

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

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ

**ADJUVANT ARTRİTLİ SIÇANLARDA  
PELARGONIUM SİDOİDESİN ETKİSİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Referans no: 395857**

**Samime GÜNDÜZ**

EDİRNE-2011

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

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ

**ADJUVANT ARTRİTLİ SIÇANLARDA  
PELARGONIUM SİDOİDESİN ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Samime GÜNDÜZ**

**Destekleyen Kurum: TÜBAP**

**Tez No :**

EDİRNE-2011

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 Samime GÜNDÜZ tarafından tez başlığı "Adjuvant Artritli Sıçanlarda Pelargonium Sidoidesin Etkisi" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 08/03/2011 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Yüksek Lisans Tezi" olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL  
JÜRİ BAŞKANI

  
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ  
ÜYE

  
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU  
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

  
Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK  
Enstitü Müdürü

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimimde ve tez çalışmalarımnda değerli katkıları olan danışman hocam Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye; ayrıca Doç. Dr. Ufuk USTA, Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL, Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ, Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU, Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN'a ve bu çalışmada benden yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Özgür GÜNDÜZ, Dr. Oktay KAYA, Gülçin AKIN ve Burhan ELMAS'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>ROMATOİD ARTRİT</b> .....	3
<b>SERBEST RADİKALLER</b> .....	11
<b>ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ</b> .....	14
<b>NİTRİK OKSİT</b> .....	16
<b>ASİMETRİK DİMETİLARGİNİN</b> .....	17
<b>PELERGONIUM SİDOİDES</b> .....	19
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	22
<b>BULGULAR</b> .....	36
<b>TARTIŞMA</b> .....	52
<b>SONUÇLAR</b> .....	59
<b>ÖZET</b> .....	61
<b>SUMMARY</b> .....	63
<b>KAYNAKLAR</b> .....	65
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	72
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	74
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ADMA</b>	:	Asimetrik dimetilarginin
<b>ANA</b>	:	Antinükleer antikor
<b>ARA</b>	:	Amerikan Romatizma Derneği
<b>CAT</b>	:	Katalaz
<b>CRP</b>	:	C reaktif protein
<b>DDAH</b>	:	Dimetilarginin dimetil-aminohidrolaz
<b>DDL</b>	:	Düşük dansiteli lipoprotein
<b>DİF</b>	:	Distal interfalangeal
<b>EBV</b>	:	Ebstein-Barr virüsü
<b>eNOS</b>	:	Endotelyal nitrik oksit
<b>FCA</b>	:	Freund's Complete Adjuvant
<b>GPx</b>	:	Glutasyon peroksidaz
<b>GR</b>	:	Glutasyon redüktaz
<b>GSH</b>	:	Glutasyon
<b>HLA</b>	:	Human lökosit antijeni
<b>HPLC</b>	:	High performance liquid chromatography
<b>IS</b>	:	İnternal standart
<b>iNOS</b>	:	İndüklenebilir nitrik oksit
<b>L-NMMA</b>	:	Monometil-L-arginin
<b>MDA</b>	:	Malondialdehid
<b>MHC</b>	:	Major histokompatibilite kompleksi

<b>MKF</b>	:	Metakarpofalangeal
<b>MTF</b>	:	Metatarsofalangeal
<b>NADP</b>	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (Okside)
<b>NAPDH</b>	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (Redükte)
<b>nNOS</b>	:	Nöronal nitrik oksit
<b>NO</b>	:	Nitrik oksit
<b>NOS</b>	:	Nitrik oksit sentaz
<b>PİF</b>	:	Proksimal interfalangeal
<b>PML</b>	:	Polimorfonükleer lökositler
<b>PRMT</b>	:	Protein arginin metil transferaz
<b>RA</b>	:	Romatoid artrit
<b>RF</b>	:	Romatoid faktör
<b>ROS</b>	:	Reaktif oksijen türleri
<b>SDMA</b>	:	Simetrik dimetilarginin
<b>SLE</b>	:	Sistemik lupus eritematozus
<b>SOD</b>	:	Süperoksit dismutaz
<b>TNF</b>	:	Tümör nekroz faktör

## GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid Artrit (RA), dünya popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen en yaygın otoimmün hastalıklardan biridir. Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte çevresel, kalıtsal ve hormonal faktörlerin etkileşimi ile geliştiği düşünülmektedir. Temel olarak büyük ve küçük eklemleri etkilemesine rağmen sistemik etkilere de neden olur. RA, patolojik immün yanıtın sinoviya, kıkırdak ve kemiğe hücum etmesi sonucunda eklem hasarı ve kalıcı sakatlığa yol açar (1).

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 (2). Hastalık sadece morbiditeyi değil mortaliteyi de arttırmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar; hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve tedavide radikal değişikliklere neden olmuştur.

Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal ürünlerdir. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Örneğin RA'da, serbest radikaller eklem hasarını hızlandırır. RA'lı sinovyal sıvıda, mononükleer hücre hakimiyeti yerine, baskın hücre polimorfonükleer lökositler (PML)'dir. PML'lerde, fagositoz esnasında süperoksid anyonları meydana gelmekte ve bu anyonlar, bağ dokusu elemanları üzerine zararlı etkiler oluşturmaktadır.

Türkçe adı sardunya olan, *Pelargonium sidoides*, Geraniaceae familyasına ait bir Güney Afrika bitkisidir ve uzun bir süredir geleneksel tıp uygulamalarının bir parçası olarak



kullanılmaktadır. Avrupalılar Pelargonium sidoides bitkisini İngiliz ve Alman kolonilerin Güney Afrika'yı istilasından sonra tanımış ve 19. yüzyılın sonlarından itibaren halk tarafından solunum yolları infeksiyonlarında kullanıldığını öğrenmişlerdir. Pelargonium sidoides kök ekstresi tüberküloz tedavisinde, sentetik ve modern tüberküloz ilaçlarının keşfine dek Avrupa'da sık olarak kullanılmıştır (3,4).

Bitkinin kök ekstresinin tüberküloz, akut bronşit, farenjit gibi hastalıklarda sıkça kullanılması ve belirgin bir etki göstermesi sebebiyle ekstre üzerinde antibakteriyel ve immünomodülatör etki çalışmaları yapılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, solunum yolu infeksiyonları tedavisinde orta dereceli antibakteriyel etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (4).

Pelargonium bitkisinin bazı türlerinin antiinflamatuvar ve oksidatif stres üzerine serbest radikal süpürücü ve antioksidan etkilerinin olması, bizi Pelargonium sidoides türünde de bu etkisinin olup olmadığını incelemeye yöneltti. Çalışmamızın amacı; Pelargonium sidoidesin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan artrit modelinde etkisinin incelenmesi, etkisi varsa kısa vadede bu etkinin mekanizmasını açıklamaya yönelik, uzun vadede de artrit hastalarında tedavi amaçlı kullanılabilmesi yönünde veriler elde etmektir. Bu çalışmamız literatürde hayvanlarda oluşturulan deneysel artrit modelinde Pelargonium sidoidesin etkisinin incelendiği ilk çalışma olacaktır.

## **GENEL BİLGİLER**

### **ROMATOİD ARTRİT**

Romatoid artrit, periferik sinovyal eklemleri simetrik şekilde tutan, bazen belirgin şekilde eklem dışı tutulumun da eşlik ettiği kronik ve multisistemik bir hastalıktır. İnflamatuvar artritler arasında en sık görüleni RA'dır. Eklem tutulumu, şekil bozukluğu yaparak zaman içinde önemli sakatlıklara yol açabilmektedir (5).

Romatoid artrit, dünyada tüm ırklarda görülebilen bir hastalık olup daha çok kadınları etkiler. Kadın/erkek oranı 3/1'dir. Sık olarak 30-50 yaşları arasında görülür. Değişik popülasyonlarda prevalansı %0.5 ile %1 arasında değişmektedir (1).

Hastalık eklem sinovyasında yangıyla başlar. Zamanla sinovya da pannüs formasyonu oluşturup kıkırdak, 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 tutulumları görülürken, bir grup hastada ise, tedavi ne kadar yoğun olursa olsun, kısa sürede sakatlıklar ve önemli organ hasarları gelişebilmektedir (5-7).

### **Etyopatogenez**

Romatoid artrit in etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Genetik bir predispozisyon belirlenmiştir. Örneğin, birinci derece akrabaları arasında bir RA'lı bulunan kişide RA gelişme riski, genel topluma göre 16 kez artmış bulunmaktadır. RA'lı bir kişinin birinci derece akrabaları arasında hastalık bulunma sıklığı ise %10 kadardır. Tek yumurta ikizleri arasında hastalığın birlikte görülme sıklığı %30, çift yumurta ikizlerinde ise %5 oranındadır.

Dünyadaki tüm etnik gruplarda görülmesine karşın, popülasyonlardaki prevalans hızı belirgin farklılık gösterir.

Bazı major histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf 2 allelleri (ve kodlanmış insan lökosit antijeni (HLA)) duyarlı kişilerde artmış sıklıkla görülür. RA'lı hastalarda HLA-DR4 %60-70 oranına kadar görülebilirken normal kişilerde bu oran %25-30'dur. HLA-DR4 ve ilişkili molekülleri Dw4, Dw14 ve Dw15 ile ilgili moleküler biyoloji, RA eğiliminin artmasının antijen bağlayan bölgelere bağlı olduğunu düşündürür. Bu bilgi romatoid proçesi başlatan henüz tanımlanmamış bir antijeni işaret eder. Bundan dolayı RA'da; streptokoklar, mikoplazma, klostridya ve difteroidler gibi çeşitli bakterilerden, parvovirus, Epstein-Barr virüsü (EBV) ve retrovirüsler gibi bir dizi viral enfeksiyona kadar değişen enfeksiyöz köken ileri sürülmüştür. HLA-DR4 negatif hastaların çoğunda HLA-DR1 bulunur ve bazı etnik gruplarda (İsrail ve Hintliler) hastalıkla en sıkı ilişkiyi yansıtır (6-8).

Romatoid artritte primer inflamasyon eklem içinde sinovyumda olduğundan, primer sinovite yol açan bir hastalıktır. Anatomik olarak, normal sinovya da iki kısım bulunur. Bunlar eklem aralığına bakan bazal membransız ince intimal tabaka 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 (9).

Romatoid artritte görülen histolojik değişiklikler hastalığa spesifik değildir ve tutulan organa göre değişiklikler gösterirler. Ana değişiklikler sinovyum içeren tüm diartrodial eklemler, tendon kılıfları ve bursalarda görülür. Sinovyal hücrelerin sayısının ve boyutlarının artması ile lenfosit ve plazma hücrelerinin kolonizasyonu sonucu sinovyal zar kalınlaşır. Zarı döşeyen hücreler kıkırdak hasarına katkıda bulunabilen kollajenaz ve stromelizin, lenfosit proliferasyonunu uyaran interlökin-1 ve prostaglandinler dahil olmak üzere çeşitli maddeler salgılar. Başlangıçta venler çevresinde infiltre olan hücreler daha sonra interlökin-2, diğer sitokinler, romatoid faktör (RF) ve diğer immünoglobülinleri sentezleyen germinal merkezleri olan lenfoid folikülleri oluşturur. Fibrin depozisyonu, fibroz ve nekroz da genellikle olaya katılır. Neticede inflamasyon artar, zamanla 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 eklem harabiyetinin göstergesi olan erozyonlar gelişir. Eklem anatomisinin bozulmasında ve hastalığın yol açtığı deformitelerin oluşmasında pannüsler

önemli rol oynar. Romatoid sinovyum ve pannüsün bir diğer özelliği de yeni damar oluşumudur (8,10).

Romatoid nodüller genellikle cilt altında, kronik irritasyona maruz kalan bölgelerde (örn. ön kolun ekstansör yüzeyinde) olmak üzere hastaların %30'unda görülür. Bunlar spesifik olmayan nekrobiyotik granülomlar olup, ortasında uzun eksenleri merkezden ışınsal doğrultuda olacak şekilde dizilmiş palizadlı mononükleer hücrelerin sardığı nekrotik bir alan bulunur. Bu yapıyı lenfosit ve plazma hücreleri çevreler (8).

### **Klinik Bulgular**

Aynı anda birçok eklemden ani olabileceği gibi, daha sık olarak hastaların büyük çoğunluğunda (yaklaşık %70) birkaç haftaya yayılmış sinsi ilerleyici iltihabi eklem tutulumları ile başlayabilir. Neredeyse bütün inflamasyonlu eklemlerde hassasiyet en belirgin fizik bulgudur. En özgün fizik bulgu olan sinovyal kalınlaşma hemen tüm tutulan eklemlerde gelişir. Eldeki küçük eklemlerin özellikle proksimal interfalangeal (PİF) ve metakarpofalangeal (MKF), ayakların metatarsofalangeal (MTF), el bileklerinin, dirseklerin ve ayak bileklerinin simetrik tutulumu tipik olmakla birlikte ilk belirtiler herhangi bir eklemden de başlayabilir (6,8).

Romatoid artritte torakal ve lomber vertebra tutulumu olağan değildir. Sabahları veya uzun süreli hareketsizlik sonrası 30 dakikayı geçen eklem sertliği sıktır. Öğleden sonraları erken yorgunluk ve kırıklık da görülebilir. Hastalığın başlangıcında PİF eklemlerin tutulması parmaklarda fusiform görünüme yol açar. Özellikle fleksiyon kontraktürleri gibi deformiteler hızla gelişebilir.

**a- Düşme iliği deformitesi:** Ekstremsel ekstansör tendonun zayıflaması ve lateral bantların palmar yöne yer değiştirmesi, PİF eklemden hiperfleksiyon ve distal interfalangeal (DİF) eklemden de hiperekstansiyon oluşmasına yol açar.

**b- Kuğu boynu deformitesi:** MKF eklem fleksörlerinin kontraksiyonu sonucu MKF eklemden fleksiyon kontraktürü, PİF eklemden hiperekstansiyon ve DİF eklemden hiperfleksiyon oluşmasıyla ortaya çıkar.

Ekstansör tendonların metakarpofalangeal eklemler üzerinden kayarak parmakların ulnar tarafa deviasyonu tipik bir geç sonuçtur. El bilek ekleminde sinovit sonucu karpal tünel sendromu gelişebilir. Popliteal kistlerin patlaması derin ven trombozunu taklit edebilir (6,8).

## **Romatoid Artritin Eklem Dışı Bulguları**

Romatoid artrit; sistemik ve inflamatuvar bir hastalıktır. Eklem tutulumu temel özelliğini oluşturmasına karşın, eklem dışı bulgular da hastalığa eşlik eder. Bunlar;

**1-Hematolojik bulgular:** En sık karşılaşılan 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. Bunlar kötü beslenme, infeksiyonlar ve tedavide kullanılan ilaçlara bağlı kemik iliği baskılanmasıdır. Lökosit sayısında pek değişiklik gözlenmez. Felty sendromunda lökopeni oluşabilir.

Aktif hastalarda trombositoz görülür. Trombositoz düzeyi ile tutulan eklem sayısı ve eklem dışı bulgular arasında korelasyon vardır (6,7).

**2-Nodüller:** RA'in önemli bulgularındandır. Hastaların %20-35'inde görülür. Nodül sıklığı coğrafi bölgeye göre değişkenlik gösterir ve RF titresi ile sinovit şiddeti arasında korelasyon bulunur. Nodüller genellikle vücudun basınç altındaki noktalarında ve hafif travmalara maruz kalan yerlerinde meydana gelir. Dirsekler, olekranon üzeri, aşil tendonu ve el bileği sık görülen lokalizasyonlardır. Çapları birkaç mm ile 2-3 cm arasında değişir. Genellikle sert ve periosta yapışıktır ve sıklıkla semptom oluşturmazlar.

Nodüllerin oldukça karakteristik bir histolojisi vardır. Lezyonun merkezinde fibrinoid nekroz, dışında makrofajlar ve en dışta kronik iltihabi hücreler bulunur (6,7).

**3-Akciğer bulguları:** RA çok çeşitli solunum sistemi bulgularına yol açabilir. Sık görülenler plevral efüzyon, soliter ya da multipl pulmoner nodüller ve intersitisyel fibrozisdir. Daha nadiren bronşiyolitisi obliterans, pulmoner vaskülit ve pulmoner hipertansiyon da oluşabilir. En sık oluşan plevral efüzyon, zaman zaman yan ağrısına ve ateşe yol açabilir ancak çoğunlukla asemptomatiktir. Plevral sıvı genellikle eksüda karakterindedir ancak glikoz düzeyleri düşüktür. Tek ya da multipl pulmoner nodüller, histolojik olarak romatoid nodüllerin eşdeğeridir (6,7).

**4-Kalp bulguları:** RA seyrinde en sık görülen kalp bulgusu perikardittir. Genellikle semptom vermez (6,7).

**5-Göz bulguları:** Gözyaşı azalması (kuru göz) ile kendini belli eden *keratokonjonktivitis sicca*, en sık görülen göz bulgusudur. Hastalığın geç dönemlerinde

görülür ancak hastalık şiddeti ile bir ilişki göstermez. Tedavisi semptomatiktir. Gözde ani kızarma ve ağrı yapan ancak nadiren vizyonu etkileyen episklerit, nodüller veya diffüz olabilir. Hastalık şiddeti ile ilişkilidir ancak selim seyirlidir ve genellikle tedavisiz iyileşir. Daha seyrek görülen sklerit kötü seyirlidir ve vizyonu etkiler. Zaman içerisinde skleromalasi (mavi sklera) ile sonuçlanır. RA tedavisinde kullanılan ilaçlar çeşitli göz komplikasyonlarına yol açabilir. Bunlara örnek olarak katarakt ve glokom yapabilen steroidler, keratopati ve retinopati yapabilen antimalaryal ilaçlar, konjonktiva ve korneada birikim gösterebilen altın sayılabilir (6,7).

**6-Nörolojik bulgular:** RA'da görülen nörolojik belirtiler 4'e ayrılabilir: 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 açar. Genellikle ağır, eroziv seyirli hastalığın geç dönem komplikasyonudur. En sık belirtisi, birkaç hafta veya ay içinde yavaşça artış gösteren el ve ayaklarda pareteziler ve motor zayıflıktır. Oksipital bölgeye yayılan ense ağrısı eşlik edebilir. Tuzak nöropatisi, periferik bir sinirin sinovyum ve tendon kılıfları ile çevrili bir bölgeden geçerken sinovit veya tenosinovit sonucu sıkışması sonucudur. Tuzak nöropatisine 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. Tanıda anamnez, Phalen ve Tinnel gibi provokatif muayene metodları ve elektroensefalomiyografiden yararlanır. Periferik nöropati, aynı diabette olduğu gibi eldiven-çorap tarzında pareteziler 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 belirtileri eşlik eder. Elektroensefalomiyografide aksonal tutulum yapmış ağır nöropati bulguları bulunur (6,7).

**7-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. En sık olarak tırnak dibi kapillerlerinde tromboz, parmak uçlarında infarktlar ve bacak ülserleri görülebilir. Klinik, hastaların çoğunda bu belirtilerle sınırlı kalır. *Vasa nervorum*ların tutulması sonucu distal sensoryal nöropati, daha seyrek olarak sensorimotor nöropati ve mononöritis multipleks görülür (6,7).

**8-Felty sendromu:** Deformite yapmış, seropozitif ve nodüllü hastalarda görülen bir geç dönem komplikasyonudur. Klasik tanımı, ağır RA, splenomegali ve lökopenidir. Bacak ülserleri, hepatomegali, lenfadenopati, trombositopeni de görülebilir. Bu hastalarda infeksiyonlara eğilim mevcuttur. Antinükleer antikor (ANA) yüksek titrede pozitif bulunabilir. Felty sendromlu kişilerde non-Hodgkin lenfoma görülme sıklığı artmıştır (6,7).

**9-Amiloidoz:** Sekonder amiloidozun önemli nedenlerinden biri RA'dır. Klinik olarak sıklıkla nefrotik sendroma yol açar (6,7).

**10-Kas tutulumu:** Genellikle eklem enflamasyonuna veya hareketsizliğe bağlı sekonder kas atrofileri görülür. İlaça bağlı miyopatiler de görülebilir. D-penisilamin diffüz polimyozite ve hidrosiklorin nöromiyopatiye neden olabilir. Kronik steroid kullanımında yaygın ve ağır kas atrofileri olur (6,7).

### **Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular**

Laboratuvar bulguları RA'ya özgü değildir ve esas olarak klinik belirti ve bulgulara göre konulan tanıyı desteklemede veya hastalığın gidişini değerlendirmede kullanılırlar. Hastalarda eklem tutulumunun şiddeti ile ilişki gösteren bir kronik hastalık anemisi görülür. Çok nedeni olan bu anemide demir kullanımının bozulması, inefektif eritropoez, eritrosit yaşam süresinin kısalması, eritropoietin seviyesinde ve kemik iliğinin eritropoietine duyarlılığında azalma rol oynarlar. Ayrıca tedavide kullanılan ilaçların da anemi gelişmesine katkıları vardır. Vakaların %80'inde hafif, normositik veya mikrositik anemi saptanabilir. Hastalarda eritrosit sedimentasyon hızı tutulan eklem sayısı ve klinik aktivite ile korelasyon gösterir. C reaktif protein (CRP) pozitifdir. RF (IgG'nin Fc fragmanındaki antijenik belirleyicilere karşı oluşan antikorları tanımlar) bütün RA'lı hastaların yaklaşık %80'inde pozitifdir. Başlangıçtan itibaren var olan yüksek titrede RF pozitifliği ağır klinik seyrin bir göstergesidir. RA'da RF ve ANA dışında anti-endotel, anti-kardiyolipin, anti-Ro, anti-keratinize endotel, anti-perinükleer faktör, anti-RA33 ve anti-Sa antikorları bulunabilir (8,11).

