chapter 65
21. Rula A. Hajj-ali, MD. Musculoskeletal and Connective Tissue Disorders. Robert S. Porter, MD, Justin L. Kaplan, MD. The Merck Manual Online. 19. baskı. 2008
22. Stanstny P. Association of the B-cell alloantigen DRW4 with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1978, 298(16):869-71.
23. Siman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2002, 4(suppl):265-72.
24. Bresnihan B. Preventing joint damage as the best measure of biologic drug therapy. *J Rheumatol* 2002, 29 Suppl 65:39-43.
25. Hale LP, Haynes BF. Pathology of rheumatoid arthritis and associated disorders. In Koopman WJ (ed). *Arthritis and allied conditions*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001, p1103-27.
26. Strand V, Kavanaugh AF. The role of interleukin-1 in bone resorption in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2004, 43(Suppl-3):III10-III16.
27. Dayer JM. The process of identifying and understanding cytokines: from basic studies to treating rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheum* 2004, 18(1):31-45.
28. Goldring SR. Bone and joint destruction in rheumatoid arthritis: what is really happening? *J Rheumatol* 2002, 29 Suppl 65:44-8.
29. Oelzner P, Franke S, Muller A, Hein G, Stein G. Relationship between soluble markers of immune activation and bone turnover in post-menopausal women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 1999, 38(9):841-7.
30. Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark MW. Metalloproteinases, tissue inhibitors and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human steoarthritis. *Arthritis Rheum* 1993, 36:181-89.
31. Jofe I, Epstein S. Osteoporosis associated with rheumatoid arthritis: pathogenesis and management. *Semin Arthritis Rheum* 1991, 20:256-72.
32. Deodhar AA, Woolf AD. Bone mass measurement and bone metabolism in rheumatoid arthritis: A review. *Br JRheumatol* 1996, 35:309-22.

33. Woolf AD. Osteoporosis in rheumatoid arthritis-the critical view point. *Br J Rheumatol* 1991, 30:82-4.
34. Brown FE, Brown ML. Long-term results after tenosynovectomy to treat the rheumatoid hand. *J Hand Surg* 1988, 13-A(5):704-8.
35. Wada M, Imura S, Baba H, Shimada S. Knee laxity in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1996, 35:560-63.
36. Recklies AD, Poole AR, Banerjee S, et al. Pathophysiologic aspects of inflammation in diarthrodial joints. In Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR (eds). *Orthopaedic Basic Science*, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Park Ridge, IL, 2000, p489-530.
37. De Keyser V. Rheumatoid nodules: differential diagnosis and immunohistological findings. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1993; 52: 625-626.
38. Grassi W, De Angelis R, Lamana G and Cevrini C. The clinical features of rheumatoid arthritis, *European Journal of Radiology* 27 (1998) S18-S24
39. Hamuryudan V. Romatoid artrit. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, romatizmal hastalıklar sempozyumu: 25 Mayıs 1999, İstanbul, s. 9-17.
40. Clive A Kelly, Extra-articular Features of Rheumatoid Arthritis. *Medicine*. 2002; 48-49.
41. Dieppe P A. Extra-articular Features of rheumatoid Arthritis. In: Dieppe P A, Bamji A N, Watt I, eds. *Atlas of Clinical Rheumatology*. New York: Gover. 1986:7.1-7.11.
42. Kelly C A. Lung Disease in Rheumatic Disorders. In: Kelly CA, ed. *Clinical Rheumatology*. London: Bailliere-Tindall, 1993: 1-30.
43. Aydın-Tufan M, Kart-Köseoğlu H. M.Romatoid artrit tanı ve prognozunda kullanılan laboratuvar testleri, *Türkiye Klinikleri J İmmunol Rheumatol-special Topics* 2009;2(1).
44. Counts J. Advantages and Limitations of Quantitative Measures to Assess Rheumatoid Arthritis, *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* • Volume 64, Numbers 1 & 2, 2006.
45. Vencovsky J, Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:427-30.
46. van Boekel MA, Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002;4:87-93.
47. Nishimura K, Meta-analysis:diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann intern Med* 2007;146:297-808.
48. Liao KP, Anti-cyclic citrullinated peptide revised criteria fort he classification of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1557-61.
49. Klarlund M, Ostergaard M, Jensen KE, et al. Magnetic resonance imaging, radiography, and scintigraphy, of finger joints: one year follow up of patients with early arthritis. The TIRA Group. *Ann Rheum Dis* 2000; 59:521.
