

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ

**DENEYSEL ARTRİT MODELİNDE İRBESARTAN,
KARVEDİLOL VE KOMBİNE TEDAVİNİN ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Semra ÇALIŞKAN SÜRER

Referans no: 10020409

EDİRNE-2014

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ

**DENEYSEL ARTRİT MODELİNDE İRBESARTAN,
KARVEDİLOL VE KOMBİNE TEDAVİNİN ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Semra ÇALIŞKAN SÜRER

Destekleyen Kurum: TÜBAP

Proje No: 2012/21

EDİRNE-2014

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'nin danışmanlığında Yüksek Lisans öğrencisi Semra ÇALIŞKAN SÜRER'e ait tarafından tez başlığı "Deneysel Artrit Modelinde İrbesartan, Karvedilol ve Kombine Tedavinin Etkisi" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 21.02.2014 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "**Yüksek Lisans Tezi**" olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ
JÜRİ BAŞKANI



Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
ÜYE



Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tez çalışmamda değerli katkıları olan danışman hocam Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye; ayrıca Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ, Doç. Dr. Ufuk USTA, Doç. Dr. Hakan ERBAŐ, Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL, Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ, Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU, Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN, bölüm sekreteri Gülçin AKIN ve desteklerinden dolayı TUBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
ROMATOİD ARTRİT	3
SİTOKİNLER	11
SERBEST RADİKALLER	15
ANTIÖKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ	18
İRBESARTAN	20
KARVEDİLOL	23
BASINÇ UYGULAMA ÖLÇÜMÜ	26
PLETİSMOMETRE	27
GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
BULGULAR	39
TARTIŞMA	60
SONUÇLAR	68
ÖZET	70
SUMMARY	72
KAYNAKLAR	74
ŞEKİLLER LİSTESİ	80
ÖZGEÇMİŞ	82
EK	

SİMGE VE KISALTMALAR

α	:	Alfa
A	:	Anjiyotensin
ACE	:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ARB	:	Anjiyotensin reseptör blokörleri
AT₁	:	Anjiyotensin tip 1 reseptörü
AT₂	:	Anjiyotensin tip 2 reseptörü
β	:	Beta
CRP	:	C reaktif protein
ELISA	:	Enzyme-linked immunosorbent assay
GPx	:	Glutasyon peroksidaz
GSH	:	Glutasyon
HE	:	Hematoksilen eozin
HLA	:	Human lökosit antijeni
H₂O₂	:	Hidrojen peroksit
IF	:	İnterferon gama
IL	:	İnterlökin
CAT	:	Katalaz
LPS	:	Lipopolisakkarid
MDA	:	Malondialdehit
MKF	:	Metakarpofalangeal
MTF	:	Metatarsofalangeal

NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	:	Nitrik oksit
PAM	:	Pressure application measurement
PİF	:	Proksimal interfalangeal
RA	:	Romatoid artrit
RAS	:	Renin anjiotensin sistemi
RF	:	Romatoid faktör
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
SOD	:	Süperoksid dismutaz
TBA	:	Tiyobarbitürik asit
TMB	:	Tetrametil-benzidin
TNF	:	Tümör nekrozis faktör

GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid artrit (RA), eklem ve ekstraartiküler tutulum gösteren kronik ve sistemik inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. Dünya çapında yetişkin nüfusun yaklaşık %1'ini etkiler. Kadın/erkek oranı 3/1'dir (1). Etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Büyük ve küçük eklemleri etkilemekle birlikte sistemik etkilere de yol açar. Bu nedenle kalp, akciğer ve gözler dahil olmak üzere tüm vücudu etkileyebilir (2,3).

Hastalığın kronik süreci ve oluşturduğu yetersizlikten dolayı hastalığın erken dönemlerinden itibaren hastaların fiziksel, emosyonel ve sosyal fonksiyonları etkilenir, fonksiyonel yetersizlik ve yaşam kalitesinde azalma meydana gelir (4).

Hastalığın ilk belirtisi, genellikle parmak eklemlerinde meydana gelen ağrı ve şişliktir. Daha sonra büyük eklemler, özellikle diz, dirsek ve omuz etkilenir. Aktive olmuş inflamatuvar mediyatörler, sinovyal membranları infiltre ederek kemik ve kıkırdakta hasara yol açarlar. Deri altında romatoid nodüller oluşur (5). Hastalık sadece morbiditeyi değil mortaliteyi de artırmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar; hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve tedavide radikal değişikliklere neden olmuştur (6).

Serbest radikaller eşleşmemiş elektronu olan atom, molekül veya iyonlardır. Bu eşleşmemiş elektronlar genelde son derece reaktiftir. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Örneğin; RA'da, serbest radikaller eklem hasarını hızlandırır (6,7).

İrbesartan; anjiyotensin (A) II'nin tip 1 reseptörünün antagonistidir. Hipertansif hastaların tedavisinde 10 yılı aşkın süredir başarılı bir şekilde kullanılan bir ajandır. Günlük 150-300 mg dozunda kullanılır ve 24 saat boyunca etkisi devam eder (8). AII'nin, A-tipi reseptörü (AT₁)'ne bağlanarak çeşitli mekanizmalar aracılığıyla inflamatuvar mediyatör

olarak etkinlik kazanması olasıdır. Yapılan çalışmalarda endotel ve düz kas hücrelerinde AII zarar vererek nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı uyarır. Buna karşılık, NADPH oksidaz reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminde anahtar bir enzimdir (9).

İrbesartan, AII'nin AT₁ reseptörüne bağlanmasını engeller. Böylece AT₁ reseptörü sonucu oluşan etkiler azalırken AII'nin tip 2 reseptörü (AT₂)'nün etkinliği artar. İrbesartan AT₁ reseptör blokajı sonucunda; antiinflamatuvar ve antioksidan özellik gösterir. Ayrıca AT₁ blokajıyla irbesartanın analjezik etkinlik gösterdiği çalışmalar da mevcuttur (9).

Karvedilol, nonselektif beta (β)-adrenerjik bloke edici aktiviteye sahip bir antihipertansif ilaçtır. Alfa (α)-1 adrenerjik reseptör blokajı ve β -2 adrenerjik reseptör stimülasyonu sonucunda vasküler rezistansı azaltarak arteriyel basıncı düşürür. Akut ya da kronik oral uygulamada baskın bir selektif postsinaptik α_1 -adrenoseptör antagonistidir. Aynı zamanda α_1 -reseptör blokajı ile vazodilatör etkinliğe sahiptir. Karvedilol lipofiliktir ve üçüncü nesil bir β -blokördür. Semptomatik kalp yetmezliği, esansiyel hipertansiyon tedavisinde endikedir ve belirgin bir β -blokör etki gösterir (10).

Karvedilol; inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltarak antiinflamatuvar etki gösterir. Ayrıca; adrenerjik uyarımı bloke eder ve serbest oksijen radikallerini inhibe ederek antioksidan etkinlik gösterir (10). Yapılan çalışmalarda karvedilolün analjezik etkinliğine rastlanılmamıştır.

İrbesartan ve karvedilolün antiinflamatuvar ve oksidatif stres üzerinde serbest radikal süpürücü ve antioksidan etkinlerinin olması, bizi bu iki ajan türü üzerinde araştırmaya yöneltti. Çalışmamızın amacı; irbesartan ve karvedilolün sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan artrit modelinde etkilerinin incelenmesi, etkileri var ise kısa vadede bu etkinin mekanizmasını açıklamaya yönelik, uzun vadede ise artrit hastalarında tedavi amaçlı kullanılabilme yönünde veriler elde etmektir.

GENEL BİLGİLER

ROMATOİD ARTRİT

Romatoid artrit; etyolojisi belli olmayan, eklemleri tutan ve şekil bozuklukları ile seyreden, kronik, inflamatuvar ve multisistemik bir hastalıktır (11). İnflamatuvar artritler arasında en sık görülenidir. Eklem tutulumu, şekil bozukluğu yaparak zaman içinde önemli sakatlıklara yol açabilmektedir (12).

Romatoid artrit, dünyada tüm ırklarda görülebilen bir hastalık olup daha çok kadınları etkiler. Kadın/erkek oranı 3/1'dir. En sık 30-50 yaşları arasında görülür. Değişik popülasyonlarda prevalansı %0,5 ile %1 arasında değişmektedir (11).

Hastalık eklem sinovyasında yangıyla başlar. Zamanla sinovya da pannüs formasyonu oluşturup kırkırdak, kemik ve diğer komşu dokularda yıkıma neden olarak eklem deformasyonlarına yol açar. Klinik seyri, hastadan hastaya büyük değişiklikler gösterir. Bazı hastalarda az sayıda, hafif seyirli ve kısa süreli eklem tutulmaları görülürken, bir grup hastada ise, tedavi ne kadar yoğun olursa olsun, kısa sürede sakatlıklar ve önemli organ hasarları gelişebilmektedir (12,13).

Romatoid Artrit Etyopatogenezi

Romatoid Artrit, etyolojisi kesin olarak bilinmemekle beraber, otoimmün hastalıklar grubunda ele alınan ve çevresel, kalıtsal, hormonal faktörlerin etkileşimi ile geliştiği düşünülen bir hastalıktır.

Genetik Yatkınlık

Hastalık aynı aile içinde birden çok kişide görülebilmektedir. Örneğin, birinci derece akrabaları arasında bir RA'yi bulunan kişide RA gelişme riski, genel topluma göre 16 kez artmış bulunmaktadır. RA'li bir kişinin birinci derece akrabaları arasında hastalık bulunma sıklığı ise %10 kadardır. Tek yumurta ikizleri arasında hastalığın birlikte görülme sıklığı %15-20 kadardır. Bu oran çift yumurta ikizlerine göre 4 misli bir artış ifade eder. HLA DR4 ve HLA DR1, RA'da yatkınlık yaratan genlerin başında gelmektedirler. HLA DR4 geni en az 22 allelden oluşmaktadır. Bu allellerden RA ile ilişkili bulunanların hepsinde benzer amino asit dizilimi gösteren bir bölge olduğu görülmüştür. Bu bölge DRB molekülünün 67-74. amino asitleri arasında bulunur ve ortak epitop olarak adlandırılır. Bugün için ortak epitop bölgesinin RA'da genetik yatkınlığı yarattığı düşünülmektedir. Ayrıca, RA ile ilişkili allelleri taşıyan kişilerde hastalığın daha ağır seyrettiğini bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur (14,15).

Çevresel Faktörler

Sigara içmek bugün için seropozitif RA gelişimi için suçlanan en önemli risk faktörüdür. Rubella, parvovirüs b19 gibi çeşitli infeksiyon ajanları da suçlanmış ancak kesin bir ilişki gösterilememiştir. Hastalığın kadınlarda daha fazla olması patogenezde hormonların da yer aldığına işaret etmektedir. Ancak bilinen tek şey kontraseptif kullanımının ağır hastalıktan koruyucu olduğudur (14).

Romatoid artritte primer inflamasyon eklem içinde sinovyumda olur. Dolayısıyla primer sinovite yol açan bir hastalıktır. Anatomik olarak, normal sinovya iki kısımdan oluşur. Bunlar eklem aralığına bakan 1-2 hücreden oluşan bazal membransız ince intimal tabaka ve az sayıda hücre ve daha çok damarsal yapılar içeren subintimal tabakadır. Subintimal tabakada daha çok kollojen, glikozaminoglikan ve fibronektin bulunur. İntimal tabakadaki sinovyal hücreler, makrofajlara özgü davranışlara sahiptirler ve T hücrelerinin mediatörleri olarak görev yaparlar (16).

Romatoid artritte görülen histolojik değişiklikler hastalığa spesifik değildir ve tutulan organa göre değişen özellikler gösterirler. Değişiklikler sinovyum içeren tüm diartrodial eklemler, tendon kılıfları ve bursalarda görülür. Bu bölgelerde gelişen iki ana değişiklik, sinovyal hücrelerde kronik iltihaba bağlı hipertrofi ve çoğunlukla nötrofillerden oluşan infiltrasyondur. Zamanla hücresel elemanların proliferasyonu sonucu hipertrofiye olan sinovyum villöz bir hal alır ve kıkırdak içine parmak gibi uzanan pannüs olarak adlandırılan oluşum gelişir. Pannüste bulunan makrofajların salgıladıkları proteinaz ve kollajenazların

yıkıcı etkileri sonucu subkondral kemikte erozyonlar oluşmaya başlar. Eklem anatomisinin bozulmasında ve hastalığın yol açtığı deformitelerin oluşmasında pannüsler önemli rol oynarlar (15-17).

Klinik Belirtiler

Romatoid artrit başlama şekli hastadan hastaya farklılıklar gösterir. Hastaların yaklaşık %70'inde bir kaç hafta ve hatta aya yayılmış sinsi bir başlangıç söz konusudur. Bu süre içerisinde hafif bir ateşin de eşlik ettiği halsizlik, yorgunluk, kilo kaybı ve bir veya bir kaç küçük eklemde ağrı vardır. Eklem ağrısı dışında hastaların önemli bir yakınması, uyku veya uzun süren bir istirahat sonrası, eklemler ve eklemlerin çevrelerinde oluşan ve sabah tutukluğu olarak tanımlanan sertlik hissidir. Ağrı, aktif hastalıkta günün geç saatlerine kadar devam edebilir. Klinik, başta el ve ayak eklemleri olmak üzere birçok eklemde simetrik şişliklerinin gelişmesi ile tamamlanır (18).

Eklem Bulguları

Romatoid artrit tuttuğu eklemlerde ağrı ve şişlik dışında bir miktar sıcaklık artışı olabilir. Ancak iltihabın diğer belirtisi olan kızarıklık yoktur. El ve el bilekleri, ayaklar, dirsek ve diz eklemleri en çok tutulan, distal interfalangeal ve sakroiliak eklemler en az veya hiç tutulmayan eklemlerdir. Servikal vertebra dışında kalan omurga da genel olarak tutulmaz (18).

Eller: En zengin ve karakteristik değişikliklerini el ve el bileklerini simetrik tutması sonucu yapar. Erken dönemde, tenosinovitler, proksimal interfalangeal eklemlerin iç şeklinde (fusiform) şişmeleri, ulnar stiloid çevresinin şişmesi ile bu bölgenin düzleşmesi görülür. Hastalığın ilerlemesi sonucu klasik geç dönem deformiteleri gelişir. Bunlar; el sırtının kas atrofisi sonucu iç bükey bir görünüm kazanması, metokarpofalangeal eklemlerde sublüksasyon, parmakların metokarpofalangeal eklemlerden itibaren ulnar tarafa doğru çarpılmaları (ulnar deviasyon), proksimal interfalangeal eklemlerde hiperekstansiyon ve distal interfalangeal eklemlerde fleksiyon ile kendini belli eden kuğu boynu deformitesi veya bunun tam tersi olan düğme iliği deformitesi ve baş parmakta Z deformitesi olarak tanımlanan şekil bozukluklarıdır (18).

Dirsekler: Sık tutulan bu eklemlerde ağrı ve şişlik dışında ekstansiyon kusuru ilk belirtilerden biridir (18).

Dizler: Sık tutuldukları gibi hastaların %15 kadarında ilk tutulan eklemlerdir ve bu hastaların büyük kısmı da tanıdan önce bir menisküs operasyonu geçirmiş olurlar. RA, dizlerin her iki kompartmanını tutması ile sadece medial bölümü tutan osteoartrozdan ayrılır. Diz tutulmasında karşılaşılabilecek bir durum, sinovyal sıvının popliteal fossaya doğru uzanması sonucu gelişen *Baker* kistidir. Diz arkasında sert bir şişlikle kendisini belli eden bu kist, diz içi basıncının artışı sonucu rüptüre olabilir. Sinovyal sıvının bu şekilde açığa çıkarak bacağına aşağılarına doğru ilerlemesi ile tromboflebiti andıran bir durum gelişebilir (18).

Ayaklar: Hastaların %20'sinde ilk tutulan eklemlerdir. Yük taşımaları nedeni ile bu eklemlerin tutulması üst taraf eklemlerine göre daha fazla ağrı ve hareket kısıtlılığına yol açar. Metatarsal eklemlerin tutulması sonucu ayak ön kısmında genişleme, *hallux valgus* ve çekiç parmak şeklinde deformiteler geç dönem belirtileridir (18).

Servikal vertebra: Romatoid artritli hastaların üçte birinde görülen servikal vertebra tutulumu, korkutucu komplikasyonlara yol açabilmesi açısından önem taşır. En sık atlantoaksiyel (C1-C2) eklem tutulumu görülür. 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 servikal kordun baskı altında kalması sonucu çeşitli nörolojik semptomlar oluşabilir (18).

Romatoid Artritte Ekstraselüler Bulgular

Romatoid artritte eklem dışı bulgular da görülebilir. Bu bulgular tablo 1'de gösterilmektedir (19).

Tablo 1. Romatoid artritte eklem dışı bulgular (19)

Cilt altı nodüller
Hematolojik bulgular
Akciğer bulguları
Kalp bulguları
Felty sendromu
Göz bulguları
Nörolojik bulgular
Damar bulguları
Kas tutulumu

Cilt altı nodüller: Seropozitif, RA'nın önemli bulgularındandır. Hastaların %20-35'inde görülür. Nodül sıklığı coğrafi bölgeye göre değişir ve Romatoid faktör (RF) titresi ve sinovit şiddeti arasında korelasyon vardır. Nodüller vücudun basınç altındaki noktalarında ve hafif travmalara maruz kalan yerlerde oluşur. Boyları bir kaç mm ile 2-3 cm arasında değişiklik gösterir. Genellikle sert ve periosta yapışıkır. Sıklıkla semptom oluşturmazlar. Nodüllerin oldukça karakteristik bir histolojisi vardır. Lezyonun merkezinde fibrinoid nekroz, dışında ise palisad oluşturmuş makrofajlar ve en dışta da kronik iltihap hücreleri vardır (18,19).

Hematolojik bulgular: En sık rastlanan hematolojik değişiklik anemidir. Sıklığı hastalığın şiddetine, süresine ve aktivitesine bağlı olarak değişir. Genellikle kronik hastalık anemisi şeklinde ortaya çıkar ve normokromik, normositiktir. Bazen ek faktörler anemiye komplike edebilir. Bu faktörler; kötü beslenme, infeksiyonlar ve tedavide kullanılan ilaçlara bağlı kemik iliği baskılamasıdır. Lökosit sayısında pek değişiklik gözlenmez. Felty Sendromunda lökopeni olunabilir (18,19).

Akciğer bulguları: RA çeşitli solunum sistemi bulgularına yol açabilir. En sık görülenleri; plevral efüzyon, soliter ya da multipl pulmoner nodüller ve interstisyel fibrozisdir. Nadiren ise; bronşiyolitis obliterans, pulmoner vaskülit ve pulmoner hipertansiyon da oluşabilir (18).

Kalp bulguları: RA seyrinde en sık görülen kardiyak bulgu perikardittir. Genellikle semptom vermez. Miyokardit ve endokardiyal tutulumu da rastlanabilir (18).

Felty sendromu: Deformite yapmış, seropozitif ve nodüllü hastalarda görülen geç dönem komplikasyonudur. Felty sendromu; ağır RA, splenomegali ve lökopeni olarak tanımlanırsa da ek olarak bacak ülserleri, hepatomegali, lenfadenopati, trombositopeni görülebilir. Bacaklarda ülserasyon, pigmentasyon artışı, enfeksiyona eğilimde artma ve kilo kaybı görülebilir (18,19).

Göz bulguları: Göz komplikasyonları oldukça sıktır. Gözyaşı azalması (kuru göz) ile kendini belli eden *keratokonjonktivitis sicca*, en sık görülen göz bulgusudur. Hastalığın geç dönemlerinde karşımıza çıkar ve hastalık şiddeti ile ilişkisi yoktur. Tedavisi semptomatiktir. Gözde ani kızarma ve ağrı yapan ancak nadiren vizyonu etkileyen episklerit, nodüler veya diffüz olabilir. Hastalık şiddeti ile ilişkilidir fakat selim seyirlidir ve genellikle tedavisiz iyileşir. Daha seyrek görülen sklerit ise nodüler, diffüz ve nekrotizan şekilde karşımıza çıkar. Kötü seyirlidir ve vizyonu etkiler. Zaman içerisinde skleromalasi (mavi sklera) ile sonuçlanır.

RA tedavisinde kullanılan ilaçların aynı akciğer tutulumunda olduğu gibi çeşitli göz komplikasyonlarına yol açabileceği unutulmamalıdır (18,19).

Nörolojik bulgular: RA'da görülen nörolojik belirtiler 4'e ayrılır: 1) servikal vertebra tutulumu, 2) tuzak nöropatisi, 3) periferik nöropati, 4) vaskülitte bağlı gelişen mononöritis multipleks. Servikal vertebra tutulumu en sık C1-C2 seviyesinde subluksasyon sonucu nörolojik belirtilere yol açabilir. En sık belirtisi, birkaç hafta veya ay içinde yavaşça artış gösteren el ve ayaklarda parasteziler ve motor zayıflıktır. Tuzak nöropatisi, periferik bir sinirin sinovyum ve tendon kılıfları ile çevrili bir bölgeden geçerken sinovit veya tenosinovit sonucu sıkışması sonucudur. En klasik örnek median sinirin el bileğinden geçerken sıkışması sonucu gelişen karpal tünel sendromudur. El parmaklarında özellikle geceleri rahatsız eden uyuşma, yanma ağrı ve ileri dönemlerde motor kusur ve tenar kas atrofisi görülür. Periferik nöropati, aynı diabette olduğu gibi eldiven-çorap tarzında paresteziler yapan distal sensoryal bir nöropatidir. Mononöritis multipleks, periferik bir sinirin ani ve ağrılı tutulumudur. Düşük ayak veya düşük el gibi dramatik görüntülere neden olabilir ve sıklıkla romatoid vaskülitin diğer belirtilerine eşlik eder (18,19).

Damar bulguları: Romatoid vaskülit geç dönem komplikasyonudur. Erken dönemde görülmesi kötü prognoz işaretidir. Seropozitif, nodüllü, eklem harabiyeti olan hastalarda daha sık gelişir. Eklem bulgularının aktif olmadığı dönemlerde de görülebilir. Klasik olarak bir küçük damar vaskülitidir ve en sık olarak tırnak dibi kapillerlerinde tromboz, parmak uçlarında infarktlar ve bacak ülserleri görülebilir. Klinik, hastaların çoğunda bu belirtilerle sınırlı kalır. Vasa nervorumların tutulması sonucu distal sensoryal nöropati, daha seyrek olarak sensorimotor nöropati ve mononöritis multipleks görülür (18).

Kas tutulumu: Eklem inflamasyonuna veya hareketsizliğe bağlı sekonder kas atrofileri görülür. İlaça bağlı miyopatiler de görülebilir. Kronik steroid kullanımında yaygın ve ağır kas atrofileri olur (18).

Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular

Laboratuvar bulguları RA'ya özgü değildir. Klinik belirtiler ve bulgular doğrultusunda, konulan tanıyı desteklemede ya da hastalığın seyrini değerlendirmede kullanılır. Hastalarda, eklem tutulumunun şiddeti ile ilişki gösteren bir kronik hastalık anemisi görülür. Birçok nedeni olan bu anemide; demir kullanımının bozulması, inefektif eritropoez, eritrosit yaşam süresinin kısalması, eritropoietin seviyesinde ve kemik iliğinin eritropoietine duyarlılığında azalma rol oynar. Ayrıca tedavide kullanılan ilaçların da anemi gelişmesinde

rolü vardır. Hastalarda eritrosit sedimentasyon hızı, tutulan eklem sayısı ve klinik aktivite ile korelasyon gösterir. C reaktif protein (CRP) pozitiftir. RF (immunglobulin G'nin Fc fragmanındaki antijenik belirleyicilere karşı oluşan antikorları tanımlar) tüm RA'lı hastaların yaklaşık %80'inde pozitiftir. Başlangıçtan itibaren bulunan yüksek titrede RF pozitifliği ağır klinik seyrin göstergesidir (15-17).

Radyolojik olarak hastalığın ilk aylarında sadece yumuşak doku şişliği görülür. Sonra periartiküler osteoporoz, eklem aralığında (eklem kırırdağı) daralma ve marjinal erozyonlar gelişebilir. Hem klinik hem de radyolojik bozukluğun derecesi olguya göre farklılık gösterir. Fakat ilk yıl içerisinde kemik hasarının belirtisi olarak erozyonlar meydana gelebilir (17).