Radyolojik olarak hastalığın ilk aylarında sadece yumuşak doku şişliği görülür. Daha sonra periartiküler osteoporoz, eklem aralığında (eklem kıkırdağı) daralma ve marjinal erozyonlar gelişebilir. Gerek klinik gerekse radyolojik bozukluğun derecesi olguya göre büyük farklılık gösterir. Ama ilk yıl içinde kemik hasarının bir belirtisi olarak erozyonlar meydana gelebilir (8).

## **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 kollagen doku hastalıkları gelir (9).

Çok yönlü bir hastalık olan RA tanısını kolaylaştırmak ve bir standarda bağlamak amacıyla 1987 yılında Amerikan Romatizma Derneği (ARA) tarafından belirlenmiş klasifikasyon kriterleri oldukça yol göstericidir.

### **1987 ARA kriterleri:**

- 1- Sabah tutukluğu: Eklem ve çevrelerinde en az 1 saat süren sabah tutukluğu
- 2- 3 veya daha fazla eklemde artrit: En az 3 eklemde hekim tarafından kaydedilen yumuşak doku şişliği veya sinovyal sıvı artışı ile beraber olan artrit
- 3- El eklemlerinde artrit: El bileği, MKF ve PİF eklemlerinin en az birinde artrit
- 4- Simetrik artrit: Vücudun iki yarısında aynı bölgedeki eklemlerin aynı anda tutulması bilateral PİF, MKF veya mutlak simetri olmaksızın bilateral MTF eklemlerin artrit
- 5- Romatoid nodüller: Kemik çıkıntıları üzerinde, ekstansör yüzeylede veya eklemlerin çevresinde hekim tarafından gözlenen subkutan nodüller
- 6- Romatoid faktör: Herhangi bir metod ile anormal miktarda RF pozitifliği
- 7- Radyolojik değişiklikler: Ön-arka el ve bilek radyografilerinde erezyonlar ve/veya periartiküler osteopeni.

Bir hastayı RA olarak klasifiye etmek için sayılan kriterlerden en az 4 tanesinin bulunması gerekir. İlk 4 kriterin en az 6 haftadır devam ediyor olması gerekir. Bu kriterlerin kullanılması ile RA tanısında %90 oranında sensitivite, %89 oranına spesifite sağlanabilmektedir (7,8).

## **Tedavi**

Romatoid artritte tedavi amaçları (1) ağrının giderilmesi, (2) inflamasyonun azaltılması, (3) yan etkilerin erken tanımlanması ya da engellenmesi, (4) işlevin korunması ya da yeniden sağlanması ve (5) yaşam biçiminin devam ettirilmesidir (7).

Tedavisi çok yönlü bir yaklaşım gerektirir. Uygun egzersizlerle fizik ve iş meşguliyeti tedavisi öğretilmelidir. Uygun splintleme ile şekil bozuklukları önlenebilir ve tedavi edilebilir. Bu şekilde kas gücü ve kuvveti arttırılır, işlev korunur ya da arttırılır.



Farmakolojik tedavi sıklıkla ilaçların bir arada kullanımını gerektirir. Tedaviye genellikle aspirinle ya da diğer bir nonsteroidal antiinflatuvar ilaçla başlanır. En sık kullanılanlardan biri ibuprofendir. Özellikle sindirim kanalından en iyi tolere edilen ve öncelikli olarak kullanılan bir nonsteroid antiinflatuvardır. Analjezik, antipiretik ve antiinflatuvar etkinliği diğer fenilpropionik asit türevlerine oranla daha az olmasına karşın yan etkileri daha azdır. Trombosit agregasyonunu aspirine göre daha düşük bir derecede inhibe eder (12,13).

Antimalaryal ilaçlar, özellikle de hidrosiklorokin, erken ve hafif seyreden olgularda etkilidir.

Altın tuzları geciktirici ajanlardır. 1929'dan beri nonsteroid antiinflatuvarlar ve intraartiküler kortikosteroidlerle kontrol altına alınamayan ağır RA tedavisinde kullanılmaktadır. RA'deki kesin etki şekli bilinmemektedir. Ancak bu ajanlar makrofaj işlevini değiştiriyor gibi görünmektedir. Genelde, seropozitif hastalığın erken döneminde başlanırsa daha etkili olmaktadır (7,14)

Penisilamin de RA tedavisinde yararlıdır ve bazen remisyona sokabilir. Ancak altın gibi etkileri yavaş çıkar. Kemik iliği ve böbrekler üzerine belirgin toksisitesi olabilir.

Kortikosteroidler akut ve kronik RA tedavisinde rutin olarak kullanılır. Ajanlar akut atak tedavisinde oldukça yararlıdır. Ancak ne hastalığın doğal gidişini değiştirir ne de tedavi sağlarlar; bu nedenle uzun süreli kullanımları istenmez. İntraartiküler kortikosteroidler, artrosentezden sonra sinoviti baskılamak, ağrıyı azaltmak ve işlevi düzeltmek için yararlıdır (7).

Romatoid artrit tedavisinde kullanılan ilaçların hiçbiri hastalığı tamamen ortadan kaldıramamaktadır (10). Bu nedenle RA tedavisi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmakta, bunların bir kısmında ise hayvanlarda oluşturulan deneysel artrit modelleri ile çalışılmaktadır. Bu hastalığın tedavisini araştırmak için birçok deneysel artrit modeli geliştirilmiştir. 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 patogenezini araştırmak için değil, pek çok antiinflatuvar ya da immünoşpresif/immünomodülatör ilaçların özelliklerini araştırmak için de kullanılmıştır (15).

## SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller; yapılarında tek sayıda elektron içeren, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküllerdir. Diğer bir tanımlama ile; yapılarında eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya bileşikler serbest radikal olarak tanımlanır. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler (16,17).

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler. Nötrale edilemeyen serbest radikaller, hücre membranında lipid ve proteinleri yok ederek, DNA'da kırılma ve mutasyonlara yol açar ve bağışıklık sistemine zarar vererek vücutta ciddi hasar oluşturabilirler (17-19).

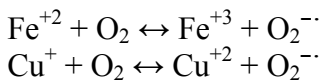
Serbest radikallerin eksojen kaynakları arasında stres, infeksiyonlar, ilaç zehirlenmeleri, radyasyon, sigara dumanı, hiperbarik oksijen, metal iyonları, asbest lifleri, ozon, karbonmonoksit, silika ve aflatoksin B1 sayılabilir (20).

Nötrofillerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu, yakın hücrelere ve solubl sistemlere zarar verir. Fagosit kaynaklı oksidanlar ototoksik, immüno-supresif ve mutajenik etkiler gösterirler. Örneğin RA'lı hastaların diz eklemlerinde fazla miktarda nötrofil birikir ve bu nötrofillerden ortama salıverilen serbest radikaller eklem hasarını hızlandırır (17).

Serbest radikallerin başlıca kaynağı oksijendir. Eşleşmemiş 2 elektronu olması sebebiyle diradikal olarak adlandırılır ve diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer (18). Moleküler oksijen, yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturma eğilimindedir. ROS, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali (17).

### Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali, moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur (17). Süperoksit radikali aynı zamanda demir ve bakır gibi geçiş metallerinin indirgeyicisidir (21).

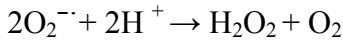


Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit, azot

dioksit, hidroksil radikali, nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşebilir. NO'in zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (17,22).

### **Hidrojen Peroksit**

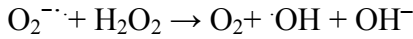
Hidrojen peroksit membrandan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir (18,22).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, ROS'lardan biri olarak kabul edilir. Çünkü süperoksit radikali ile reaksiyona girerek hidroksil radikalinin oluşumunda rol oynar (22).

### **Hidroksil Radikali**

Hidroksil radikali, Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (22).



Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır, tioller ve yağ asitlerinden kopardığı protonla yeni radikallerin oluşumunu sağlar (17,22).

### **Singlet Oksijen**

Ortaklanmamış elektronu olmadığından radikal olarak değerlendirilmez. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana gelir ve serbest radikal reaksiyonlarının oluşmasına neden olur (22).

### **Serbest Radikallerin Etkileri**

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabilityyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırırlar. Serbest oksijen

radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünölmektedir.

**Serbest radikallerin lipidlere etkileri:** 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. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu oldukça zararlıdır ve kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler (17,22).

Üç ya da daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. Bu metod lipid peroksid seviyelerinin ölçümünde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik indikatörü olmamasına karşın, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehydler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu da birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur (22).

**Serbest radikallerin proteinlere etkileri:** Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastır. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller meydana gelir. Proteinlerin belirli bölgelerinde serbest radikal hasarı yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki gösterir (22,23).

**Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri:** İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme 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 yol açabilir. Bu yüzden DNA, serbest radikallerden kolayca zarar görebilen önemli bir hedefdir (22,23).

Süperokside maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir

hastalık olan sistemik lupus eritematozusta (SLE) ve RA'da dolaşımda anti-DNA antikorlar bulunur (22,23).

**Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri:** Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitlerin antimitotik etkileri vardır, kanser ve yaşlanma sürecinde rol oynarlar. Serbest radikallerin mukopolisakkarit yapıdaki hyalüronik asidi etkilemesi, inflamatuvar eklem hastalıkları ve katarakt oluşumuna yol açar (22).

### **ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ**

Canlı hücrelerde ROS oluşumunu ve verdiği hasarları önlemek için birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler ve hücrede protein, lipid, karbohidrat ve DNA içeriğinin oksidasyonunu önleyebilir ya da geciktirebilirler. Antioksidan savunma; radikal üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre hasarının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması yollarıyla gerçekleşir (18,24).

Antioksidanların etki tipleri şöyledir:

- 1) Toplayıcı etki: Serbest radikalleri tutma veya daha zayıf moleküllere çevirme işlemidir.
- 2) Bastırıcı etki: Serbest radikallerle etkileşip aktivitelerini azaltan ya da inaktif hale getiren etkidir.
- 3) Onarıcı etki: Hedef molekülde oluşan hasarın tamiri ve temizlenmesidir.
- 4) Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıp engelleyici etki oluşturmasıdır (22).

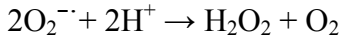
Antioksidanlar endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı olarak başlıca 2 ana gruba ayrılmaktadır.

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  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini) ve  $\beta$  karoten; sıvı fazda bulunanlara ise glutatyon (GSH), askorbik asit (C vitamini), melatonin, urat ve transferrin örnek verilebilir (22).

Ekzojen antioksidanlar ise ksantin oksidaz inhibitörleri (ör: folik asit, oksipürinol), soya fasulyesi inhibitörleri, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAPDH) oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal enestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvarlar), rekombinant SOD, troloks-C, endojen antioksidanların aktivitesini artırırlar (ebselen, asetilsistein) ve diğler nonenzimatik serbest radikal toplayıcılarıdır (22).

### **Süperoksit Dismutaz**

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalının, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



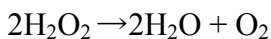
Süperoksit dismutaz normal metabolizma sırasında üretilen süperoksitin intrasellüler seviyesinin düşük tutulmasını sağlar. Kas hücrelerinde SOD'un özellikle sitozolde bulunan Cu-Zn SOD ve mitokondriyal MnSOD olmak üzere iki izoenzimi bulunur (25). Yüksek oksijen tüketimi olan dokularda SOD kullanımı fazladır ve doku parsiyel oksijen artışı ile artar. Diğler antioksidan enzimlerin aktiviteleri azaldığında SOD enziminin aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (22,26).

### **Glutasyon Peroksidaz**

Glutasyon peroksidaz sitozolde bulunur, tetramerik yapıda olup, 4 selenyum atomu içerir. GPx hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Fagositoz yapan hücrelerin solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu nedeniyle zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de, oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma hidrojen peroksit artışına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (22). GPx, prostaglandin hidrojen sentetaz aktivitesini düzenleyerek prostaglandinlerin sentezinde ve aynı zamanda prostasiklin oluşumunun düzenlenmesinde de fonksiyon görmektedir (27).

### **Katalaz**

Katalaz yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Esas olarak peroksidomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar (22).



## **Glutasyon**

Glutasyon karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Proteinlerdeki sülfhidril gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar (22).

Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (22).

## **NİTRİK OKSİT**

Hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli role sahip bir serbest radikaldir. NO sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir. NO muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle sentezlenir (17).

Nitrik oksit sentaz enziminin üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar sentezlendikleri yere ve sentezlerinin başlama şekline göre adlandırılırlar;

1) NOS-1; Tip-1 NOS nöronal veya beyin NOS (nNOS) olarak bilinir. Nöronal ve epitelyum hücrelerde üretilir.

2) NOS-2; Tip-2 NOS, makrofaj NOS, indüklenmiş NOS (iNOS) olarak bilinir. Makrofajlarda ve düz kas hücrelerinde üretilir.

3) NOS-3; Tip-3 NOS, endotelial NOS (eNOS) olarak bilinir. Endotel hücrelerinde üretilir.

NOS-1 ve NOS-3 ikisi beraber cNOS (*constitutive*-yapısal NOS) olarak bilinirler ve yapısal olarak üretilirler. cNOS kalsiyum ve kalmodiline bağlı olarak fonksiyon görür.

Nitrik oksit renksiz bir gaz olup oksijen ile oldukça hızlı reaksiyona girebilir. Hava ile temas olduğunda hızla nitrojen dioksit adı verilen ve toksik olan bir moleküle çevrilir. NO'nun yarılanma ömrü 3-5 saniyedir. NO, hem içeren proteinlerle reaksiyona girerek daha stabil olan nitrata dönüştürülür ve idrarla atılır (28).

Nitrik oksit sentezinin insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir. NO vasküler endotelial hücrelerde oluşturulan önemli bir vazodilatatördür (17).

### **Nitrik Oksidin Oksidatif Etkisi**

Nitrik oksit demir-sülfür proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder ve bu mekanizma ile karsinogeneziste rol oynar.

Nitrik oksidin SOD enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Böylece fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit, hidroksil radikali ve nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşür (17).

### **ASİMETRİK DİMETİLARGİNİN**

Metillenmiş arginin türevleri ilk olarak 1970 yılında Kakimoto ve ark. (29) tarafından insan idrarında tespit edilmiştir. Asimetrik dimetilarginin (ADMA), NOS izoformlarının endojen inhibitörü olarak tanımlanmıştır (30,31).

Asimetrik dimetilarginin, arginin rezidülerinin metillenmesi esnasında protein arginin metil transferaz (PRMT) enzimi tarafından sentezlenir. Proteinlerdeki argininin metilenmesiyle oluşan diğer maddeler ise simetrik dimetil arginin (SDMA) ve N-monometil L-arginin (L-NMMA)'dır. L-NMMA da tıpkı ADMA gibi NOS enzimini endojen olarak inaktive eder. Fakat plazmadaki konsantrasyonları ADMA'dan 10 kat daha düşüktür. SDMA'nın plazmadaki konsantrasyonları ADMA kadar olsa da, NOS üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Fakat yüksek konsantrasyonlarda SDMA hücre içine girişte arginin ile yarışarak indirekt olarak NO miktarını düşürebilir (32-34).

### **Sentez ve Metabolizması**

Asimetrik dimetilarginin sentezinde rol alan PRMT enziminin 2 tipi tanımlanmıştır. Protein arginin metil transferaz (PRMT)-1 histon, *RNA binding* proteini metillerken ADMA ve L-NMMA oluşturur, oysa PRMT-2 sadece *myelin basic* proteini metiller ve SDMA ve L-NMMA oluşturur.

Metil arginin türevleri oluştuğu zaman artık proteinlerin yapısına giremezler ve organizmada dimetillenemezler. Günde 300 µmol ADMA oluşmaktadır; 250 µmol'u dimetilarginin dimetil-aminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından sitrülün ve dimetilamin'e dönüştürülmekte, kalan 50 µmol'u böbreklerden değişmeden atılmaktadır (35,36).



Dimetilarginin dimetil-aminohidrolaz'ın 2 formu bulunmaktadır. DDAH-1 daha çok nNOS içeren dokularda, DDAH-2 ise eNOS ya da iNOS enzimini içeren dokularda bulunur.

Biyokimyasal olarak DDAH'ın inhibisyonu ADMA'yı artırırken, NO üretimini azaltmaktadır. DDAH başlıca, endotel hücreleri, beyin, pankreas gibi pek çok organda bulunur. ADMA metabolizmasından sorumlu başlıca organlar karaciğer ve böbreklerdir. ADMA, NOS'un üç formunun da kompetitif inhibitörüdür ve yüksek arginin konsantrasyonlarında bu etkisi azalır (35).

Asimetrik dimetilarginin düzeyinin artmasında dört mekanizma rol oynayabilir:

1. Proteinlerin PRMT ile metilasyonunda artma,
2. Proteinlerin proteolizinde artmaya bağlı olarak metillenmiş türevlerin ortaya çıkışında artış,
3. Renal atılımın bozulması,
4. Metillenmiş türevlerin DDAH enzimi ile metabolizmasının azalması.

Protein arginin metil transferaz regülasyonu hakkında pek az şey bilinmektedir. *Shear* stresin PRMT ekspresyonunu ve aktivitesini artırdığı ve endotel hücrelerinde transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa-B'yi aktive ederek ADMA üretimini stimüle ettiği bilinmektedir. *Shear* stres, böbrek yetmezliği, koroner arter hastalığı, yüksek tuz içeren diyet gibi durumlarda ADMA düzeylerinde artışa sebep olabilir (37).

Pek çok çalışmada ADMA birikimi, azalmış DDAH aktivitesi ile birlikte görülmektedir. DDAH metabolizmasında bozukluk ADMA birikimine neden olur. Sisteinden indirgenen SH grubu DDAH aktivitesi için önemlidir. Bu enzim oksidatif strese duyarlıdır. Oksidatif stres, endotel hücrelerinde artmış PRMT-1 ekspresyonuyla serbest oksijen türleri açığa çıkararak ADMA oluşumunu uyarabilir (38). Endotel disfonksiyonu için ADMA risk faktörü olarak görülebilir. Plazma ADMA düzeylerinin, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon, preeklampsi, erektil disfonksiyon ve pekçok kardiyovasküler hastalıklarda arttığı gösterilmiştir (39).

Hipertansif hastaların plazmalarında yapılan ölçümlerde artmış ADMA ve azalmış NO düzeyleri saptanmıştır (40). Sağlıklı gönüllülere düşük miktarda intravenöz ADMA verilerek yapılan bir çalışmada ise kardiyak debi ve kan basıncında artma, kalp hızında azalma saptanmıştır (41).

Periferik arteriyel hastalık ve kronik hiperhomosisteinemili hastalarda endotel disfonksiyonunda ADMA'nın potansiyel rolünün araştırıldığı bir çalışmada, ADMA ile total kolesterol, diabetes mellitus, sigara, sistolik kan basıncı arasındaki ilişki açıklanmıştır. Ayrıca

akım bağımlı dilatasyon ile regresyonu yapıldığında anlamlı ilişki bulunmuştur. ACE inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin ADMA ve arginin/ADMA oranını azalttığı gösterilmiştir (42).

Obez bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, ADMA miktarlarının yüksek olduğu tespit edilmiştir (43). Morbid obez hastalarla yapılan bir çalışmada ise gastrik bant operasyonu yapıldıktan sonra ADMA düzeylerinde kilo kaybıyla paralel düşüş saptanmıştır (44). Hiperkolesterolemili hastalarda da ADMA düzeyinin yüksek olduğu bulunmuştur (45). Buna sebep olarak doğal ve okside düşük dansiteli lipoprotein kolestrolün PRMT aktivitesini modüle etmesi gösterilmektedir (46).

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda yapılan çalışmalarda ADMA düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur. Böbrek yetmezliği olan hastalarda biriken ADMA miktarı ile gelişen endotel disfonksiyonu arasında ilişki vardır (47).

Alzheimer hastalarında homosistein ve ADMA'nın arttığı, NO'nun ise azaldığı görülmüştür. NO'nun öğrenme ve ezberlemede rolü vardır. L-Argininin oral alımı ile yaşlı hastaların kognitif fonksiyonlarında düzelme olabilir (47). Yaşlanmanın renal hemodinamiklerin değişimine eşlik ettiği post glomerüler damarların zayıflaması ile renovasküler tonusunun artışı sonucu, yaşlılarda NO'nun azalması kan basıncı artışı ve renovasküler dirence neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda yaşlanan bireylerde ADMA'nın arttığı gösterilmiştir (48).

## **PELARGONIUM SIDOIDES**

Türkçe adı sardunya olan *Pelargonium sidoides*, 280 tür içeren *Pelargonium* cinsinin, Geraniaceae ailesinin sadece Güney Afrika'da bulunan, yaklaşık 50 cm yüksekliğinde, lila rengi çiçekleri olan bir türüdür (Şekil 1) (49).



**Şekil 1. Afrika sardunyası**

Bitkinin yaşı ilerledikçe kökleri siyaha dönüşür ve köklerde bulunan aktif madde optimal konsantrasyonuna büyümenin 3. yılında ulaşır (49,50).