50. McQueen FM, Benton N, Perry D et al. Bone edema scored on magnetic resonance imaging scans of dominant carpus at presentation predicts radiographic joint damage of the hands and feet six years later in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:1814.
51. Szkudlarek M, Narvestad E, Klarlund M et al. Ultrasonography of the metatarsophalangeal joints in rheumatoid arthritis: comparison with magnetic

- resonance imaging, conventional radiography, and clinical examination. *Arthritis rheum* 2004; 50:2103.
52. Smith CA, Woolf AD, Lenci M. Parvoviruses: infections and arthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1987; 13:249.
 53. Sato K, Maruyama I, Maruyama Y et al. Arthritis in patients infected with human T lymphotropic virus type I. Clinical and immunopathologic features. *Arthritis Rheum* 1991; 34:714.
 54. PJW Venables MA, Diagnosis and differential diagnosis of rheumatoid arthritis, updated: <http://www.uptodate.com/contents/diagnosis-and-differential-diagnosis-of-rheumatoid-arthritis> 23.10.2010.
 55. Toivanen A. Reactive arthritis. In: *Rheumatology*, Klippel, Dieppe (Eds), Mosby, London, 1994. p. 4.9.1.
 56. Venables PJ. Polymyositis-associated overlap syndromes. *Br J Rheumatol* 1996; 35:305.
 57. Cronin ME. Musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 1988; 14:99.
 58. Kirk JA, Ansell BM, Bywaters EG. The hypermobility syndrome. Musculoskeletal complaints associated with generalized joint hypermobility. *Ann Rheum Dis* 1967; 26:419.
 59. Yunus M, Masi AT, Calabro JJ et al. Primary fibromyalgia (fibrositis): clinical study of 50 patients with matched normal controls. *Semin Arthritis Rheum* 1981; 11:151.
 60. Moll JM, Wright V. Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1973; 3:55.
 61. Aletaha D, Neogi T. Rheumatoid Arthritis Classification Criteria An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative 2010.
 62. Karadağ O, Kiraz S. Romatoid artrit tedavisi:kısa etkili ilaçlar (nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ve steroidler). *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2(25):46-51.
 63. Haris ED JR, Budd RC, Firestein GS, et al. Kelley's Textbook of Rheumatology. Çeviri ed:Arasıl T. Bölüm Çeviri: Sivrioğlu K. Bölüm:Romatoid Artritin Tedavisi. Kitap: Kelley Romatoloji. Güneş Kitabevi, Ankara 2006; ss 1079-1100.
 64. Katz WA, Rothenberg R. Section 4: Treating the patient in pain. *J Clin Rheumatol* 2005;11 (2 Suppl):S16-27, discussion S27-28.
 65. 2002 Update American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of eumatoid arthritis: *Arthritis Rheum* 2002;46:328-346.
 66. Malysheva OA, Wahle M, Wagner U, et al. Low-dose prednisolone in rheumatoid arthritis: adverse effects of various disease modifying antirheumatic drugs. *J Rheumatol* 2008; 35(6):979-985.
 67. Giles JT, Bathon JM. Management of rheumatoid arthritis: synovitis. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt M, Weisman MH (eds.) *Rheumatology* 4th ed. Mosby Elsevier Philadelphia; 2008; pp 887-896.
 68. Yurdakul S. Uzun etkili ilaçlar. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2(25):52-59.
 69. Turkiewicz AM, Moreland LW. Romatoid artrit. In: Barlett SJ (ed.) Çev. ed: Dinç A. Romatizmal Hastalıklarda Klinik Tedavi 2007; pp 157-166.

70. Chatnam WW. Traditional disease modifying antirheumatic drugs: gold compounds, Dpenicillamin, sulfasalazine and antimallarials.In: Kopman WJ, Moreland LW (eds.) Arthritis and Allied conditions 15th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005; pp 915-944.
71. Zvaifler NJ, Corr M. Evaluation and Treatment of Rheumatoid Arthritis. In. Koopman WJ, Moreland LW (eds.) Arthritis and Allied Conditions 15th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005; pp1249-1262.
72. Jones G, Brooks PM. Injectable gold compounds: an overview. Br J Rheumatol 1996; 35(11):1154-1158. .
73. Top C, Terekeci H. Romatoid Artrit Tedavisinde Hastalığı Modifiye Eden Anti-Romatizmal İlaçlar. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28:387-398.