Romatoid Artritte Ayırıcı Tanı

Romatoid artrit ayırıcı tanısında en sık karşılaşılan hastalıklar içinde osteoartroz, *Still* hastalığı, seronegatif spondiloartropatiler, polimiyaljiya romatika, palindromik romatizma, viral enfeksiyonlar, kalsiyum pirofosfat birikimi (kondrokalsinosis) ve diğer kollajen doku hastalıkları gelir (16).

Çok yönlü bir hastalık olan RA tanısını kolaylaştırabilmek ve bir standarda bağlamak için 1987 yılında Amerikan Romatizma Derneği (ARA) tarafından belirlenmiş kriterler yol göstericidir:

- 1- Sabah tutukluğu: Eklem ve çevrelerinde ve en az 1 saat süreli
- 2- Üç veya daha fazla eklemde artrit: Bir hekim tarafından tespit edilen, en az 6 haftadır süren eklem şişliği veya sıvısı
- 3- El eklemlerinde artrit: El bileği, metokarpofalangeal (MKF) ve proksimal interfalangeal (PİF) eklemlerinde en az 6 haftadır süren şişlik
- 4- Simetrik artrit: Vücudun her iki yanındaki eklemlerde simetri gösteren ve en az 6 haftadır süren tutulma (bilateral PİF, MKF ve metatarsofalangeal (MTF) eklem tutulumu simetri göstermese de kabul edilir).
- 5- Romatoid nodül: Eklem kenarları ve temas bölgelerinde bir hekim tarafından tespit edilen deri altı nodülleri
- 6- Romatoid faktör: Normal kontrollerde %5'den daha az pozitif bulunan bir yöntemle bakılmalıdır
- 7- Radyolojik değişiklikler: Ön-arka planda çekilmiş düz el grafilerinde görülen erozyonlar ve periartiküler osteoporoz.

Bir hastayı RA olarak nitelendirmek için sayılan kriterlerden en az 4 tanesini taşıması ve ilk 4 kriterin en az 6 haftadır devam ediyor olması gerekir. Bu kriterler kullanılarak RA tanısında %90 oranında sensitivite, %89 oranında spesifite sağlanmaktadır (13-15).

Tedavi

Romatoid artrit tedavisi amaçları; ağrının giderilmesi, inflamasyonun azaltılması, yan etkilerin erken tanımlanması ya da engellenmesi, işlevin korunması ya da yeniden sağlanması ve yaşam biçiminin devam ettirilmesidir (13).

Tedavisi çok yönlü bir yaklaşım gerektirir. RA'da ilaç tedavisine ek olarak fizik tedavi, iş-uğraşı terapisi, ortopedik girişimler, eğitim programları, psikolojik destek ve mesleki danışmanlık da önemli rol oynar. Uygun splintleme ile şekil bozuklukları önlenebilir ve tedavi edilebilir. Böylece kas gücü ve kuvveti artırılır (20).

Romatoid artrit tedavisinde genellikle ilaçların bir arada kullanılması gerekir. Tedaviye aspirinle ya da diğer bir nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçla başlanır. En sık kullanılanı ise ibuprofendir. İbuprofen, özellikle sindirim kanalından en iyi tolere edilen ve öncelikli olarak kullanılan bir nonsteroid antiinflamatuvardır. Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkinliği diğer profen türevlerine oranla daha az olmasına rağmen yan etkileri daha azdır. Trombosit agregasyonunu aspirine göre daha düşük derecede inhibe eder (21,22).

Antimalaryal ilaçlar, özellikle hidrosiklorokin ve klorokin, erken ve hafif seyreden olgularda etkindir. Gebelikte kullanılabilir olmaları avantajdır (13).

Altın tuzlarının antimikrobiyal, immun reaksiyonlarda değişiklik, iltihapta baskılanma ve enzim inhibisyonu gibi bazı özellikleri vardır (20). 1929'dan beri nonsteroid antiinflamatuvarlar ve intraartiküler kortikosteroidler kontrol altına alınamayan ağır RA tedavisinde kullanılmaktadır. Genelde, seropozitif hastalığın erken döneminde başlanırsa daha etkili olmaktadır (13,23).

Penisilamin de RA tedavisinde yararlıdır. Bazen remisyona sokabilir. Fakat etkisi altın tuzları gibi yavaş oluşur. Kemik iliği ve böbrek üzerine belirgin toksisitesi olabilir (13). Bu nedenle ilk 6 ay 2 haftada bir, daha sonra ayda bir kez tam kan sayımı ve idrar tahlilleri yapılmalıdır (20).

Kortikosteroidler, inflamasyon semptomlarını güvenilir ve hızlı bir şekilde azaltabildikleri için RA tedavisinde sıklıkla oral, intravenöz ve intraartiküler enjeksiyon olarak kullanılırlar (20). Kortikosteroidler akut atak tedavisinde oldukça faydalıdır. Fakat ne

hastalığın seyrini değiştirir ne de tedavi sağlarlar. Bu nedenle uzun süreli kullanılmamalıdır (13).

Romatoid artrit tedavisinde kullanılan ilaçların hiçbiri hastalığı tam olarak ortadan kaldırmaz. Bu nedenle RA üzerinde çeşitli çalışmalar sürmektedir. Bunların bir kısmı hayvanlarda oluşturulan deneysel artrit modelleri üzerinde yapılmaktadır. RA'nın tedavisini araştırmak için birçok deneysel artrit modeli geliştirilmiştir (17).

Adjuvant artrit bir adjuvant (parafin yağı) ile güçlendirilmiş bir antijene (mikobakteri kapsülündeki) karşı immünolojik yanıt olarak gelişir. Hücrel immün yanıtla oluşması ve histopatolojik görünümünün benzerliği nedeniyle RA modeli olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bu model sadece hastalığın patogenezi araştırmak için değil, pek çok antiinflamatuar ya da immünosüpresif/immünomodülatör ilaçların özelliklerini araştırmak için de kullanılmaktadır (24).

SİTOKİNLER

Romatoid artrit gibi kronik inflamasyon ile karakterize olan bir otoimmün hastalıkta, T-hücre fonksiyonlarının örneğin sitokin salınımının önemi büyüktür. Sinovyal hücre proliferasyonu meydana getiren birçok sitokin, RA'da membran hiperplazisi ve pannus oluşumundan sorumlu tutulmaktadır (25). RA hastalık patogenezi önemli rol oynayan başlıca sitokinler şunlardır:

İnterlökin-1

Vücuttaki tüm çekirdekli hücreler tarafından interlökin-1 (IL-1) üretilir. İnsanda IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır. Bu iki form, farklı genlerden kodlanan 159 ve 153 aminoasitlik peptidlerdir. Birbirleri ile %26 oranında benzer olmalarına rağmen biyolojik aktiviteleri ve güçleri özdeştir. Yine, aynı hücre yüzey reseptörlerine, benzer afinitelerle bağlanırlar (26). IL-1, RA'lı hastaların hem inflamatuvar eklem sıvılarında hem de aktif hastaların periferik kanlarında yüksek seviyelerde bulunur (25).

İnterlökin-1 β , IL-1 sitokin ailesi üyesidir. Bu sitokin, aktif makrofajlar tarafından proteolitik kaspaz-1 ile aktif biçime dönüştürülen bir proprotein olarak üretilir. IL-1 β inflamatuvar cevabın önemli bir aracıdır. Hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptosis gibi çeşitli hücrel aktivitelerde önemi büyüktür. Bu sitokin tarafından siklooksijenaz-2 indüksiyonu, merkezi sinir sisteminde inflamatuvar ağrı duyarlılığına katkıda bulunmaktadır (27).

Yapılan çalışmalarda, ortalama plazma IL-1 β seviyesi, aktif RA'lı hastalarda aynı yaştaki sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (25).

Tümör Nekrozis Faktör-Alfa

Tümör nekrozis faktör- α , endotoksin ile karşılaşmış makrofajlar aracılığıyla meydana getirilen ve salınan güçlü bir biyolojik maddedir. Aynı zamanda kaşektin olarak da bilinmektedir (16). Organizmadaki başlıca etkileri; nötrofil ve T hücre aktivasyonu, *natural killer* hücrelerin aktivitesinin artırımı, kemotaksinin uyarımı, endotel hücreleri üzerinde adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun uyarımı, inflamasyonun akut faz cevabının uyarımı, çeşitli hücrelerden sitokin üretiminin uyarımı ve bazı hücre tiplerine güçlü sitotoksik etkidir. Bunun yanı sıra apoptozun uyarımı, septik şok, B hücrelerinin proliferasyonu ve maturasyonunun uyarımı, pirogenezis ve katabolizmanın artırılması gibi etkileri de mevcuttur (28).

İnterlökin-1 ile birçok özellik bakımından benzerdir. TNF (tümör nekrozis faktör (TNF)), IL-1 ile birlikte ya da ayrı ayrı sistemik inflamasyonu tetiklemekte ve bununla ilgili belirtilerin (örn. ateş) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan ve aynı zamanda bir endotoksin olan lipopolisakkarid (LPS), TNF- α üretimini tetiklemektedir (29).

Romatoid artrit patogeneğinde önemli rol oynayan TNF- α sadece inflamasyondan sorumlu değildir. Aynı zamanda osteoklastın (kemik rezorpsiyonu) gelişmesine ve aktive olmasına neden olur. Bu da kemik kaybına yol açmaktadır (30).

İnterlökin-6

İnterlökin-6, aralarında monosit, fibroblast ve endotelial hücrelerin de bulunduğu çoğu hücrenin uyarılması sonucunda sentez edilerek ortama salınır (25). Bağışıklık yanıtı, akut faz reaksiyonu ve hematopoiesis düzenlenmesinden sorumlu olan pleiotropik sitokindir (31). Sistemik inflamatuvar yanıt sırasında ortaya çıkan akut faz reaktanlarından IL-6, inflamatuvar olaylarda mononükleer fagositlerden mikrobik uyarılara direkt yanıt olarak ve TNF ile IL-1 üretiminin sonucunda salınan bir sitokindir (26). IL-6 ateş ve akut faz yanıtının en önemli mediyatörlerinden birisidir. Çeşitli sitokinler; özellikle IL-6 çeşitli uyarılara karşılık olarak akut faz protein üretimini uyarır. Akut faz değişiklikleri inflamasyonun varlığını ve şiddetini yansıtmak aynı zamanda tanı ve tedavisi için de klinik rehber olarak kullanılmaktadır (32).

Son çalışmalarda IL-6'nın ölümcül infeksiyonlara karşı koruyucu olduğu gösterilmekte ve bu etkiye kısmen de olsa nötrofillerin aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu durumda IL-6 kanda kolay ölçülebilen sitokinlerden birisidir (26).

İnterlökin-2

İnterlökin-2, T lenfositlerin otokrin ve parakrin büyüme faktörüdür. En önemli immünoregülatör sitokinler arasındadır. Uygun antijen uyarısıyla IL-2 sentezi esas olarak CD4 (+) TH lenfositlerde gerçekleşir. IL-2 yapımı antijen uyarısına karşı geçici yanıt olarak oluşur (33). IL-2, T hücrelerinin büyümesi ve işlevi için gereklidir. Normal bir bağışıklık cevabı sırasında vücut tarafından üretilir. T hücre reseptör bağlama antijeni, IL-2 salgılanması ve IL-2, IL-2R reseptörleri ile ekspresyonu uyarır. IL-2/IL-2R etkileşmesinden sonra büyüme, farklılaşma ve antijene özgü CD4 + T hücreleri ve daha birçok diğer T hücreleri uyarılır. IL-2, T hücreleri tarafından üretilir. Aynı zamanda T hücrelerinin bir alt olgunlaşması için timusta T hücre gelişimi sırasında da gereklidir (34).

İnterlökin-10

İnterlökin-10 insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokindir. Kromozom 1 üzerinde bir genden kodlanır (26). IL-10, T ve B hücreleri, monositler ve de makrofajlar dahil olmak üzere çeşitli hücre türleri tarafından üretilir (35). IL-10 koruyucu aktivitesini IL-1 β , TNF α , IL-8, interferon (IF) gama, IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi inflamasyon mediyatörlerini inhibe ederek gösterir. IL-10 immün cevabın önemli bir regülatörüdür. IL-10 çoğu sistemik hastalıkta ve inflamatuvar durumlarda dolaşımda ölçülebilir. Otoimmün, malign ve enfeksiyöz hastalıkları disregüle ettiği düşünülen önemli bir sitokindir (26).

Tablo 2. Sitokinlerin biyolojik etkileri (36)

Sitokin	Molekül ağırlığı (Da)	Hücre kaynakları	Hedef hücreleri	Ana etkileri
IL-1$\alpha\beta$	17.500	makrofajlar, somatik hücreler	hematopoetik sistem, İmmün sistem	inflamasyon
IL-2	15.500	T lenfositler	T ve B hücreleri	T hücre büyüme faktörü
IL-6	21.000-28.000	fibroblastlar, T hücreleri, makrofajlar, somatik hücreler	B hücreleri, Megakaryositler	immünoglobülin üretimi, karaciğerde akut faz protein üretimi
IL-10	35.000-40.000	yardımcı T ve B hücreler, keratinositler, makrofajlar	B ve T hücreler, monositler, makrofajlar	mast hücre / B hücre proliferasyonu ve antikor üretimi, monositler / yardımcı T hücreleri tarafından sitokin üretiminin baskılanması
TNF$\alpha\beta$	17.000-18.000	makrofajlar, somatik hücreler, T ve B lenfositler	genel	inflamatuvar, immün yanıtı artırıcı ve apoptozisi indükleyici, stromal hücrelerden sitokin üretimi

IL-1 α : İnterlökin-1 α

IL-1 β : İnterlökin-1 β

IL-2 : İnterlökin-2

IL-6 : İnterlökin-6

IL-10 : İnterlökin-10

TNF- α : Tümör nekrozis faktör- α

TNF- β : Tümör nekrozis faktör- β

SERBEST RADİKALLER

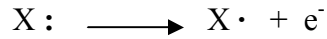
Oksijen insan yaşamı için çok önemli bir moleküldür. İn vivo olarak normal metabolizmanın ürünleri şeklinde radikaller açığa çıkar. Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler. ROS, kimyasal reaktivitesi yüksek olan oksijen formlarıdır. Serbest radikaller; dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Serbest radikaller pozitif yüklü (kasyon), negatif yüklü (anyon) ve nötr olabilirler (37,38).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelir (29);

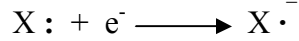
1) Kovalent olarak bağlı bir molekülün ayrılan her bir parçasında ortak elektronlarının birisi kalacak şekilde homolitik bölünmesi.



2) Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı.



3) Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler (37).

Çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktif özelliği kazandırır. Bu özellik protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermesine neden olmaktadır. Bu zararın; yaşlanmayı tetiklediği ve kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (37,38).

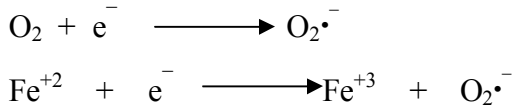
Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynakları arasında stres, infeksiyonlar, ilaç zehirlenmeleri, radyasyon, sigara dumanı, hiperbarik oksijen, metal iyonları, asbest lifleri, ozon, karbonmonoksit, silika ve aflatoksin B1 sayılabilir (39).

Nötrofillerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu, yakın hücrelere ve solubl sistemlere zarar verir. Fagosit kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünoşüpresif ve mutajenik etkiler gösterir. Örneğin RA'lı hastaların diz eklemlerinde fazla miktarda nötrofil birikir ve bu nötrofillerden ortama salıverilen serbest radikaller eklem hasarını hızlandırır (40).

Aerobik canlılarda serbest radikallerin başlıca kaynağı oksijendir. Diradikal olarak adlandırılan oksijen, iki tane eşleşmemiş elektrona sahiptir. Bu yüzden diğer serbest radikallerle ve radikal olmayan maddelerle kolayca reaksiyona girer. Oksijen moleküllerinin %95-99'u oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondriyal sitokrom oksidaz ile suya dönüşür. Böylece ATP elde edilir. Bu reaksiyonlar sırasında kısmi redüksiyonla reaktif ürünler oluşur. Bunlar, süperoksid radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalidir ($\cdot OH$). Bazen reaktif oksijen metabolitleri arasına singlet oksijen, hipoklorik asit, peroksinitrit de dahil edilebilir. Bu nedenle reaktif türlerin hepsi, ROS olarak adlandırılabilir (41).

Süperoksit Radikali

Oksijen molekülünün bir elektron alıp indirgenmesi veya indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu ile süperoksit radikali oluşur (41).



Süperoksid bir serbest radikal olmasına rağmen direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metali iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksidin fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevidir olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitritlerin proteinlere zararlı etkileri vardır. Azot dioksit radikali, hidroksil radikali ve nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşürler (41,42).

Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit membrandan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Süperoksit radikali'nin dismutasyonu ile veya oksijen molekülüne ürat oksidaz, glukoz oksidaz, ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler aracılığıyla iki elektronun transferi ile direkt oluşabilir. Geçiş metali iyonlarının yokluğunda rölatif olarak stabildir. Nötr, kovalent bir yapıya sahiptir. Eşleşmemiş elektronu olmadığı için bir radikal değildir. Ancak en önemlisi

süperoksit radikali veya geçiş metalleriyle reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturmasıdır. Hidrojen peroksit; katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer bazı peroksidazların etkileriyle hücrelerden uzaklaştırılır (41).

Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali; suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması veya geçiş metallerinin varlığında hidrojen peroksitin indirgenmesi ile oluşur. Hidroksil radikali bilinen en güçlü okside edici ajanlardan biridir. Tiyol ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak farklı yeni radikallerin oluşmasına neden olur (41).



Singlet oksijen

Singlet oksijen (ΔO_2); oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak farklı bir orbitale veya farklı orbitallerde farklı yönde dönmesi ile oluşur. Eşleşmemiş elektronu bulunmadığı için bir serbest radikal değildir. Ancak serbest radikaller sonucu meydana geldiği gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olduğu için önemlidir (40).

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

1) Membran lipidlerine etkisi (Lipid Peroksidasyonu): Serbest radikaller, lipid peroksidasyonu yoluyla hücre hasarına neden olurlar. Lipidler serbest radikallerin bu etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer. Böylece peroksidasyon ürünleri oluşur. Lipid peroksidasyonu oldukça zararlıdır ve kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler (40-42).

Üç ya da daha fazla çift bağ bulunduran yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle (TBA) ölçülebilen malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece iyon transportu, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerini bozar. MDA ölçümü lipid peroksit seviyelerinin ölçümünde sıklıkla kullanılır (40).

Lipid peroksidasyonu son derece zararlı zincir reaksiyonudur. Membran akışkanlığında azalma, membran potansiyelinde azalma, iyon permeabilitesinde artma ve sonuçta membran rüptürü ile hücre ve organel içeriklerinin ortama boşalmasına neden olur (40).

2) Proteinler üzerine etkileri: Lipidlere göre daha az oranda olmakla beraber proteinler de serbest radikallerden etkilenirler. Proteinlerin serbest radikal yıkımından etkilenme derecesi aminoasit yerleşimine ve hasar gören proteinin onarılabilmek kapasitesine bağlıdır. Yapılarında doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, histidin, sistein, metiyonin gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik moleküller meydana gelir (40,41).

3) Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri: Serbest radikaller; hücre çekirdeği ve DNA ile etkileşerek genotoksik ve mutajenik değişikliklere yol açarlar. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir. Bu nedenle DNA, serbest radikallerden kolayca zarar görebilen önemli bir hedefdir (42). Serbest radikaller ayrıca DNA polimerazı da inhibe ederler (41).

4) Karbonhidratlar üzerine etkileri: Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitlerin antimitotik etkileri vardır. Kanser ve yaşlanma sürecinde etkilidirler. Serbest radikallerin mukopolisakkarit yapıdaki hiyalüronik asidi etkilemesi inflamatuvar eklem hastalıkları ve katarakt oluşumuna neden olur (40).

ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMİ

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda okside edilebilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan veya engelleyen maddelerdir. Yani oksidasyona karşı mücadele ederler (43).

Antioksidanlar, oksidatif strese karşı etkilerini dört farklı şekilde gösterirler. Örneğin α -tokoferol, lipid faz zincir kıran bir antioksidan olarak zincirleme şekilde ilerleyen lipid peroksidasyonu gibi serbest radikal üreten basamaklara etki ederek reaksiyonları kırar. Glutasyon gibi antioksidan moleküller ise direkt olarak ROS konsantrasyonunu azaltırlar. Süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler serbest radikal üretimini başlatan ilk radikali etkisiz hale getirirler. Bazı maddeler ise geçiş metalleri ile şelat oluşturarak etkilerini

gösterirler. Bu yolla laktoferritin, transferrin ile ferritin demirle; seruloplazmin ve albumin ise bakır ile uyarılan oksidan stresi engellerler (43).

Antioksidanlar endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı olarak başlıca 2 ana gruba ayrılmaktadır. Endojen kaynaklı antioksidanlar enzimsel olanlar ve enzimsel olmayanlar olarak 2'ye ayrılır. Enzimsel antioksidanlar SOD, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz, hidroperoksidaz ve mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemidir. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise lipid fazda ve sıvı fazda bulunanlar olmak üzere 2'ye ayrılır. Lipid fazda bulunanlara α -tokoferol (E vitamini) ve β -karoten; sıvı fazda bulunanlara ise glutatyon (GSH), askorbik asit (C vitamini), melatonin, ürat ve transferin örnek verilebilir (42).

Tablo 3. Ana antioksidanların sınıflandırılması (43)

Antioksidan Enzimler	Rolü	Özellikleri
SOD	$O_2^{\cdot-}$ 'i H_2O_2 'ye dönüştürür	Manganez içerir (Mn-SOD) Bakır ve çinko içerir (CuZn-SOD) Mn ve Fe içerir (Fe-SOD) Ni içerir (Ni-SOD) Bakır içerir (Cu-SOD)
CAT	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir	Peroksizomlarda yer alan tetramerik bir proteindir
GPx	H_2O_2 ve lipid peroksidlerini etkisizleştirir	Selenoprotein (Se^{2+}) içerir, daha çok sitozolde, az olarak mitokondride bulunur ve GSH kullanır
Antioksidan Vitaminler	Rolü	Özellikleri
α -tokoferol	Lipid peoksidasyonunu kırar. Lipidperoksidlerini $O_2^{\cdot-}$ ve OH^{\cdot} 'yi temizler	Yağda çözünür
β -karoten	Peroksi radikalleri ile $O_2^{\cdot-}$ ve OH^{\cdot} 'yi temizler. Vitamin A'nın oksidasyonunu önler. Geçiş metallerini bağlar	Yağda çözünür
Askorbik asit	Direkt olarak, $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} ve H_2O_2 'yu temizler. Nötrofiller tarafından uyarılan antioksidanları nötralize eder. Vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlar	Suda çözünür

SOD: Süperoksit dismutaz, **CAT:** Katalaz, **GPx:** Glutatyon peroksidaz.

Ekzojen antioksidanlar ise ksantin oksidaz inhibitörleri (ör: folik asit, oksipürinol), soya fasulyesi inhibitörleri, NADPH, oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokörleri, nonsteroid antiinflamatuvarlar), rekombinant SOD, troloks-C,

endojen antioksidanların aktivitesini artıranlar (ebselen, asetilsistein) ve diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcılarıdır (42).

İRBESARTAN

İrbesartan; renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminde anjiyotensin reseptör blokörü olarak görev yapar. Renin, küçük protein yapılı bir enzimdir. Böbreklerden jukstaglomerüler hücrelerden salgılanır. Böbrekten ayrılarak kana karışır. Karaciğerde üretilen 14 aminoasitlik anjiotensinojen, renin tarafından AI'e 4 aminoasidin koparılmasıyla dönüştürülür. Oluşan AI, anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) tarafından iki aminoasitin koparılmasıyla efektör peptid olan AII'ye çevrilir (44).

Anjiyotensin II'nin dört tip reseptörü vardır. Fakat temel olarak iki reseptör üzerinden etkisini gösterir. AT₃ ve AT₄'ün görevleri kesin olarak bilinmemektedir. AII'nin çoğu etkileri yüksek afiniteli plazma membranı ve G-protein ilişkili reseptörü olan AT₁ aracılığıyla düzenlenir. Kardiyovasküler hipertrofi, hiperplazi ve ateroskleroz gibi patolojik gelişmelere ve *remodelling*'e AT₁ reseptörleri aracılı uyarı sebep olur. Uyarılmaları durumunda AII, aldosteron ve vazopressin salgılatıcı etkisi nedeniyle vazokonstriksiyon, sıvı retansiyonu, süper oksit oluşumlarının artması ve miyokarda sitotoksik etki gibi fonksiyonları vardır (45).