### **Tarihçesi**

Avrupalılar Pelargonium sidoides bitkisini İngiliz ve Alman kolonilerin Güney Afrika'yı istilasından sonra tanımış ve 19. yüzyılın sonlarından itibaren halk tarafından solunum yolları infeksiyonlarında kullanıldığını öğrenmişlerdir (3).

Major Stevens adlı bir İngiliz 1897 yılında tüberküloza yakalanmış ve hekimlerin önerisi ile daha ılıman bir iklime sahip olan Güney Afrika'ya gelmiştir. Burada hastalığı ile ilgili çalışmalar yaparken Basuto kabilesinden bir şifacı ile tanışır ve bu kişinin vermiş olduğu Pelargonium sidoides bitkisinin köklerinden hazırlanan dekoksionu kullanarak tamamen iyileşir. İngiltere'ye döndüğünde, bu tedavi şekline kendi adını (Stevens Yöntemi) vererek tüberkülozlu hastalar üzerinde uygulamaya başlar. Stevens'in tedavi metodunun ilk destekçilerinden olan Dr. Adrein Sechehaye, 1920 yılından başlayarak dokuz yıl boyunca Pelargonium ekstresini 800 hasta üzerinde denemiş ve elde ettiği çarpıcı sonuçları 1930 yılında yayınlamıştır. Bu gelişmelerden sonra Pelargonium sidoides kök ekstresi, sentetik ve modern tüberküloz ilaçlarının keşfine dek Avrupa'da sık olarak kullanılmıştır (3,4).

### **Farmakolojik özellikleri**

İmmünomodülatör etkileri ile antiviral savunma aktivasyonu sağlar (51,52). Ayrıca virüs infeksiyonlarına karşı sitoprotektif özelliktedir (52-54). Orta derecede antibakteriyel etkiye (51,52) ve sekretomotor-mukolitik özelliklere sahiptir (55,56).

### **Klinik özellikleri**

Bitkinin kök ekstresinin tüberküloz, akut bronşit, farenjit gibi hastalıklarda sıkça kullanılması ve belirgin bir etki göstermesi sebebiyle ekstre üzerinde antibakteriyel ve immünomodülatör etki çalışmaları yapılmıştır (51,53,54).

Soğuk algınlığında etkilidir ve iyi tolere edilir, hastalık süresini kısalttığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (57,58).

Akut bronşit hastalarında semptomların şiddetini azaltır (55,56,59). Akut bronşitli çocuklar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada da olumlu sonuçlar elde edilmiştir (60,61). Çocuklarda non-streptokoksik tonsillo-farenjit tedavisinde etkinliği Heger ve ark. (62) tarafından kanıtlanmıştır. Akut sinüzit tedavisinde oldukça etkilidir (63).

Çok iyi tolere edilebilirliği ve nadir görünen yan etkiler büyük bir güvenlik çalışması ile doğrulanmıştır (64).

### **Etki mekanizması**

Antiviral ve sitoprotektif özellikleri vardır. İnterferon sentezini modüle eder ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır (53,54,65).

Fagosit fonksiyonlarını düzenler. Kemotaksisi artırır. Makrofajların uyarım ve aktivasyonunu sağlar, fagositoz yeteneği ve NO üretimini artırarak, hücre içi öldürmeyi (*intracellular killing*) de artırır. Antioksidatif özelliktedir ve lökosit elastazı inhibe eder (53,66).

Solunum epitel sillerinin hareketini stimüle ederek sekretomotor etki gösterir. Solunum yolu mukozasının yıpranmış epitel hücrelerinde adezyonu artırır, yaşayan epitelyum hücrelerinde ise inhibe eder (67).

Antiinfektif etkileri immunomodülasyon ve artmış interferon sentezindedir. İnterferonun direkt antiviral etkisi vardır. Ayrıca virüslerin oluşturduğu hasara karşı hücreleri korur ve *natural killer* hücreleri aktive eder (53).

Yapılan çalışmalarda, solunum yolu infeksiyonları tedavisinde orta dereceli antibakteriyel etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (4,53). Ayrıca immünomodülatör etkisi ile tümör nekroze edici faktör (TNF) aktivasyonunda da etkili olduğu tespit edilmiştir (53).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmıştır (Ek-1) ve çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmiştir (Ek-2).

### DENEKLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Biriminde üretilmiş olan, ortalama 300-400 g ağırlığında 48 adet Sprague Dawley erkek sıçan kullanılmıştır. Tüm denekler standart laboratuvar koşullarında ( $22\pm 1$  °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

Plergonium sidoides, Umca, Abdi İbrahim

İbuprofen, Dolven, Zentiva

### 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).

Tüm gruplarda 8'er hayvan kullanıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak ayrıldı ve pençe takibi sonrası 27. gün kalpten kan alındı. Diğer gruplara ise, 0. gün intradermal olarak 0.1 ml FCA injeksiyonu yapıldı ve 17-27 günler arası ikinci gruba Pelargonium sidoides çözücüsü %12 etanol, üçüncü gruba Pelargonium sidoides 100 mg/kg, dördüncü gruba Pelargonium sidoides 200 mg/kg ve beşinci gruba da Pelargonium sidoides 500 mg/kg uygulandı. Altıncı gruba (pozitif kontrol grubu) ibuprofen 100 mg/kg dozunda verildi. Tüm ilaçlar gavaj yoluyla uygulandı.

İnflamatuvar reaksiyon inokülasyon günü 0. gün kabul edilerek; 0, 17, 20, 23 ve 27. günlerde özel bir kumpas ile mikrometrik olarak ölçüldü. Ayrıca hayvanlar deney sonunda 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, antioksidan enzimler olan SOD, CAT, GPx enzimleri, plazma GSH, nitrat-nitrit ve ADMA düzeyleri ölçülerek istatistiksel olarak değerlendirildi. Sıçanların eklemleri çıkarılarak formole konuldu ve Fakültemiz Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik olarak değerlendirildi.

## **KULLANILAN CİHAZLAR**

Spektrofotometre	:	(Spectronic Unicam Helios $\alpha$ , 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, France)
Guard kolon	:	(Waters Symmetry C18 5 $\mu$ m 3.9x20 mm, ABD)
UV detektör	:	(Waters 2487 dual $\lambda$ absorbance detector, ABD)
HPLC cihazı	:	(Waters 2690 Alliance, Separations Module, ABD)

## PLAZMA KATALAZ DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Plazma katalaz düzeyleri ölçümünde Cayman's Catalase ölçüm kiti kullanıldı.

### Prensip

Enzim aktivitesinin ölçümünde CAT'ın peroksidatif aktivitesi kullanılır. Hidrojen peroksitin optimal konsantrasyonunda, enzim ile metanolun reaksiyonu sonucu formaldehid oluşur. Oluşan formaldehid ürünleri, 4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole (Purpald) solüsyonu ile mor renkli bir bileşik oluşturur. Bu bileşiğin renginin 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile CAT düzeyi belirlenir.

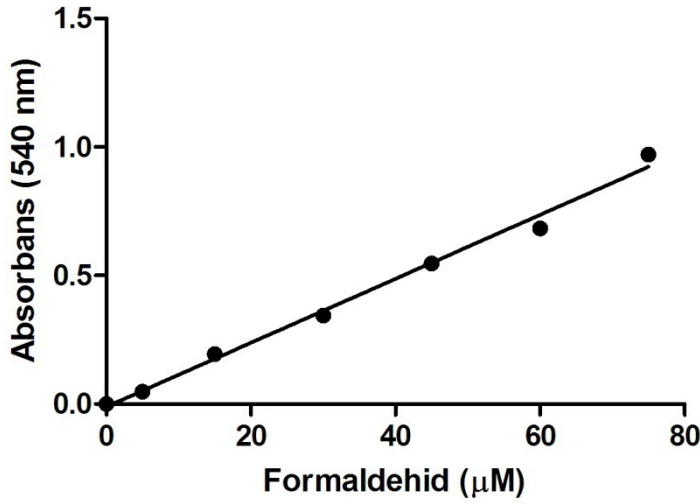
### Deney

Spektrofotometre tabakasında formaldehid standartlarının, pozitif kontrolün ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Formaldehid standartlarının çukurlarına 100 µl deney tamponu (100 mM potasyum fosfat, pH 7.0), 30 µl metanol ve 20 µl değişen konsantrasyonlarda formaldehid standartı konuldu. Pozitif kontrol çukuruna 100 µl deney tamponu (100 mM potasyum fosfat, pH 7.0), 30 µl metanol ve 20 µl sığır karaciğer katalazı, örneklerin çukurlarına da 100 µl deney tamponu (100 mM potasyum fosfat, pH 7.0), 30 µl metanol ve 20 µl örnek konuldu. Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 20 µl dilue hidrojen peroksit eklendi. Tabakanın üzeri örtüldü ve çalkalayıcıya yerleştirilerek 20 dk oda ısısında inkübe edildi. 30 µl potasyum hidroksit eklenerek reaksiyon sonlandırıldı ve 30 µl kromojen (Purpald) tüm çukurlara eklendi. 10 dk çalkalayıcıda oda ısısında inkübe edildi sonra 10 µl potasyum periodat eklendi ve 5 dk daha inkübasyonun ardından 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okundu.

### Hesaplama

Standart eğrinin hazırlanması için; 0, 5, 15, 30, 45, 60, 75 µM yoğunluklarında formaldehid çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yöntemle göre yoğunluk-absorbans grafikleri çizildi (Şekil 2). Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki formaldehid konsantrasyonu ve aşağıdaki formüle göre katalaz aktivitesi nmol/dk/ml olarak bulundu.

Formaldehid kalibrasyon eğrisinin denklemi:  $y = 0,1118x - 0,01$



Şekil 2 Formaldehid kalibrasyon eğrisi

Örnek formaldehid (µM) = [örnek absorbans- (y-intercept)/slope] x 0,17 ml/0,02 ml

CAT aktivitesi (nmol/dk/ml) = (örnek formaldehid µM/ 20 dk) x örnek dilüsyonu

## PLAZMA MALONDİALDEHİD DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Plazma MDA düzeyleri ölçümünde OxisResearch ölçüm kiti kullanıldı.

### Prensip

Ölçümün temeli 45°C’de MDA ile kromojenik ayıraç N-methyl-2-phenylindole (NMPI) arasındaki reaksiyona dayanır. Bir molekül MDA ile 2 molekül NMPI birleşerek renkli bileşik olan *carbocyanine dye* oluşturur. 586 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunur.

### Deney

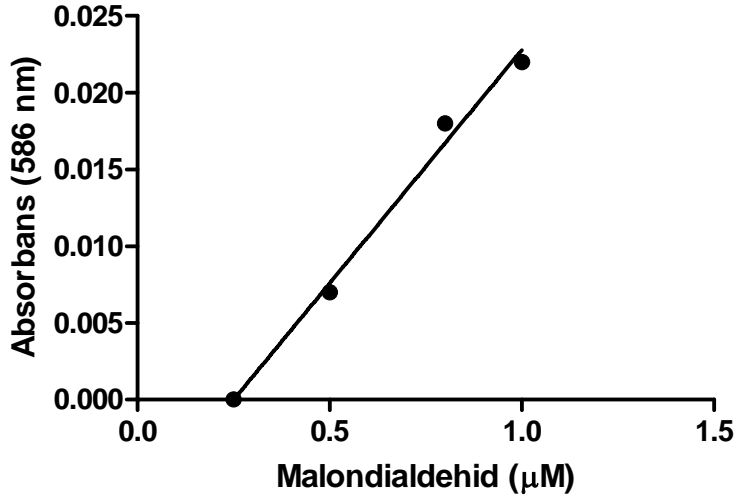
100 µM tetramethoxypropane (TMOP) solüsyonundan 0, 0.25, 0.5, 0.8 ve 1 µM yoğunluğunda MDA standartları hazırlandı. Boş mikrosantrifüj tüpleri standartlar ve örnekler için etiketlendi. Tüm tüplere 11 µl *butylated hydroxtoluene* (BHT) konuldu. Üzerine 210 µl standart veya örnek konuldu. Sonra 5.3 µl konsantre HCl tüm tüplere eklendi ve tüplerin kapağı kapatılarak 60°C’de 80 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 680 µl dilüe R1 (N-methyl-2-phenylindole) eklendi ve iyice karıştırıldı. 13 000 x g 5 dk santrifüj edildi. 660 µl supernatant yeni tüpe aktarıldı. 115 µl konsantre HCl eklendi. 45°C’de 60 dk inkübe edildi. 5



dk 13 000 x g santrifüj edildi. Supernatant kuvete aktarılıp 586 nm dalga boyunda absorbanları okundu.

### Hesaplama

Standartlar kullanılarak MDA standart eğrisi (Şekil 3) çizildi. Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki MDA konsantrasyonu bulundu.



Şekil 3 Malondialdehid standart eğrisi

$$\text{MDA } (\mu\text{M}) = (A_{586} - y\text{-intercept}/\text{eğim}) \times \text{dilüsyon}$$

### PLAZMA SUPEROKSİD DİSMUTAZ DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Plazma SOD düzeyleri ölçümünde Cayman's Superoksit Dismutaz ölçüm kiti kullanıldı.

### Prensip

Bu kit ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından üretilen süperoksit radikallerinin ölçümü için tetrazolium tuzunu kullanır. Superoksit radikalının %50 dismutasyonunu ortaya koymak için gerekli enzim miktarı bir SOD ünitesi olarak tanımlanmıştır.

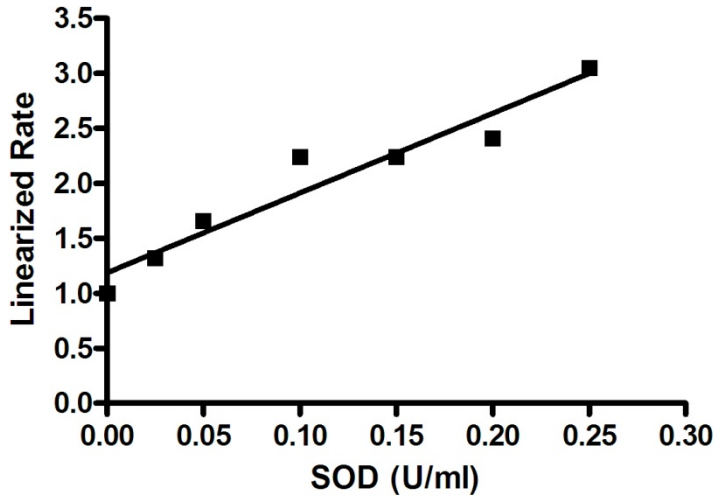
### Deney

Spektrofotometre tabakasında SOD standartlarının ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. SOD standartlarının çukurlarına 200 µl dilüe radikal dedektor (tetrazolium tuzu), 10 µl standart (sığır eritrosit SOD (Cu/Zn)) konuldu. Örnek çukurlarına 200 µl dilüe

radikal dedektör, 50 µl örnek eklendi. Reaksiyonu başlatmak için 20 µl dilue ksantin oksidaz tüm çukurlara konuldu. Tabakanın üstü kapatıldı 20 dk çalkalayıcıda oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 440-460 nm dalga boyunda absorbansı spektrofotometre ile ölçüldü.

### Hesaplama

Standart A'nın absorbansı kendine diğer tüm absorbanslara bölünerek doğrulama oranı (LR) hesaplandı. LR Standart A= Abs A / Abs A, LR Standart B= Abs A / Abs B. SOD standartların LR eğrisi (Şekil 4) çizildi. Buradan da örneklerin SOD aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.



Şekil 4 Süperoksit dismutaz lineerleştirilmiş oran eğrisi

$$\text{SOD (U/ml)} = [(\text{örnek LR} - \text{y-intercept}) / \text{eğim}] \times 0,23/0,01] \times \text{dilüsyon}$$

### PLAZMA GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Plazma GPx düzeyleri ölçümünde Cayman's Glutasyon Peroksidaz ölçüm kiti kullanıldı.

### Prensip

Glutasyon peroksidaz düzeyi, glutasyon reduktaz enzimi tarafından meydana getirilen bir reaksiyona bağlı olarak indirekt olarak ölçüldü. Okside glutasyon (GSSG) hidroperoksitlerin GPx enzimi tarafından redüksiyonu sırasında ortaya çıkar. Okside glutasyonun tekrar kullanımı için redüksiyonu glutasyon reduktaz enzimi tarafından NADPH kullanılarak gerçekleştirilir. NADPH'ın NADP'ye oksidasyonu sırasında solüsyonun 340 nm

dalga boyundaki absorpsiyonunda azalma ortaya çıkar. Bu azalma GPx enziminin aktivitesiyle direkt orantılıdır.

### **Deney**

Spektrofotometre tabakasında kör, pozitif kontrol ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Kör çukuruna 120 µl deney tamponu (50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA pH 7,6), 50 µl co-substrat karışımı (NADPH, glutatyon, glutatyon reduktaz) konuldu. Pozitif kontrol çukuruna 100 µl deney tamponu, 50 µl co-substrat karışımı ve 20 µl GPx eklendi. Örnek çukurlarına 100 µl deney tamponu, 50µl co-substrat karışımı ve 20 µl örnek konuldu. Reaksiyonu başlatmak için tüm çukurlara 20 µl hidroperoksid eklendi. Tabaka birkaç saniye çalkalandıktan sonra 340 nM dalga boyunda belirli aralıklarla 5 kez ölçüm yapıldı. Pozitif kontrol eğrisi çizilerek kitin sağlamlığı değerlendirildi.

### **Hesaplama**

Örnek eğrilerinin lineer olduğu bölgede iki nokta seçildi. Zamana göre absorpsiyon değişimi ( $\Delta A_{340}$ ) belirlendi. Kör için hesaplanan  $\Delta A_{340}$  değeri bu değerden çıkarıldı. GPx aktivitesi aşağıdaki formüle göre belirlendi.

$$\Delta A_{340/\text{min}} = \Delta A_{340} (\text{Time 2}) - \Delta A_{340} (\text{Time 1}) / \text{Time 2 (min)} - \text{Time 1 (min)}$$

$$\text{GPx aktivitesi (nmol/dk/ml)} = (\Delta A_{340/\text{min}} / 0,000373 \text{ M}^{-1}) \times (0,19 \text{ ml} / 0,02 \text{ ml}) \times \text{dilüsyon}$$

### **PLAZMA GLUTATYON DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ**

Plazma GSH düzeyleri ölçümünde Cayman's Glutatyon ölçüm kiti kullanıldı.

### **Prensip**

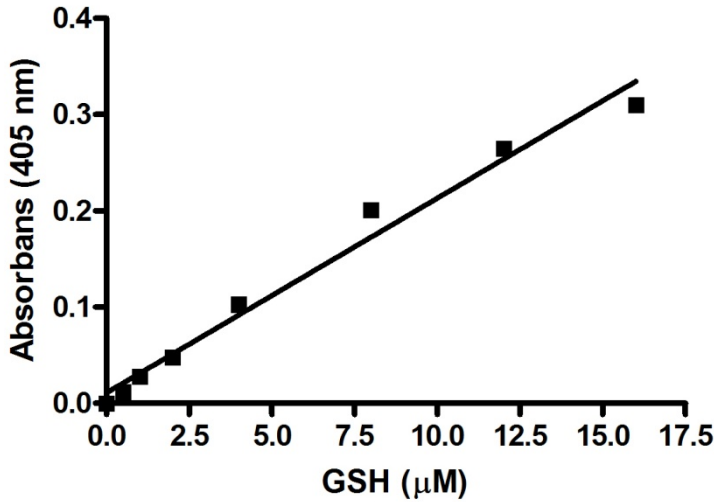
Bu kit GSH düzeylerinin belirlenmesinde glutatyon redüktaz (GR) enzimi tarafından meydana getirilen enzimatik döngüyü kullanır. GSH'nin sülfidril grupları Ellman ayıracı (DTNB, 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic asit) ile birleşerek yeşil renkli 5-thio-2-nitrobenzoik asit (TNB) oluşturur. Beraberinde karışık disülfidler GSTNB (GSH ile TNB arasında) oluşur ve bu disülfidler GR enzimi tarafından azaltılır ve daha fazla TNB açığa çıkar. TNB oranı bu döngüsel reaksiyon ile doğrudan ilişkilidir. TNB absorbansınının 405-414 nm ölçümü ile örnekteki GSH miktarı belirlenir.

## Deney

Spektrofotometre tabakasında standartların ve örneklerin koyulacağı çukurların şeması belirlendi. Standart çukurlarına 50 µl standart, 150 µl ölçüm kokteyli (MES tamponu (0.4 M 2-(N-morpholino) ethanesulphonic asit, 0.1 M fosfat ve 2 mM EDTA, pH 6,0) 11.25 ml, kofaktör karışımı (NADP<sup>+</sup>, glukoz-6-fosfat) 2.1 ml, enzim karışımı (GR, Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz) 2.1 ml, su 2.3 ml, DTNB 0.45 ml karıştırılarak oluşturulur) konuldu. Örnek çukuruna 50 µl örnek, 150 µl ölçüm kokteyli konuldu. 405-414 nm dalga boyunda 25. dakikada spektrofotometrik olarak ölçüldü.

## Hesaplama

Standart A'nın absorbans değeri kendinden ve diğer standart ve örneklerin absorbanslarından çıkarılarak doğru absorbanslar hesaplandı. GSH standart eğrisi çizildi (Şekil 5). Buradan örneklerin total GSH içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplandı.



Şekil 5 Glutatyon standart eğrisi

$$\text{Total GSH } (\mu\text{M}) = [(\text{absorbans } 405\text{-}414\text{nm}) - (\text{y-intercept}) / \text{slope}] \times 2 \times \text{dilüsyon}$$

## PLAZMA NİTRAT VE NİTRİT TAYİNİ

Nitrat ve nitrit tayini Cortes ve Wakid'in tariflediği yöntemle yapıldı.