74. Munro R, Capell HA. Penicillamine. Br J Rheumatol 1997; 36(1):104-109.
75. Swierkot J, Szechiński J. Methotrexate in rheumatoid arthritis. Pharmacol Rep 2006; 58(4):473-492.
76. Borchers AT, Keen CL, Cheema GS, Gershwin ME. The use of methotrexate in rheumatoid arthritis. Semin Arthritis Rheum 2004; 34(1):465-83.
77. Güzel R. Romatoid artrit ve DMARD'lar. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi 2008; 54 Özel sayı 1;25-30.
78. Grennan DM, Gray J, Loudon J, Fear S. Methotrexate and early postoperative complications in patients with rheumatoid arthritis ndergoing elective orthopaedic surgery. Ann Rheum Dis 2001; 60(3):214-217.
79. Ertenli İ. Romatoid artritte yeni tedaviler. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2006; 2(25):60-64.
80. Cush JJ, Kavanaugh A. TNF- α blocking therapies. In: Hochberg MC Silman AJ Smolen JS (eds.) Rheumatology Mosby Elsevier, Pilladelphia 2008; pp 501-518.
81. Kıralp MZ. Romatoid artritinin yeni zemin tedavileri-derleme. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi 2003; 49(2).
82. Van der Heijde D, Burmester G, Melo-Gomes J, et al. Inhibition of radiographic progression with combination etanercept and ethotrexate in patients with moderately active rheumatoid arthritis previously treated with monotherapy. Ann Rheum Dis 2009; 68(7):1113-1118.
83. Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, et al. The PREMIER study: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial ofcombination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early,
84. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 19(1) 74-84, 2010 Romatoid artrit tedavisinde geleneksel ve güncel yaklaşımlar aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. Arthritis Rheum 2006; 54(1):26-37.
85. Strangfeld A, Hierse F, Kekow J, et al. Comparative effectiveness of TNFalpha inhibitors in combination with either methotrexate or leflunomide. Ann Rheum Dis 2009; 68(12):1856-1862.
86. Ardişen E, Gürer MA. Biyolojik ajanların yan etkileri. Dermatose 2006; 5(3):174-180.
87. Mertens M, Singh JA. Anakinra for rheumatoid arthritis: a systematic review. J Rheumatol 2009; 36(6):1118-1125.

88. Choy EHS, Kingsley GH, Panayi GS. Immunotherapies: T and B cell. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt M, Weisman MH (eds.) *Rheumatology* 4th ed. Mosby Elsevier, Philadelphia 2008; pp 481-486.
89. Emery P, Fleischmann R, Filipowicz-Sosnowska A, et al; DANCER Study Group. The efficacy and safety of rituximab in patients with active RA despite methotrexate treatment: results of a phase IIB randomized, doubleblind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *Arthritis Rheum* 2006; 54 (5):1390-1400.
90. Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, et al; REFLEX Trial Group. Rituximab for RA refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(9):2793-2806.
91. Keystone E, Fleischmann R, Emery P, et al. Safety and efficacy of additional courses of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis: an open-label extension analysis. *Arthritis Rheum* 2007; 56(12):3896-3908.
92. Baytop T. *Bitkiler ile Tedavi* (1984). s 271.
93. Grzanna R, Lindmark L and Carmelita G. Frondoza. *Journal of Medicinal Food*. Summer 2005, 8(2): 125-132. doi:10.1089/jmf.2005.8.125.
94. Bliddal H, Rosetzky A, Schlichting P, et al. A randomized, placebo-controlled, cross-over study of ginger extracts and ibuprofen in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000;8(1):9-12
95. M. sayyah, analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *laurus nobilis* linn. *Phytotherapy Research*. 2003, Volume 17, Issue 7, pages 733-736.
96. Yeşilada E. In vitro inhibitory effects of *daphne oleoides* ssp. *Oleoides* on inflammatory cytokines and activity-guided isolation of active constituents. *Cytokine* Volume 13, Issue 6, March 2001, Pages 359-364
97. Hışıl Y, Şahin F, Bedii Omay S. Kantaronun (*Hypericum perforatum* L.) Bileşimi ve Tıbbi Önemi. *Uluslar arası hematoloji-onkoloji dergisi*. 2005, 4 Cilt.