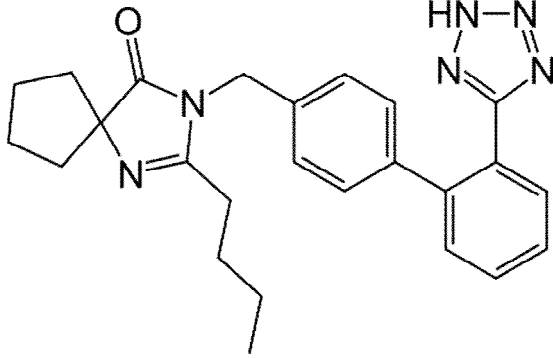
AT₂ reseptörleri ise AT₁'in etkilerini dengeleyicidir. AT₂ reseptörlerinin, apoptozis, osmoregülasyon, serebral kan akımının otheregülasyonu, anjiyogenez ve vazokonstriksiyonu inhibe edici birçok özelliği bilinse de aydınlatılmamış yönleri de bulunmaktadır (45,46).

Anjiyotensin II'nin aktivite artışının hemodinami dışında da etkileri görülmektedir. İnflamasyon, fibrozis gibi olayları tetikler, güçlü prooksidan ve protrombotik etki ile doku hasarı ve fibrozisi daha da arttırabilir (46).

Anjiyotensin II'nin renal ve kardiyovasküler sistemlerde oksidatif stresi uyardığı gösterilmiştir. AT₁ reseptörü aracılığıyla damar düz kas hücresi ve glomerüler mezengiyal hücrelerde NADPH yapımını artırır. Bu da, yüksek aktiviteye sahip bir oksijen molekülü olan süperoksitin oluşmasına neden olur. Proinflamatuvar olan süperoksit, lokal doku zedelenmesine yol açar (46).

Anjiyotensin, renal ve kardiyovasküler etkilerinin çoğunu AT₁ reseptörü aracılığıyla gerçekleştirir. Anjiyotensin reseptör blokörleri (ARB) AT₁ reseptörünü bloke ederek sistemik ve lokal AII'nin etkilerini azaltır. AT₁ reseptör blokajı AII'nin dolaşımında artmasına ve AT₂ ile diğer reseptörlere bağlanmasına neden olur (46,47).

İrbesartan, bir AII reseptör antagonistidir ve hipertansiyon tedavisi için kullanılmaktadır (48). Şekil 1’de irbesartanın kimyasal formülü verilmiştir.



Şekil 1. 2-butyl-3-({4-[2-(2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]phenyl}methyl)-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-4-on (49)

İrbesartan; AT₁ reseptörüne seçici olarak bağlanarak, AII'nin vazokonstriktör ve aldosteron salgılayan etkilerini bloke eder (35). İrbesartan, AT₁ reseptörleri üzerine olan etkisi AT₂ reseptörlerine olan etkisinden 8500 kat daha fazla olan bir ilaçtır (49).

İrbesartan ADE veya renin inhibe eden veya kan basıncını ve sodyum homeostazının kardiyovasküler düzenleme içinde yer aldığı bilinen diğer hormon reseptörleri ya da iyon kanallarını etkilemez. Çünkü irbesartan ADE'yi inhibe etmez ve bradikinin yanıtını etkilemez (49).

Farmakokinetik ve Farmakodinamik Profil

İrbesartan; aktif formu biyotransformasyon gerektirmeyen, oral olarak aktif bir ajandır. Oral emilimi hızlıdır. Biyoyararlanımı %60-80'dir. Oral uygulamayı takiben irbesartan, doruk konsantrasyonuna 1.5-2 saat sonra ulaşır. Gıdalarla kullanımı biyoyararlanımını etkilemez. İrbesartan diğer ARB'lere nispeten daha yüksek biyoyararlanıma sahiptir (48).

Tablo 4. İrbesartanın farmakokinetik özellikleri

Parametre	İrbesartan
Besinlerin emilime etkisi	Yok
Biyoyararlanımı (%)	60-80
Aktif metaboliti	Yok
Proteine bağlanma (%)	90

İrbesartan'ın tama yakını gastrointestinal kanaldan emilir ve 2 saat içinde doruk konsantrasyona ulaşır. Sitokrom P450 2C9 (CYP2C9) ile inaktif metabolitlere karaciğerde metabolize edilir. Safra ve böbrek aracılığı ile vücuttan atılır. Diğer anjiyotensin reseptör blokörlerinden eliminasyonu daha uzundur (48).

İrbesartan; böbrek kan akımını artırır, diyabetik nefropati ve kronik böbrek yetmezliğindeki proteinüriyi azaltır. ADE inhibitörü ilaçların öksürük yaptığı hastalarda, onların yerine kullanılabilir (48).

İrbesartan genel olarak iyi tolere edilir. Yan etkileri hafif ve geçici olup irbesartan dozu ile bağlantılı değildir. Genelde yan etki profili; tüm vücutta ateş, ateş basması, hipertansiyon, kalp ritminde değişiklik, kabızlık, şişkinlik, uyuşukluk, baş dönmesi, kas güçsüzlüğü, miyalji, kaşıntı, deri döküntüsü vb. etkiler görülebilmektedir (50).

Antiinflamatuvar Özelliği

Damar iç yüzeyini kaplayan endotel, tek bir tabakadan oluşan sistemdir. Kan ve dokular arasında bir bariyerdir. Bunun yanı sıra endotel hücrelerin hipertansiyon, diyabet ve metabolik sendrom gibi yaygın hastalıkları azaltıcı etkileri de vardır. Ayrıca endotel AII ve NO gibi vasküler homeostazı regüle eden maddeler üretir. Böylece vazodilatasyon ve vazokonstrüksiyon arasındaki dengeyi sağlar (51).

Endotel disfonksiyonu, endotel bağımlı vazodilatasyonun NO kullanılabilirliğinin azalmasıdır. Böylece AII seviyesinde artmaya yani vazokonstrüksiyona neden olur. Dengedeki bu değişiklik; oksidatif stres, serbest radikaller, inflamasyon ve koagülasyon artışını indükler (51).

Renin anjiyotensin sistemi (RAS) kardiyovasküler sistemin patolojisi ve fizyolojisi üzerinde önemli rol oynar. AII kan basıncı ve elektrolit dengesini düzenler ve damar

duvarındaki inflamatuvar yanıtta katkıda bulunur. Çünkü ARB'ler, AII oluşumunu engeller (52).

İrbesartan AII'nin AT₁ reseptörüne bağlanmasını engeller. AT₁ reseptörüyle oluşan etkiler azalırken, AT₂ reseptörünün etkinliği artar. Böylece endotelden salınımı azalan NO'nun etkinliği artarak, vasküler homeostaz tekrar denge durumuna geri döner (52).

Antioksidan Özelliği

Anjiyotensin reseptör blokörü olan irbesartan, yaygın olarak hipertansiyon ve koroner kalp hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Yakın zamanda, bazı araştırmacıların irbesartanın belli sıçan modelinde; ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, artrial fibrilasyon, diyabet, diyabetik nefropati patolojisinde oksidatif stresi inhibe edebildiğini bildiren çalışmaları bulunmaktadır (53).

AnjiyotensinII, membrana bağlı NADPH oksidaz aktivasyonuna yol açarak, reaktif oksijen ürünlerini artırır. Bu ürünler, endotel hücrelerince üretilen NO'yu peroksinitrat formuna çevirip biyoyararlanımını azaltır. İrbesartan AT₁ reseptör blokajı yaparak bu etkiyi azaltır (53).

Genel olarak; ADE inhibitörleri ve ARB'lerin, NADPH oksidaz inhibisyonu ile O₂ düzeyini düşürerek okside LDL düzeyinde ve ileri glikolizasyon son ürünlerinde azalma yaparak oksidatif yükü azalttıkları gösterilmiştir (54,55).

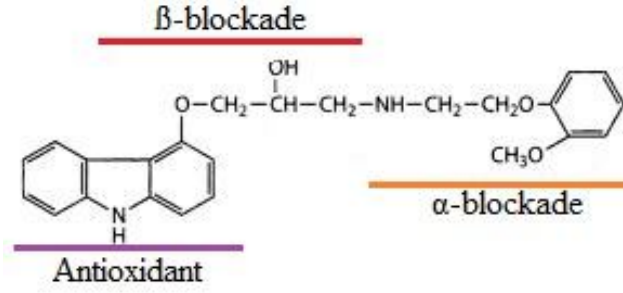
Ayrıca irbesartanın yapısında bulunan N-H bağlarının antioksidan etkinlik göstermesinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu konuda yapılan çalışma sayısı azdır (53).

Analjezik Özelliği

İrbesartan çeşitli kardiyovasküler bozukluklarda yaygın olarak kullanılan bir bileşiktir. Bunun yanı sıra diyabetik nefropati tedavisi için de kullanılabilirliği onaylanmıştır. Anjiotensin antagonistleri, artan ağrı eşiğini veya nosiseptif nörotransmitter sentezini azaltarak analjezik aktiviteye sahip olabileceği ve AII'nin pro-nosiseptif aktivitesi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (56).

KARVEDİLOL

Karvedilol; β_1 , β_2 ve α_1 reseptörlerini bloke eder. Aynı zamanda β blokajından bağımsız olarak kardiyoprotektif, vazoprotektif, antioksidan ve antiproliferatif özelliklere sahip olan bir β blokördür. Kalp yetersizliği ve miyokard infarktüsü sonrası tedavide klinik etkinliği kanıtlanmış bir ilaçtır (57). Şekil 2'de karvedilolün kimyasal formülü verilmiştir.



Şekil 2. (±)-[3-(9*H*-carbazol-4-yloxy)-2-hydroxypropyl][2(2methoxyphenoxy)ethyl]amine (48)

Farmakokinetik ve Farmakodinamik Profil

Karvedilol üçüncü nesil olan β -blokördür. Üç önemli adrenerjik reseptörü de etkiler (β_1 , β_2 ve α_1). İntrinsik sempatomimetik aktivite göstermez. Karvedilol artmış sempatik aktiviteyi diğer β -antagonistlerden farklı olarak neredeyse tamamen bloke eder. Ayrıca, karvedilol presinaptik β_2 uyarımını da engelleyerek β_1 selektif blokörlerin yaptığı gibi miyokardiyal β_1 reseptör yoğunluğunda artmaya neden olmaz (58).

Karvedilol vazodilatör özelliğinden dolayı diğer β blokerlerden farklı olarak kalp yetmezliğinde renal fonksiyonları olumlu yönde etkiler. β blokörler genellikle renal kan akımı ve sodyum atılımını azaltır, ancak α_1 blokajı periferik direnci azaltarak sodyum atılımındaki bu etkiyi antagonize eder. Kalp yetmezliği olan hastalarda karvedilol ile metoprolol karşılaştırıldığında, karvedilolün anlamlı derecede renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızını artırdığı görülmüştür (58).

Karbonhidrat ve lipid metabolizmasına diğer β -blokörlerden farklı etkileri vardır; insülin duyarlılığını ve glikoz kullanımını azaltmaz, sonuç olarak insülin ve glikohemoglobin düzeylerini artırmaz (58).

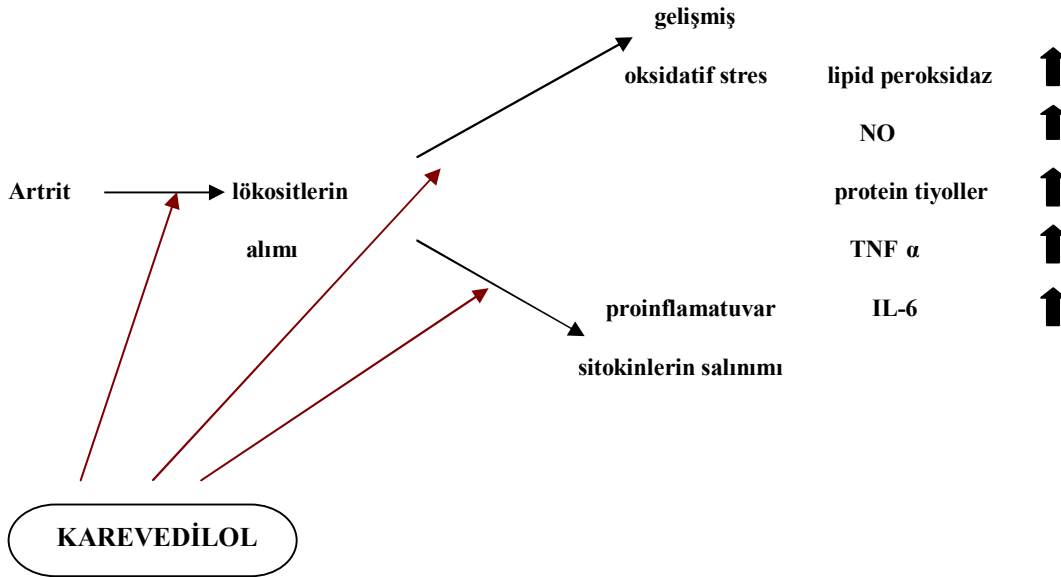
Karvedilol ağız yoluyla alındıktan sonra hızla emilir, 1-2 saat içinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır. Yemekler, karvedilolün emilme hızını biraz etkiler, ancak emilme miktarına etkisi yoktur. Karvedilol hızla ve büyük oranda metabolize edilir ve idrarda ana ilacın $< \%2$ 'si tespit edilebilir. Karvedilol hemen hemen sadece karaciğer tarafından metabolize edilir. Bu metabolitlerin yaklaşık $\%60$ 'ı safraya salınır ve feçesle atılır. Karaciğer hastalığı olan bireylerde karvedilolün farmakokinetiği belirgin derecede değişir (58).

Karvedilolün yan etki profilinde çoğunlukla β reseptör blokajı ile ilgili olan bradikardi ve atriyoventriküler blok oluşumudur. Ağır kronik obstrüktif akciğer hastalığı, akut

dekompanse kalp yetmezliği, hipotansiyon, bronkospazm, kardiyak debinin azalmasına bağlı yorgunluk, baş ağrısı, uykusuzluk, mide bulantısı, diyare, diabetes mellitus'u olan hastalarda hiperglisemi, hipoglisemi ve kan glukozu kontrolünde kötüleşme de sık görülür (59,60).

Antiinflamatuvar zelliği

Romatoid artrit kardiyovasküler komplikasyonlar ile meydana gelen sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Karvedilol güvenli bir şekilde çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan bir adrenerjik antagonistidir. Karvedilol güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğe sahip bir ajandır. Karvedilol oksidatif stres belirteçlerini (lipid peroksidaz, nitrik oksid ve protein tiyoller), inflamatuvar sitokinlerin salınımını (TNF- α ve IL-6) azaltır (61). şekil 3'de karvedilolün antiinflamatuvar etki mekanizması gösterilmiştir.



şekil 3. Karvedilolün antiinflamatuvar etki mekanizması

Antioksidan zelliği

Oksidatif stres, artmış reaktif oksijen türleri ile ilgilidir. ROS, özellikle hidroksil radikali, fosfolipidler, proteinlerle etkileşimi ve lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre membran bütünlüğünü bozar. Lipid peroksidasyon serbest radikallerin en önemli zararlıdır. Buna bağlı olarak MDA yan ürünü oluşur. Bu oluşum serbest radikal oluşumunun en önemli göstergesidir (62).

Oksidatif stres ve inflamasyon, hipertansiyon ve ateroskleroz patogenezinde de bulunmaktadır. Oksidatif stres proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yoluyla inflamasyonu indükler (63).

Karvedilol ve bazı metabolitleri güçlü antioksidanlardır. Adrenerjik uyarımın blokajı ile karvedilol antioksidan etkisini gösterir (64). Yaşlanmaya da neden olan serbest oksijen radikallerini ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Karvedilolün yapısındaki karbozol grubunun antioksidan etkinliği E vitamininden yaklaşık 10 kat daha güçlü olduğu Kumar ve ark. (65)'nin yaptığı çalışmada gösterilmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda karvedilolün yapısındaki N-H bağının da antioksidan etki gösterebileceği belirtilmiştir. Karvedilol antioksidan etkinliğini, yapıdaki N-H bağından hidrojen soyutlanarak daha kararlı bir radikal olan azotun oluşumu ile gösterir. Bu da N-H grubunun radikalleri temizleme yeteneği olarak düşünülmektedir (66).

BASINÇ UYGULAMA ÖLÇÜMÜ

Pressure application measurement-Basınç uygulama ölçümü (PAM) cihazı mekanik ağrı eşiğinin ölçülmesinde kullanılır. Özellikle artrit araştırmalarında; artritli kemirgenlerin diz, ayak bileği ve eklemlerindeki basınca karşı duyarlılığı değerlendirmek için uygundur. PAM cihazı eklem doğrudan uyarılması için ölçülebilir bir kuvvet uygulayan bir sensör içerir. Yanıt otomatik olarak oluşur. Uygulayıcı sadece kendi başparmağına özel bir kuvvet sensörü giyer ve pik amplifikatörü hayvanın ayak ya da bacağını geri çekmesi ile ortaya çıkar. Oluşan bu değer cihaz tarafından kaydedilebilir. PAM cihazı bilgisayara bağlanabilir ve istenildiğinde test sonuçları bilgisayar ortamına aktarılabilir. Sıçan ve fare eklemlerine kuvvet uygulama sensörleri farklıdır.

Prednizolon, morfin ve selekoksibinin analjezik etkinliklerinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada (67) PAM cihazı kullanılarak; kronik inflamatuvar eklem ağrısı ile seyreden bir sıçan modeli geliştirilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ilaçların ağrı düzeylerine olan etkilerinin belirlenmesinde PAM cihazının doğru bir ölçüm aracı olduğu vurgulanmıştır. Şekil 4 ve 5'de PAM cihazı ve uygulama şekli gösterilmiştir.



Şekil 4. PAM cihazı ve uygulama şekli



Şekil 5. PAM cihazının uygulanması

PLETİSMOMETRE

Romatoid artrit araştırmalarında ödem geliştirme ve farmakolojik süreçlerdeki değişiklikler üzerindeki çalışmalarda, sıçan pençe çapının ölçülmesinde kullanılır. Hayvanın pençesi ölçüm hücresi içerisinde bulunan özel bir çözeltiliye daldırılır. Araştırmacı bir pedal yardımıyla ölçülen değeri sabitleyebilir. Yapılan her ölçüm sonrasında cihaz üzerinde bulunan sıfır düğmesine basılarak yeni değerler kaydedilebilir. Ölçüm hücresinde dikey konumda birbirine bağlı iki tüp içerir. Hayvan pençesi çözeltiliye daldırıldığında tüp içindeki çözeltilinin yer değiştirmesi ile ölçüm yapılır. Sıçan ve fare pençeleri için ölçüm hücreleri farklıdır. Şekil 6'da pletismometre cihazı ve uygulama şekli gösterilmiştir.



Şekil 6. Pletismometre cihazının uygulanması.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmış (Ek-1) ve çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP-2012/12) tarafından desteklenmiştir.

DENEKLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilmiş olan, ortalama 300-400g ağırlığında 50 adet Sprague Dawley erkek sıçan kullanılmıştır. Tüm denekler standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 °C, %55 nem ve 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda) barındırılmıştır. Beslenmeleri için standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanılmıştır.

İLAÇLAR

Freund's Complete Adjuvant, FCA, 10 mg/ml

İrbesartan, Karvea, Sanofi Aventis, 300 mg, tb

Karvedilol, Carvexal, Sandoz, 25 mg, tb

DENEY DÜZENİ

Çalışmamızda adjuvant artrit önceden RA değerlendirilmesi için tarif edilen metodlara göre, ısıda öldürülmüş ve kurutulmuş *Mycobacterium tuberculosis* içeren sıvı parafin emülsiyonunun (*Freund's Complete Adjuvant*, FCA, 10 mg/ml), hayvanların sağ arka ayak pençelerine, 22 numaralı iğne ile 0.1 ml'lik tek doz intradermal olarak injeksiyonu ile oluşturuldu (15,68,69).

Toplam 6 grup oluşturuldu. Birinci grup kontrol grubu olarak ayrıldı ve 6 hayvan kullanıldı. İkinci grup salin grubu olarak ayrıldı ve 8 hayvan kullanıldı. Diğer gruplar ise tedavi grubu olarak ayrıldı ve her bir grupta 9 hayvan kullanıldı.

Birinci gruptaki sıçanların pençe takibi sonrası 27.gün kalplerinden kan alındı. Diğer gruplarda ise, 0.gün intradermal olarak 0.1ml FCA injeksiyonu yapıldı ve 17-27. günler arası ikinci gruba salin (1 ml/kg), üçüncü gruba irbesartan (50 mg/kg), dördüncü gruba karvedilol (1 mg/kg), beşinci gruba irbesartan + karvedilol (50 mg/kg ve 1 mg/kg) uygulandı. Altıncı gruba (pozitif kontrol) diklofenak sodyum (1 mg/kg) dozunda verildi. İkinci ve altıncı gruba ilaçlar intraperitoneal, diğer gruplara ise gavaj yolu ile uygulandı.

İnflamatuvar reaksiyon inokülasyon günü 0. gün kabul edilerek; 0, 17, 20, 23 ve 27. günlerde pletismometre cihazı ile hacimsel olarak ölçüldü. Deney sonunda hayvanlar ksilazin/ketamin (10/50 mg/kg, i.m.) anestezisi altındayken kalpten ponksiyon ile kan alındı. İlaçların antioksidan etkileri plazmada lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA ölçülerek, antiinflamatuvar etkiler IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeyleri *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) kiti aracılığıyla, analjezik etkileri ise PAM cihazı ile ölçülerek istatistiksel olarak değerlendirildi. Deney sonunda sıçanların arka ayak bileği eklemleri çıkarılarak formole konuldu ve Fakültemiz Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik olarak incelendi.

KULLANILAN CİHAZLAR

Spektrofotometre	:	(Spectronic Unicam Helios a, İngiltere)
Elektronik tartı	:	(Denver Instrument APX-200, ABD)
Soğutmalı santrifüj	:	(MPW 350R, Polonya)
Soğutmalı santrifüj	:	(Hettich Micro 220R, Almanya)
Su banyosu	:	(Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere)
Vorteks	:	(Nüve NM110, Türkiye)
Derin dondurucu	:	(Thermo Elektron Corporation, USA)
pH metre	:	(InoLab, Level 1, Almanya)
Manyetik karıştırıcı	:	(Heidolph MR 3001, Almanya)
Distile su cihazı	:	(Millipore, Fransa)
Pletismometre	:	(Ugo Basile, İtalya)
PAM	:	(Ugo Basile, İtalya)

İnterlökin-1-Beta Düzeyi Ölçümü

Plazma inflamasyon düzeyleri ölçümünde Ebioscience ELISA IL-1 β ölçüm kiti kullanıldı.

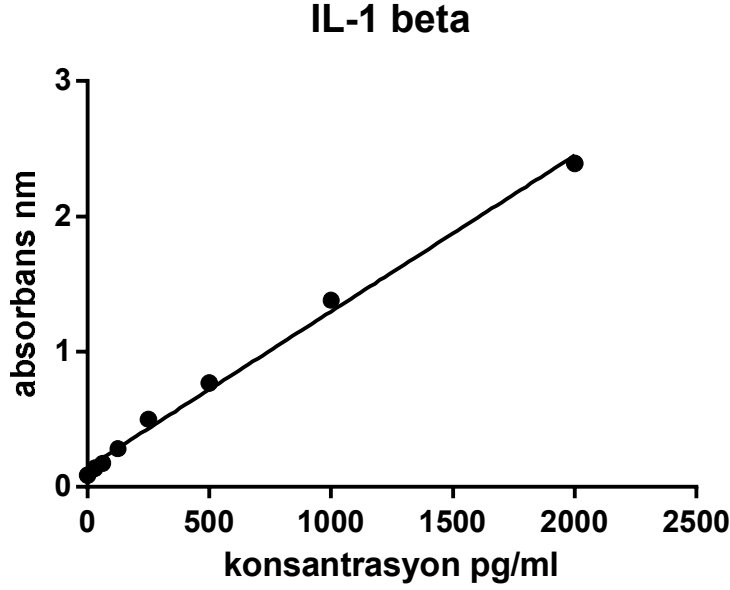
Prensip

Anti-sıçan IL-1 β kaplanmış ELISA kuyucuklarına örnek ve standart konulur. Örnek veya standart içindeki IL-1 β kuyucuğu kaplayan anti-sıçan IL-1 β tarafından yakalanır. İlk antikolar tarafından yakalanan sıçan IL-1 β 'ya biotin konjugat anti-sıçan IL-1 β bağlanır. Bağlanmayan biotin konjugat anti-sıçan IL-1 β yıkanarak uzaklaştırılır. Sonrasında streptavidin HRP eklenerek biotin konjugat anti-sıçan IL-1 β antikoruna bağlanması sağlanır. Takiben bağlanmayan streptavidin HRP yıkanarak uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyonu sonucunda renk değişikliği gösteren substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Reaksiyon durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) ilavesi ile sonlandırılır ve meydana gelen renk değişikliği 450 nm'de ölçülür.