### Kullanılan Reaktifler

1. Kadmiyum granülleri: 0.1 mol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

2. Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/l NaOH çözeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C'de stabildir.
3. Sülfanilamid: 2.5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/l HCl içinde çözüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.
4. N-Naphthiletlen diamin (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8°C'de stabildir.
5. Çinko Sülfat (ZnSO<sub>4</sub>): 75 mmol/l; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
6. Bakır Sülfat (CuSO<sub>4</sub>): 5 mmol/l; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.
7. Sodyum Hidroksit (NaOH): 55 mmol/l; 1.1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
8. Standartlar: NaNO<sub>2</sub> standardı 10 mmol/l'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlandı. (69 mg NaNO<sub>2</sub>, 380 mg borat (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10 H<sub>2</sub>O) 100 ml içinde çözülür.) KNO<sub>3</sub> standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözüldü.

### **Deneyin Yapılışı**

**Deproteinizasyon:** Test tüpüne 0.5 ml numune, 0.5 ml distile su, 2 ml ZnSO<sub>4</sub>, 2.5 ml NaOH ilave edilip vorteksle karıştırıldı. 10 dk oda ısısında beklettikten sonra 4 000 x g'de 10 dk santrifüj edildi.

**Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu:** Granüller 3 defa distile su ile yıkandı. 1-2 dk içinde CuSO<sub>4</sub>'de çalkalanarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

### **Sonucun Hesaplanması**

KNO<sub>3</sub> standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 mM'lık seri dilüsyonlar hazırlandı ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı. 1 ml glisin-NaOH buffer tüm tüplere konuldu. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konuldu. 90 dk oda ısısında karıştırarak beklendi. Süre sonunda nitrit ölçümü için bu tüplerden 2'er ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edildi; karıştırıldı ve 45 dk beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

**Direkt nitrit ölçümü:** NaNO<sub>2</sub> standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlandı ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere konuldu. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklendi. 45 dk sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

**Nitrat ölçümü:** Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerleri çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç milimol/litre olarak hesaplanmış oldu.

### **PLAZMA METİLENMİŞ ARGİNİN TÜRLERİNİN ÖLÇÜMÜ**

Plazma metilenmiş arginin türlerinin ölçümleri “*high performance liquid chromatography*” (HPLC) cihazında ölçüldü.

### **Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

3-merkaptopropionik asit, OPA (Fluka, Almanya); amonyak, asetonitril, metanol, L-arginin, HCl, Borik asit, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KOH, NaOH (Merck&Co, Inc, Darmstadt, Almanya), ADMA, homoarginin, monometilarginin, SDMA (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Seinhelm, Almanya).

### **Yazılım ve Ekipman**

Asimetrik dimetilarginin düzeyleri Waters Alliance 2690 XE, Model 474 floresan dedektör ve Millennium 32 Software kullanılarak ölçüldü. Örneklere solid faz ekstraksiyonu (20 kolon kapasiteli vakum manifoldlu SPE, Waters) uygulandı.

### **Solüsyonlar**

**Arginin stok solüsyonu:** MA: 174.20 g, 10 mM HCl. 174 mg arginin 10 ml HCl içinde çözüldü ve 100 mM stok solüsyon elde edildi. Bu solüsyon 1:100 dilüe edilerek 1 mM'a ulaşıldı.

**Homoarginin stok solüsyonu:** MA: 224.69 g, 10 mM HCl. 225 mg homoarginin 10 ml HCl içinde çözüldü ve 100 mM stok solüsyon elde edildi. Bu solüsyon 1:100 dilüe edilerek 1 mM'a ulaşıldı.

**Asimetrik dimetilarginin stok solüsyonu:** MA: 275.18 g, 10 mM HCl. 50 mg ADMA 18.17 ml HCl içinde çözüldü ve 10 mM stok solüsyon elde edildi. Bu solüsyon 10 kez dilüe edilerek 1 mM'a ulaşıldı.

**Simetrik dimetilarginin stok solüsyonu:** MA: 758.82 g, 10 mM HCl. 25 mg SDMA 33 ml HCl içinde çözüldü ve 1 mM stok solüsyon elde edildi.

**Combine working standard:** Arginin, homoarjinin, ADMA ve SDMA'nın 1 mM'lık stok solüsyonlarından 10 mM HCl içinde 100 µM arginin ve 10 µM homoarginin, ADMA ve SDMA içeren bir karışım oluşturuldu.

**Monometilarginin:** MA: 248.28 g, 10 mM HCl. 5 mg MMA 20.1 ml HCl içinde çözüldü, 1 mM stok solüsyon elde edildi. Bu solüsyondan 50 adet eppendorf tüpüne her birine 50 mikrolitre olacak şekilde dağıtıldı, kalanı (17.5 ml) bir tüp içinde saklandı. (Her yığın çalışmada 1 eppendorf alınıp üzerine 1200 mikrolitre PBS eklenerek 40 µM'lık final konsantrasyon elde edildi (İnternal Standart)).

**Fosfat tampon solüsyonu:** 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 9 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 137 mM NaCl hazırlandı. pH değeri, 1 M NaOH ve HCl ile 7'ye ayarlandı.

**Potasyum borat buffer:** 200 mM (100 ml) olacak konsantrasyonda 50 ml borik asit içinde hazırlandı. KOH eklenerek pH 9.5'e getirildi ve 100 ml'ye tamamlandı.

**Ortho-phtaldialdehyde stok solüsyonu (derivatizasyon reageni):** MA: 134.13 g, MeOH. 10 mg ortho-phtaldialdehyde (OPA) 0.2 ml MeOH içinde çözüldü, 1.8 ml 200 mM potasyum borat buffer (pH:9.5) eklendi, daha sonra 10 mikrolitre 3-merkaptopropionik asit eklendi böylece 0.2 ml'de 10 mg OPA içeren stok solüsyon elde edildi.

**Ortho-phtaldialdehyde final solüsyonu:** OPA stok türevlendirmeden hemen önce Borat buffer ile 5 kez dilüe edildi ve böylece 7.5 mM konsantrasyonda OPA final elde edilmiş oldu. 48 saat içinde kullanıldı.

**Mobil faz A:** 6.8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  980 ml suda çözüldü. KOH ile pH 6.5'e ayarlandı, filtreden süzülerek ve hacim 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan tampona 95.3 ml asetonitril eklendi ve ultrasonik banyoda 30 dk bekletildi.

**Mobil faz B:** Su ve asetonitrilin hacimce yarı yarıya (50/50) karıştırılmasıyla elde edildi.

### **Örneği Saflaştırma ve Türevlendirme**

Santrifüj (3 000 x g 10 dakika) ile elde edilen serum örnekleri ve standartlara SPE uygulandı. Rutin protokol, 3.0 ml'lik temiz bir cam tüp içine 0.2 ml örnek (veya Standart), 0.1 ml internal standart ve 0.7 ml PBS konuldu ve vortekslendi, ön koşullama yapılmaksızın Oasis MCX SPE kolondan (vakum altında, 1 ml/dk hızla) geçirildi. Örneklerin uygulanmasından sonra kolon sırayla 0.1 ml 100 mM HCl ve 1.0 ml metanol ile yıkandı. Analitler 3.0 ml'lik tüplere, 1.0 ml konsantre amonyak/su/metanol (10/40/50) ile Oasis MCX SPE kolondan elüe edildi. Tüpteki solvent 60-80 °C'de nitrojen ile uçuruldu. Tüpe 0.1 ml  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (200 mM) eklenerek tüpün içinde kalan analitler çözdürüldü. Son olarak 0.1 ml OPA reageni tüpe konularak vortekslleme işlemi tekrarlandı. 3 dk beklendi tekrar vortekslendi ve örnek *otosampler viyallere* aktarılıp kompartmana yerleştirildi. Kromatografide örnek kompartmanı 7 °C'ye ayarlandı.

### **Kromatografi**

Kromatografi Symmetry C18 kolon (3.9x150 mm; 5 µm partikül büyüklüğü; 100 Å pore büyüklüğü) ve 3.9x20 mm Sentry Symmetry C18 guard kolon üzerinde alındı. Mobil faz A %8.7 asetonitril içeren 50 mM potasyum fosfat tampon (pH 6.5); mobil faz B ise asetonitril/su (50/50, v/v) olacak şekilde hazırlandı, seperasyon izokratik koşullarda, %100 mobil faz A ile 1.1 ml/dak hız ve 30 °C kolon sıcaklığı değerlerinde yapıldı. Son analitin çıkışından sonra güçlü bir şekilde retansiyona uğrayan bileşikler güçlü solvent akımı (%50 B 20-22 dk'lar arası) ile elüe edildi 22. ve 23. dk'lar arasında gradient başlangıç değerlerine döndürülerek kolon 7 dk daha dengelenmeye bırakıldı; böylece toplam çalışma süresi her örnek için 30 dk olacak şekilde ayarlandı. Enjeksiyon hacmi 20 µl seçilerek, fluoresans eksitasyon-emisyon dalga boyları sırasıyla 340-455 nm olarak ölçüldü. Elde edilen pikler, pik alanlarına göre değerlendirildi.



## **Kalibrasyon**

Metod validasyonu için kalibrasyon 9 kombine kalibrasyon standardı kullanılarak (konsantrasyon aralığı arginin için 1-200 µM; ADMA, SDMA için 0.1-20 µM) yapıldı. Internal standardın eklenmesinden sonra standartlara SPE, derivatizasyon ve kromatografi uygulanarak bunlara ait pikler alındı. Plazma örneklerinin ölçümü için 100 µM arginin ve 10 µM homoarginin, ADMA ve SDMA ile tek-nokta kalibrasyonu yapıldı.

## **HİSTOPATOLOJİK İNCELEME**

Histopatolojik incelemelerin yapılması amacıyla sağ ve sol ayak bileği eklemlerini içeren sıçan ayakları Fakültemiz Tıbbi Patoloji laboratuvarına gönderilmiştir.

Patoloji laboratuvarında sağ ve sol ayak bileği eklemlerini de içeren sıçan ayakları 24 saat boyunca %10'luk tamponlu nötral formaldehit tespitine tabi tutulmuşlardır. Daha sonra dekalsifikasyon amacıyla dokular %10'luk nitrik asit içinde 12 saatte bir kalsifikasyon durumları kontrol edilerek yaklaşık 36 saat bekletilmişlerdir. Otuz altı saat sonunda dekalsifiye olarak kemikleri yumuşayan ayakların tümünden metatarsofalangiyal eklemler görüntülenecek şekilde parçalar kasete alınmıştır. Gece boyunca alkol takibinden geçen dokuların parafine gömülmesinin ardından elde edilen 5 mikron kalınlığındaki kesitler lamaların üzerine alınmış ve rutin hematoksilen eozin (HE) boyası ile boyanarak ışık mikroskobu (Olympus BX51) altında değerlendirilmiştir. Değerlendirme sırasında her dokudaki eklem komşu dokulardaki inflamasyon ile eklem içi sinovyal proliferasyon şiddetlerine göre derecelendirilerek not edilmiştir. Buna göre; 0-lezyon yok, 1-hafif şiddetli lezyon, 2-orta şiddetli lezyon, 3-şiddetli lezyon olarak kabul edilmiş ve semikantitatif olarak skorlanmıştır. Vasküler proliferasyonun tespiti için 5 büyük büyütme alanındaki (BBA= x40) damarlar sayılmış ve ortalamaları alınarak büyük büyütme alanı başına düşen damar sayısı hesaplanmıştır. Ayrıca bazı dokularda görülen lezyonlar (granülom varlığı, ödem) derecelendirilmeden not edilmiştir (15).

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistiksel değerlendirme, AXA507C775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA 7.1 istatistik ve Graphpad Prism for Mac OSX Version 5.0c programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilen 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 ise kıyaslamalarda 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

Sıçanların sağ arka ayak pençelerine intradermal olarak FCA injeksiyonu, pençede belirgin bir inflamatuvar reaksiyon oluşturdu. Bu etki 17. günde belirgindi. Çalışmamızda 0. günde tek doz FCA injeksiyonunu takiben kontrol (Grup 1) grubuna göre, diğer gruplarda (grup 2, 3, 4, 5, 6) sağ pençede adjuvant artrit oluşturduğu ödem, özel bir kumpas ile 17. günde mikrometrik olarak yapılan ölçümde istatistiksel farkın ( $p<0.05$ ) gösterilmesiyle (Şekil 6, Tablo 1) ortaya konuldu.

Pelargonium sidoides'in oluşan adjuvant artrit üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla 17-27. günler arasında 2. gruba Pelargonium sidoides'in çözücüsü olan %12'lik etanol, 3. gruba Pelargonium sidoides 100 mg/kg, 4. gruba Pelargonium sidoides 200 mg/kg, 5. gruba Pelargonium sidoides 500 mg/kg ve 6. gruba pozitif kontrol olarak ibuprofen 100 mg/kg dozunda gavaj yoluyla uygulandı.

Yirmi yedinci günde 2. grupta (FCA ve %12'lik etanol alan grup) pençe ödemi devam etmekteydi. 27. günde 2. grup ile tedavi grupları (3, 4, 5, 6. gruplar)'nı karşılaştırdığımızda, grup 4 (200 mg/kg) ve grup 5 (500 mg/kg)'de pençe ödeminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu saptandı ( $p<0.05$ ) (Şekil 6, Tablo 1). Fakat grup 3 (100 mg/kg) ve grup 6 (ibuprofen 100 mg/kg)'da pençe çapında azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık saptanamamıştır. 27. gün ile 17. gündeki pençe çapı değerleri karşılaştırıldığında tüm tedavi gruplarında pençe çaplarının değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. Ayrıca 27. günde tüm tedavi grupları (grup 3, 4, 5, 6) kendi aralarında karşılaştırıldığında grup 4'te, pençe ödemindeki azalmanın istatistiksel olarak en fazla olduğu saptandı ( $p<0.05$ ) (Şekil 6, Tablo 1).

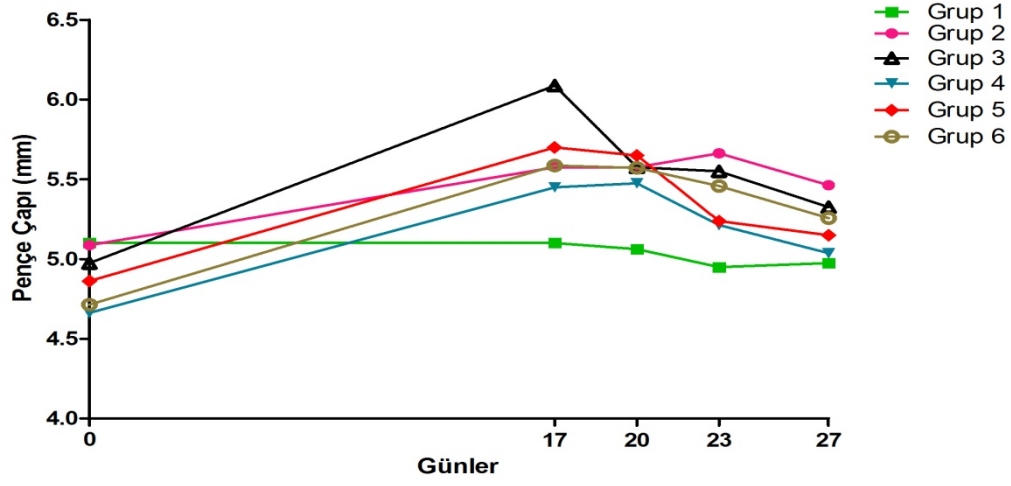
**Tablo 1. Tüm gruplarda pençe takileri ortalamaları (mm)**

	0. Gün		17. Gün		20. Gün		23. Gün		27. Gün	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
<b>Grup 1</b>	5.1±0.23	5.0±0.17	5.1±0.2	4.9±0.20	5.0±0.10	5.0±0.11	4.9±0.11	4.9±0.07	4.9±0.13	4.8±0.08
<b>Grup 2</b>	5.0±0.28	5.0±0.21	5.5±0.18*	4.7±0.36	5.5±0.12	5.0±0.15	5.6±0.18	5.0±0.20	5.4±0.25	4.8±0.07
<b>Grup 3</b>	4.9±0.20	4.9±0.21	6.0±0.51*	4.8±0.23	5.5±0.12	5.0±0.15	5.5±0.16	4.8±0.11	5.3±0.14	4.6±0.17
<b>Grup 4</b>	4.6±0.15	4.6±0.22	5.4±0.35*	4.8±0.23	5.4±0.27	4.9±0.31	5.2±0.29	4.6±0.21	5.0±0.36 <sup>†‡</sup>	4.5±0.31
<b>Grup 5</b>	4.8±0.15	4.8±0.18	5.7±0.23*	4.9±0.13	5.6±0.07	5.0±0.05	5.2±0.13	4.5±0.14	5.1±0.13 <sup>†</sup>	4.5±0.15
<b>Grup 6</b>	4.7±0.12	4.7±0.19	5.5±0.09*	4.8±0.12	5.5±0.17	4.9±0.14	5.4±0.17	4.8±0.17	5.2±0.17	4.7±0.17

\* p<0.05, 17. günde grup 1 ile karşılaştırma

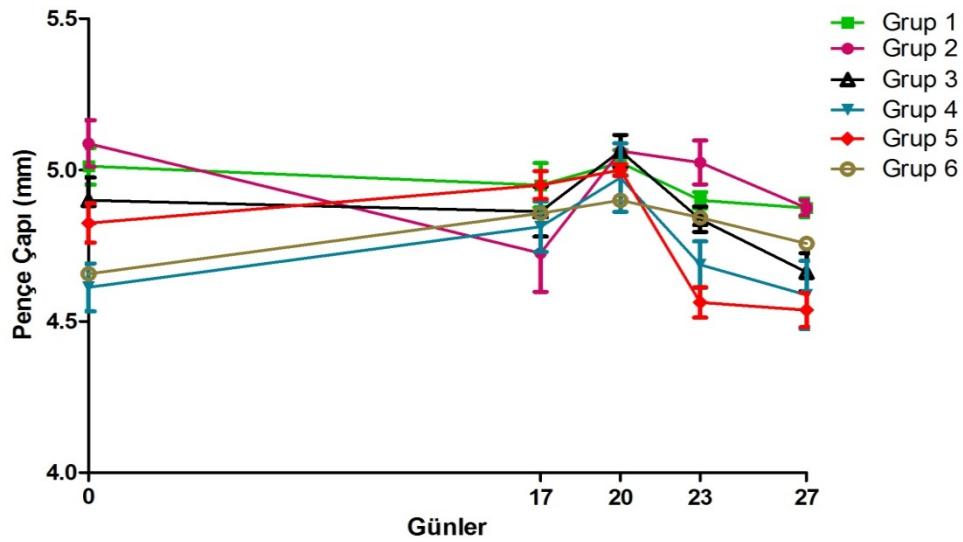
<sup>†</sup> p<0.05, 27. günde grup 2 ile karşılaştırma

<sup>‡</sup> p<0.05, 27. günde tedavi gruplarının (grup 3, 4, 5 ve 6) karşılaştırılması



Şekil 6. Sağ pençe takibi

Sol pençe ölçümlerinde kontrol grubuna göre adjuvant artrit gelişimi ve verilen tedavilerle etkileşimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Şekil 7).



Şekil 7. Sol pençe takibi

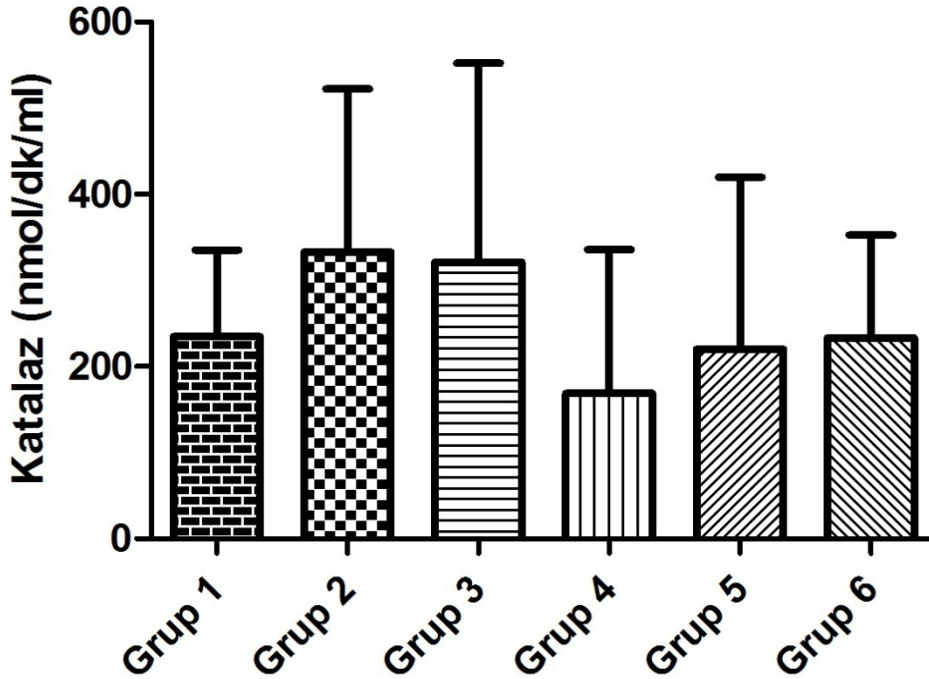
## PLAZMA KATALAZ DÜZEYLERİ

Plazma katalaz düzeyi ölçümleri Cayman's catalase ölçüm kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle nmol/ml/dk olarak incelendi. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 1). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 8).