98. G. Zdunic, evaluation of *Hypericum perforatum* oil extracts for an antiinflammatory and gastroprotective activity in rats. *Phytotherapy Research*. 2009, Volume 23, Issue 11, pages 1559-1564
99. Lean, L.P., Suhaila, M., 1999, Antioxidative and Antimycotic effect of turmeric, lemon grass, Betel leaves, Clove, Black Papper Leaves and *Garcinia Atriviridis* on butter cakes.
100. Lee, K.G. and Shibamoto, T., 2001, Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry *Food Chemistry*, 74, 443-448
101. Sun Suk Kim, O-Jin Oh, Hye-Young Min, Eun-Jung Park, Youngleem Kim, Hyen Joo Park, Yong Nam Han and Sang Kook Lee. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells. *Life Sciences* 73 (2003) 337-348
102. Rindfleisch JA, Müller D. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *AFM*, 2005; 72(6):1037-1047.
103. Bakharevski O. Ryan PF. Collagen induced arthritis in rats. Contrasting effect of subcutaneous versus intradermal inoculation of type II collagen. *The Journal of Rheumatology*. 1998, 25(10):1945-52.

104. Weichman BM: Rat adjuvant arthritis: A model of chronic inflammation. In: Weichman BM (Ed.): *Pharmacological Methods in the Control of Inflammation*. New York, Alan R. Liss Inc. 1989, 363-80.
105. Rainsford K.D: Adjuvant polyarthritis in rats: Is this a satisfactory model for screening arthritic drugs? *Agents and Actions*. 1982; 12: 452-58.
106. B. A. 'T Hart, R. A. Bank, J. A. D. M. De Roos, H. Brok, M. Jonker, H. M. Theuns, J. Hakimi and J. M. Te Koppele. Collagen-Induced Arthritis in rhesus monkeys: Evaluation of markers for inflammation and joint degradation. *British Journal of Rheumatology* 1998;37:314-323.
107. Mueller M., Hobiger S., Jungbauer A. Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chemistry* 122 (2010) 987–996.
108. Kabiri N.,Asgary S.,Madani H.,Mahzoni P.,Rahimi P. Anti-inlammation and coagulation hydro alcoholic extract of hypericum perforatum on hypercholesterolemic rabbits and comparision with lovastatin. *Iran Journal of Biology* 2010; 23(3):430-435.
109. Özorán K., Tülek N., Düzgün N. Romatoid artrit ve sitokinler: İnterlökin-1, İnterlökin-6, Tümör nekrozis Faktör Alfa ve İnterferon gama. *Ankara Tıp Mecmuası (THE JOURNAL OF THE FACULTY OF MEDICINE)* Vol. 47: 495-504, 1994.
110. Alonzi T., Fattori E., Lazzaro D., Costa P., Probert L., Kollias G., De Benedetti F., Poli V. and Ciliberto G. Interleukin 6 Is Required for the Development of Collagen-induced Arthritis. *J. Exp. Med.* Ó The Rockefeller University Press • 0022-1007/98/02/461/08 \$2.00 Volume 187, Number 4, February 16, 1998 461–468
111. Mahndy A.M., Galley H.F., Abdel-Wahed M.A., El-Korny K.F., Sheta S.A. and Webster N.R. Differential modulation of interleukin-6 interleukin-10 by diclofenak in patients undergoing major surgery. *British Journal of Aneaesthesia* 88 (6): 797-802 (2002)
112. Cheng Peng, Pathirage Kamal Perera, Yun-man Li, Wei-rong Fang, Li-fang Liu, Feng-wen Li. Anti-inflammatory effects of Clematis chinensis Osbeck extract(AR-6) may be associated with NF-jB, TNF-a, and COX-2 in collagen induced arthritis in rat *Rheumatol Int.* DOI 10.1007/s00296-011-2083-8
113. Wylie G, Appelboom T, BoltenW, Breedveld FC, Feely J, Leeming MR, et al: A comparative study of tenidap, a cytokine-modulating anti-rheumatic drug, and diclofenac in rheumatoid arthritis: a 24-week analysis of a 1-year clinical trial. *Br. J. Rheumatol.* 1995; 34(6): 554-63.
114. Pasero G, Markologno R, Serni U, Parnham MJ: A multi-centre, double blind comperative study of the efficacy and safety of aceclofenac and diclofenac in the treatment of rheumatoid arthritis. *Curr. Med. Res. Opin.* 1995; 13(6): 305.
115. Hiramatsu Y, Akita S, Salamin PA, Maier R: Assesment of topical non-steroidal antiinflammatory drugs in animal models. *Arzneimittelforschung.* 1990; 40(10): 11724.