Deney

ELISA IL-1 β kitinde bulunan tabakada, pozitif kontrolün ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Deneye başlamadan önce tüm çukurlar 400 μ l yıkama solüsyonu (%1 Tween 20 ve %10 sığır serum albumini içeren fosfat tamponu) ile 2 kez yıkandı. Standart çukurlarına 100 μ l eksternal olarak dilüsyon yapılan (2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 32.3 pg/ml) standartlar konuldu. Kör çukuruna 100 μ l sample diluent koyuldu. Örnek çukurlarına ise 50 μ l sample diluent koyuldu ve üzerine 50 μ l örnek ilave edildi. Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 50 μ l biotin conjugate eklenerek, üzeri film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltıldı ve 3 kez 400 μ l yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm çukurlara 100 μ l streptavidin HRP ilave edilerek tabakanın üstü tekrar film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltılarak 3 kez 400 μ l yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işleminin arkasından tüm çukurlara 100 μ l tetrametil-benzidin (TMB) ilave edilerek ışısız bir ortamda ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Pozitif kontrol çukurlarındaki renk koyu mavi olduğunda 100 μ l durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) konularak reaksiyon sonlandırıldı ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu.

Hesaplama



Şekil 7. IL-1 β kalibrasyon eğrisi

Örnek IL-1 β (μ M); Linear ($\log y = A(\log x) + B$)

A = 0.9713, B = -2.8020, R-Square = 0.9958

İnterlökin-2 Düzeyi Ölçümü

Plazma inflamasyon düzeyleri ölçümünde Ebioscience ELISA IL-2 ölçüm kiti kullanıldı.

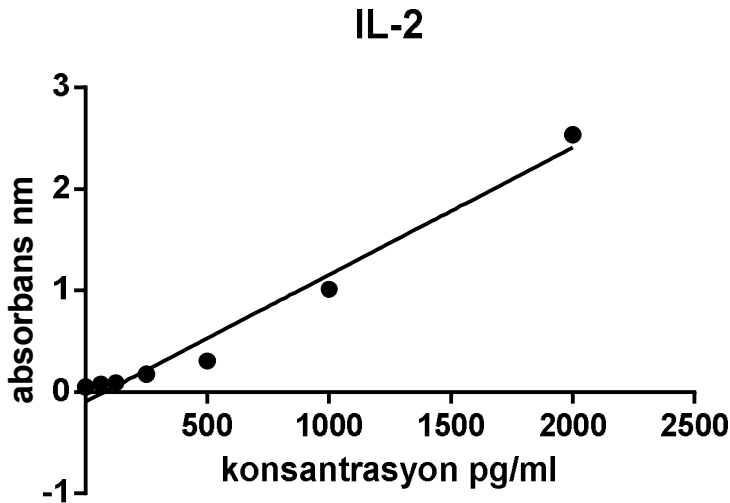
Prensip

Anti-sıçan IL-2 kaplanmış ELISA kuyucuklarına örnek ve standart konulur. Örnek veya standart içindeki IL-2 kuyucuğu kaplayan anti-sıçan IL-2 tarafından yakalanır. İlk antikorlar tarafından yakalanan sıçan IL-2'ye biotin konjugat anti-sıçan IL-2 bağlanır. Bağlanmayan biotin konjugat anti-sıçan IL-2 yıkanarak uzaklaştırılır. Sonrasında streptavidin HRP eklenerek biotin konjugat anti-sıçan IL-2 antikoruna bağlanması sağlanır. Takiben bağlanmayan streptavidin HRP yıkanarak uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyonu sonucunda renk değişikliği gösteren substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Reaksiyon durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) ilavesi ile sonlandırılır ve meydana gelen renk değişikliği 450 nm'de ölçülür.

Deney

ELISA IL-2 kitinde bulunan tabakada, pozitif kontrolün ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Deneye başlamadan önce tüm çukurlar 400 µl yıkama solüsyonu (%1 Tween 20 ve %10 sığır serum albumini içeren fosfat tamponu) ile 2 kez yıkandı. Standart çukurlarına 100 µl eksternal olarak dilüsyon yapılan (2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5 pg/ml) standartlar konuldu. Kör çukuruna 100 µl sample diluent koyuldu. Örnek çukurlarına ise 50 µl sample diluent koyuldu ve üzerine 50 µl örnek ilave edildi. Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 50 µl biotin conjugate eklenerek, üzeri film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 3 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltıldı ve 4 kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm çukurlara 100 µl streptavidin HRP ilave edilerek tabakanın üstü tekrar film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltılarak 4 kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işleminin arkasından tüm çukurlara 100 µl TMB ilave edilerek ışısız bir ortamda ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Pozitif kontrol çukurlarındaki renk koyu mavi olduğunda 100 µl durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) konularak reaksiyon sonlandırıldı ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu.

Hesaplama



Şekil 8. IL-2 kalibrasyon eğrisi

Örnek IL-2 (µM); Linear ($\log y = A(\log x) + B$)

$A = 1.7755$, $B = -5.4429$, $R\text{-Square} = 0.9970$

İnterlökin-6 Düzeyi Ölçümü

Plazma inflamasyon düzeyleri ölçümünde Ebioscience ELISA IL-6 ölçüm kiti kullanıldı.

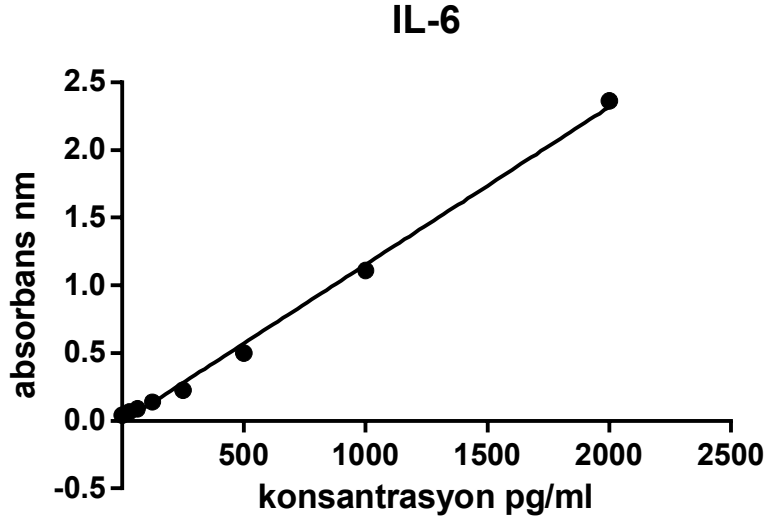
Prensip

Anti-sıçan IL-6 kaplanmış ELISA kuyucuklarına örnek ve standart konulur. Örnek veya standart içindeki IL-6 kuyucuğu kaplayan anti-sıçan IL-6 tarafından yakalanır. İlk antikolar tarafından yakalanan sıçan IL-6'ya biotin konjugat anti-sıçan IL-6 bağlanır. Bağlanmayan biotin konjugat anti-sıçan IL-6 yıkanarak uzaklaştırılır. Sonrasında streptavidin HRP eklenerek biotin konjugat anti-sıçan IL-6 antikoruyla bağlanması sağlanır. Takiben bağlanmayan streptavidin HRP yıkanarak uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyonu sonucunda renk değişikliği gösteren substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Reaksiyon durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) ilavesi ile sonlandırılır ve meydana gelen renk değişikliği 450 nm'de ölçülür.

Deney

ELISA IL-6 kitinde bulunan tabakada, pozitif kontrolün ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Deneye başlamadan önce tüm çukurlar 400 µl yıkama solüsyonu (%1 Tween 20 ve %10 sığır serum albumini içeren fosfat tamponu) ile 2 kez yıkandı. Standart çukurlarına 100 µl eksternal olarak dilüsyon yapılan (2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3 pg/ml) standartlar konuldu. Kör çukuruna 100 µl sample diluent koyuldu. Örnek çukurlarına ise 50 µl sample diluent koyuldu ve üzerine 50 µl örnek ilave edildi. Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 50 µl biotin conjugate eklenerek, üzeri film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltıldı ve 6 kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm çukurlara 100 µl streptavidin HRP ilave edilerek tabakanın üstü tekrar film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltılarak 6 kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işleminin arkasından tüm çukurlara 100 µl TMB ilave edilerek ışısız bir ortamda ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Pozitif kontrol çukurlarındaki renk koyu mavi olduğunda 100 µl durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) konularak reaksiyon sonlandırıldı ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu.

Hesaplama



Şekil 9. IL-6 kalibrasyon eğrisi

Örnek IL-6 (μM); Quadratic ($\log y = A(\log x)^2 + B(\log x) + C$)

$A = 0.0818$, $B = 0.7096$, $C = -2.8794$, $R\text{-Square} = 0.9996$

İnterlökin-10 Düzeyi Ölçümü

Plazma inflamasyon düzeyleri ölçümünde Ebioscience ELISA IL-10 ölçüm kiti kullanıldı.

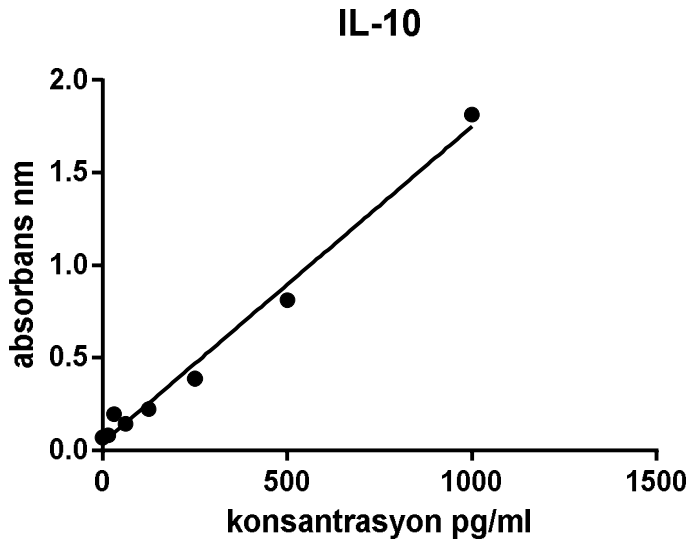
Prensip

Anti-sıçan IL-10 kaplanmış ELISA kuyucuklarına örnek ve standart konulur. Örnek veya standart içindeki IL-10 kuyucuğu kaplayan anti-sıçan IL-10 tarafından yakalanır. İlk antikorlar tarafından yakalanan sıçan IL-10'a biotin konjugat anti-sıçan IL-10 bağlanır. Bağlanmayan biotin konjugat anti-sıçan IL-10 yıkanarak uzaklaştırılır. Sonrasında streptavidin HRP eklenerek biotin konjugat anti-sıçan IL-10 antikoruna bağlanması sağlanır. Takiben bağlanmayan streptavidin HRP yıkanarak uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyonu sonucunda renk değişikliği gösteren substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Reaksiyon durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) ilavesi ile sonlandırılır ve meydana gelen renk değişikliği 450 nm'de ölçülür.

Deney

ELISA IL-10 kitinde bulunan tabakada, pozitif kontrolün ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Deneye başlamadan önce tüm çukurlar 400 µlyıkama solüsyonu (%1 Tween 20 ve %10 sığır serum albumini içeren fosfat tamponu) ile 2 kez yıkandı. Standart çukurlarına 100 µl eksternal olarak dilüsyon yapılan (2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6 pg/ml) standartlar konuldu. Kör çukuruna 100 µl sample diluent koyuldu. Örnek çukurlarına ise 50 µl sample diluent koyuldu ve üzerine 50 µl örnek ilave edildi Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 50 µl biotin conjugate eklenerek, üzeri film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltıldı ve 3 kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm çukurlara 100 µl streptavidin HRP ilave edilerek tabakanın üstü tekrar film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltılarak 3 kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işleminin arkasından tüm çukurlara 100 µl TMB ilave edilerek ışısız bir ortamda ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Pozitif kontrol çukurlarındaki renk koyu mavi olduğunda 100 µl durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) konularak reaksiyon sonlandırıldı ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu.

Hesaplama



Şekil 10. IL-10 kalibrasyon eğrisi

Örnek IL-10 (µM); Linear ($\log y = A(\log x) + B$)

$A = 1.2288$, $B = -3.4703$, $R\text{-Square} = 0.9981$

TNF- α DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Plazma inflamasyon düzeyleri ölçümünde Ebioscience ELISA TNF- α ölçüm kiti kullanıldı.

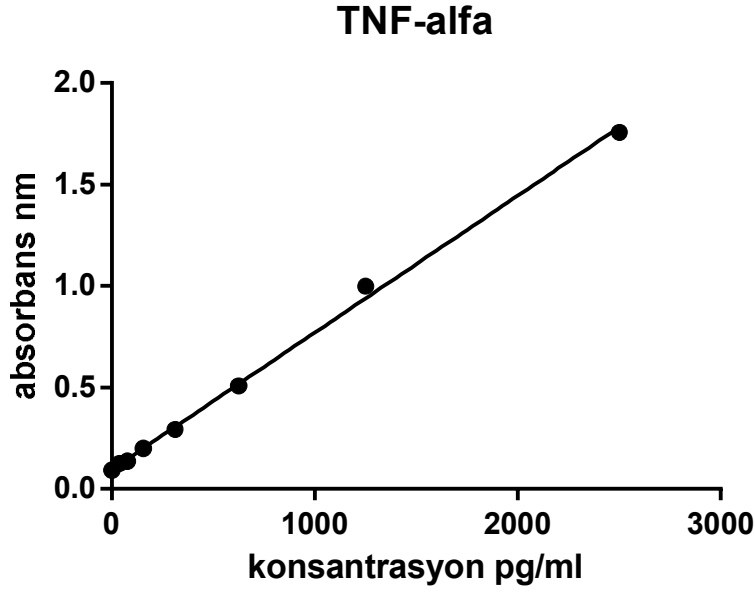
Prensip

Anti-sıçan TNF- α kaplanmış ELISA kuyucuklarına örnek ve standart konulur. Örnek veya standart içindeki TNF- α kuyucuğu kaplayan anti-sıçan TNF- α tarafından yakalanır. İlk antikolar tarafından yakalanan sıçan TNF- α 'ya biotin konjugat anti-sıçan TNF- α bağlanır. Bağlanmayan biotin konjugat anti-sıçan TNF- α yıkanarak uzaklaştırılır. Sonrasında streptavidin HRP eklenerek biotin konjugat anti-sıçan TNF- α antikoruyla bağlanması sağlanır. Takiben bağlanmayan streptavidin HRP yıkanarak uzaklaştırılır. HRP ile reaksiyonu sonucunda renk değişikliği gösteren substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Reaksiyon durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) ilavesi ile sonlandırılır ve meydana gelen renk değişikliği 450 nm'de ölçülür.

Deney

ELISA TNF- α kitinde bulunan tabakada, pozitif kontrolün ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Deneye başlamadan önce tüm çukurlar 400 μ l yıkama solüsyonu (%1 Tween 20 ve %10 sığır serum albumini içeren fosfat tamponu) ile 2 kez yıkandı. Standart çukurlarına 100 μ l eksternal olarak dilüsyon yapılan (2500, 1250, 625, 312.5, 156.3, 78.1, 39.1 pg/ml) standartlar konuldu. Kör çukuruna 100 μ l sample diluent koyuldu. Örnek çukurlarına ise 50 μ l sample diluent koyuldu ve üzerine 50 μ l örnek ilave edildi Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 50 μ l biotin conjugate eklenerek, üzeri film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 2 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Inkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltıldı ve 4 kez 400 μ l yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm çukurlara 100 μ l streptavidin HRP ilave edilerek tabakanın üstü tekrar film ile kapatıldı ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 1 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Inkübasyonun ardından tüm çukurlar boşaltılarak 4 kez 400 μ l yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama işleminin arkasından tüm çukurlara 100 μ l TMB ilave edilerek ışsız bir ortamda ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Pozitif kontrol çukurlarındaki renk koyu mavi olduğunda 100 μ l durdurma solüsyonu (1M fosforik asit) konularak reaksiyon sonlandırıldı ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu.

Hesaplama



Şekil 11. TNF- α kalibrasyon eğrisi

Örnek TNF- α (μ M); Linear ($\log y = A(\log x) + B$)

$A = 0.9768$, $B = -3.1429$, $R\text{-Square} = 0.9932$

MDA DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Prensip

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın TBA ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülür (67).

Deney

0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 95 °C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000xg'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik incelemelerin yapılması için sağ ve sol ayak bileği eklemlerini içeren sıçan ayakları Fakültemiz Tıbbi Patoloji laboratuvarına gönderildi. Patoloji Laboratuvarında sağ ve sol ayak bileği eklemlerini de içeren sıçan ayakları 24 saat boyunca %10'luk tamponlu nötral formaldehit tespitine bırakıldılar. Daha sonra dekalsifikasyon işlemi için dokular %10'luk nitrik asit içinde 12 saatte bir kalsifikasyon durumları kontrol edilerek yaklaşık 36 saat bekletildi. 36 saat sonunda dekalsifiye olarak kemikleri yumuşayan ayakların tümünden metatarsofalangiyal eklemler görüntülenecek şekilde parçalar kasete alındılar. Gece boyunca alkol takibiyle dokular parafine gömülerek 5 mikron kalınlığındaki kesitler lamların üzerine alındı ve rutin hematoksilen eozin (HE) boyası ile boyanarak ışık mikroskobu (Olympus BX51) altında değerlendirildi. Değerlendirme sırasında her dokudaki eklem komşu dokulardaki inflamasyon ile eklem içi sinovyal proliferasyon şiddetlerine göre derecelendirilerek not edildi. Buna göre; 0-lezyon yok, 1-hafif şiddetli lezyon, 2-orta şiddetli lezyon, 3-şiddetli lezyon olarak kabul edildi ve semikantitatif olarak skorlandı. Vasküler proliferasyonun tespiti için 5 büyük büyütme alanındaki (BBA=x40) damarlar sayıldı ve ortalamaları alınarak büyük büyütme alanı başına düşen damar sayısı hesaplandı. Ayrıca bazı dokularda görülen lezyonlar (granülom varlığı, ödem) derecelendirilmeden not edildi (25).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme, AXA507C775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA 7.1 istatistik ve Graphpad Prism for Mac OSX Version 5.0c programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilir verilerin normal dağılıma uygunlukları tek örnek Kolmogorov Smirnov testi ile bakıldıktan sonra normal dağılım gösterenler için gruplar arası kıyaslamalarda varyans analizi ve post-hoc Dunnett testi, normal dağılım göstermeyenler için kıyaslamalarda ise Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arası zamana bağlı değişim için tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, grupların kendi içinde zamana bağlı değişimlerinde bağımlı gruplarda t testi ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak Median (Min-Maks) değerleri ve aritmetik ortalama±standart sapma ve niteliksel veriler için sayı ve yüzdeler verildi. Tüm istatistikler için anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak seçildi.

BULGULAR

Çalışmamızın ilk gününde (0. gün) tüm sıçanların sağ arka ayak pençeleri pletismometre ve PAM ile ölçüldü. 1. grup hiçbir işlem yapılmadan kontrol grubu olarak ayrıldı. Diğer gruplardaki (2, 3, 4, 5 ve 6) sıçanların sağ arka ayak pençelerine FCA uygulandı (Şekil 12).



Şekil 12. Sıçana FCA uygulanması.

Sıçanların ağırlık takipleri, pletismometre ve PAM ölçümleri 17, 23 ve 27. günlerde yeniden yapıldı. İlaçların adjuvant artrit üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla 17-27. günler arasında; 2. gruba ilaçların çözücüsü olarak kullandığımız salin (1 ml/kg)

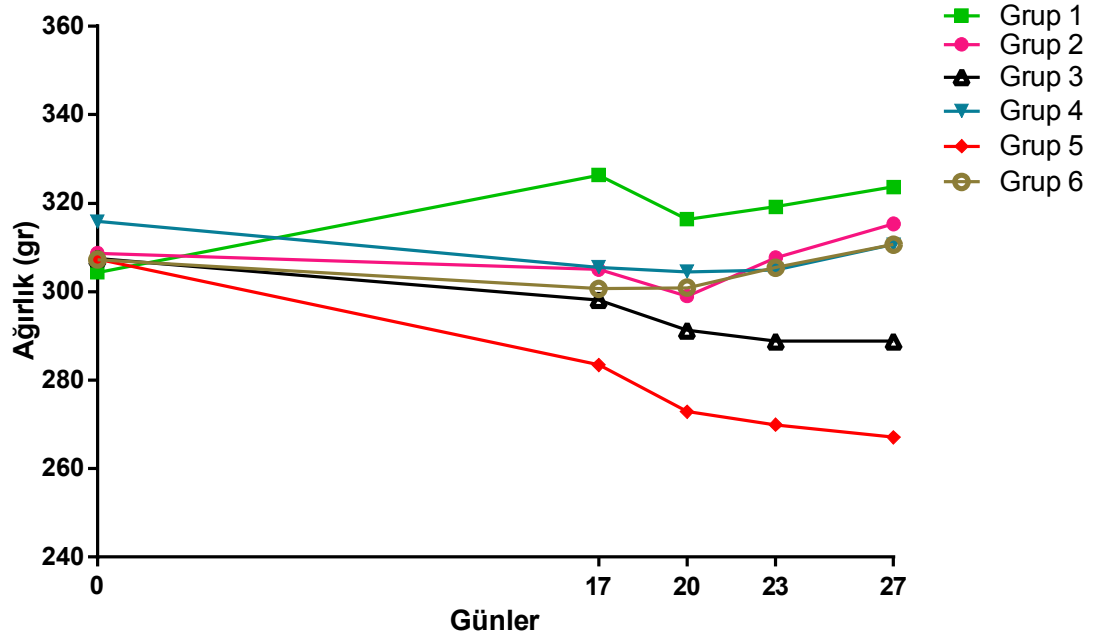
(intraperitoneal yoldan), 3. gruba irbesartan (50 mg/kg), 4. gruba karvedilol (1 mg/kg), 5. gruba irbesartan+karvedilol (50 mg/kg ve 1 mg/kg) (oral yoldan gavaj ile), 6. gruba pozitif kontrol olarak diklofenak sodyum (1 mg/kg) (intraperitoneal yoldan) uygulandı.

Yapılan ölçümlerde sıçanların ağırlık takibinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ($p>0.05$) bulunamadı (Şekil 13) (Tablo 5).

Tablo 5. Tüm gruplarda ağırlık ortalamaları (g) (Ort + SD)

	Gram 0. gün	Gram 17. gün	Gram 20. gün	Gram 23. gün	Gram 27. gün
Grup 1	304.33±21.43	326.33±22.18	316.33±21.08	319.17±20.84	323.67±21.78
Grup 2	308.71±28.65	305.00±23.63	299.00±29.50	307.71±22.12	315.29±21.85
Grup 3	307.50±5.50	298.12±9.98	291.25±9.16	288.75±8.27	288.75±10.26
Grup 4	315.88±26.02	305.50±24.46	304.50±26.78	304.88±26.84	310.63±27.31
Grup 5	307.33±13.04	283.44±37.94	272.89±34.92	269.89±27.56	267.11±30.39
Grup 6	307.25±12.46	300.63±17.61	300.88±17.33	305.38±16.37	310.63±17.61

Ort: Ortalama; **SD:** Standart sapma.



Freund's Complete Adjuvant uygulanan grupların 17. gündeki pençe hacim değerleri kontrol grubu ile (grup 1) ve 0. gündeki değerleri ile karşılaştırıldığında tüm sıçanlarda adjuvant artrit oluştuğu, sağ arka pençede inflamatuvar reaksiyon ve ödemin belirgin olduğu ve bunların istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğu saptandı (Tablo 6) (Şekil 14). Bu da FCA uygulanan tüm sıçanlarda artrit oluştuğunu göstermektedir.