Tablo 2. Plazma katalaz düzeyi ortalama ve standart sapmaları

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	234.5±100.8	332.6±189.8	321.1±231.0	168.5±167.1	220.1±199.6	233.1±119.8

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



Şekil 8. Gruplara göre plazma katalaz düzeylerinin dağılımı

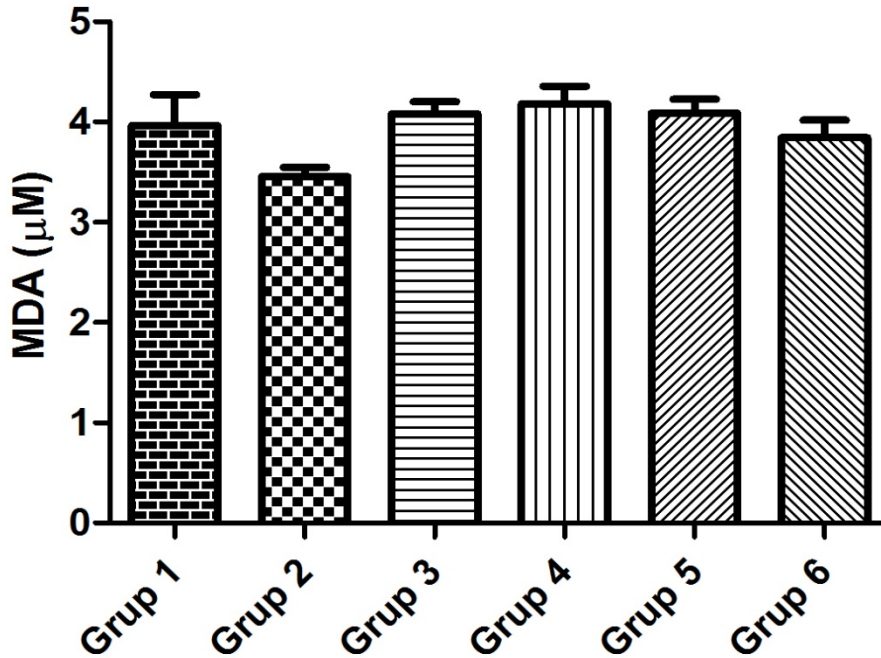
## PLAZMA MALONDİALDEHİD DÜZEYLERİ

Plazma MDA düzeyi ölçümleri Oxis Research ölçüm kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle mikromolar ( $\mu\text{M}$ ) olarak değerlendirildi. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 2). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 9).

**Tablo 3. Plazma malondialdehid düzeyi ortalama ve standart sapmaları**

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort $\pm$ SD	3.96 $\pm$ 0.86	3.45 $\pm$ 0.26	4.08 $\pm$ 0.34	4.18 $\pm$ 0.50	4.08 $\pm$ 0.39	3.84 $\pm$ 0.45

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



**Şekil 9. Gruplara göre plazma malondialdehid düzeylerinin dağılımı**

MDA: Malondialdehid.

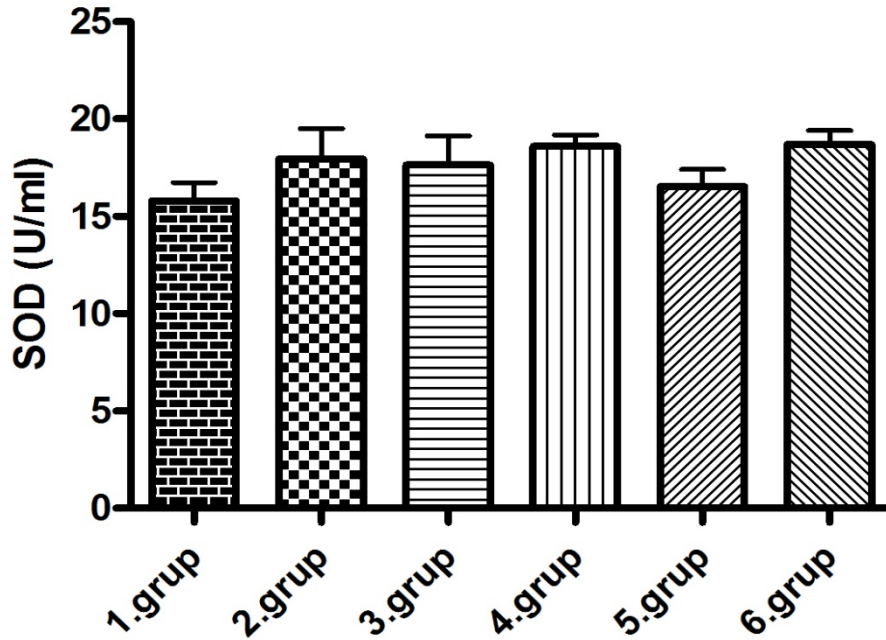
## PLAZMA SUPEROKSİD DİSMUTAZ DÜZEYLERİ

Plazma SOD düzeyi ölçümleri Cayman's Superoksid Dismutaz ölçüm kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle unite/mililitre (U/ml) olarak hesaplandı. Sonuçlar ortalama ve standart sapmalar olarak verildi (Tablo 3). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi ve parametrik varyans analizi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 10).

**Tablo 4. Plazma superoksid dismutaz düzeyi ortalama ve standart sapmaları**

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	15.80±2.65	17.96±4.40	17.63±4.24	18.60±1.65	16.52±2.51	18.69±1.92

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



**Şekil 10. Gruplara göre plazma superoksid dismutaz düzeylerinin dağılımı**

SOD: Superoksid dismutaz.



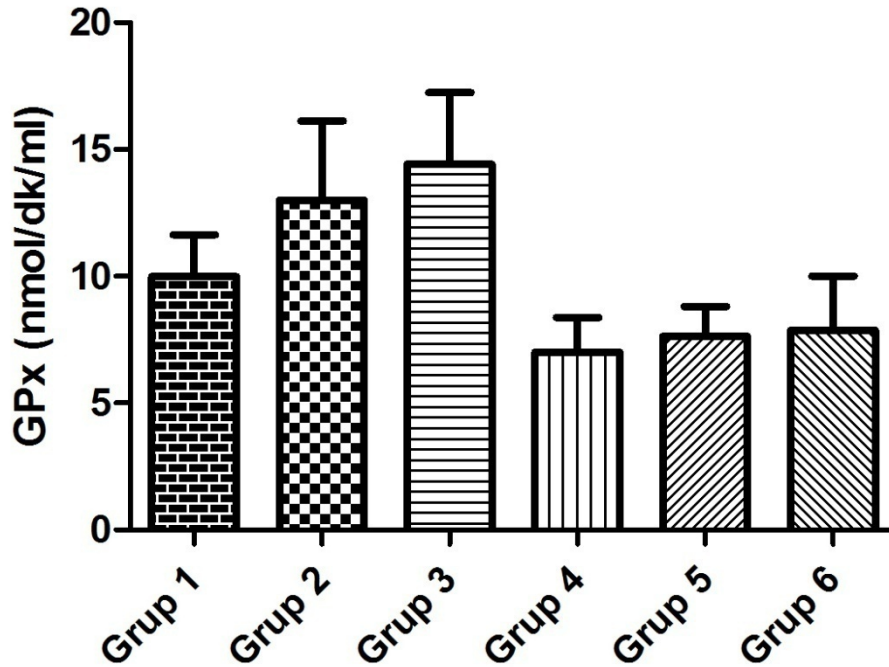
## PLAZMA GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİ

Plazma GPx düzeyi ölçümleri Cayman's Glutasyon Peroksidaz ölçüm kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle nmol/dakika/mililitre (nmol/dk/ml) olarak hesaplandı. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 4). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 11).

**Tablo 5. Plazma glutatyon peroksidaz düzeyi ortalama ve standart sapmaları**

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	9.99±4.65	13.00±8.18	14.43±7.41	7.00±3.87	7.64±3.30	7.88±5.62

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



**Şekil 11. Gruplara göre plazma glutatyon peroksidaz düzeylerinin dağılımı**

GPx Glutasyon peroksidaz.

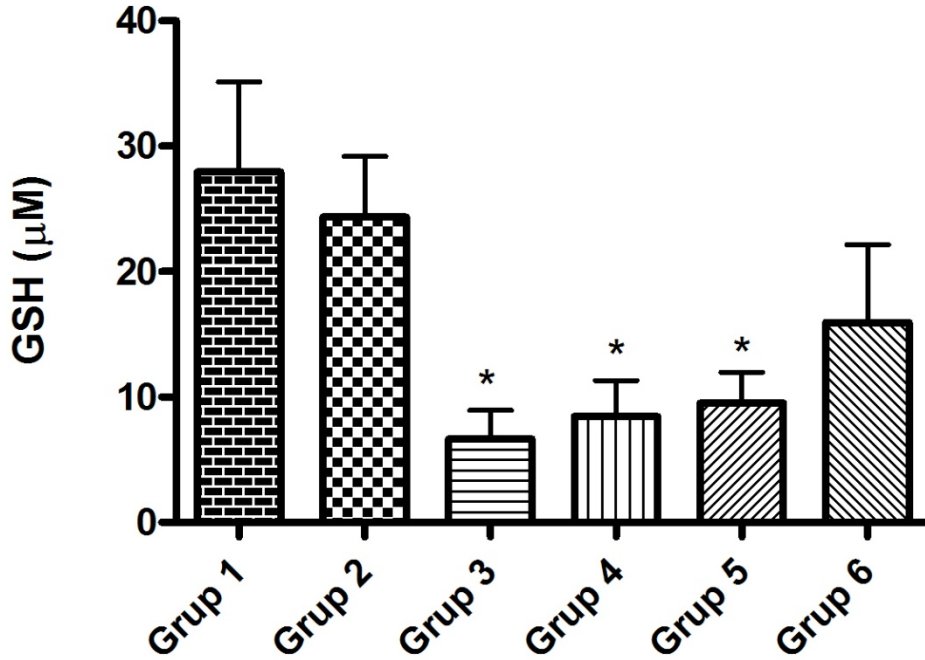
## PLAZMA GLUTATYON DÜZEYLERİ

Plazma GSH düzeyi ölçümleri Cayman's Glutasyon ölçüm kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle mikromolar ( $\mu\text{M}$ ) olarak hesaplandı. Sonuçlar ortalama ve standart sapmalar olarak verildi (Tablo 5). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi. Nonparametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi uygulandı. 1. ve 2. gruplar arası anlamlı bir fark bulunamadı. 27. günde 2. gruba göre 3, 4 ve 5. gruplarda istatistiksel olarak anlamlı azalma ( $p<0.05$ ) olduğu görüldü (Şekil 12).

**Tablo 6. Plazma glutasyon düzeyi ortalama ve standart sapmaları**

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort $\pm$ SD	27.95 $\pm$ 18.67	24.35 $\pm$ 11.81	6.65 $\pm$ 5.11	8.46 $\pm$ 7.52	9.52 $\pm$ 6.99	15.95 $\pm$ 13.84

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



**Şekil 12. Gruplara göre plazma glutasyon düzeylerinin dağılımı**

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

GSH: Glutasyon.

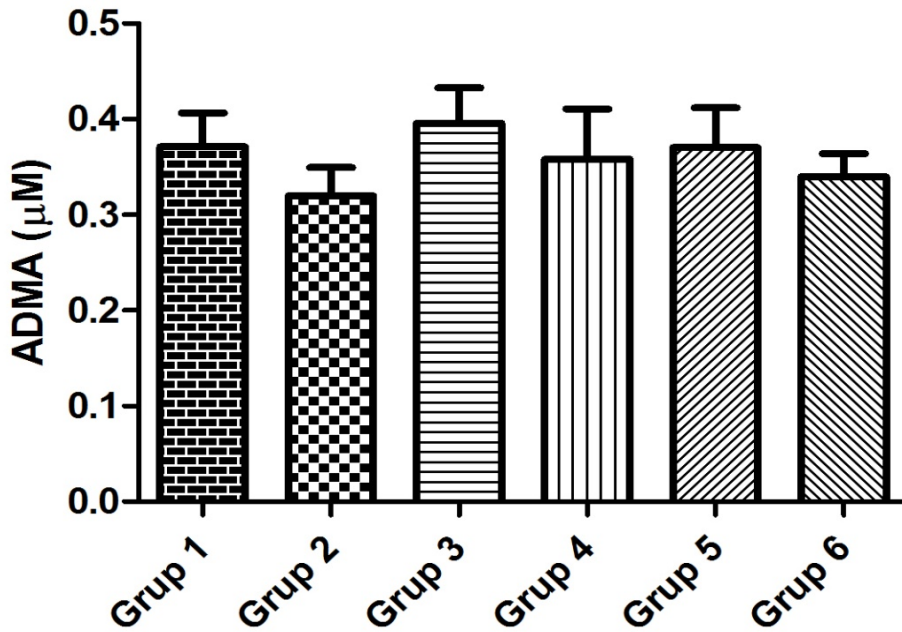
## PLAZMA METİLENMİŞ ARGİNİN TÜRLERİNİN DÜZEYLERİ

Plazma metilenmiş arginin türlerinin ölçümleri “*high performance liquid chromatography*” (HPLC) cihazında mikromolar ( $\mu\text{M}$ ) olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 6). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi ve parametrik varyans analizi uygulandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (Şekil 13).

Tablo 7. Plazma asimetrik dimetilarginin düzeyi ortalama ve standart sapmaları

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	0.37±0.10	0.32±0.08	0.39±0.10	0.35±0.14	0.37±0.11	0.33±0.06

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



Şekil 13. Gruplara göre plazma asimetrik dimetilarginin düzeylerinin dağılımı

ADMA: Asimetrik dimetilarginin.

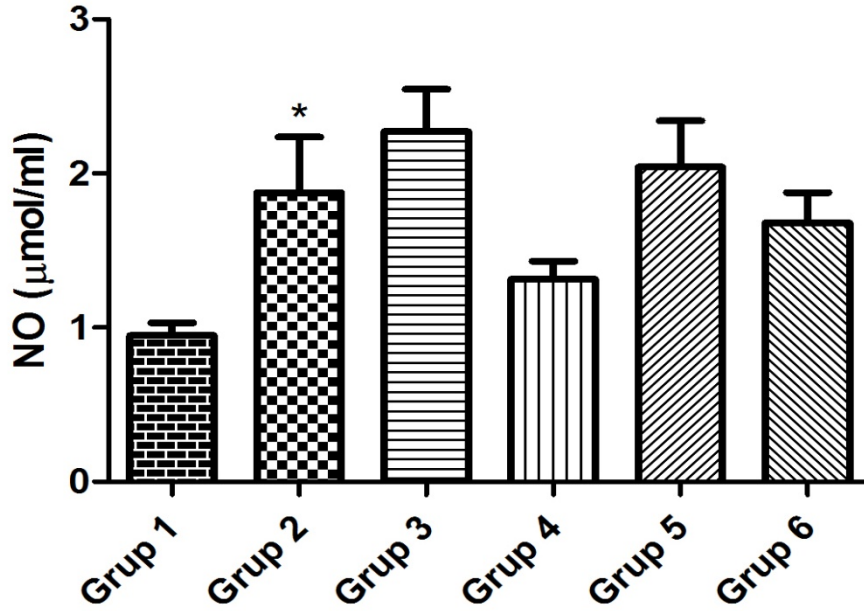
## PLAZMA NİTRAT-NİTRİT DÜZEYLERİ

Nitrat ve nitrit tayini Cortes ve Wakid'in tariflediği spektrofotometrik yöntemle göre nanomol/mililitre (nmol/ml) olarak ölçüldü. Ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo 7). Hesaplanan verilerin normalitesi incelendi ve parametrik varyans analizi, *post hoc* Dunnett's testi uygulandı. 27. günde kontrol grubuna (grup 1) göre 2. grupta plazma nitrik oksid düzeyi istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) yüksek bulundu (Şekil 14). 27. Günde, 2. grup ile tedavi grupları karşılaştırıldığında (3, 4, 5 ve 6. gruplar) grup 4'te azalma olduğu saptandı (Şekil 14).

**Tablo 8. Plazma nitrik oksid düzeyi ortalama ve standart sapmaları**

GRUPLAR	1	2	3	4	5	6
Ort±SD	0.94±0.23	1.87±1.02	2.27±0.77	1.31±0.33	2.04±0.84	1.67±0.52

Ort: Ortalama; SD: Standart sapma.



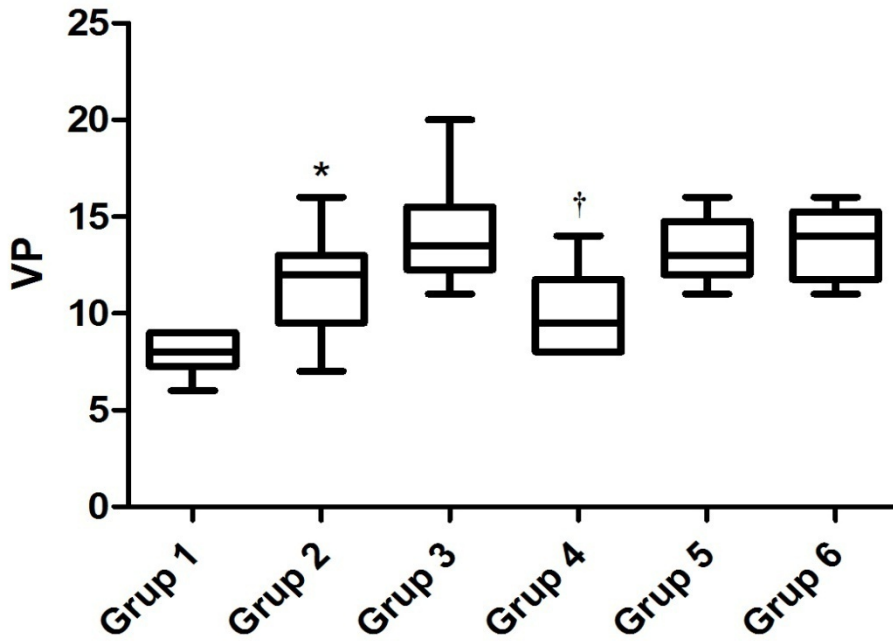
**Şekil 14. Gruplara göre plazma nitrik oksid düzeylerinin dağılımı**

NO: Nitrik oksit

\* $p<0.05$ , 27. günde kontrol grubu (Grup 1) göre, grup 2'ye göre varyans analizi, *post hoc* Dunnett's test.

## HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

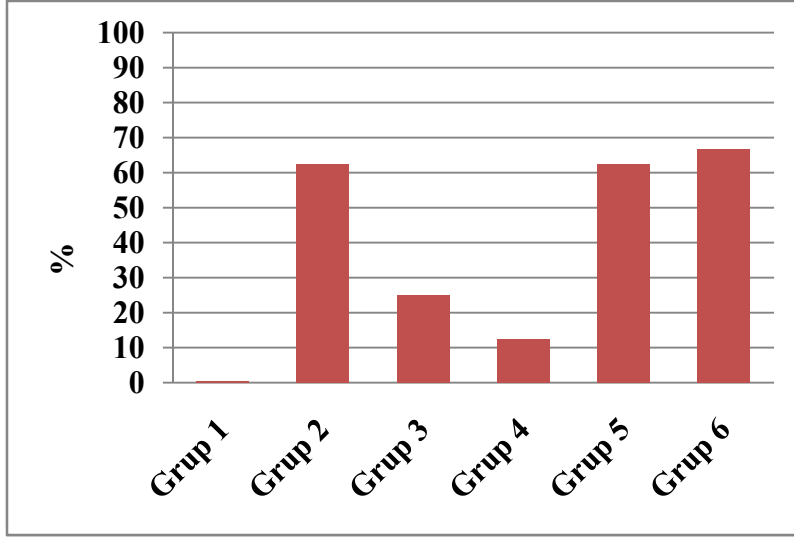
Sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde 40'lık büyütmede 5 alan incelendi. Vasküler yapılar sayıldı ve ortalamaları alındı. 27. günde median değerleri grup 1 (kontrol)' e göre grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $p<0.05$ ). 2. grup ile 3, 4, 5 ve 6. gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Tedavi grupları (3, 4, 5 ve 6. gruplar) kendi aralarında karşılaştırıldığında 4. gruptaki vasküler proliferasyon sayısı anlamlı derecede düşüktü ( $p<0.05$ ) (Şekil 15).



Şekil 15. Gruplara göre vasküler proliferasyon median değerleri

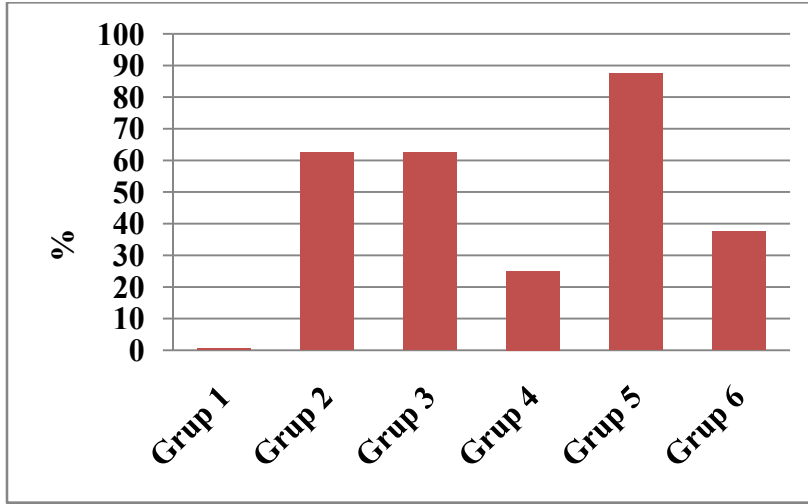
\* $p<0.05$ , 27. günde kontrol grubuna (grup 1) göre, † $p<0.05$  grup 3, 4, 5, 6' ya göre varyans analizi, *post hoc* Dunnett's test.