17. günde uygulanmaya başlayan ilaç tedavilerinin etkisini incelemek amacıyla 20. günde pletismometre ile sağ arka ayak pençelerin ölçümünde, 17 ve 20. günler arasında grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol)'de pençe hacimlerinin 17. gündeki değerlere göre anlamlı derecede azaldığı ($p<0.05$) saptanmıştır. 17 ile 23. gün karşılaştırıldığında 4. grup (karvedilol), 5. grup (kombine) ve 6. grupta (diklofenak sodyum) uygulanan tedavilerin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) düzeyde pençe hacmindeki iflamasyonu ve ödemi azattığı saptanmıştır. 17 ile 27. gün karşılaştırıldığında, 20. gündeki gibi grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol) uygulanan gruplardaki pençe hacminde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu bulunmuştur (Tablo 6) (Şekil 14).

5. grup olan irbesartan+karvedilol kombine tedavisinde, 17. gün ile yapılan karşılaştırmada sadece 23. günde pençe hacminde anlamlı azalma gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Diklofenak sodyum uygulanan 6. grup da 17. güne göre anlamlılık yine sadece 23. günde en belirgin olarak görülmüştür ($p<0.05$). 27. günde hacimde azalma görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir (Tablo 6) (Şekil 14).

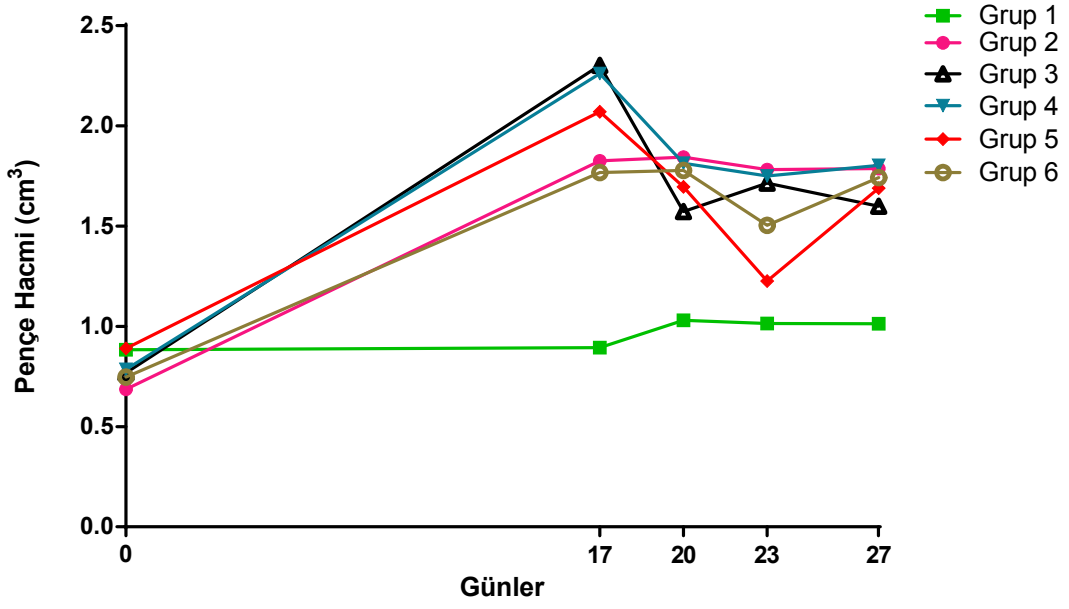
27. günde tedavi grupları kendi arasında karşılaştırıldığında pençe hacmindeki inflamasyon ve ödemi çözerek pençe hacmini azaltması açısından en etkili tedavi irbesartan uygulanan 3. grup olmuştur ($p<0.05$).

Tablo 6. Tüm gruplarda pletismometre ortalamaları (cm³) (Ort + SD)

	0. gün		17. gün		20. gün		23. gün		27.gün	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Grup 1	0.883±0.2	0.770±0.1	0.893±0.01	0.805±0.1	1.030±0.1	0.928±0.1	1.015±0.05	0.975±0.05	1.015±0.1	0.932±0.1
Grup 2	0.686±0.1	0.707±0.1	1.826±0.2*	0.732±0.1	1.844±0.2	1.077±0.07	1.781±0.2	1.027±0.1	1.787±0.2	1.131±0.1
Grup 3	0.768±0.08	0.704±0.1	2.302±0.7*	1.002±0.1	1.572±0.2 [†]	0.833±0.09	1.715±0.2	1.006±0.1	1.598±0.1 [§]	1.027±0.1
Grup 4	0.785±0.08	0.796±0.06	2.261±0.2*	0.855±0.1	1.813±0.3 [†]	0.881±0.1	1.750±0.2 [‡]	0.934±0.1	1.803±0.2 [§]	1.052±0.08
Grup 5	0.890±0.1	0.810±0.1	2.071±0.5*	0.763±0.1	1.695±0.2	0.868±0.09	1.227±0.1 [‡]	0.752±0.1	1.690±0.2	0.995±0.05
Grup 6	0.747±0.9	0.756±0.1	1.767±0.1*	0.690±0.09	1.777±0.3	0.920±0.2	1.504±0.1 [‡]	0.918±0.1	1.742±0.1	0.973±0.1

Ort: Ortalama; **SD:** Standart sapma,

*p<0.05, 0-17. gün ve kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırma, [†]p<0.05, 17-20. gün karşılaştırma, [‡] p<0.05, 17-23. gün karşılaştırma, [§]p<0.05, 17-27. gün karşılaştırma.



Şekil 14. Sağ pençe takibi (pletismometre)

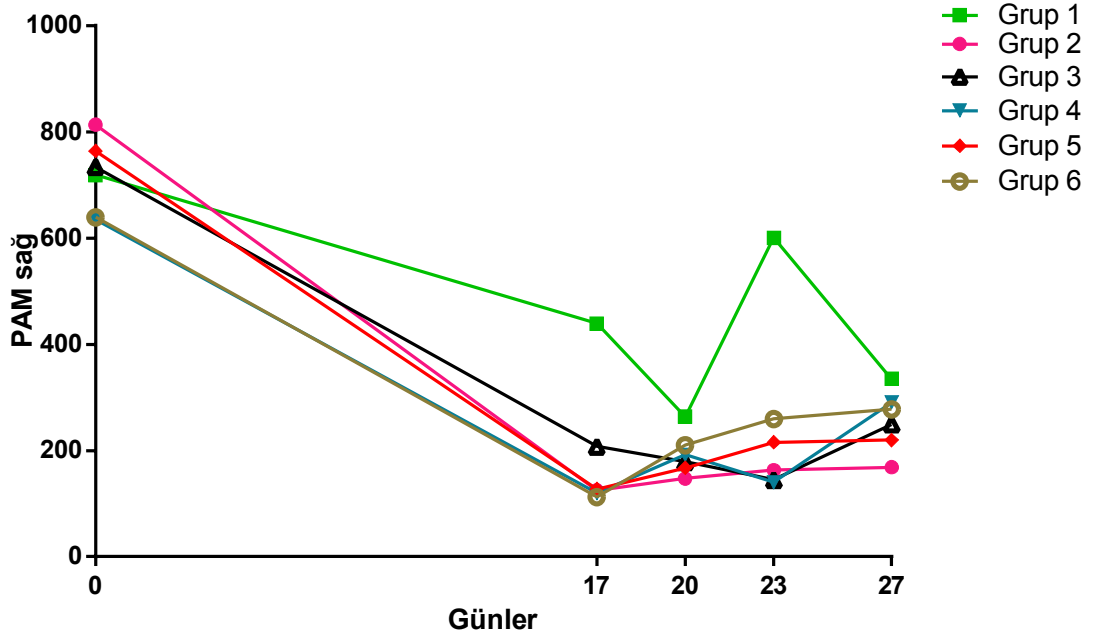
Basınç uygulama cihazıyla ekleme uygulanan basıncın oluşturduğu ağrıya karşı sıçanın bacağını çekme eşiği ve gösterdiği hipersensivite, FCA uygulaması yapılmadan önce (0. gün) tüm sıçanlarda ölçüldü. FCA uygulanmasından sonra 17, 20, 23 ve 27. gündeki değerler tüm gruplarda kaydedildi. Artritin olduğu 17. günkü değerler 0. gündeki değerlerle ve kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırıldığında FCA uygulanmasıyla inflamasyon ve ödemin olduğu tüm gruplarda (2, 3, 4, 5 ve 6. gruplar) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma görüldü ($p<0.05$). Grupların 17 ile 20. gün PAM değerleri karşılaştırıldığında sadece diklofenak sodyum uygulanan 6. grupta istatistiksel anlamlılık saptandı ($p<0.05$). 17 ile 23. gün PAM değerleri karşılaştırıldığında; 5. grup (kombine tedavi) ve 6. grup (diklofenak sodyum)'da istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p<0.05$). 17 ve 27. günkü değerler karşılaştırıldığında ise; grup 4 (karvedilol), grup 5 (kombine tedavi) ve grup 6 (diklofenak sodyum)'da istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p<0.05$) (Tablo 7) (Şekil 15).

Tablo 7. Tüm gruplarda PAM ortalamaları (gf) (Ort + SD)

	0. gün		17. gün		20. gün		23. gün		27.gün	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Grup 1	719.0±59.2	241.6±373.3	438.8±133.8	371.7±155.0	263.5±89.7	221.7±78.4	600.4±237.9	361.1±138.6	334.9±133.8	280.7±104.2
Grup 2	813.3±253.5	909.2±169.8	124.6±41.1*	345.2±53.5	146.9±73.9	450.2±212.5	162.8±50.5	125.3±32.5	167.9±52.7	175.5±48.2
Grup 3	734.1±225.5	764.6±220.5	207.4±163.7*	463.2±94.4	178.8±81.0	364.9±109.0	144.5±36.4	199.4±55.9	248.8±90.5	263.7±90.1
Grup 4	635.2±140.4	592.6±256.1	119.2±25.1*	441.4±135.2	191.7±107.7	448.8±282.6	140.2±71.4	255.0±79.3	289.8±105.1 [§]	259.8±119.3
Grup 5	764.0±150.5	763.0±181.1	127.1±47.1*	272.5±97.1	167.1±76.2	312.7±213.3	214.9±86.2 [‡]	232.3±115.1	219.3±108.9 [§]	218.6±52.2
Grup 6	639.0±148.9	739.5±135.1	112.2±20.5*	318.9±74.8	209.8±91.5 [†]	270.6±95.4	259.2±107.2 [‡]	231.8±86.2	277.4±136.2 [§]	262.2±80.2

Ort: Ortalama; **SD:** Standart sapma,

*p<0.05, 17. günde 0. gün ve kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırma, [†]p<0.05, 17-20. gün karşılaştırması, [‡]p<0.05, 17-23. gün karşılaştırması, [§]p<0.05, 17-27. gün karşılaştırılması.



Şekil 15. Sağ pençe takibi (PAM)

SERUM TNF- α DÜZEYLERİ

Serum TNF- α düzeyi ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle mikromolar (μ M) olarak ölçüldü. Yapılan ölçümde serumda TNF- α bulunamadı.

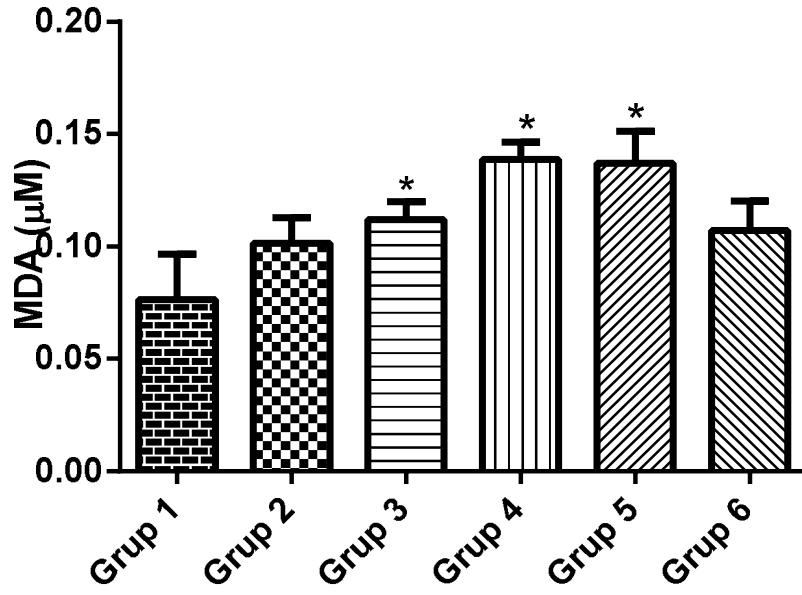
SERUM MALONDİALDEHİD DÜZEYLERİ

Serum MDA düzeyi ölçümleri TBA ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucunda oluşan renk, spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 8). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. 27. günde 1. ve 2. gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmazken; 2. gruba göre 3, 4. ve 5. gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$) (Şekil 16).

Tablo 8. MDA ortalama ve standart sapmaları (μ M)

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort\pmSD	0.076 \pm 0.04	0.099 \pm 0.03	0.110 \pm 0.02	0.134 \pm 0.01	0.152 \pm 0.03	0.103 \pm 0.02

Ort: Ortalama; **SD:** Standart sapma.



Şekil 16. Gruplara göre serum malondialdehid düzeylerinin dağılımı.

* $p < 0.05$, 27. günde 2. gruba göre, Kruskal-Wallis varyans analizi, Mann Whitney U testi.

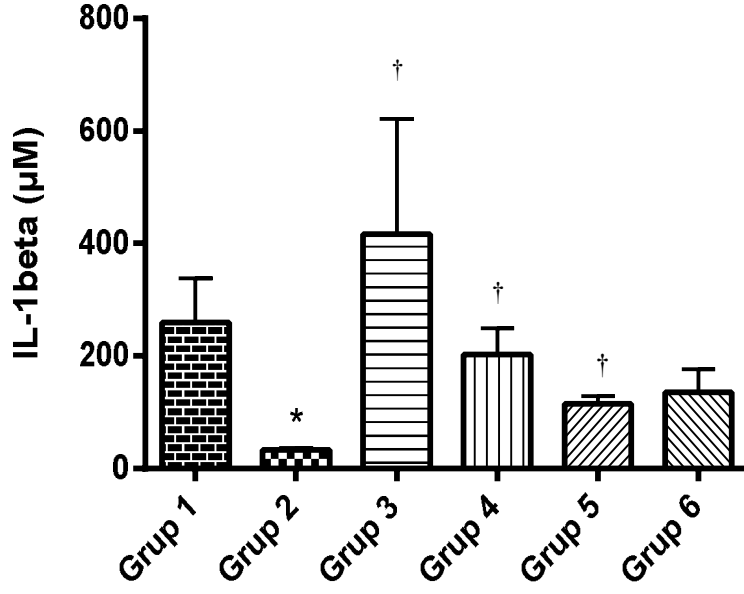
SERUM İNTERLÖKİN 1-BETA DÜZEYLERİ

Serum IL-1 β düzeyi ölçümleri ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle μM olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 9). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. FCA+salin verilen 2. grup ile kontrol grubu (grup 1) arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) fark saptandı. 27. günde 2. gruba göre grup 3 (irbesartan), grup 4 (karvedilol) ve grup 5 (irbesartan+karvedilol) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$) (Şekil 17).

Tablo 9. IL-1 β ortalama ve standart sapmaları (μM)

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort \pm SD	258.0 \pm 1.93	33.10 \pm 7.85	416.08 \pm 5.81	202.96 \pm 1.32	114.68 \pm 0.43	135.96 \pm 1.15

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



Şekil 17. Gruplara göre serum IL 1-β düzeylerinin dağılımı

*p<0.05, 27. günde 1. gruba göre, Kruskal-Wallis varyans analizi, Mann Whitney U testi.

† p<0.05, 27. günde 2. gruba göre, Kruskal-Wallis varyans analizi, Mann Whitney U testi.

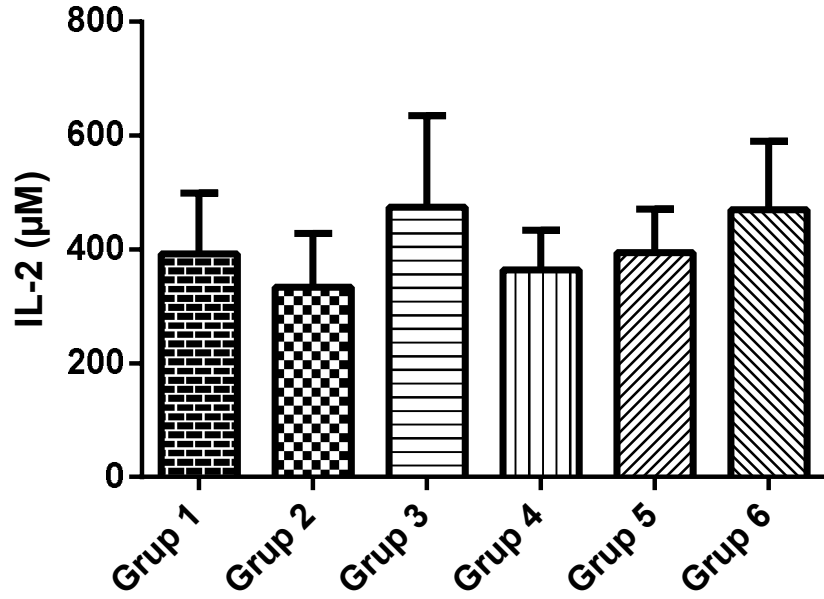
SERUM İNTERLÖKİN-2 DÜZEYLERİ

Serum IL-2 düzeyi ölçümleri ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemler µM olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 10). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 18).

Tablo 10. IL-2 ortalama ve standart sapmaları (µM)

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	392.42±2.38	333.88±2.47	474.44±4.53	364.26±1.82	394.41±2.3	469.91±3.39

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



Şekil 18. Gruplara göre serum IL-2 düzeylerinin dağılımı

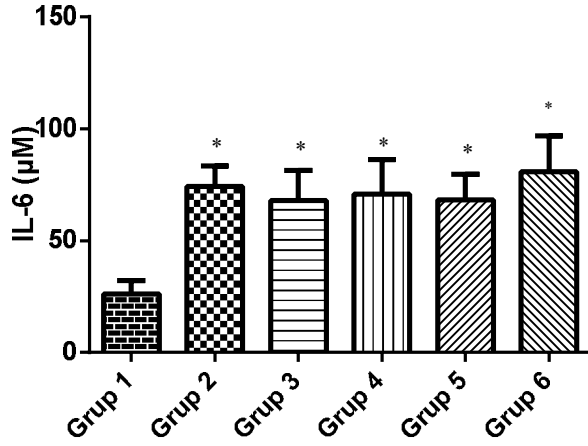
SERUM İNTERLÖKİN-6 DÜZEYLERİ

Serum IL-6 düzeyi ölçümleri ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle μM olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 11). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. Grup 1 (kontrol grubu) ile FCA uygulanan gruplar (2, 3, 4, 5 ve 6. gruplar) arasında anlamlı bir fark bulunurken ($p < 0.05$), tedavi uygulanan gruplar (grup 3, 4, 5 ve 6) arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. (Şekil 19).

Tablo 11. IL-6 ortalama ve standart sapmaları (μM)

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort \pm SD	26.36 \pm 1.2	74.13 \pm 2.4	67.94 \pm 3.8	70.95 \pm 4.3	68.20 \pm 3.4	80.63 \pm 4.5

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



Şekil 19. Gruplara göre serum IL-6 düzeylerinin dağılımı

*p<0.05, 27. günde 1. gruba göre, Kruskal-Wallis varyans analizi, Mann Whitney U testi.

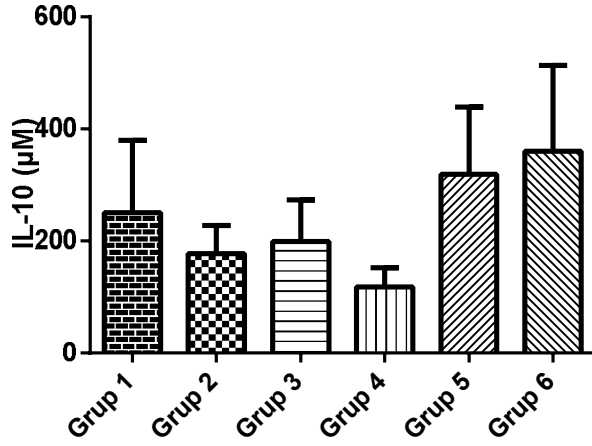
SERUM İNTERLÖKİN-10 DÜZEYLERİ

Serum IL-10 düzeyi ölçümleri ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle µM olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 12). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 20).

Tablo 12. IL-10 ortalama ve standart sapmaları

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	250.84±31.6	177.76±13.2	199.49±18.1	117.73±9.1	318.74±35.9	359.89±43.4

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.

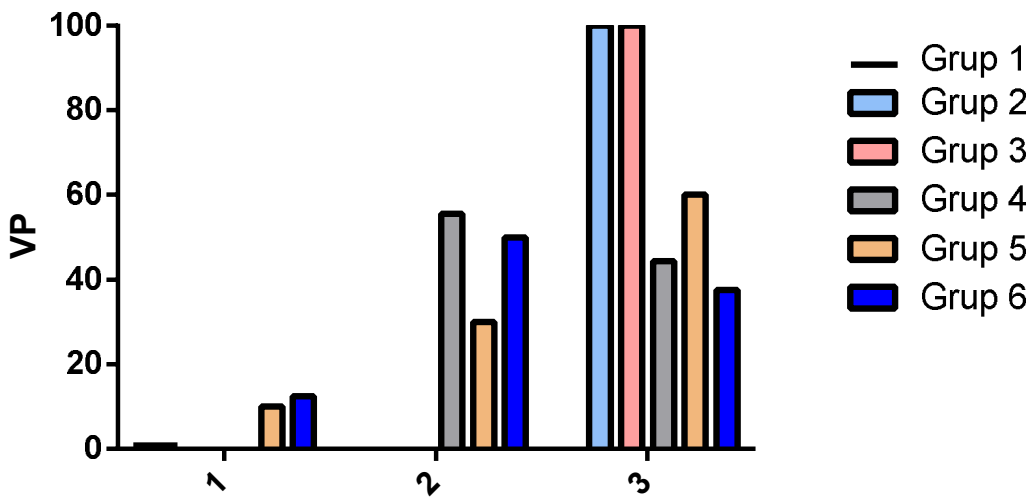


Şekil 20. Gruplara göre serum IL-10 düzeylerinin dağılımı

HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Vasküler Proliferasyon

Sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde 40'lık büyütmede 5 alan incelendi. Vasküler yapılar sayıldı ve ortalamaları alındı. 27. günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda vasküler proliferasyona rastlanmadı. 2. ve 3. gruplarda %100 vasküler proliferasyon görülürken; 4. grupta %55'inde orta, %45'inde şiddetli; 5. grubun %10'unda hafif, %30'unda orta, %60'ında şiddetli; 6. grubun %12.5'inde hafif, %50'sinde orta ve %37.5'inde şiddetli görüldü (Şekil 21).

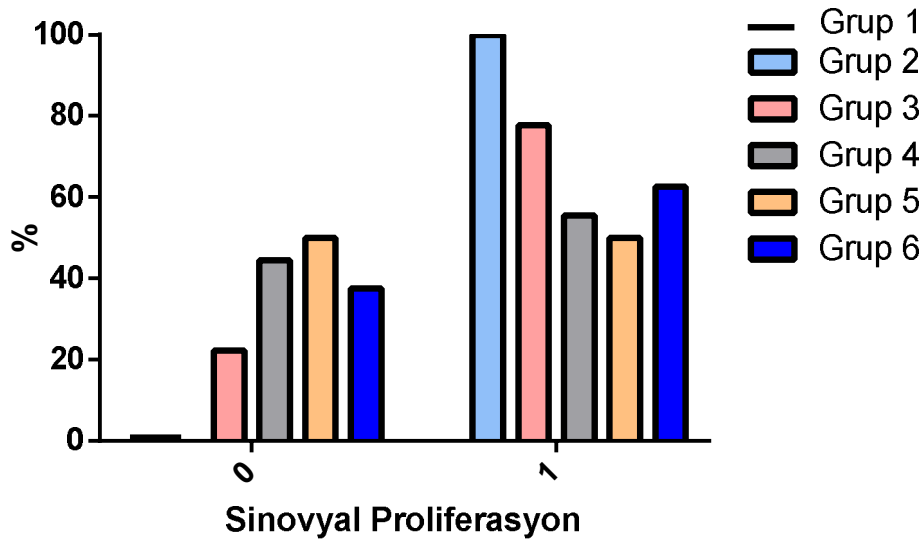


Şekil 21. Gruplara göre vasküler proliferasyon % değerleri.

0: yok, 1: zayıf, 2: orta, 3: şiddetli.

Sinovyal Proliferasyon

Sıçanların sağ arka ayak histopatolojik incelemelerinde 27. günde grup 1 (kontrol grubu) hayvanlarda sinovyal proliferasyona rastlanmadı. 2. grupta %100 sinovyal proliferasyon görülürken; 3. grupta %77.8, 4. grupta %55.6, 5. grupta %50 ve 6. grupta %62.5 oranında sinovyal proliferasyon görüldü. Sinovyal proliferasyon açısından tedavi grupları, grup 2 ile karşılaştırıldığında en az irbesartan+karvedilol verilen grup 5'te görüldü (Şekil 22).

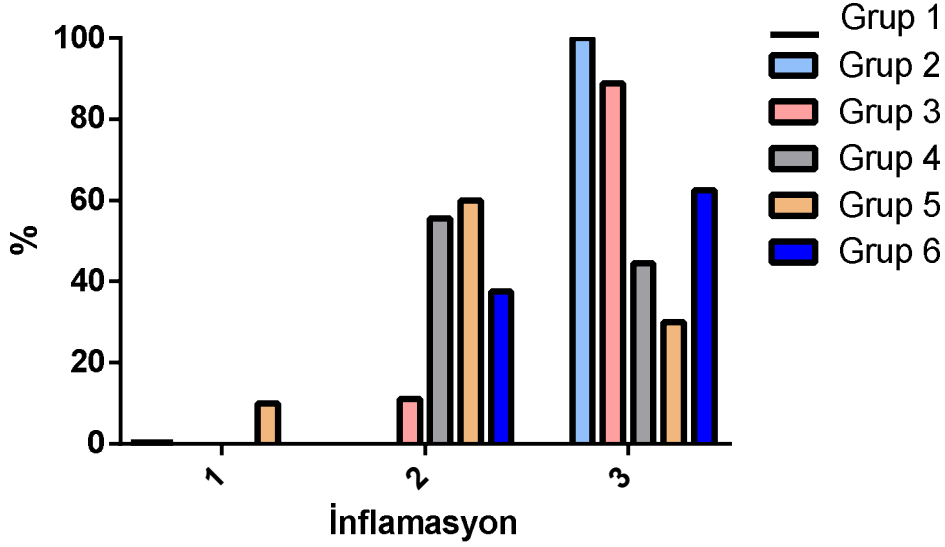


Şekil 22. Gruplara göre sinovyal proliferasyon % değerleri.

0: yok, 1: var

İnflamasyon

Yirmi yedinci günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda inflamasyona rastlanmadı. 2. grupta %100 şiddetli görülürken; 3. grubun %11.1'inde orta, %88.9'unda şiddetli; 4. grubun %55.6'sında orta, %44.4'ünde şiddetli; 5. grubun %10'unda zayıf, %60'ında orta, %30'unda şiddetli; 6. grubun %37.5'inde orta, %62.5'inde şiddetli inflamasyon görüldü (Şekil 23).

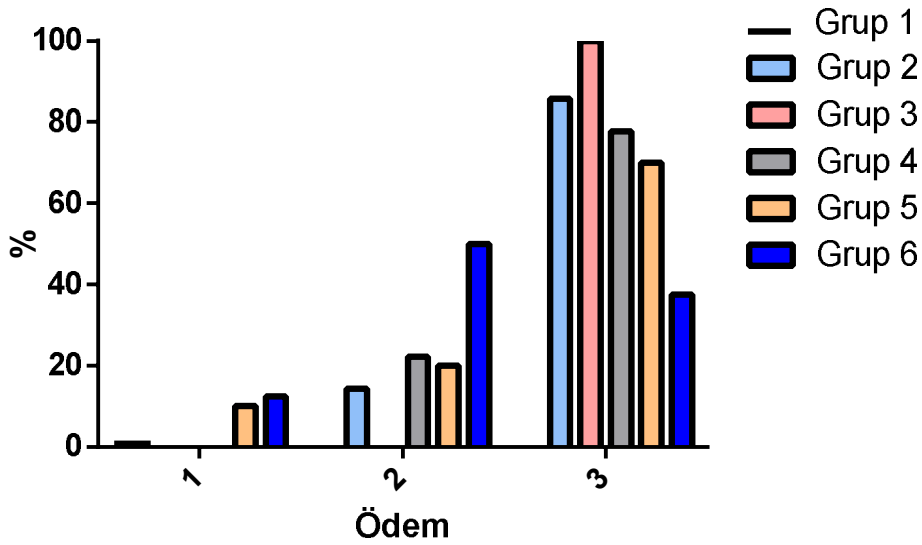


Şekil 23. Gruplara göre inflamasyon % değerleri

0: yok, 1: zayıf, 2: orta, 3: şiddetli.

Ödem

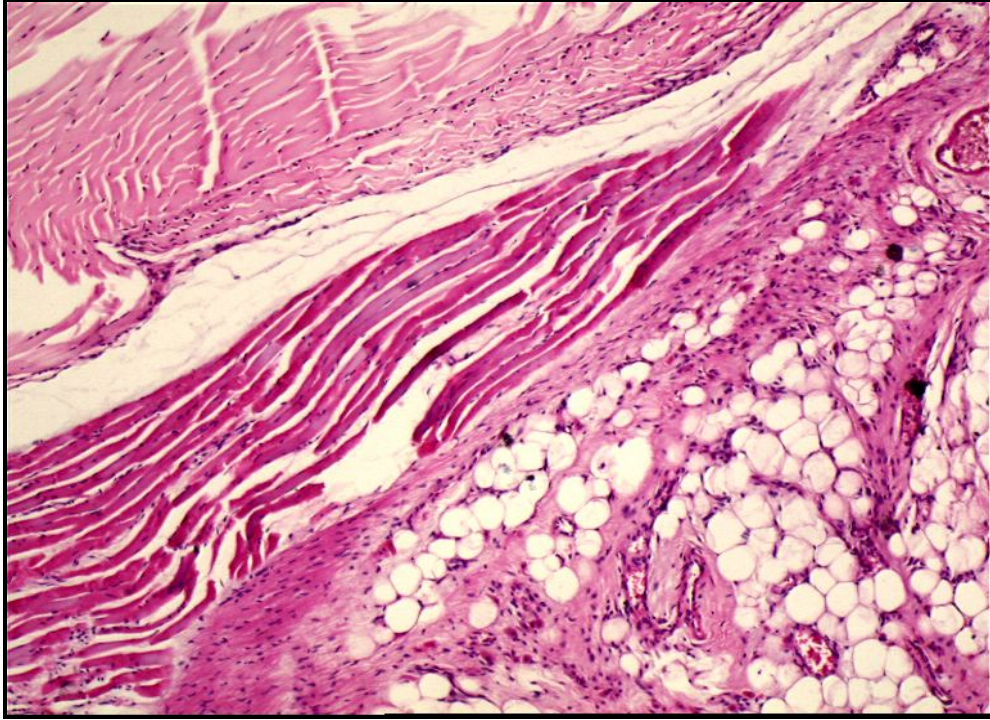
Yirmi yedinci günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda ödeme rastlanmadı. 2. grubun %14.3'ünde orta, %85.7'sinde şiddetli; 3. grubun %100'ünde şiddetli; 4. grubun %22.2'sinde orta, %77.8'inde şiddetli; 5. grubun %10'unda zayıf, %20'sinde orta, %70'inde şiddetli; 6. grubun %12.5'inde zayıf, %50'sinde orta, %37.5'inde şiddetli ödem görüldü (Şekil 24).



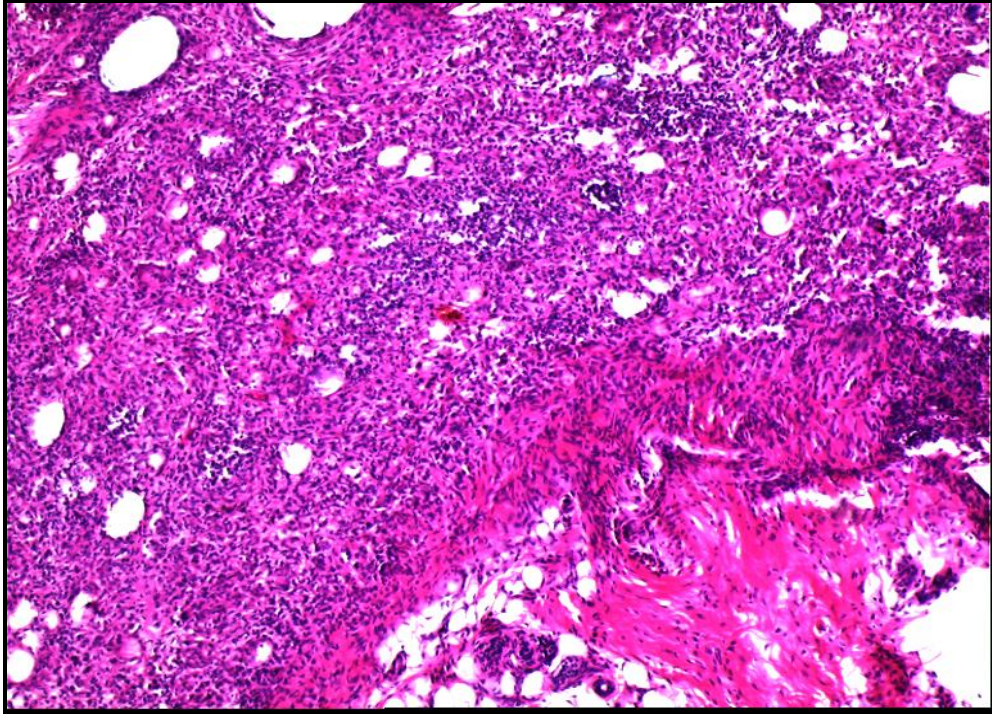
Şekil 24. Gruplara göre ödem % değerleri

0: yok, 1: zayıf, 2: orta, 3: şiddetli.

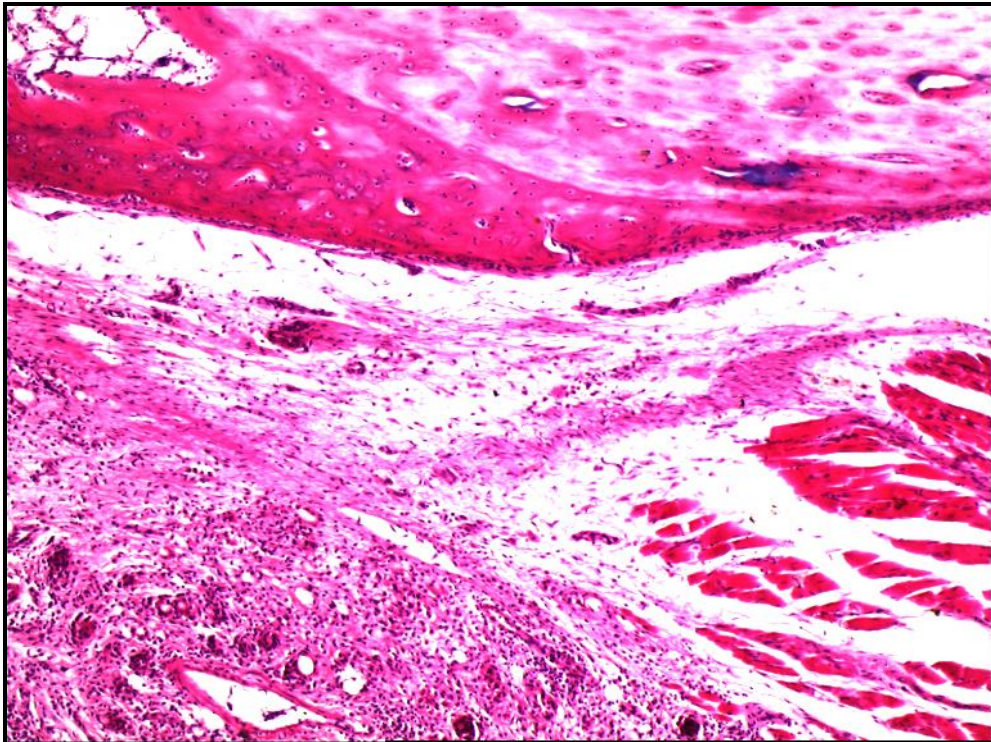
Sıçanların sol pençe histopatolojik incelemelerinde kontrolle denekler arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Histopatolojik olarak sıçanların sağ arka ayak pençeleri değerlendirildiğinde görülen normal sıçan pençesi (grup 1) (Şekil 25) ve hafif-orta-şiddetli inflamasyon, ödem, vasküler ve sinovyal proliferasyon örneklerini gösteren şekiller (Şekil 26-30) aşağıda verilmiştir.



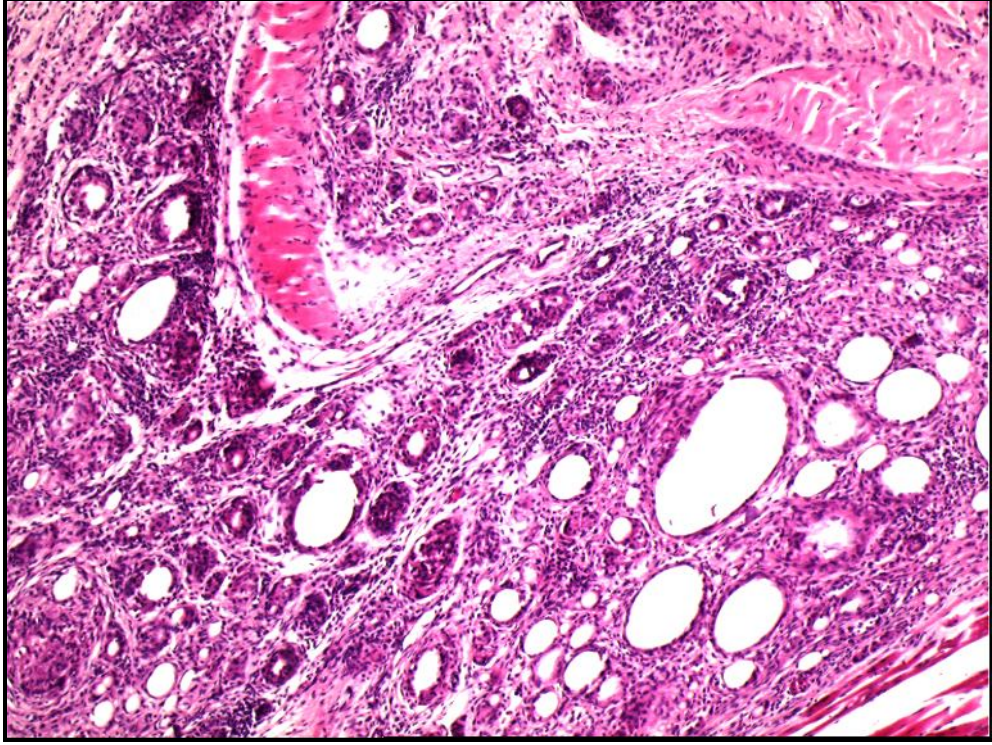
Şekil 25. Yumuşak dokuda normal morfoloji (HEx50) (kontrol grubu) (grup 1)



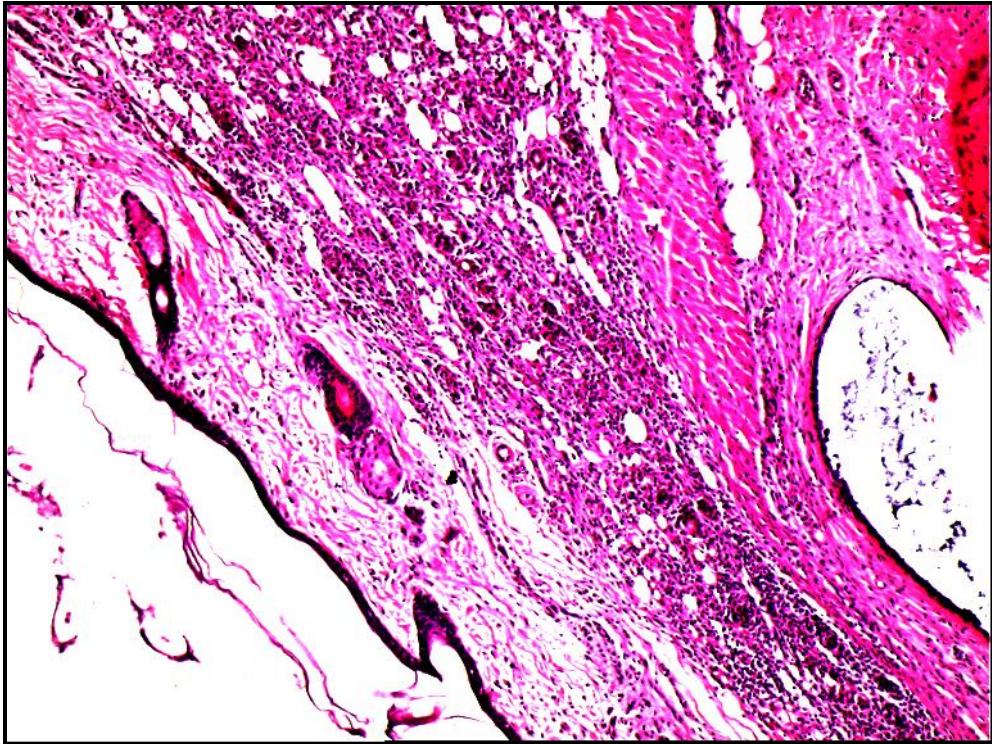
Şekil 26. Şiddetli kronik inflamasyon ve belirgin vasküler proliferasyon (HEx50) (grup 2)



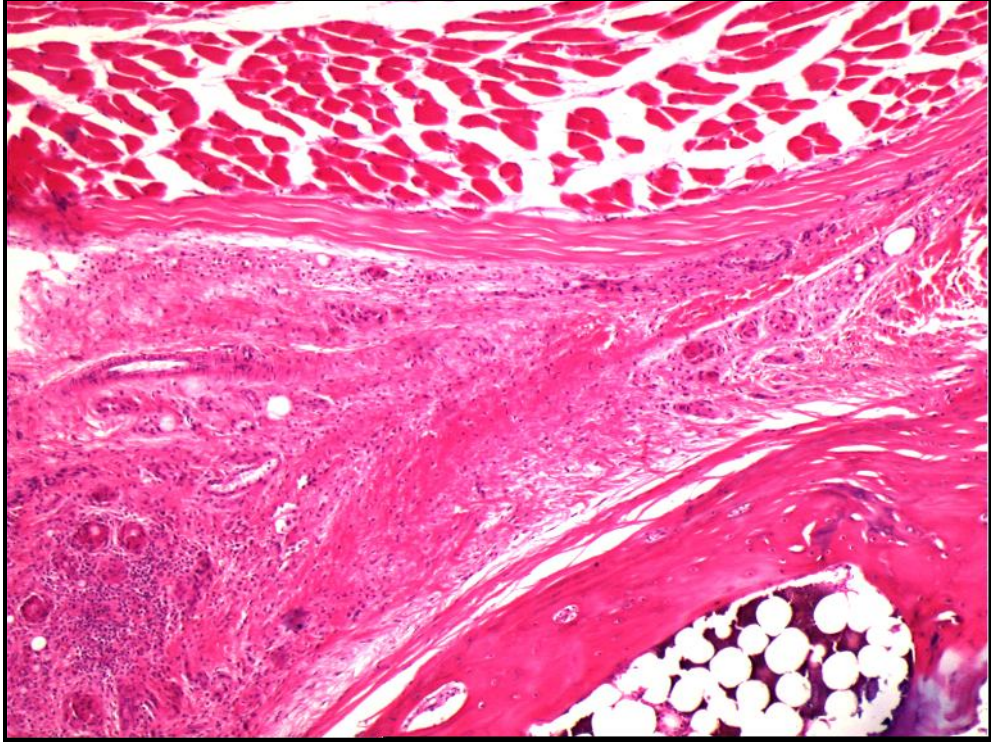
Şekil 27. Hafif-orta dereceli kronik inflamasyon ve ödem (HEx50) (grup 3)



Şekil 28. Nekrotik bağ vakuollerini arada bırakan şiddetli kronik inflamasyon ve arada proliferere damarlar (HEEx50) (grup 4)



Şekil 29. Hafif-orta dereceli kronik inflamasyon, ödem (HEEx50) (grup 5)



Şekil 30. Yumuşak dokuda normal morfoloji, minimal inflamasyon ve ödem (HEx50) (grup 6)

TARTIŞMA

Romatoid artrit, eklem ve ekstra artiküler tutulum gösteren kronik ve multisistemik inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. İnflamatuvar artritler arasında en sık görülenidir. Dünya çapında yetişkin nüfusun yaklaşık %1'ini etkiler. Kadın/erkek oranı 3/1'dir (1). Etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Büyük ve küçük eklemlerdeki etkisinin yanında sistemik etkileri de görülmektedir. Bu nedenle kalp, akciğer ve gözler dahil olmak üzere tüm vücudu etkileyebilir (2,3).

Romatoid artrit tedavisini araştırmak için birçok deneysel artrit modeli geliştirilmiştir. Bu modellerden biri de FCA'nın sıçan pençesine injeksiyonu ile oluşturulan adjuvant artrit ve RA modeli olarak sıklıkla kullanılmaktadır (24). Bir adjuvant (parafin yağı) ile güçlendirilmiş bir antijene (mikobakteri kapsülündeki) karşı immünolojik yanıt olarak gelişir. Hücrel immün yanıt olarak oluşur ve histopatolojik görünümü RA ile çok benzerdir.

Yaptığımız çalışmada adjuvant artrit oluşturmak için 0. günde, sıçanların sağ arka pençelerine tek doz intradermal 0.1 ml FCA injeksiyonu uygulandı. Bunu takiben 17. günde pletismometre cihazı ile hacimsel olarak yapılan ölçümlerde, FCA uygulanan tüm gruplarda sağ pençede adjuvant artrit oluşturduğu ödem değerlendirildi. Kontrol (grup 1) grubuna göre, diğer grupların sağ pençe çapında istatistiksel olarak anlamlı artış ($p<0.05$) olduğu görüldü. Bu bulgumuz adjuvant artrit modelini başarıyla oluşturduğumuzun göstergesidir. Sol pençelerde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

Nonsteroid antiinflamatuvar ajanlar, prostaglandin sentez inhibisyonuyla etkilerini gösterirler. Bu ilaçların, sıçanlarda oluşturulan adjuvant artritte pençedeki ağrı, ödem ve eritem gibi inflamatuvar parametreleri azalttığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (69,70).

Diklofenak sodyum, artrit tedavisinde sıklıkla kullanılan bir nonsteroid antiinflamatuvardır. Diklofenak sodyum, irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin adjuvant artritte görülen inflamasyon ve ağrı üzerindeki etkisini karşılaştırmak için pozitif kontrol amacıyla kullanılmıştır. Çalışmamız irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan artrit modelinde etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır.

Sıçanların ağırlık takibinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. 17 ve 27. günde 2. gruba göre tüm tedavi grupları karşılaştırıldığında, yapılan ölçümlerde azalma olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Çalışmamızda oluşturduğumuz adjuvant artrit tedavisine 17. gün başlandı ve 27. güne kadar devam edildi. 17. günde FCA uygulanan grupların (grup 2, 3, 4, 5 ve 6) kontrol grubu (grup 1) ile ve 0. gündeki pençe hacmi ölçüm değerleri karşılaştırıldığında, FCA uygulanan tüm sıçanlarda 0. gün ve hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubuna (grup 1) göre pençe hacimlerinin artmış olması, FCA uygulanan (grup 2, 3, 4, 5 ve 6) sıçanlarda artrit oluştuğunun göstergesidir ($p<0.05$). 17. gündeki pletismometre ile hacimsel olarak ölçülen değerlerin 20. günde grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol)'de; 23. günde grup 4 (karvedilol), grup 5 (kombine tedavi) ve grup 6 (diklofenak sodyum)'da; 27. günde ise grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol)'de azalmış olması nedeniyle irbesartan, karvedilol, kombine ve diklofenak sodyum tedavilerinin artritteki inflamasyon üzerinde etkili olabildiklerini söyleyebiliriz. Karvedilol, kombine ve diklofenak sodyum tedavilerinin özellikle 23. günde daha etkili; irbesartan ve karvedilol ise 27. güne kadar antiinflamatuar etkinlik göstermişlerdir. Literatürde daha önceden irbesartan, karvedilol ve kombine tedavi ile yapılmış herhangi bir artrit çalışması olmadığından bulgularımızı başka yayınların sonuçları ile karşılaştırma imkanımız olmamıştır.