Sıçanların sağ arka ayak histopatolojik incelemelerinde 27. günde grup 1 (kontrol grubu) hayvanlarda sinovyal proliferasyona rastlanmadı. 2. grupta %62.5 görülürken; 3. grupta %25, 4. grupta %12.5, 5. grupta %62.5 ve 6. grupta %66.6 oranında sinovyal proliferasyon görüldü. Sinovyal proliferasyon grup 2 ile karşılaştırıldığında en az grup 4'te görüldü (Şekil 16).



**Şekil 16. Gruplara göre sinovyal proliferasyon % değerleri**

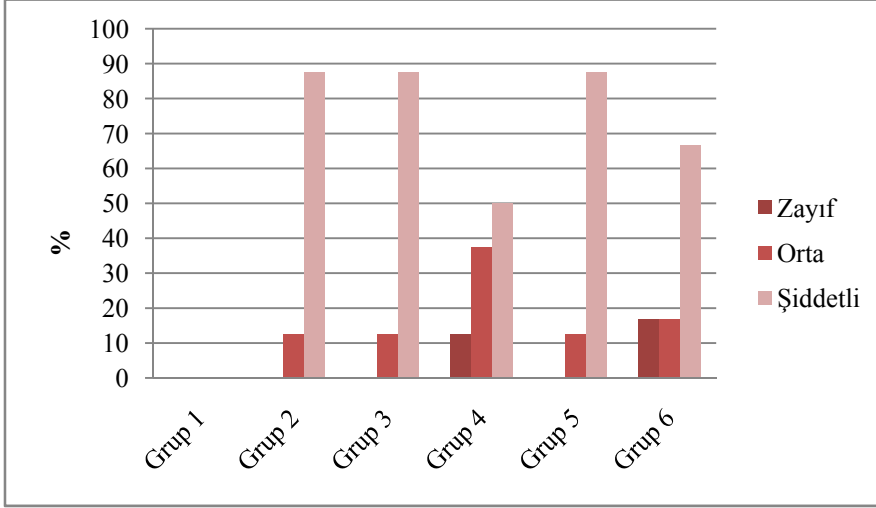
Yirmi yedinci günde sıçanların sağ arka ayak histopatolojik incelemelerinde grup 1 (kontrol grubu) hayvanlarda granüloma rastlanmadı. Grup 2'nin %62.5'inde granülom görülürken, tedavi gruplarından grup 3'ün %62.5'inde, grup 4'ün %25'inde, grup 5'in %87.5'inde, grup 6'nın %37.5'inde granülom görüldü. Granülom yüzde olarak grup 2 ile karşılaştırıldığında en az grup 4'te görüldü (Şekil 17).



**Şekil 17. Gruplara göre granülom % değerleri**

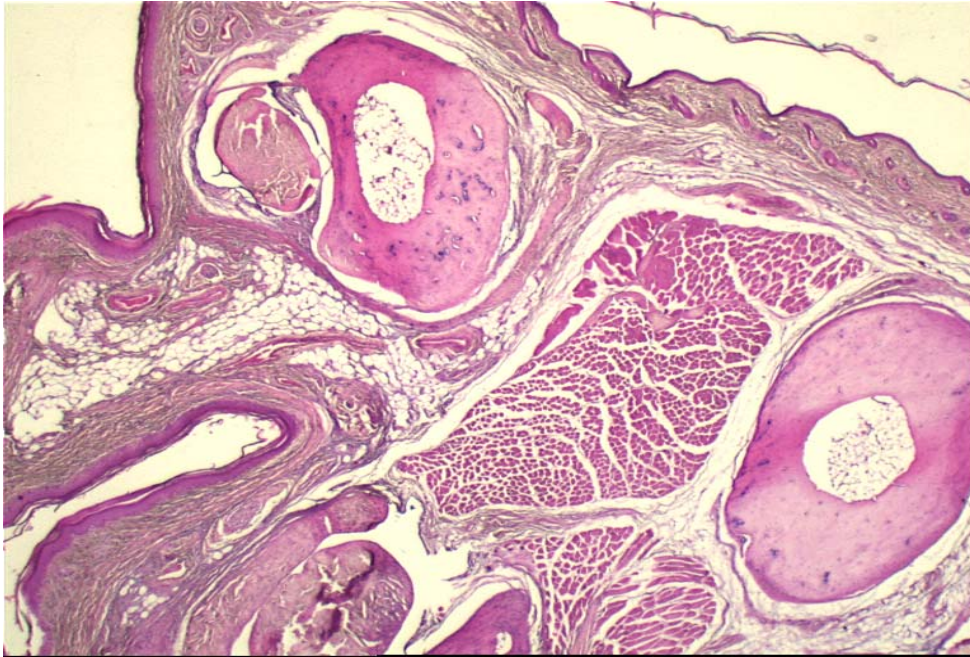
Yirmi yedinci günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda mononükleer inflamasyona rastlanmadı. Grup 2 de %12.5 orta, %87.5 şiddetli mononükleer inflamasyon görülürken; tedavi gruplarından grup 3'te %12.5 orta, %87.5 şiddetli; grup 4'te %12.5 zayıf, %37.5 orta,

%50 şiddetli; grup 5'te %12.5 orta, %87.5 şiddetli; grup 6'da % 16.6 zayıf, %16.6 orta, %66.6 şiddetli inflamasyon görüldü (Şekil 18).

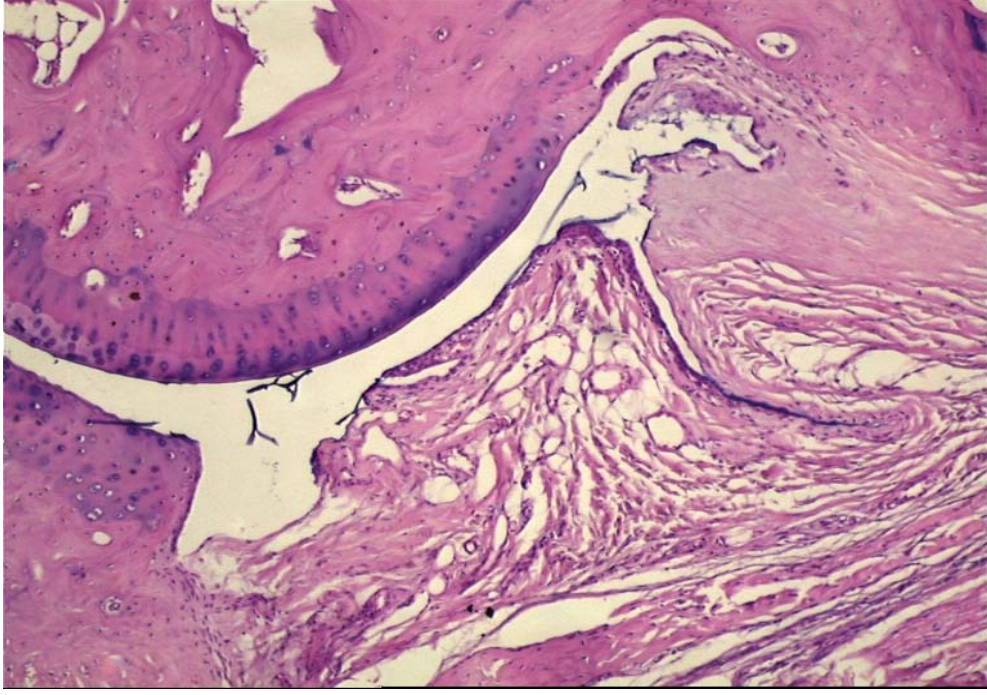


**Şekil 18. Gruplara göre mononükleer inflamasyonun zayıf-orta-şiddetli olarak % değerleri**

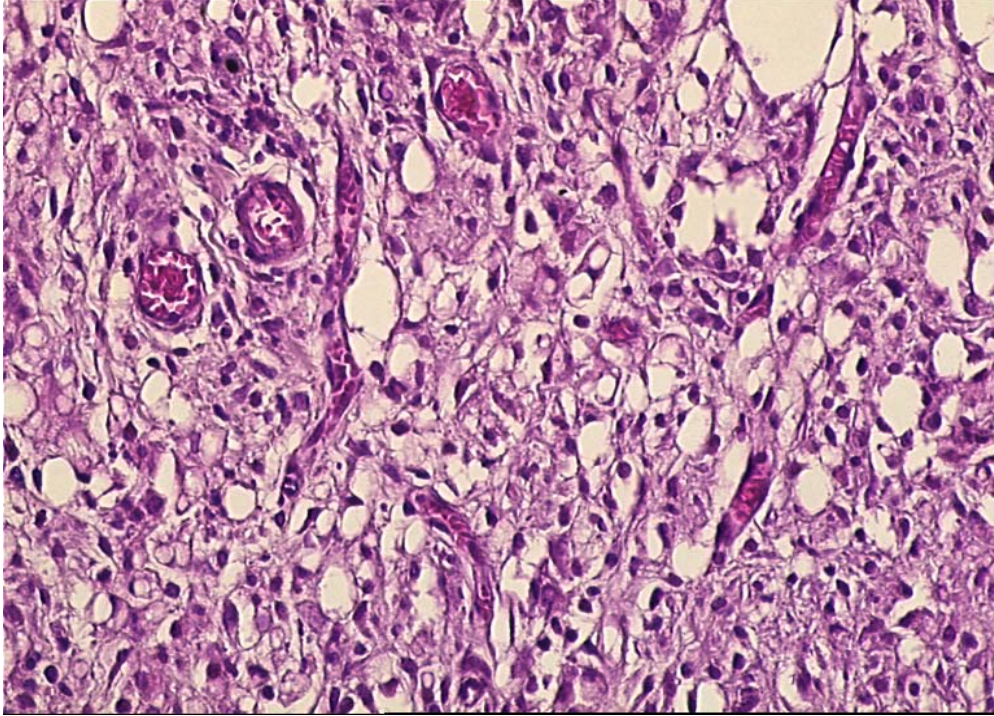
Şıçanların sol pençe histopatolojik incelemelerinde kontrolle denekler arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Histopatolojik olarak sağlıklı (grup 1) (Şekil 19, 20) ve patolojik (grup 2) (Şekil 21, 22, 23, 24, 25) doku örnekleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 19. İnflamasyon ve vasküler proliferasyon içermeyen sağlıklı kontrol dokusu (HEx12.5)**

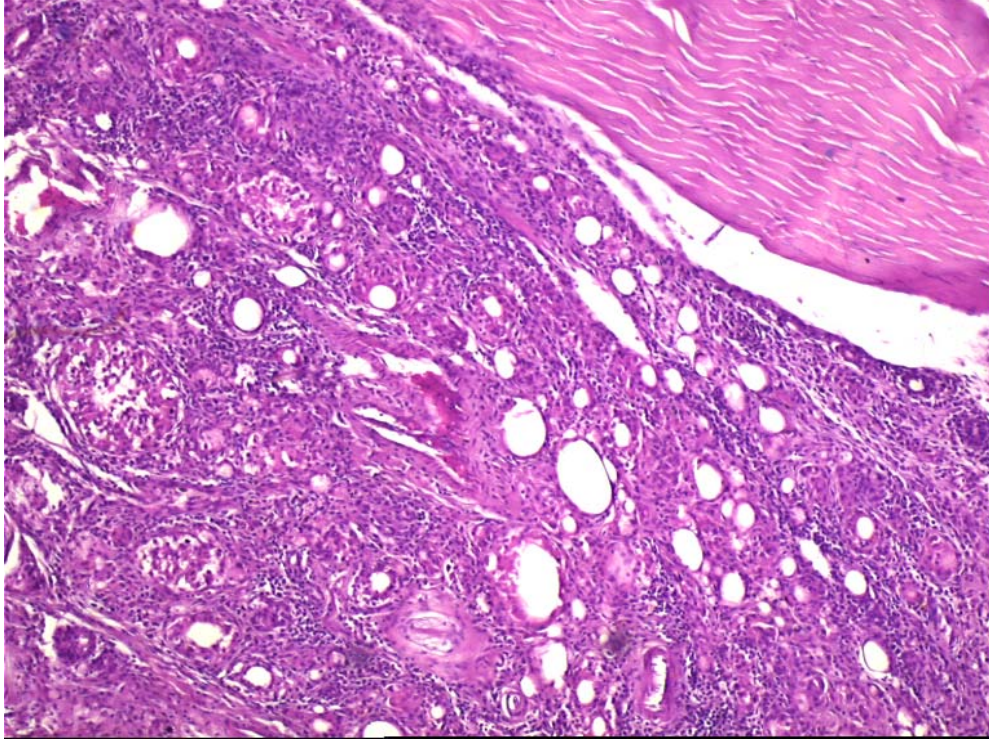


**Şekil 20. Sinoviyada proliferasyon görülmeyen sağlıklı kontrol dokusu (HEx50)**

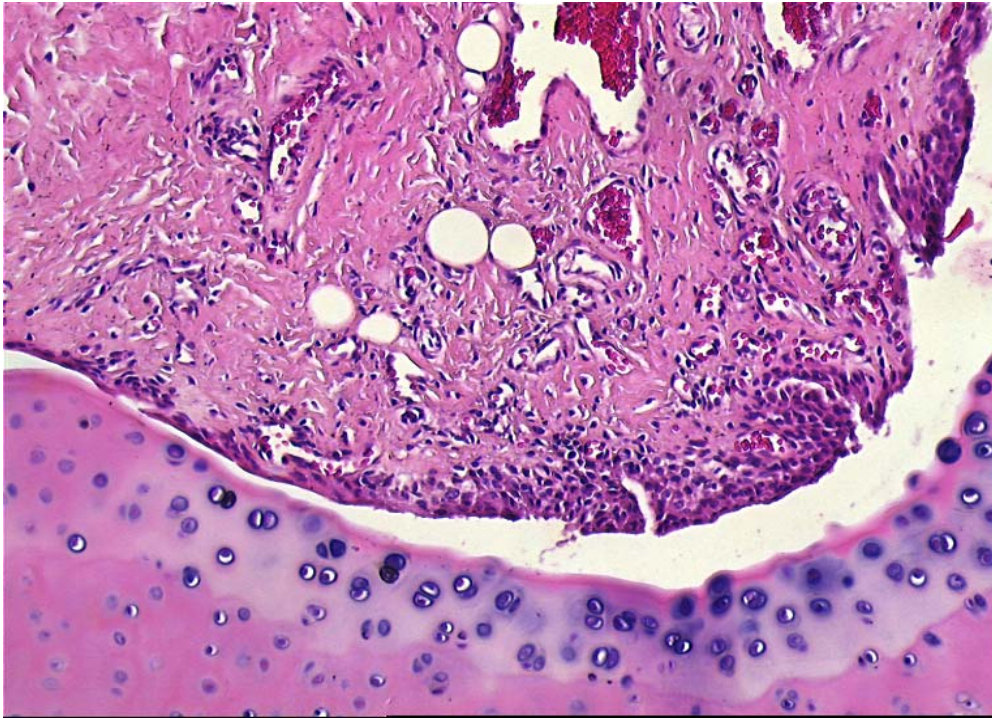


**Şekil 21. Şiddetli lezyon olan bir dokuda görülen proliferatif damarlar (HEx200)**

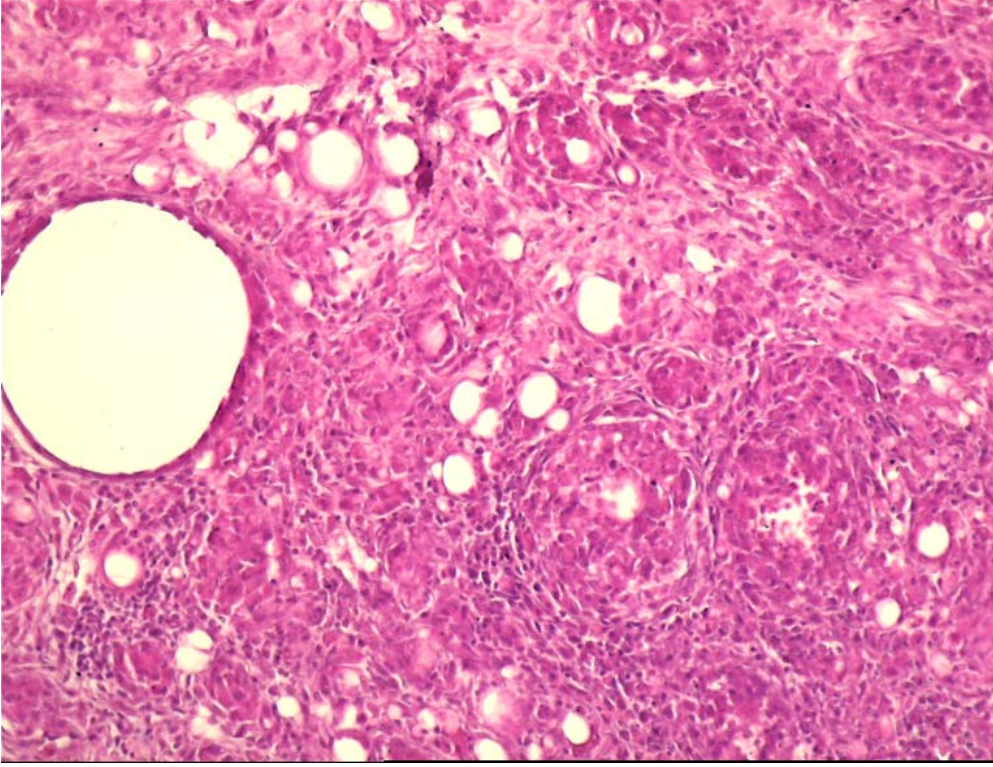




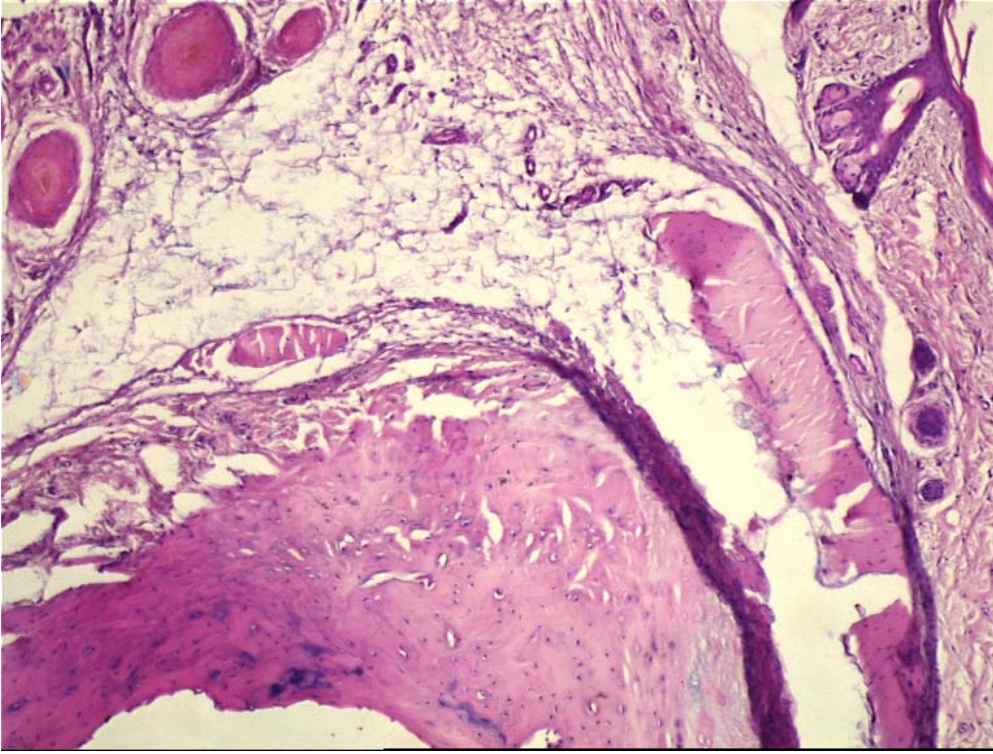
**Şekil 22. Şiddetli lezyon olan bir dokuda görülen yoğun mononükleer inflamasyon, sol kenarda 1 büyük, 2 küçük granülom yapısı, sağ üstte tendon aponörozu (HEx50)**



**Şekil 23. Periartiküler alandaki vasküler proliferasyona eşlik eden sinovya proliferasyonu (HEx100)**



**Şekil 24. Mononükleer inflamasyonla beraber belirgin granulomlar (HEx100)**



**Şekil 25. Periartriküler dokuda belirgin ödem (HEx50)**

## TARTIŞMA

Romatoid artrit, periferik sinovyal eklemleri simetrik şekilde tutan, bazen belirgin şekilde eklem dışı tutulumun da eşlik ettiği kronik ve multisistemik bir hastalıktır. İnflamatuvar artritler arasında en sık görüleni RA'dır. Eklem tutulumu, şekil bozukluğu yaparak zaman içinde önemli sakatlıklara yol açabilmektedir. 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 (1,5).