Çalışmamızda ağrı düzeyleri PAM cihazı ile FCA uygulaması yapılmadan önce (0. gün) tüm sıçanlarda ölçüldü. Artrit oluşturulan tüm gruplarda (grup 2, 3, 4, 5 ve 6) 17. gün değerleri ile 0. gün değerleri ve kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırıldığında; FCA uygulanan gruplarda (grup 2, 3, 4, 5 ve 6) azalma görülmüştür ($p<0.05$). 17. gündeki ölçülen PAM değerlerinin 20. günde sadece grup 6 (diklofenak sodyum)'da; 23. günde grup 5 (kombine tedavi) ve grup 6 (diklofenak sodyum)'da; 27. günde ise grup 4 (karvedilol), grup 5 (kombine tedavi) ve grup 6 (diklofenak sodyum)'da azalmış olması karvedilol, kombine ve diklofenak sodyum tedavilerinin artritte meydana gelen ağrı üzerinde etkin rol oynadıklarını söyleyebiliriz. Özellikle diklofenak sodyumun yapılan diğer artrit çalışmalarında gösterdiği analjezik etkisi, bizim çalışmamızda da bir kez daha kanıtlanmıştır. Literatürde karvedilolün

analjezik etkinliğini karşılaştırabileceğimiz bir çalışma olmamasına rağmen, bizim çalışmamızda karvedilolün artrit tedavisinde analjezik etki gösterdiğini söyleyebiliriz.

Romatoid artrit bulgularını değerlendirmek amacıyla çalışmamızın sonunda sıçanların pençelerini histopatolojik olarak inceledik. 27. günde vasküler proliferasyon sayılarının median değerleri, grup 1 (kontrol)'e göre grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). 2. grup ile tedavi grupları (3, 4, 5 ve 6. gruplar) karşılaştırıldığında grup 4 (karvedilol) ve grup 6 (diklofenak sodyum) arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p<0.05$).

Diğer artrit bulgularına baktığımızda sinovyal proliferasyon %50 ile en az 5. grupta görüldü. Sıçanların sağ arka ayak histopatolojik incelemelerinde 27. günde grup 1 (kontrol grubu) hayvanlarda sinovyal proliferasyona rastlanmadı. 2. grupta %100, 3. grupta %77.8, 4. grupta %55.6 ve 6. grupta %62.5 oranında sinovyal proliferasyon görüldü. Sinovyal proliferasyon grup 2 ile karşılaştırıldığında en az grup 5'te görüldü. 27. günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda inflamasyona rastlanmadı. 2. grupta %100 şiddetli görülürken; 3. grubun %11.1'inde orta, %88.9'unda şiddetli; 4. grubun %55.6'sında orta, %44.4'ünde şiddetli; 5. grubun %10'unda zayıf, %60'ında orta, %30'unda şiddetli; 6. grubun %37.5'inde orta, %62.5'inde şiddetli inflamasyon görüldü. 27. günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda ödeme rastlanmadı. 2. grubun %14.3'ünde orta, %85.7'sinde şiddetli; 3. grubun %100'ünde şiddetli; 4. grubun %22.2'sinde orta, %77.8'inde şiddetli; 5. grubun %10'unda zayıf, %20'sinde orta, %70'inde şiddetli; 6. grubun %12.5'inde zayıf, %50'sinde orta, %37.5'inde şiddetli ödem görüldü. Tedavi grupları, FCA sonrası salın verilen 2. grup ile karşılaştırıldığında sinovyal proliferasyon, inflamasyon ve ödem bakımından en az 5. grupta (irbesartan + karvedilol) görüldü. Bu da bize kombine tedavinin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

İrbesartan; renin anjiyotensin aldosteron sisteminde ARB olarak görev yapar ve hipertansiyon tedavisi için kullanılmaktadır. AT₂ reseptörlerinin, apoptozis, osmoregülasyon, serebral kan akımının otoregülasyonu, anjiyogenez ve vazokonstriksiyonu inhibe edici birçok özelliği bilirse de aydınlatılmamış yönleri de bulunmaktadır. ACE'yi inhibe etmez ve bradikinin yanıtını etkilemez. Bu özelliği sayesinde ACE inhibitörü ilaçların öksürük yaptığı hastalarda onların yerine kullanılabilir (44,46,48). İrbesartan genel olarak iyi tolere edilir. Yan etkileri hafif ve geçici olup irbesartan dozu ile bağlantılı değildir (50). İrbesartanın antiinflamatuvar etki mekanizmasını incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda, endotel AII ve NO gibi vasküler homeostazı regüle eden maddeler üreterek, vazodilatasyon ve

vazokonstrüksiyon arasındaki dengeyi sağladığı gösterilmiştir (51,52). Yakın zamanda, bazı araştırmacıların, irbesartanın belli sıçan modellerinde; ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, artriyal fibrilasyon, diyabet, diyabetik nefropati patolojisinde oksidatif stresi inhibe edebildiğini bildiren çalışmaları bulunmaktadır (53). Bu etkisini irbesartanın; NADPH oksidaz inhibisyonu ile O₂ düzeyini düşürerek ve okside LDL düzeyinin ve ileri glikolizasyon son ürünlerinin azalması sonucu oksidatif yükü azaltarak yaptığı gösterilmiştir (54,55). Aynı zamanda irbesartanın yapısındaki N-H bağlarınının da bu etkisine katkı yaptığı araştırmacılar tarafından düşünülmektedir. Ayrıca nalokson tarafından bloklandığında, intraserebroventrüküler üzerinden analjezi üretebildikleri bildirilmiş, aynı zamanda AII'nin pro-nosiseptif aktivitesi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (56).

Karvedilol; β_1 , β_2 ve α_1 reseptörlerini bloke eder. Aynı zamanda β blokajından bağımsız olarak kardiyoprotektif, vazoprotektif, antioksidan ve antiproliferatif özelliklere sahip olan bir β blokördür. Kalp yetersizliği ve miyokard infarktüsü sonrası tedavide klinik etkinliği kanıtlanmış bir ilaçtır. Güvenli bir şekilde çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılır. Yapılan çalışmalarda; kalp yetmezliği olan hastalarda karvedilol ile metoprolol karşılaştırıldığında, karvedilolün anlamlı derecede renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızını artırdığı gösterilmiştir (57,58,61). Karvedilol ağız yoluyla alındıktan sonra hızla emilir. Hızlı ve büyük oranda metabolize edilir. Karvedilolün yan etki profilinde ise çoğunlukla β reseptör blokajı ile ilgili olan bradikardi görülmektedir. Karvedilol güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğe sahip bir ajandır. Karvedilol oksidatif stres belirteçlerini (lipid peroksidaz, NO ve protein tiyoller) ve inflamatuvar sitokinlerin salınımını (TNF- α ve IL-6) azaltır (61). Fakat yaptığımız çalışmada karvedilol TNF- α ve IL-6 seviyelerini düşürmemiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, karvedilolün antioksidan etkinliğini, yapıdaki N-H bağından hidrojenin soyutlanarak daha kararlı bir radikal olan azotun oluşumu ile gösterdiği; bu da N-H grubunun radikalleri temizleme yeteneği olarak düşünüldüğü çalışmalar mevcuttur (65,66). Karvedilolün analjezik etkinliğini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Fakat yaptığımız çalışmada karvedilol analjezik etkinlik göstermiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda serbest radikallerin RA'nın patogenezinde rol oynadığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Normal sinovyal sıvıda mononükleer hücre hakimiyeti bulunmaktadır. RA'lı sinovyal sıvıda ise baskın hücre olan polimorfonükleer lökositlerde, fagositoz esnasında süperoksid anyonları meydana gelmekte ve bu anyonlar bağ dokusu elemanları üzerine zararlı etkiler oluşturmaktadır (6). Serbest radikaller; dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan

bileşikler olup pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) ve nötr olabilir (37,38). Ekzojen kaynakları arasında stres, infeksiyonlar, ilaç zehirlenmeleri, radyasyon, sigara dumanı, hiperbarik oksijen, metal iyonları, asbest lifleri, ozon, karbonmonoksit, silika ve aflatoksin B1 sayılabilir (39).

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşerek oksidatif stres meydana getirirler. Nötralize edilemeyen serbest radikaller, hücre membranında lipid ve proteinleri yok ederek, DNA'da kırılma ve mutasyonlara yol açarak vücutta ciddi hasar oluşturabilirler (40).

Serbest radikaller, organizmada en sık olarak lipid yapılarında oluşur. Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Lipid radikaller yüksek oranda sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubu MDA'dır (42). Yapılan birçok çalışmada, RA'lı hastalarda plazma MDA düzeyleri sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur (71,72). Taştekin ve ark. (24) yaptığı çalışmada adjuvant artritli sıçanlarda plazma MDA düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre arttığını görmüşlerdir. Ediz ve ark. (73) RA'lı hastaların eklem sıvılarında MDA düzeylerinde artış olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda MDA değerleri karşılaştırıldığında, 2. gruba göre 3, 4 ve 5. gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ($p < 0.05$) bulunmasına rağmen; ölçümlerde elde edilen değerlerin 2. gruba göre yüksek olması bize oksidan etki oluşturduklarını gösterir. Elde edilen bu sonuç bize artritli sıçanlarda irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin antioksidan etkinliğinin olmadığını göstermiştir.

Romatoit artrit gibi kronik inflamasyon ile karakterize olan bir otoimmün hastalıkta, T-hücre fonksiyonlarının örneğin sitokin salınımının önemi büyüktür. Sinovyal hücre proliferasyonu meydana getiren birçok sitokin, RA'da membran hiperplazisi ve pannus oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. IL-1 de, RA'lı hastaların hem inflamatuvar eklem sıvılarında hem de aktif hastaların periferik kanlarında yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda artritli grupların sağlıklı kontrol gruplarına göre IL-1 β seviyeleri yüksek bulunmuştur (25). Saliba ve ark. (74) gebeliğin 19-20. günlerinde E.coli lipopolisakkaritleri verilen sıçanların yenidoğan yavrularında beyinde IL-1 β sitokin yanıtının arttığı ve bunun da hipertermi, hipotansiyon, serebral kan akımı azalması, iskemi ve asidoz yoluyla serebral zedelenmeye yol açtığını bulmuşlardır. Olajide ve ark. (75) kriptoleptin'nin antiinflamatuvar etkinliğini göstermek için yaptıkları çalışmada IL-1 β , TNF- α ve IL-6 üretimini inhibe ettiğini

bulmuşlardır. Aydın ve ark. (26) yaptığı çalışmada omurilik travması sonrası omurilik dokusunda proinflamatuvar interlökin olan IL-1 β seviyesinde zaman bağımlı olarak yükseldiğini görmüşlerdir. Göral ve ark. (76) aktif ülseratif kolitli hastaların inflame kolonundaki makrofajların, IL-1 β , TNF- α ve IL-6 sentezini engellemek için yaptıkları çalışmada IL-1 β ve TNF- α düzeylerinde hasta gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır. Bu bulgulardan yola çıkarak yaptığımız çalışmada kontrol grubu (grup 1) ve salin grubu (grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen, yapılan ölçümlerde salin grubu (grup 2)'nda IL-1 β seviyesinin yüksek olması gerekirken, düşük bulunmuştur. Bu sonuç bizi yapılan bir takım deneysel ölçüm hatalarının olabileceğini düşündürmektedir. Salin grubu (grup 2) ile tedavi uygulanan gruplar (grup 3, 4, 5 ve 6) karşılaştırıldığında; grup 3 (irbesartan), grup 4 (karvedilol) ve grup 5 (kombine tedavi)'de anlamlılık bulunmuştur ($p < 0.05$).

İnterlökin-2, T lenfositlerin otokrin ve parakrin büyüme faktörüdür. En önemli immünoregülatör sitokinler arasındadır. Yapımı antijen uyarısına karşı geçici yanıt olarak oluşur (34). Ignacio ve ark. (77) yaptığı çalışmada elde ettikleri verilerde göğüs tümörü gelişiminde IL-2 ve reseptörlerinin ekspresyonunda artış olduğunu göstermişlerdir. Kurum ve ark. (78) iskemik kardiyomiyopati hastalara karşı, dilate kardiyomiyopati hastalarda karvedilolün yararlı etkilerinin olup olmadığını belirlemek için yaptıkları çalışmada; IL-2 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin karvedilol tedavisinden 4 ay sonra her iki grupta da önemli bir azalma olduğunu bulmuşlardır. Bu konu da yapılan diğer bir çalışmada ise irbesartanın böbrek hastalarının idrarında proinflamatuvar sitokinlerin atılımını azalttığı, ilave olarak doza bağımlı bir şekilde renoproteksiyon sunduğu gösterilmiştir (79). Bizim çalışmamız da ise; gruplar arasında IL-2 düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

İnterlökin-6 bağışıklık yanıtı, akut faz reaksiyonu ve hematopoiesis düzenlenmesinden sorumlu olan pleiotropik sitokindir. İnflamatuvar olaylarda mononükleer fagositlerden mikrobik uyarılara direkt yanıt olarak ve TNF ile IL-1 üretiminin sonucunda salınır (25,26). IL-6 çeşitli uyarılara karşılık olarak akut faz protein üretimini uyarır. Akut faz değişiklikleri inflamasyonun varlığını ve şiddetini yansıtmak, aynı zamanda tanı ve tedavi için de klinik rehber olarak kullanılmaktadır (32). IL-6'nın kemik yapım-yıkım dengesi üzerine etkisi belirgindir. Bu denge bozulduğunda erozyonlar ve kemik kayıpları gelişebilmektedir. IL-6 hematopoetik kök hücre üzerinden osteoklastların toplanmasını artırır, osteoblast sayısı azalır, kemik resorpsiyonu hızlanır ve hasarlı bir kemikleşme meydana gelir. IL-6, RA dışında multiple myelomda kemiklerde görülen litik lezyonlardan da sorumlu tutulmaktadır (80,81).

Gabay'ın yaptığı çalışmada (32) RA'da eklem sıvısında IL-6 düzeyleri ve inflamasyon belirteçleri arasında bir ilişki olduğunu; kronik inflamasyon hastalıklarının tedavisinde de IL-6 blokajının araştırılmasının gerekliliğini vurgulamaktadır. Çalışmamızda; grup 1 (kontrol grubu) ile FCA uygulanan gruplar (2, 3, 4, 5 ve 6. gruplar) arasında anlamlı bir fark bulunurken ($p<0.05$), tedavi uygulanan gruplar (grup 3, 4, 5 ve 6) arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

İnterlökin-10 insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokindir. IL-10, T ve B hücreleri, monositler ve de makrofajlar dahil olmak üzere çeşitli hücre türleri tarafından üretilir. IL-10 koruyucu aktivitesini IL-1 β , TNF- α , IL-8, IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi inflamasyon mediyatörlerini inhibe ederek gösterir (26). IL-10 immün cevabın önemli bir regülatörüdür. IL-10 çoğu sistemik hastalıkta ve inflamatuvar durumlarda dolaşımında ölçülebilir (35). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, çeşitli viral enfeksiyonlar ve IL-10 genotipleri arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir. Etem ve ark. (82) yaptıkları çalışmada özellikle IL-10 geninin düşük üretim düzeyi ile beraberlik gösteren haplotiplerle enfeksiyonun şiddeti arasında bazı ilişkilerin olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular doğrultusunda IL-10'un antiinflamatuvar sitokin olduğu gösterilmektedir. Zhu ve ark. (83) FCA injekte ettikleri sıçanların serumunda IL-10 düzeylerinde azalma olduğunu, tedavi sonrasında ise IL-10 üretiminin devam ettiğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise; gruplar arasında IL-10 düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tümör nekrozis faktör- α , endotoksin ile karşılaşmış makrofajlar aracılığıyla meydana getirilen ve salınan güçlü bir biyolojik maddedir. TNF, IL-1 ile birlikte ya da ayrı ayrı sistemik inflamasyonu tetiklemekte ve bununla ilgili belirtilerin (örn. ateş) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan ve aynı zamanda bir endotoksin olan LPS, TNF- α üretimini tetiklemektedir (29). Navalkar ve ark. (84) koroner arter hastalığının inflamasyonu tetiklediğini ve irbesartan alan gruplarda inflamasyon moleküllerinin azaldığını; TNF- α düzeylerinin de hasta gruplarda kontrol grubuna göre %40-100 arasında daha da yükseldiğini göstermişlerdir. Nessler ve ark. (85) sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu olan hastalarda TNF- α düzeylerinde artış olduğunu; karvedilol alan hastalarda sol ventrikül sistolik fonksiyonu, egzersiz toleransının ve oksijen tüketiminde artma olduğunu, TNF- α düzeyinin ise azaldığını göstermişlerdir. Çalışmamızda; deney sonunda yapılan ölçümlerde TNF- α bulunamamıştır. Bu sonuç bize deneysel bir takım ölçüm hatalarının olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, FCA'nın sıçanların sağ arka ayak pençelerine uygulanması ile oluşturulan adjuvant artrit modelinde, irbesartan ve karvedilolün deneysel çalışmalar ile yapısındaki N-H bağları nedeniyle antioksidan etki göstermelerine rağmen, bizim çalışmamızda irbesartan ve karvedilolün antioksidan etkinlik göstermediğini; artrit inflamatuvar belirtilerinde ise irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin antiinflamatuvar etkileri nedeniyle pençe hacminde azalma yapabildiklerini söyleyebiliriz. Analjezik aktiviteleri karşılaştırıldığında ise karvedilol, kombine tedavi ve pozitif kontrol grubu olarak çalıştığımız diklofenak sodyumun etkili olduğunu söyleyebiliriz. Antiinflamatuvar, antioksidan ve analjezik etkilerinin değerlendirilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması, irbesartan ve karvedilolün etki mekanizmalarının açıklanabilmesi yönünde faydalı olabilecektir.

SONUÇLAR

Çalışmamızda sıçanların sağ arka ayak pençelerine FCA'nın intradermal olarak tek doz verilmesiyle oluşturduğumuz adjuvant artritte irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin etkilerini inceledik. İncelemeler sonucunda elde edilen veriler aşağıdaki gibidir;

1. FCA uygulamasından sonraki 17. günde tüm gruplarda sağ ve sol pençede adjuvant artrit oluşturduğu ödem değerlendirildi. Kontrol (grup 1) grubuna göre, FCA uygulanan grupların sağ pençe hacminde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü. Bu bulgumuz adjuvant artrit modelini başarı ile gerçekleştirdiğimizin göstergesidir.
2. Sol pençeler 17. günde kontrol grubu (grup 1) ile karşılaştırıldığında pençe hacimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p < 0.05$).
3. Sıçanların ağırlık takibinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.
4. 17. günde uygulanan ilaçların etkilerini incelemek amacıyla 20. günde pletismometre ile ölçülen pençe hacmi değerleri karşılaştırıldığında grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol)'de anlamlı azalma görüldü ($p < 0.05$).
5. 17 ve 23. gün değerleri karşılaştırıldığında 4. grup (karvedilol), grup 5 (kombine tedavi) ve 6. grup (diklofenak sodyum)'da pençe hacmindeki inflamasyonu ve ödemi azalttığı saptanmıştır.
6. 17 ile 27. gün karşılaştırıldığında, 20. gündeki gibi grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol)'deki pençe hacimlerinde anlamlı azalma bulunmuştur.

7. 27. günde tedavi grupları kendi arasında karşılaştırıldığında pençe çapındaki inflamasyon ve ödemi çözümlenerek pençe hacmini azaltması açısından en etkili tedavi irbesartan uygulanan 3. grup olmuştur.
8. PAM ile yapılan ağrı eşiği ölçümlerinde; 0 ile 17. gün değerleri karşılaştırıldığında artrit oluşturulan sıçan grupları (grup 2, 3, 4, 5, ve 6) ile 1. grup (kontrol) değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlendi ($p < 0.05$).
9. 17 ile 20. gün PAM değerleri karşılaştırıldığında sadece diklofenak sodyum uygulanan 6. grupta istatistiksel anlamlılık saptandı ($p < 0.05$).
10. 17 ile 23. gün PAM değerleri karşılaştırıldığında; 5. grup (kombine tedavi) ve 6. grup (diklofenak sodyum)'da istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p < 0.05$).
11. 17 ve 27. günkü değerler karşılaştırıldığında ise; grup 4 (karvedilol), grup 5 (kombine tedavi) ve grup 6 (diklofenak sodyum)'da istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p < 0.05$).
12. Adjuvant artritte irbesartan ve karvedilolün antiinflamatuvar etkileri karşılaştırıldığında; irbesartan pençe hacmi değerlerini daha çok azaltmıştır.
13. Oksidatif stres üzerindeki etkiler karşılaştırıldığında; tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Bu da bize irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin antioksidan etkiye sahip olmadığını göstermiştir.

Sonuçlar; irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin deneysel adjuvant artrit modelinde pençe hacmi ölçümleri ve histopatolojik veriler doğrultusunda irbesartan tedavisinin antiinflamatuvar etkisinin daha fazla olduğunu göstermektedir. Yapılan ağrı düzeyi ölçümlerinde; karvedilolün ve kombine tedavinin analjezik etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermektedir. İrbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin oksidatif stres üzerindeki etkinliklerinde ise anlamlı sonuçlar bulunamamıştır. Bu konuda daha kapsamlı ve ayrıntılı araştırmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Çalışmamızda irbesartan ve karvedilolün sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan adjuvant artrit modeli üzerindeki etkisi incelendi. Toplam 6 grup oluşturuldu. Birinci grup kontrol grubu olarak ayrıldı ve 6 hayvan kullanıldı. İkinci grup salin grubu olarak ayrıldı ve 8 hayvan kullanıldı. Diğer gruplar ise tedavi grubu olarak ayrıldı ve her bir grupta 9 hayvan kullanıldı. Kontrol grubu dışındaki diğer grupların sağ arka pençelerine 0.1 ml tek doz intradermal *Freund's Complete Adjuvant* verilerek artrit oluşturuldu. 17-27. günler arası; 2. gruba salin (1ml/kg), üçüncü gruba irbesartan (50 mg/kg), dördüncü gruba karvedilol (1 mg/kg), beşinci gruba irbesartan + karvedilol (50 mg/kg ve 1 mg/kg) uygulandı. Altıncı gruba (pozitif kontrol) diklofenak sodyum (1 mg/kg) verildi. İkinci ve altıncı gruba ilaçlar intraperitoneal, diğer gruplara ise gavaj yolu ile uygulandı. 0, 17, 20, 23 ve 27. günlerde pençe hacimleri pletismometre cihazı ile ve ağrı düzeyleri ise basıç uygulama cihazıyla ölçüldü. 27. günde intrakardiyak olarak kanlar alındı ve patolojik inceleme için arka ayak eklemleri çıkarıldı. Serumda malondialdehit, interlökin-1beta, interlökin-2, interlökin-6, interlökin-10 ve tümör nekrozis faktör-alfa düzeyleri ölçüldü ve eklemler histopatolojik olarak incelendi.

Freund's Complete Adjuvant uygulamasından sonraki 17. günde uygulanmaya başlayan ilaç tedavilerinin etkisini incelemek amacıyla 20. günde pletismometre ile sağ arka pençelerin ölçümünde, 17 ve 20. günler arasında grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol)'de pençe hacimlerinin 17. gündeki değerlere göre anlamlı derecede azaldığı ($p<0.05$) saptanmıştır. 17 ile 23. gün karşılaştırıldığında 4. grup (karvedilol), 5. grup (kombine) ve 6. grupta (diklofenak sodyum) uygulanan tedavilerin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) düzeyde pençe hacmindeki inflamasyonu ve ödemi azattığı saptanmıştır. 17 ile 27. gün

karşılaştırıldığında, 20. gündeki gibi grup 3 (irbesartan) ve grup 4 (karvedilol) uygulanan gruplardaki pençe hacminde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu bulunmuştur.

17. günde grup 1 (kontrol) ile artrit oluşturulan gruplar (grup 2, 3, 4, 5 ve 6) karşılaştırıldığında basınç uygulama ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p<0.05$) olduğu saptandı. 17 ile 20. gün basınç uygulama ölçüm değerleri karşılaştırıldığında sadece diklofenak sodyum uygulanan 6. grupta istatistiksel anlamlılık vardı ($p<0.05$). 17 ile 23. gün basınç uygulama ölçüm değerleri karşılaştırıldığında; 5. grup (kombine tedavi) ve 6. grup (diklofenak sodyum)'da istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p<0.05$). 17 ile 27. gün değerleri karşılaştırıldığında ise karvedilol (grup 4), kombine (grup 5) ve diklofenak sodyum (grup 6) alan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p<0.05$) saptandı. Bu sonuç karvediol ve kombine tedavinin ağrı düzeylerine etki ederek analjezik aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir.

İrbesartan ve karvedilolün uygulanan dozlarında adjuvant artrit üzerinde irbesartan tedavisinin daha çok antiinflamatuvar etki göstererek pençe hacmi değerlerini azalttığı; adjuvant artritin histopatolojik bulgularından olan vasküler proliferasyon, sinovyal proliferasyon, ödem ve inflamasyon bulgularında da kombine tedavinin daha etkili olduğu bulunmuştur. İrbesartan, karvedilol ve kombine tedavi alan gruplarda antioksidan aktivite görülmemiştir.

Anahtar sözcükler: Adjuvant artrit, diklofenak sodyum, irbesartan, karvedilol, oksidatif stres, romatoid artrit.

THE EFFECT OF IRBESARTAN, CARVEDILOL VE COMBINED TREATMENT IN THE EXPERIMENTAL ARTHRITIS MODEL

SUMMARY

In our study, the effect of the irbesartan and carvedilol on the adjuvant arthritis model formed experimentally in rats has been examined. Totally 6 groups have been formed. The first group has been separated as the control group and 6 animals have been used. The second group has been separated as the saline group and 8 animals have been used. The other groups have been separated as the treatment group and in each group, 9 animals have been used. To the back right claws of the groups other than the control group, 0.1 ml single dose intradermal *Freund's Complete Adjuvant* has been given and the arthritis has been formed. Between the 17-27. days; the saline has been applied to the 2nd group, irbesartan (50 mg/kg) to the third group and carvedilol to the fourth group (1 mg/kg), irbesartan + carvedilol (50 mg/kg and 1 mg/kg) to the fifth group. To the sixth group (positive control), the diclofenac sodium (1 mg/kg) has been given in its dose. To the second and sixth groups, the medicines have been applied as intravenous and via the gavage way to the other groups. On the 0, 17, 20, 23 and 27th days, pletismometer device and the pain levels have been measured with the pressure application measurement device. On the 27th days, the bloods have been taken as intracardiac and for the pathological examination, the back foot joints have been taken out. In the serum, the malondialdehit, interleukin-1beta, interleukin-2, interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor-alfa levels have been measured and the joints have been examined as histopathologically.

In order to examine effect of medical treatment that is started to be applied on the 17th day after Freund's Complete Adjuvant application, it is detected in the measurement of right rear paw with plethysmometer on the 20th day that paw volume in group 3 (irbesartane) and group 4 (carvedilol) has been significantly decreased ($p<0.05$) between 17th and 20th days according to the values in 17th day. When 17th and 23rd days are compared, it is detected that treatments applied in 4th group (carvedilol), 5th group (combined) and 6th group (diclofenac sodium) has statistically reduced the inflammation and edema in the paw volume at a significant level ($p<0.05$). When 17th and 27th days are compared, it is found that there is a statistically significant ($p<0.05$) decrease in the paw volume of groups to which group 3 (irbesartane) and group 4 (carvedilol) are applied as in the 20th day.

When group 1 (control) and groups that generate arthritis (group 2, 3, 4, 5 and 6) are compared on the 17th day, it is detected that there is a statistically significant difference ($p<0.05$) between pressure application measurement values. When pressure application measurement values of 17th and 20th days are compared, statistical significance is only detected in the 6th group to which diclofenac sodium is applied ($p<0.05$). When pressure application measurement values of 17th and 23rd days are compared, statistical significance is found in 5th group (combined treatment) and 6th group (diclofenac sodium) ($p<0.05$). When values of 17th and 27th days are compared, a statistically significant difference ($p<0.05$) has been detected in carvedilol (group 4), combined (group 5) and diclofenac sodium groups (group 6). This result has shown that carvedilol and combined treatment has analgesic activity by effecting pain levels.

It has been found that the irbesartan and the combined treatment has mostly shown anti-inflammatory effect on the adjuvant arthritis at the applied doses of the irbesartan and carvedilol and decreased the claw values and the vascular proliferation, synovial proliferation which are of the histopathological findings of the adjuvant arthritis and the combined treatment have been more effective in the edema and inflammation findings. Antioxidant activity is not found in the groups receiving irbesartan, carvedilol and combined treatment.

Keywords: Adjuvant arthritis, carvedilol, diclofenak sodium, irbesartan, rheumatoid arthritis, plethysmometer, pressure application measurement.

KAYNAKLAR

1. Saratha V, Subramanian SP. Lupeol, a triterpenoid isolated from *calotropis gigantea* latex ameliorates the primary and secondary complications of FCA induced adjuvant disease in experimental rats. *Inflammopharmacology*. 2012;20(1):27-37.
2. Keşkek Ö. Romatoid artritli hastalarda kombine tedavinin monoterapiye üstünlüğü (tez). İstanbul: Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastaneleri; 2004.
3. Rheumatoid arthritis. The management of rheumatoid arthritis in adults. NICE clinical guideline 79. National Institute for Health and Clinical Excellence. February 2009.
4. Hekim Baloğlu HH. Romatoid artrit hastalarında sağlık ile ilgili yaşam kalitesini etkileyen faktörlerin belirlenmesi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi 2010.
5. Van Boekel MA, Vossenaar ER, Van den Hoogen FH, Van Venroo WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res*. 2002;4:87-93.
6. Gündüz S. Adjuvant artritli sıçanlarda pelargonium sidoidesin etkisi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2011.
7. [http://tr.wikipedia.org/wiki/Radikal_\(kimya\)](http://tr.wikipedia.org/wiki/Radikal_(kimya)) Erişim tarihi: 15.10.2012.
8. Malishevski MV. Irbesartan in clinical practice. *Kardiologija*. 2012;52(11):66-74.
9. Dandona P, Dhindsa S, Ghanim H, Chaudhuri A. Angiotensin II and inflammation: the effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockade. *Journal of Human Hypertension* 2007;21:20-7.
10. Gürkaynak O. Vazodilatör etkili β -blokörlerin kardiyovasküler hastalardaki farmakolojik ve terapötik önemi (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
11. Gümüşdiş G: Bağ Dokusu Hastalıkları: Romatoid Artrit. Gümüşdiş G, Doğanavşargil E (eds). *Klinik Romatoloji*, İstanbul: Deniz Matbaası 1999; s.269-79.

12. Ergin S. Romatoid artrit ve sjogren sendromu. Beyazova M, Gokçe-Kutsal Y (editörler). Fiziksel tıp ve rehabilitasyon, Cilt 2. Ankara: Güneş Kitapevi Ltd. Şti; 2000; s.1549-76.
13. Bennett JC, Moreland LW. Romatoid artrit (çeviri: Tuzcu S.). Tuzcu M (editör). Cecil Essentials of medicine. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2000. s.594-7.
14. Hamuryudan V. Romatoid artrit. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, romatolojik hastalıklar, Sempozyum Dizisi No:55. Ocak 2007. s. 69-86.
15. Bluestone M. Diffüz bağ dokusu hastalıkları. Beers MH, Berkow R (eds). The merc manual of diagnosis and therapy. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2002. s. 416-23.
16. Gümüşiş G: Bağ dokusu hastalıkları: Romatoid artrit. Gümüşiş G, Doğanavşargil E (eds). Klinik romatoloji el kitabı. İzmir: Güven Matbaası; 2003. s.209-27.
17. Hamuryudan V. Romatoid artrit. Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A (editörler). Cerrahpaşa iç hastalıkları, 1. basım. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2005. s.966-74.
18. Hamuryudan V. Romatoid artrit. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, romatolojik hastalıklar, Sempozyum Dizisi No:34. Nisan 2003. s.19-29.
19. Direskeneli H, Yavuz ŞK, Fresko İ, Çakır N, Ertenli İ. Romatoid artrit etyopatogenezi, eklem bulguları, eklem dışı bulguları, laboratuvar bulguları, ayırıcı tanı ve tedavi ilkeleri. Hamuryudan V (Editör). Romatoid Artrit. Ankara: MD Yayıncılık, 2002:8-55.
20. Demirel A, Kırnap M. Romatoid artrit tedavisinde geleneksel ve güncel yaklaşımlar. Sağlık Bilimleri Derg (Journal of Health Sciences) 2010;19(1) 74-84.
21. Dökmeci İ. Araşidonik asit metabolizmasında etkili ilaçlar. Dökmeci İ (Editör). Farmakoloji-ilaçlar ve etkileri, 1. basım İstanbul: Alfa Basım Yayım;2007 s.592-603.
22. Kayaalp o, Melli M. Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar. Kayaalp O (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 12. Baskı Ankara: Feryal Matbaacılık; 2009.
23. Dökmeci İ. Yavaş etkili antiromatizmal ilaçlar. Dökmeci İ (editör). Farmakoloji-ilaçlar ve etkileri. 1.basım İstanbul: Alfa Basım Yayım; 2007. s.608-12.
24. Tastekin N, Aydoğdu N, Dokmeci D, Usta U, Birtane M, Erbas H et al. Protective effects of l-carnitine and alpha-lipoic acid in rats with adjuvant arthritis. Pharmacol Res. 2007;56:303-10.
25. Özorun K, Tülek N, Düzgün N. Romatoid artrit ve sitokinler. Ankara Tıp Mecmuası. The Journal Of The Faculty Of Medicine: Vol.47: 2009; s.495-504.
26. Aydın G. Deneysel omurilik yaralanmasında interlökin-10'un interlökin-1-beta ve interlökin-6 üzerine etkilerinin incelenmesi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi 2007.
27. www.wikipedia.org/wiki/IL1B. Erişim tarihi:20.10.2012.

28. Kiki İ, Gündoğdu M, Yılmaz Ö, Sarı R, Bilgiç Y, Albayrak B. Hodgkin dışı lenfomalarda serum tümör nekrozis faktör alfa düzeyleri ve hastalığın evresi ve B semptomları ile ilişkisi (tez). Erzurum: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi.
29. http://tr.wikipedia.org/wiki/Tümör_nekroz_faktör Erişim tarihi: 20.10.2012.
30. Turan Turgut S, Yumuşakhuyulu Y, Selimoğlu E, Atlı R, Moral Oğuz F, İçağasioğlu A. Romatoid artritli hastalarda TNF alfa blokörleri tedavisinin kemik mineral yoğunluğu üzerine etkisinin retrospektif değerlendirilmesi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi. Göztepe Tıp Derg 2011;26(2):58-62.
31. Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW. Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: Induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. Blood, 1994;183(1);113-8.
32. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. Arthritis Research & Therapy 2006;8(2):1-6.
33. Bal A, Alanoğlu E, Ülkar G, Yorgancıoğlu R. Romatoid artritli hastalarda sIL-2R düzeyinin laboratuvar ve klinik hastalık aktivite parametreleri ile karşılaştırılması. Fiziksel Tıp 2001; 4(2-3): 125-8.
34. http://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_2 Erişim tarihi: 07.01.2013.
35. Carvalho V, Castanheira P, Faria TQ, Gonçalves C, Madureira P, Faro C. et al. Biological activity of heterologous murine interleukin-10 and preliminary studies on the use of a dextrin nanogel as a delivery system. Int J Pharm. 2010;400(1-2):234-42.
36. <http://www.ctf.edu.tr/farma/sitokingokhan.pdf> Erişim tarihi: 07.01.2013.
37. Koca N, Karadeniz F. Serbest radikallerin oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü. Erişim tarihi: 13.01.2013.
38. Çakatay U, Kayalı R. Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Derg 2006;37:162-7.
39. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Derg 2009;20(2):79-83.
40. Altınışik M. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. Aydın-2000.
a. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf> Erişim tarihi: 17.01.2013.
41. Türkan Oğul Y. Romatoid artritli hastalarda antioksidan tablo ve eritrosit membran Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi 2006.
42. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995:1-73.
43. Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. Çankırı: Karatekin Üniversitesi Tıp Araştırmaları Dergisi:2011;9(1):73-83.

44. Turgutalp K, Kıyıkım Alper A. Lokal renin anjiotensin sistemi: Fizyolojik ve patofizyolojik etkinliği. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilim Derg 2011;4(1):1-6.
45. Oğuz A. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi inhibisyonu ve kardiyovasküler koruma. Türk Kardiyol Dern Arş 2009;37(6):4-12.
46. Dönmez S, Deneysel Diyabetik Nefropatide İrbesartan ve Antioksidan Tedavilerin Karşılaştırılması (tez). Edirne; Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.
47. Conlin PR, Spence JD, Williams B, Ribeiro AB, Saito I, Benedict C, et al. Angiotensin II antagonists for hypertension: are there differences in efficacy. Am J Hypertens 2000;13:418-26.
48. Husain A, Moloy Mitra S. A, Bhasin S.P. A review of pharmacological and pharmaceutical profile of irbesartan. Pharmacophore 2011;2 (6), 276-86.
49. Anadolu Üniveresitesi Farmasötik Kimya Notları. 2012; Erşim tarihi; 19.01.2013
50. <http://products.sanofi.ca/en/avapro.pdf> Erişim tarihi; 07.02.2013.
51. Negro R. Endothelial effects of antihypertensive treatment: Focus on irbesartan. Vasc Health Risk Manag 2008;4(I) 89-101.
52. Sakuta T, Morita Y, Satoh M, Fox D, Kashihara N. Involvement of the renin-angiotensin system in the development of vascular damage in a rat model of arthritis. Effect of Angiotensin Receptor Blockers. Arthritis and Rheu 2010;62:1319-28.
53. Wang, M. X., Zhao, X. Z., Gai, C. Y., Liu, H. M., Xu, Y. P., LI, J. Antioxidative capacity of irbesartan. Chem. res. Chinese Universities 2011; 27(1):75-9.
54. Berry C, Anderson N, Kirk AJ, Dominiczak AF, McMurray JJ. Renin angiotensin system inhibition is associated with reduced free radical concentrations in arteries of patients with coronary heart disease. Heart 2001;86:217-20.
55. Doğan M.M, Dönder E, Kuloğlu T, Dabak D.Ö. Deneysel diyabetin sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği değişiklikler üzerine enalapril ve losartan'ın etkilerinin incelenmesi. Fırat Tıp Derg. 2011;16(2):46-50.
56. Indumathy, S, Kavimani, S. Analgesic activity of angiotensin antagonists. Afr. J. Pharm Pharmacol 2011;5(2):194-8.
57. Özbilen S. Hipertansif Hipertiroidili Hastalarda Karvedilol ve Metoprololun Hipertiroidi Semptomları ve Lipid Profili Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Şanlıurfa: Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2009.
58. Özdemir Ongun A, Ertaş F.S. Karvedilol: Klinik kullanımı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Derg 2005;12(4):183-9.
59. Okutucu S, Aytemir K. Hipertansiyon tedavisinde beta reseptör antagonistleri. Güncel İç Hastalıkları Derg 2008;1(1):107-19.

60. İlerigelen B. Yaşlılarda kalp yetersizliği. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi*, 2010;2:21-32.
61. Arab H.H, El-Sawalhi M.M. Carvedilol alleviates adjuvant-induced arthritis and subcutaneous air pouch edema: Modulation of oxidative stress and inflammatory mediators. *Cairo University, Egypt*; 2013;268(2):241-8.
62. Akbaş H, Özden M, Kanko M, Maral H, Bülbül S, Yavuz S, Özker E, Berki T. Protective antioxidant carvedilol in a rat model of ischaemia-reperfusion injury. *Kocaeli*: 2005;33:528-36.
63. Dandona P, Ghanim H, Brooks DP. Antioxidant activity of carvedilol in cardiovascular disease. *J. Hypertense*; 2007;25(4):731-41.
64. Zhuang XF, Yin CQ, Wng HY, Sun NL. Distinctive effects of carvedilol in the non-infarct zone: remodelling of the ligated rat heart linked to oxidative stress. *J Inter Med Res* 2009;37:1354-64.
65. Kumar P, Kumar A. Prolonged pretreatment with carvedilol prevents 3-nitropropionic acid-induced behavioral alterations and oxidative stress. *Pharmacological Reports* 2008;60, 706-15.
66. Gasparova Z, Ondrejickova O, Gajdosikova A, Gajdosik A, Snirc V, Stolc S. Oxidative stress induced by the Fe/ascorbic acid system or model ischemia in vitro: effect of carvedilol and pyridoinole antioxidant SMe1EC2 in young and adult rat brain tissue. *Interdiscip Toxicol* 2010;3(4):122-6.
67. Barton NJ, Strickland IT, Bond SM, Brash HM, Bate ST, Wilson AW, et al. Pressure application measurement (PAM): a novel behavioural technique for measuring hypersensitivity in a rat model of joint pain. *J. Neurosci Methods*; 2007;163(1):67-75.
68. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979;95(2):351-8.
69. Dökmeci D, Özdemir F, Ulugöl A, Karadağ ÇH, Kokino S, Dökmeci İ. Kronik Adjuvant artritli sıçanlarda diklofenak ve bioptron'un antiinflamatuvar etkilerinin karşılaştırılması. *Turk J Phys Med Rehab* 1998;2:67-70.
70. Ulugol A, Unalan H, Dökmeci İ, Kokino S. Comparison of the effects of tenoxicam and mid-laser irradiation on chronic adjuvant arthritis in rats. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15:83-6.
71. Kocabaş H, Kocabaş V, Büyükbaş S, Sallı A, Uğurlu H. Romatoid artrit hastalarında hüresel oksidan ve antioksidan statü ve hastalık aktivitesi ile ilişkisi. *Turk J Rheumatol* 2010;25:141-6.
72. Karataş F, Özateş İ, Canatan H, Halifeoğlu İ, Karatepe M, Çolak R. Antioxidant status and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res* 2003;118:178-81.
73. Ediz L, Hız Ö, Özkol H, Gülcü E, Toprak M, Ceyla M.F. Relationship between anti-CCP antibodies and oxidant and anti-oxidant activity in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Med Sci* 2011;8(2):139-47.

74. Saliba E, Rousset C, Potin J. Inflammation, cytokines and perinatal brain injury. *Biol Neonate* 2002;82:291-302.
75. Olajide OA, Bhatia HS, de Oliveira AC, Wright CW, Fiebich BL. Inhibition of neuroinflammation in LPS-activated microglia by cryptolepine. *Evid Based Complement Alternat Med*: 2013 doi: 10.1155/2013/459723 (in print)
76. Göral V, Çelenk T, Kaplan A, Şit D. Ülseratif kolitli hastalarda plazma sitokin düzeyleri. *Akademik Gastroenteroloji Derg* 2006;5(1):16-9.
77. Ignacio GT, Ricote M, Ruiz A, Fraile B, Paniagua R, Royuela M. Interleukin-2 and its receptor complex (α , β and γ chains) in in situ and infiltrative human breast cancer: an immunohistochemical comparative study. *Breast Cancer Res* 2004;6:1-7.
78. Kurum T, Tatlı E, Yüksel M. Effects of carvedilol on plasma levels of proInflammatory cytokines. *Tex Heart Intist J* 2007;34(1):52–9.
79. Ni J, Huang HQ, Lü LL, Zheng M, Liu BC. Influence of irbesartan on the urinary excretion of cytokines in patients with chronic kidney disease. *Chin Med J (Engl)*; 2012;125(6):1147-52.
80. Dalkılıç E, Gül BC, Alkış N. İnterlökin-6: İnflamasyonda başrol oyuncularından. *Uludağ Üniv Tıp Fak Derg* 2012;38(2):157-160,
81. Yoshitake F, Itoh S, Narita H, Ishihara K, Ebisu S. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. *J Biol Chem* 2008;283:11535–40.
82. Etem E, Bulut Y, Akpolat N, Aşkın Y, Elyas H, Yarkın F. Prostat doku örneklerinde insan papillomavirüs enfeksiyonu ve IL-10 -1082 polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob* 2012;1-6.
83. Zhu KZ, Liu YL, Gu JH, Qin ZH. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of orally administrated denatured naja naja atra venom on murinerheumatoid arthritis models. *eCAM* 2013:616241.
84. Navalkar S, Parthasarathy S, Santanam N, Khan VB. Irbesartan, an angiotensin type 1 receptor inhibitor, regulates markers of inflammation in patients with premature atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:440-4.
85. Nessler J, Nessler B, Kitliński M, Gackowski A, Piwowarska W, Stepniowski M. Concentration of BNP, endothelin 1, pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6) and exercise capacity in patients with heart failure treated with carvedilol. *Kardiol Pol* 2008;66:144-51.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekiller	Sayfa no.
Şekil 1. İrbesartanın formülü	21
Şekil 2. Karvedilolün formülü	24
Şekil 3. Karvedilolün antiinflamatuvar etki mekanizması	25
Şekil 4. PAM cihazı ve uygulama şekli	26
Şekil 5. PAM cihazının uygulanması	27
Şekil 6. Pletismometre cihazının uygulanması	27
Şekil 7. IL-1 β kalibrasyon eğrisi	31
Şekil 8. IL-2 kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 9. IL-6 kalibrasyon eğrisi	34
Şekil 10. IL-10 kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 11. TNF- α kalibrasyon eğrisi	37
Şekil 12. Sıçana FCA uygulanması	39
Şekil 13. Ağırlık takibi	41
Şekil 14. Sağ pençe takibi-pletismometre	44
Şekil 15. Sağ pençe takibi-PAM	47
Şekil 16. Gruplara göre serum MDA düzeylerinin dağılımı	49
Şekil 17. Gruplara göre serum IL-1 β düzeylerinin dağılımı	50
Şekil 18. Gruplara göre serum IL-2 düzeylerinin dağılımı	51
Şekil 19. Gruplara göre serum IL-6 düzeylerinin dağılımı	52

Şekil 20. Gruplara göre serum IL-10 düzeylerinin dağılımı	53
Şekil 21. Gruplara göre vasküler proliferasyon %değerleri	53
Şekil 22. Gruplara göre sinovyal proliferasyon %değerleri	54
Şekil 23. Gruplara göre inflamasyon %değerleri	55
Şekil 24. Gruplara göre ödem % değerleri	55
Şekil 25. Yumuşak dokuda normal morfoloji (HEx50) (kontrol grubu) (grup 1)	56
Şekil 26. Şiddetli kronik inflamasyon ve belirgin vasküler proliferasyon (HEx50) (grup 2)	57
Şekil 27. Hafif-orta dereceli kronik inflamasyon ve ödem (HEx50) (grup 3)	57
Şekil 28. Nekrotik bağ vakuollerini arada bırakan şiddetli kronik inflamasyon ve arada prolifere damarlar (HEx50) (grup 4)	58
Şekil 29. Hafif-orta dereceli kronik inflamasyon ve ödem (HEx50) (grup 5)	58
Şekil 30. Yumuşak dokuda normal morfoloji, minimum inflamasyon ve ödem (HEx50) (grup 6)	59

Tablolar

Tablo 1. RA'da eklem dışı bulgular	6
Tablo 2. Sitokinlerin biyolojik etkileri	14
Tablo 3. Ana antioksidanların sınıflandırılması	19
Tablo 4. İrbesartanın farmakokinetik özellikleri	22
Tablo 5. Tüm gruplarda ağırlık ortalamaları	40
Tablo 6. Tüm gruplarda pletismometre ortalamaları	43
Tablo 7. Tüm gruplarda PAM ortalamaları	46
Tablo 8. MDA ortalama ve standart sapmaları	48
Tablo 9. IL-1 β ortalama ve standart sapmaları	49
Tablo 10. IL-2 ortalama ve standart sapmaları	50
Tablo 11. IL-6 ortalama ve standart sapmaları	51
Tablo 12. IL-10 ortalama ve standart sapmaları	52

ÖZGEÇMİŞ

02.07.1988 tarihinde Lüleburgaz'da doğdum. İlk ve orta eğitimimi Lüleburgaz'da tamamladım. 2006 yılında girdiğim Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2010 yılında mezun oldum. 2010 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2010 yılından bu yana yüksek lisans eğitimim devam etmektedir.

EK

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ


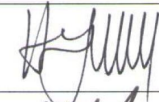
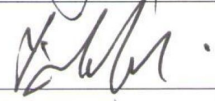


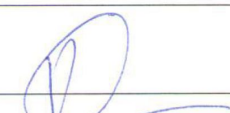

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 08

Karar Tarihi: 30.09.2011

KARAR NO: 2011.08.05

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Dikmen Dökmeci'in yaptığı Semra Çalışkan Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/63 protokol nolu "Deneysel artrit modelinde irbesartan, karvedilol ve kombine tedavinin etkisi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	