Romatoid artrit tedavisini araştırmak için birçok deneysel artrit modeli geliştirilmiştir. Bunlardan biri FCA'nın sıçan pençesine enjeksiyonuyla oluşturulan adjuvant artrit ve RA modeli olarak sıklıkla kullanılmaktadır (15). Bir adjuvant (parafin yağı) ile güçlendirilmiş bir antijene (mikobakteri kapsülündeki) karşı immünolojik yanıt olarak gelişir. Hücrel immün yanıtla oluşur ve histopatolojik görünümü RA ile oldukça benzerdir.

Çalışmamızda adjuvant artrit oluşturmak amacıyla 0. günde tek doz intradermal 0.1 ml FCA enjeksiyonu uygulandı. Bunu takiben 17. gün özel bir kumpas ile mikrometrik olarak yapılan ölçümde, FCA uygulanan tüm gruplarda sağ ve sol 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 başarı ile gerçekleştirdiğimizin göstergesidir. Sol pençelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.

Prostaglandin sentez inhibisyonuyla etkilerini gösteren nonsteroid antiinflatuvarların, sıçanlarda oluşturulan adjuvant artritte pençedeki ağrı, ödem, eritem gibi inflamatuvar parametreleri azalttığı yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (68,69).

İbuprofen artrit tedavisinde sıklıkla kullanılan bir nonsteroid antiinflamatuvardır. Bizim çalışmamızda ibuprofen, pelargonium sidoidesin adjuvant artritte inflamasyondaki etkisini karşılaştırmak için kullanıldı. Çalışmamız Pelargonium sidoidesin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan artrit modelinde etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır ve literatürde hayvanlarda oluşturulan deneysel artrit modelinde Pelargonium sidoidesin etkisinin incelendiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızda oluşturduğumuz adjuvant artrit tedavisine 17. gün başlandı ve 27. güne kadar devam edildi. Pelargonium sidoidesin 100 mg/kg 200 mg/kg 500 mg/kg dozlarının uygulandığı 3, 4, 5. grupların ve ibuprofen uygulanan 6. grubun 27. gün ile 17. gündeki pençe çapı değerleri karşılaştırıldığında tüm tedavi gruplarında pençe çaplarının değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. 1 ve 2. grupların 27. gün ile 17. gündeki pençe çapı değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı. 27. günde 2. gruba göre, 3. (100 mg/kg) ve 6. (ibuprofen) gruplarda pençe ödeminde azalma görülmesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmedi. 4. (200 mg/kg) ve 5. (500 mg/kg) gruplarda ise 2. gruba göre pençe ödeminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Pelargonium sidoidesin 200mg/kg ve 500mg/kg dozlarının uygulandığı 4 ve 5. gruplarda pençe ödemindeki azalmanın anlamlı olması, Pelargonium sidoidesin adjuvant artritteki inflamasyonda etkili olduğunu düşündürmektedir.

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 3, 4, 5 ve 6. gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Tedavi grupları (3, 4, 5 ve 6. gruplar) kendi aralarında karşılaştırıldığında 4. gruptaki vasküler proliferasyon sayısı anlamlı derecede düşüktü ( $p<0.05$ ).

Diğer artrit bulgularına baktığımızda sinovyal proliferasyon % 12.5 ile en az 4. grupta görüldü. Sıçanların sağ arka ayak histopatolojik incelemelerinde 27. günde grup 1 (kontrol grubu) hayvanlarda sinovyal proliferasyona rastlanmadı. 2. grupta %62.5 görülürken; 3. grupta %25, 4. grupta %12.5, 5. grupta %62.5 ve 6. grupta % 66.6 oranında sinovyal proliferasyon görüldü. Sinovyal proliferasyon grup 2 ile karşılaştırıldığında en az grup 4'te görüldü. 27. günde sıçanların sağ arka ayak histopatolojik incelemelerinde grup 1 (kontrol grubu) hayvanlarda granüloma rastlanmadı. Grup 2'nin %62.5'inde granülom görülürken, tedavi gruplarından grup 3'ün %62.5'inde, grup 4'ün %25'inde, grup 5'in %87.5'inde, grup 6'nın %37.5'inde granülom görüldü. Granülom yüzde olarak grup 2 ile karşılaştırıldığında en az grup 4'te görüldü. 27. günde sıçanların sağ arka ayak pençelerinin histopatolojik

incelemelerinde grup 1'deki (kontrol grubu) hayvanlarda mononükleer inflamasyona rastlanmadı. Grup 2 de %12.5 orta, %87.5 şiddetli mononükleer inflamasyon görülürken; tedavi gruplarından grup 3'te %12.5 orta, %87.5 şiddetli; grup 4'te %12.5 zayıf, %37.5 orta, %50 şiddetli; grup 5'te %12.5 orta, %87.5 şiddetli; grup 6'da % 16.6 zayıf, %16.6 orta, %66.6 şiddetli inflamasyon görüldü. Tedavi grupları, Pelargonium sidoidesin çözücüsünün verildiği 2. grup ile karşılaştırıldığında sinovyal proliferasyon, granülom ve mononükleer inflamasyon en az 4. grup (200 mg/kg)'da görüldü. Bu da pençe çapında olduğu gibi, en etkili dozun 200 mg/kg yani 4. grubun olduğunu göstermiştir.

Güney Afrika geleneksel tıbbında kullanılan Pelargonium sidoides kök ekstresinin tüberküloz, akut bronşit, farenjit gibi hastalıklarda sıkça kullanılması ve belirgin bir etki göstermesi sebebiyle ekstre üzerinde antibakteriyel ve immünomodülatör etki çalışmaları yapılmıştır (51,53,54). Solunum yolu infeksiyonlarında orta dereceli antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve immunomodülatör etkileri ile antiviral savunma aktivasyonu sağladığı yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (51,52). Çok iyi tolere edilebilirliği ve nadir görünen yan etkiler büyük bir güvenlik çalışması ile doğrulanmıştır (64). Pelargonium sidoidesin etki mekanizmasını incelemek için yapılan diğer çalışmalarda interferon sentezini modüle ettiği ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırdığı görülmüştür (53,54,65). Ayrıca immünomodülatör etkisi ile TNF aktivasyonunda da etkili olduğu tespit edilmiştir (53). Adewusi ve Afolayan (70) Pelargonium reniformenin kök ve yapraklarının antibakteriyel antifungal ve antioksidatif etkilerini incelemişler, iyi antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, bunun karaciğer hastalıklarının tedavisinde geleneksel kullanımı doğruladığını bulmuşlardır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda serbest radikallerin RA'nın patogeneğinde rol oynadığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Normal sinovyal sıvıda mononükleer hücre hakimiyeti vardır. 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 (71). Serbest radikaller; yapılarında tek sayıda elektron içeren, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküllerdir. Diğer bir tanımlama ile; yapılarında eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya bileşikler serbest radikal olarak tanımlanır. Eksojen kaynakları arasında stres, infeksiyonlar, ilaç zehirlenmeleri, radyasyon, sigara dumanı, hiperbarik oksijen, metal iyonları, asbest lifleri, ozon, karbonmonoksit, silika ve aflatoksin B1 sayılabilir (20).

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar)

meydana getirirler. Nötralize edilemeyen serbest radikaller, hücre membranında lipid ve proteinleri yok ederek, DNA'da kırılma ve mutasyonlara yol açar ve vücutta ciddi hasar oluşturabilirler (17-19).

Serbest radikaller, organizmada en sık olarak lipid yapılarla 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 derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan MDA'dır (22). Yapılan birçok çalışmada plazma MDA düzeyi RA'li hastalarda sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur (72,73). Kajanachumpol ve ark. (74) ise MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır. Taştekin ve ark. (15) yaptığı çalışmada adjuvant artritli sıçanlarda plazma MDA düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre arttığını görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda MDA değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Antioksidanlar canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA içeriğinin oksidasyonunu önleyebilir ya da geciktirebilirler. Antioksidan savunma; radikal üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre hasarının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması yollarıyla gerçekleşir (18,24). Antioksidanlar endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı olarak başlıca 2 ana gruba ayrılmaktadır. CAT, SOD, GPx endojen kaynaklı enzimsel antioksidanlardır. GSH ise enzimatik olmayan ve sıvı fazda bulunan bir antioksidandır.

Katalaz yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Esas olarak peroksizomlarda daha az olarak da sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar (17,22). Çalışmamızda plazma CAT düzeylerine baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Akdoğan ve ark. (71) RA'lı ve osteoartrozlu hastalarda SOD, Gpx ve CAT enzim düzeylerini incelemişler, sağlıklı kontrol grubu ile RA'lı grup CAT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. SOD normal metabolizma sırasında üretilen süperoksitin intrasellüler seviyesinin düşük tutulmasını sağlar (22). Özellikle diğer antioksidan enzimlerin aktiviteleri azaldığında söz konusu SOD enziminin aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (26). Kocabaş ve ark. (73) RA'lı hastalarda MDA ve SOD değerlerine bakmışlar, plazma SOD seviyelerinde anlamlı bir fark bulamazken, eritrosit SOD

düzeylerinde kontrollere göre anlamlı bir artış olduğunu görmüşlerdir. Karataş ve ark. (72)'nin yaptığı çalışmada ise eritrosit SOD değerleri RA'lı hastalarda anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Çalışmamızda plazma SOD düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Glutasyon peroksidaz sitozolde bulunur, tetramerik yapıda olup, 4 selenyum atomu içerir. Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GPx fagositoz yapan hücrelerin solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu nedeniyle zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de, oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma hidrojen peroksit artışına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (22). RA'lı hastalarda birçok çalışmada GPx düzeylerine bakılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Karataş ve ark. (72)'nin yaptığı çalışmada RA'lı hastalarda eritrosit GPx değerleri anlamlı derecede düşük bulunurken, Surapneni ve Gopan (75) yüksek bulunmuştur. Kerimova ve ark. (76)'nin yaptığı çalışmada ise GPx düzeylerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Taştekin ve ark. (15)'nin yaptığı çalışmada ise adjuvant artritli sıçanlarda GPx değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, fakat diklofenak tedavisi uyguladıkları grupta yüksek olduğunu görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda GPx düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Glutasyon karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (22). Surapneni ve Gopan (75), eritrosit GSH düzeylerini karşılaştırmış ve RA'lı hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Taştekin ve ark. (15) adjuvant artritli sıçanlarda GSH düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre düşük olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca diklofenak tedavisi uyguladıkları adjuvant artritli sıçanları hiçbir tedavi uygulamadıkları artrit grubu ile karşılaştırdıklarında, GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığını görmüşlerdir. Çalışmamızda plazma GSH düzeylerine baktığımızda, 1. ve 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Fakat Pelargonium sidoides dozlarının (100/200/500 mg/kg) uygulandığı 3, 4 ve 5. gruplarda GSH seviyesinin 2. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu görüldü.

Nitrik oksit hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli role sahip bir serbest radikaldir. NO'nun SOD enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Böylece NO'nun fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit, hidroksil radikali, nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşür (17).

Nitrik oksit muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, NOS etkisiyle sentezlenir (17). NO sentezinin insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalar NO'nun eklem enflamasyonu ve doku hasarı patogenezinde de önemli rol oynadığını göstermiştir. Artmış serum nitrit-nitrat düzeyi artmış NO düzeyini yansıtır. RA'lı hastalarda nitrit-nitratın serum ve idrardaki düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Farrell ve ark. (77)'nin çalışmasında RA'lı hastalarda serum nitrit konsantrasyonu osteoartritli hastalardan daha yüksek bulunmuştur. Bazı çalışmalarda da aktif RA'lı olan hastalarda remisyondayakilere göre önemli derecede artmış serum nitrit nitrat düzeyleri tespit edilmiştir (78-82).

Adjuvant artitli sıçanlarda idrarda nitrat atılımının, sağlıklı kontrollere göre 3 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (83). Bu sıçanlarda yapısal NOS aktivitesiyle paralellik gösteren cGMP'nin üriner düzeyinin yüksek olmayışı yüksek üriner nitrat düzeyinin iNOS aktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir (84,85). Çalışmamızda kontrol grubu (grup 1)'na göre 2. grubun nitrik oksit düzeylerinde anlamlı artış olduğu görüldü. Bu bulgumuz, yapılan pek çok çalışmada (77-82) gösterilen, RA'lı hastalarda serum nitrit konsantrasyonunu yüksek buldukları çalışmalarla uyumludur. Ayrıca, Turhanoğlu ve ark. (78) yaptıkları, RA'lı hastalarda serum nitrit ve nitrat düzeyi ve hastalık aktivitesiyle ilişkisi isimli çalışmada NO'nun hastalığın şiddetiyle ilişkili olarak yükseldiğini bulmuşlardır. 2. grubun değerleri ile 3, 4, 5 ve 6. grupların değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Metillenmiş arginin türevleri ilk olarak 1970 yılında Kakimoto ve ark. (29) tarafından insan idrarında tespit edilmiştir. ADMA, NOS izoformlarının endojen inhibitörü olarak tanımlanmıştır (30,31). Asimetrik dimetilarginin, arginin rezidülerinin metillenmesi esnasında PRMT (protein arginin metil transferaz) enzimi tarafından sentezlenir. Metil arginin türevleri oluştuğu zaman artık proteinlerin yapısına giremezler ve organizmada demetillenemezler. Günde 300 µmol ADMA oluşmaktadır; 250 µmol'u DDAH enzimi tarafından sitrülün ve dimetilamin'e dönüştürülmekte, kalan 50 µmol'u böbreklerden değişmeden atılmaktadır (35,36). DDAH'ın 2 formu bulunmaktadır. DDAH-1 daha çok nNOS içeren dokularda, DDAH-2 ise eNOS ya da iNOS enzimini içeren dokularda bulunur.

Biyokimyasal olarak DDAH'ın inhibisyonu ADMA'yı artırırken NO üretimini azaltmaktadır. DDAH başlıca, endotel hücreleri, beyin, pankreas gibi pek çok organda bulunur. Birçok çalışmada ADMA birikimi, azalmış DDAH aktivitesi ile birlikte görülmektedir. DDAH metabolizmasında bozukluk ADMA birikimine neden olur. Sisteinden indirgenen SH grubu DDAH aktivitesi için önemlidir. Bu enzim oksidatif strese duyarlıdır.



Oksidatif stres, endotel hücrelerinde artmış PRMT-1 ekspresyonuyla serbest oksijen türleri açığa çıkararak ADMA oluşumunu uyarabilir (38). Endotel disfonksiyonu için ADMA risk faktörü olarak görülebilir. Plazma ADMA düzeylerinin, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon, preeklampsi, erektil disfonksiyon ve bir çok kardiyovasküler hastalıkta arttığı gösterilmiştir (39). Sarı ve ark. (86) ankilozan spondilit hastalarında ADMA seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna göre artmış olduğunu bulmuşlardır. Turiel ve ark. (87) yaptıkları çalışmada, RA hastalarında sağlıklı kontrollere göre plazma ADMA düzeylerinin artmış olduğunu görmüşlerdir. Kemény-Beke ve ark. (88) ankilozan spondilitli hastaların serum ADMA düzeylerini osteoartritli hastalara göre yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ADMA düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Sonuç olarak, FCA'nın sıçanların sağ arka ayak pençelerine uygulanması ile oluşturulan adjuvant artrit modelinde, Pelargonium türlerinden bazılarında deneysel çalışmalar ile kanıtlanmış olan antioksidan etkinin, bizim çalıştığımız Pelargonium sidoideste bulunmadığını; fakat artrit inflamatuvar belirtilerine özellikle 200 mg/kg dozunda etkili olduğunu söyleyebiliriz. Antioksidan ve antiinflamatuvar etkinin değerlendirilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması Pelargonium sidoidesin etki mekanizmasını açıklamak yönünde faydalı olabilecektir.

## SONUÇLAR

Çalışmamızda sıçanların sağ arka ayak pençelerine FCA'nın intradermal olarak tek doz verilmesiyle oluşturduğumuz adjuvant artritte Pelargonium sidoidesin 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, diğer grupların sağ pençe çapında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü. Bu bulgumuz adjuvant artrit modelini başarı ile gerçekleştirdiğimizin göstergesidir.
2. Sol pençeler kontrol grubu (1. grup) ile karşılaştırıldığında pençe çapları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.
3. FCA uygulamasından sonraki 27. günde sağ arka ayak pençe çapları, 17. gündeki değerleri ile karşılaştırıldığında hiçbir işlem uygulanmayan sağlıklı kontrol grubunun (1. grup) ve sadece FCA sonrası Pelargonium sidoidesin çözücüsü olan %12'lik etanolün uygulanan 2. grubun değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadığı görüldü.
4. Pelargonium sidoidesin 100 mg/kg 200 mg/kg 500 mg/kg dozlarının uygulandığı 3, 4, 5. grupların ve ibuprofen uygulanan 6. grubun 27. gün ile 17. gündeki pençe çapı değerleri karşılaştırıldığında tüm tedavi gruplarında pençe çaplarının değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.
5. 27. günde 2. grup ile, tedavi grupları (3, 4, 5, 6. gruplar)'nı karşılaştırdığımızda, grup 4 (200 mg/kg) ve grup 5 (500 mg/kg)'de pençe ödeminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu saptandı.

6. 27. günde 2. grup ile, tedavi grupları (3, 4, 5, 6. gruplar)'nı karşılaştırdığımızda, grup 3 (100 mg/kg) ve grup 6 (ibuprofen 100 mg/kg)'da pençe çapında azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık saptanamadı.
7. 27. günde tüm tedavi grupları (grup 3, 4, 5, 6) kendi aralarında karşılaştırıldığında Pelargonium sidoidesin 200 mg/kg dozunda verildiği grup 4'te, pençe ödemindeki azalmanın istatistiksel olarak en fazla olduğu görüldü.
8. Pelargonium sidoides uygulanan tüm dozlarda adjuvant artrit üzerine antiinflamatuvar etki göstererek pençe çapı değerlerini azaltmıştır.
9. Pelargonium sidoides adjuvant artrit histopatolojik bulgularından olan vasküler proliferasyon, sinovyal proliferasyon, granülom ve mononükleer inflamasyon bulgularını azaltmıştır ve en etkili doz 200 mg/kg olarak kullandığımız dozdur.
10. Pelargonium sidoides uygulanan tüm dozlarında oksidatif stres üzerine olumlu bir etki gösterememiştir.

Sonuçlar Pelargonium sidoidesin deneysel adjuvant artrit modelinde pençe çapı ölçümleri ve histopatolojik veriler doğrultusunda antiinflamatuvar etkisinin olduğunu göstermektedir. Fakat oksidatif stres üzerine anlamlı sonuçlar bulunamamıştır. Bu konuda daha kapsamlı ve ayrıntılı araştırmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## ÖZET

Çalışmamızda Pelargonium sidoidesin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan adjuvant artrit modelindeki etkisi incelendi. Her grupta 8 sıçan olacak şekilde 6 grup oluşturuldu. 1. grup kontrol grubu olarak ayrıldı ve diğer grupların sağ arka pençelerine 0.1 ml tek doz intradermal *Freund's Complete Adjuvant* verilerek artrit oluşturuldu. 17-27. günler arası; 2. gruba %12'lik etanol; 3, 4 ve 5. gruplara sırasıyla Pelargonium sidoidesin 100-200-500 mg/kg dozları, 6. gruba 100 mg/kg dozunda ibuprofen uygulandı. İnflamatuvar reaksiyon 0, 17, 20, 23 ve 27. günlerde özel kumpas ile ölçüldü. 27. günde intrakardiyak olarak kanlar alındı ve patolojik inceleme için arka ayak eklemleri çıkarıldı. Plazmada süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz enzimleri, malondialdehid, glutatyon, nitrit-nitrat ve asimetrik dimetilarginin düzeyleri ölçüldü ve eklemler histopatolojik olarak incelendi.

*Freund's Complete Adjuvant* uygulamasından sonraki 27. günde sağ pençe çapları, 17. gündeki değerleri ile karşılaştırıldığında 1. ve 2. grubun değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadığı görüldü. 3, 4, 5 ve 6. grupların 27. gün ile 17. gündeki pençe çapı değerleri karşılaştırıldığında değerlerin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. 27. günde 2. grup ile 3, 4, 5, 6. gruplar karşılaştırıldığında, grup 4 ve grup 5'de pençe ödeminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu saptandı.

Pelargonium sidoides uygulanan tüm dozlarda adjuvant artrit üzerine antiinflamatuvar etki göstererek pençe çapı değerlerini ve adjuvant artrit histopatolojik bulgularından olan vasküler proliferasyon, sinovyal proliferasyon, granülom ve mononükleer inflamasyon

bulgularını azaltmıştır ve en etkili doz 200 mg/kg olarak bulunmuştur. Pelargonium sidoides uygulanan tüm dozlarında oksidatif stres üzerine olumlu bir etki gösterememiştir.

**Anahtar sözcükler:** Adjuvant artrit, ibuprofen, oksidatif stres, Pelargonium sidoides, romatoid artrit

## **THE EFFECT OF PELARGONIUM SIDOIDES ON THE ADJUVANT ARTHRITIS**

### **SUMMARY**

In our study we observed the effects of Pelargonium sidoides on experimentally induced adjuvant arthritis model in rats. We divided them into 6 groups and every group was consisted of 8 rats. The first group was known as a control group and, we formed adjuvant arthritis to the other groups by injected 0.1 ml single dose Freund's Complete Adjuvant solution their back right paws. Among the 17th and 27th days; second group was given %12 ethanol, 3, 4, 5th groups were given respectively Pelargonium sidoides 100-200-500 mg/kg doses, 6th group was given 100 mg/kg dose ibuprofen for the treatment. Inflammatory reaction was measured on days 0, 17, 20, 23 and 27th with special callipers. At the end of the experiment, the rats' blood was taken from heart and for the pathological investigation the back leg joints were taken out. In plasma superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase enzymes, malondialdehyde, glutathione, nitrite-nitrate and asymmetric dimethylarginine levels were measured and their joints were investigated histopathologically.

In 27th day, after Freund's Complete Adjuvant application right paw diameters weren't different among the 1st and 2nd groups' values when compared to 17th days' results. On 27th day 3, 4, 5 and 6th groups' paw diameter results were decreased statistically when compared to 17th day.

Pelargonium sidoides decreased paw diameter values and adjuvant arthritis's histopathological symptoms which are vascular proliferation, synovial proliferation, granuloma and mononuclear inflammation at all the doses and the most efficient dose has been found 200 mg/kg. Pelargonium sidoides couldn't show positive effect on oxidative stress at all doses.

**Keywords:** Adjuvant arthritis, ibuprofen, oxidative stress, Pelargonium sidoides, rheumatoid arthritis

## KAYNAKLAR

1. GümüŖdiŖ G. Bağ dokusu hastalıkları: Romatoid artrit. GümüŖdiŖ G, DoęanavŖargil E (editörler). Klinik romatoloji. İstanbul: Deniz Matbaası; 1999. s.269-79.
2. 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.
3. Meyer A. 100 years of umckaloabo. Naturheilpraxis Fachforum 1997;4:1-3
4. Aslan M. Pelargonium sidoides. Eczacı Derg. 2006;13:30-3.
5. Ergin S. Romatoid artrit ve sjogren sendromu. Beyazova M, Gokce-Kutsal Y (editörler). Fiziksel tıp ve rehabilitasyon, Cilt 2. Ankara: GüneŖ Kitabevi Ltd. Ŗti; 2000. s.1549-76.
6. Hamuryudan V. Romatoid artrit. İ.Ü. CerrahpaŖa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eęitimi Etkinlikleri, romatolojik hastalıklar, Sempozyum Dizisi 2003;34:19-29.
7. Bennett JC, Moreland LW. Romatoid artrit (çeviri: S. Tuzcu). Tuzcu M (Editör). Cecil essentials of medicine. İstanbul: NobelTıp Kitabevi; 2000. s.594-7.
8. Bluestone M. Diffüz bağ dokusu hastalıkları. Beers MH, Berkow R (Eds). The Merc Manual of Diagnosis and Therapy. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. s.416-23.
9. GümüŖdiŖ G: Bağ Dokusu Hastalıkları: Romatoid Artrit. GümüŖdiŖ G, DoęanavŖargil E (Editörler). Klinik romatoloji el kitabı. İzmir: Güven Matbaası; 2003. s.209-27.
10. Hamuryudan V. Romatoid artrit. Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A (Editörler). CerrahpaŖa iç hastalıkları, 1. basım. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık;2005. s.966-74.
11. Çakır N. Romatizmal hastalıklarda laboratuvar. İliçin G, Biberöęlü K, Süleymanlar G, Ünal S (Editörler). İç hastalıkları, Cilt 2. Ankara: GüneŖ Kitabevi; 2005. s.2691-6.



12. Dökmeci İ. Araşidonik asit metabolizmasında etkili ilaçlar. Dökmeci İ (Editör). Farmakoloji-ilaçlar ve etkileri, 1.basım. İstanbul: Alfa Basım Yayım; 2007. s.592-603.
13. Kayaalp O, Melli M. Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar. Kayaalp O (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 12. Baskı. Ankara: Feryal Matbaacılık; 2009. s.852.
14. Dökmeci İ. Yavaş etkili antiromatizmal ilaçlar. Dökmeci İ (Editör). Farmakoloji-ilaçlar ve etkileri, 1.basım. İstanbul: Alfa Basım Yayım;2007. s.608-612.
15. Tastekin N, Aydogdu 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.
16. Çakatay U, Kayalı R. Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. Cerrahpaşa Tıp Derg. 2006;37:162-7.
17. Altınışik M. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar.  
<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> Erişim tarihi:15.01.2011.
18. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Turk Neph Dial Transpl 1997;3-4:92-5.
19. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpasa Tıp Derg 2004;35:159-69.
20. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. YYU Vet Fak Derg 2009;20(2):79-83.
21. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: Source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med 1991;91(3C):14-22.
22. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995:1-73.
23. Konukoğlu D. Serbest radikaller ve önemleri. Aile Hek Derg 1997;1(4):197-200.
24. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995;41(12):1819-28.
25. McArdle A, Van der Meulen J, Close GL, Pattwell D, Van Remmen H, Huang TT et al. Role of mitochondrial superoxide dismutase in contraction-induced generation of reactive oxygen species in skeletal muscle extracellular space. Am J Physiol Cell PH 2004;286(C):1152-8.
26. Seven A, Candan G. Antioxidant defense systems. Cerrahpasa J Med 1996;27:41-50.
27. Konukoğlu D, Akçay T. Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. T Klin J Med Sci 1995;15:214-8.
28. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik oksit: Fizyolojik ve klinik önemi. Türkiye Klinikleri J Med Sci 1997;17:115-19.

29. Y. Kakimoto, S. Akazawa. Isolation and identification of N-G, N-Gand N-G, N0-G-dimethyl-arginine, N-epsillon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine, *J Biol Chem* 1970;245:5751–8.
30. Ueda S, Kato S, Matsuoka H, Kimoto M, Okuda S, MorimatsuM et al. Regulation of cytokine induced nitric oxide synthesis by asymmetric dimethylarginine. *Circ Res* 2003;92:226–33.
31. Rainer HB, Eyaluation SR. L-Arginine Improves Vascular Function by Overcoming the Deleterious Effects of ADMA, a Novel Cardiovascular Risk Factor. *Altern Med Rev* 2005;10(1):14-23.
32. Teerlink T, Nijveldt RJ, Jong S, van Leeuwen PAM. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological sample by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 2002;303:131-7.
33. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: A novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-6.
34. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscl. Throm Vas Biol* 2000;20:2032-37.
35. Leiper JM, Vallence P. The synthesis and metabolism of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Eur J Clin Pharmacol* 2006;62:33-8.
36. Ogawa T, Kimoto M, Sasaako K. Detection of N<sup>G</sup>, N<sup>G</sup>-dimethylarginine dimethylaminohydrolase, from rat kidney. *J Biol Chem* 1989;264:10205-9.
37. Mugge A, Hanefeld, Böger RH. Plasma concentration of ADMA and the risk of coronary heart disease: rationale and design of the multicenter cardiac study. *Atherosclerosis* 2003;4:29-32.
38. Betowski J, Kêdra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep* 2006;58:159-78.
39. Buğdaycı G, Serin E. Asimetrik Dimetilarginin (ADMA). *Düzce Tıp Derg* 2005;2:36-41.
40. Curgunlu A, Uzun H, Bavunoglu I, Karter Y, Genc H, Vehid S. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in white coat hypertension. *J Hum Hypertens* 2005;19:629-33.
41. Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2003;23:1455-9.
42. Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aurust P, Ose L, Nenseter MS. Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. *Brit J Nutr* 2003;89:359-63.

43. Eid HM, Arnesen H, Hjerkind EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism* 2004;53:1574-9.
44. Konukoglu D, Uzun H, Firtina S, Cigdem Arica P, Kocael A, Taskin M. Plasma adhesion and inflammation markers: asymmetrical dimethyl-Larginine and secretory phospholipase A2 concentrations before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2007;17:672-8.
45. Böger RH, Lentz SR, Bode-Böger SM, Knapp HR, Haynes WG. Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin Sci Lond* 2001;100:161-7.
46. Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells. *Circ Res* 2000;87:99-105.
47. Erdem S, Ünlü A. Asimetrik dimetilarjinin ve klinik önemi. *Selçuk Tıp Derg* 2009;25(2):107-15.
48. Kielstein JT, Zoccali C. Asymmetric Dymethylarginine: A Cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? *Am J Kidney Dis* 2005;46:2:186-202.
49. Kolodziej H. Fascinating metabolic pools of pelargonium sidoides and pelargonium reniforme, traditional and phytomedicinal sources of the herbal medicine umckaloabo. *Phytomedicine* 2007;14 Suppl 6:9-17.
50. Bladt S and Wagner H. From the zulu medicine to the European phytomedicine umckaloabo. *Phytomedicine* 2007;14 Suppl 6:2-4.
51. Kayser O, Kolodziej H. Antibacterial activity of extracts and constituents of pelargonium sidoides and pelargonium reniforme. *Planta Med* 1997;63:508-510.
52. Kolodziej H, Kiderlen AF. In vitro evaluation of antibacterial and immunomodulatory activities of pelargonium reniforme, pelargonium sidoides and the related herbal drug preparation EPS 7630. *Phytomedicine* 2007;14 Suppl 6:18-26.
53. Kayser O, Kolodziej H, Kiderlen AF. Immunomodulatory principles of pelargonium sidoides. *Phytother Res* 2001;15:p.122-6.
54. Kolodziej H, Kayser O, Radtke A, Kiderlen AF, Koch E. Pharmacological profile of extracts of pelargonium sidoides and their constituents. *Phytomedicine* 2003;10 Suppl 4:18-24.
55. Chuchalin AG, Berman B, Lehmacher W. Treatment of acute bronchitis in adults with a pelargonium sidoides preparation. *Explore* 2005;1:437-45.
56. Matthys H, Eisebitt R, Seith B, Heger M. Efficacy and safety of an extract of pelargonium sidoides in adults with acute bronchitis. *Phytomedicine* 2003;10 (Suppl 4) p.7-17.

57. Heger M. Efficacy and safety of an extract of pelargonium sidoides in common cold. First international conference on natural products and molecular therapy; 2005 Jan 12-14; Cape Town South Africa 2005.
58. Lizogub GV, Riley DS, Heger M. Efficacy of a pelargonium sidoides preparation in patients with the common cold. *Explore* 2007;3:573-84.
59. Matthys H, Kamin W, Funk P, Heger M. Pelargonium sidoides preparation in the treatment of acute bronchitis in adult and children. *Phytomedicine* 2007;14:69-73.
60. Dome L, Schuster R. Umckaloabo - a phytopharmaceutical alternative for treatment of acute bronchitis in children?. *Ärztzeitschrift für Naturheilverfahren* 1996;37(3):216-22.
61. Haidvogel M, Heger M. Treatment effect and safety of EPs 7630-solution in acute bronchitis in childhood. *Phytomedicine* 2007;14:60-4.
62. Heger M, Bereznoy VV. Non-streptococcal tonsillo-pharyngitis in children: efficacy of an extract from pelargonium sidoides compared to placebo. *Phytopharmaka* 2002;7:1-10
63. Schapowal A, Heger M. EPs 7630 solution (Umckaloabo) in the treatment of sinusitis. *Journal for Phytotherapy* 2007;28:58-65.
64. Matthys H, Heger M. Treatment of acute bronchitis with a liquid herbal drug preparation from pelargonium sidoides. *Cur Med Res Opin* 2007;23(2):323-31.
65. Kolodziej H, Schulz V. Umckaloabo from traditional application to modern phytodrug. *Phytotherapy* 2003;143(12):1-9.
66. Kayser O, Kiderlen AF, Kolodziej H. Inhibition of luminol-dependent chemiluminescence and NO release by a series of oxygenated coumarins in murine macrophages infected with *Leishmania donovani*. *Pharm Pharmacol Lett* 1997;2(3):71-4.
67. Daschner F, Dorfmueller A, Engels I, Frank U. Studies on the antibacterial action of EPs 7630. *Phytopharmaceuticals and Phytotherapy Research and Practice*; 2004 Feb 26-28; Berlin, Germany; 2004.
68. Dökmeçi D, Özdemir F, Ulugöl A, Karadağ ÇH, Kokino S, Dökmeçi İ. Kronik Adjuvant Artritli Sıçanlarda Diklofenak ve Biopton'un Antiinflatuvar Etkilerinin Karşılaştırılması. *Turk J Phys Med Rehab* 1998;2:67-70
69. Ulugol A, Unalan H, Dokmeçi I, Kokino S. Comparison of the effects of tenoxicam and mid-laser irradiation on chronic adjuvant arthritis in rats. *Clin, and Exp. Rheumatol* 1997;15:83-86.
70. EA Adewusi and Afolayan AJ. Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of the roots and leaves of *Pelargonium reniforme* Curtis. *Afr. J. Biotechnol* 2009;8(22):6425-33

71. Akdoğan M, Akkuş S, Akkuş F, Koyu A. Romatoid artrit ve osteoartrozlu hastalarda eritrosit süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim düzeyleri. *Van Tıp Derg* 1998;2:66-71.
72. Karatas F, Ozates I, Canatan H, Halifeoglu I, Karatepe M, Colak R. Antioxidant status and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res* 2003;118:178-181.
73. Kocabaş H, Kocabaş V, Büyükbaş S, Sallı A, Uğurlu H. Romatoid artrit hastalarında hücrel oksidan ve antioksidan statü ve hastalık aktivitesi ile ilişkisi. *Turk J Rheumatol* 2010;25:141-6.
74. Kajanachumpol S, Vanichapuntu M, Verasertriyom O, Totemchokchyakarn K, Vatanasuk M. Levels of plasma lipid peroxide products and antioxidant status in rheumatoid arthritis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000;31:335-8.
75. Surapneni KM, GopanVSC. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with rheumatoid arthritis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2008;23 (1):41-44.
76. Kerimova AA, Atalay M, Yusifov EY, Kuprin SP, Kerimov TM. Antioxidant enzymes; possible mechanism of gold compound treatment in rheumatoid arthritis. *Pathophysiology* 2000;7:209–213.
77. Farrell AJ, Blake DR, Palmer RMJ, Moncada S. Increased concentrations of nitrit in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1992;51:1219-22.
78. Turhanoglu AD, Ögün C, Canoruç N, Karabulut Z, Erdoğan F. Romatoid artritli hastalarda serum nitrit ve nitrat düzeyi ve hastalık aktivitesiyle ilişkisi. *Dicle Tıp Derg* 2000;27:3-4.
79. Ueki Y, Miyake S, Tominaga Y, Eguchi K. Increased nitric oxide levels in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1996;23(2):230-6.
80. Wigand R, Meyer J, Busse R, Hecker M. Increased serum NG-hydroxy-L-arginine in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erytematosus as an index of an increased nitric oxide synthase activity. *Ann Rheum Dis* 1997;56:330-2.
81. Grabowsky PS, Wright PK, Van't Hof RJ, Helfrich MH, Ohshima H, Ralston SH. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in synovium and cartilage in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Br J Rheumatol*. 1997;36:651-5.
82. Stichtenoth DO, Fauler J, Zeidler H, Frolich JC. Urinary nitrate excretion is increased in patients with rheumatoid arthritis and reduced by prednisolone. *Ann Rheum Dis* 1995;54:820-4.
83. Stichtenoth DO, Gutzki FM, Tsikas D, Selve N, Bode-Boger SM, Boger RH, Frolich JC. Increased urinary nitrat excretion in rats with adjuvant arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1994; 53:547-9.

84. Kanno K, Hirata Y, Emori T, Ohta K, Eguchi S, Imai T, Marumo F. L-arginine infusion induces hypotension and diuresis/natriuresis with concomitant increased urinary excretion of nitrit/nitrate and cyclic GMP in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1992;19:619-25.
85. Bode-Bager SM, Bager RH, Alfke H, Heinzl D, Tsikas D, Creutzig A, Alexander K, Frolich JC. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilatation in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1996;93:85-90.
86. İ Sarı, Kebapçılar L, Alacacıoğlu A, Bilgir O, Yıldız Y, Taylan A et al. Increased levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in patients with ankylosing spondylitis. *Inter Med* 2009;48:1363-8
87. Turiel M, Atzeni F, Tomasoni L, Portu SD, Delfino L, Bodin BD et al. Non-invasive assessment of coronary flow reserve and ADMA levels: a case-control study of early rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology* 2009;48:834-9
88. Kemény-Beke A, Gesztel R, Bodnár N, Zsuga J, Kerekes G, Zsuga M. Increased production of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in ankylosing spondylitis: Association with other clinical and laboratory parameters. *Joint Bone Spine*. In press 2010

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekiller	Sayfa no
1. Afrika sardunyası	19
2. Formaldehid kalibrasyon eğrisi	25
3. Malondialdehid standart eğrisi	26
4. Süperoksid dismutaz lineerleştirilmiş oran eğrisi	27
5. Glutatyon standart eğrisi	29
6. Sağ pençe takibi	38
7. Sol pençe takibi	38
8. Gruplara göre plazma katalaz düzeylerinin dağılımı	39
9. Gruplara göre plazma malondialdehid düzeylerinin dağılımı	40
10. Gruplara göre plazma superoksid dismutaz düzeylerinin dağılımı	41
11. Gruplara göre plazma glutatyon peroksidaz düzeylerinin dağılımı	42
12. Gruplara göre plazma glutatyon düzeylerinin dağılımı	43
13. Gruplara göre plazma asimetrik dimetilarginin düzeylerinin dağılımı	44
14. Gruplara göre plazma nitrik oksid düzeylerinin dağılımı	45
15. Gruplara göre vasküler proliferasyon median değerleri	46
16. Gruplara göre sinovyal proliferasyon varlığı-yokluğu % değerleri	47
17. Gruplara göre granülom varlığı-yokluğu % değerleri	47
18. Gruplara göre mononükleer inflamasyonun zayıf-orta-şiddetli olarak % değerleri	48
19. İnflamasyon ve vasküler proliferasyon içermeyen sağlıklı kontrol dokusu	48

20. Sinovyaada proliferasyon görülmeyen kontrol dokusu	49
21. Şiddeli lezyon olan bir dokuda görülen proliferen damarlar	49
22. Şiddetli lezyon olan bir dokuda görülen yoğun mononükleer inflamasyon	50
23. Periartriküler alandaki vasküler proliferasyona eşlik eden sinovya proliferasyonu	50
24. Mononükleer inflamasyonla beraber belirgin granuloimler	51
25. Periartriküler dokuda belirgin ödem	51

#### Tablolar

1. Tüm gruplarda pençe takipleri ortalamaları	37
2. Plazma katalaz düzeyi ortalama ve standart sapmaları	39
3. Plazma malondialdehid düzeyi ortalama ve standart sapmaları	40
4. Plazma superoksid dismutaz düzeyi ortalama ve standart sapmaları	41
5. Plazma glutatyon peroksidaz düzeyi ortalama ve standart sapmaları	42
6. Plazma glutatyon düzeyi ortalama ve standart sapmaları	43
7. Plazma asimetrik dimetilarginin düzeyi ortalama ve standart sapmaları	44
8. Plazma nitrik oksid düzeyi ortalama ve standart sapmaları	45



## ÖZGEÇMİŞ

27.12.1983 tarihinde Uzunköprü’de doğdum. İlk ve orta eğitimimi Uzunköprü’de tamamladım. 2000 yılında girdiğim Trakya Üniversitesi Tekirdağ Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümünden 2005 yılında mezun oldum. 2005-2006 yılları arasında Trakya Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi Servisi’nde çalıştım. 2006-2010 yılları arasında hemodiyaliz hemşireliği yaptım. 2007 yılında Marmara Üniversitesinde Hemodiyaliz Hemşireliği kursuna katıldım ve Hemodiyaliz Hemşiresi sertifikamı aldım. Diyalizde halen çalışmakta iken 2008 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2008 yılında bu yana yüksek lisans eğitimim devam etmektedir.

## **EKLER**

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

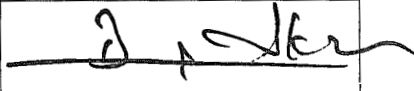
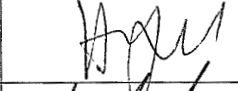
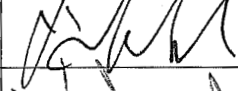


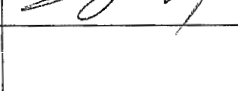
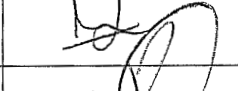
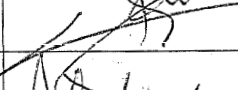
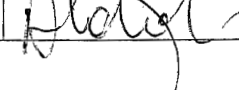
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı:7

Karar Tarihi: 26.06.2009

KARAR NO: 2009/07.08

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Dikmen Dökmeçi'nin yaptığı Samime Şarlı Gündüz yüksek lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK- 2004/056 protokol nolu "Adjuvant Artritli Sıçanlarda Pelargonium sidoidesin etkisi." başlıklı çalışma 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
Yrd.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	
Yrd.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 checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" 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	

Ek 2



T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

SAYI : B.30.2.TRK.0.70.73.0/  
KONU :

6034-18023

EDİRNE

19 EKİM 2009

Sayın Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ  
Trakya Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Farmakoloji Anabilim Dalı  
EDİRNE

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve yüksek lisans öğrencisi Samime ŞARLI GÜNDÜZ'ün "Adjuvant Artitli Sıçanlarda Pelargonium Sidoidesin Etkisi" başlıklı yüksek lisans projesinin, 8 (sekiz) ay süre ve 7.000,00 TL ile desteklenmesine, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 29.09.2009 tarih ve 2009/04 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 12. maddesi uyarınca düzenlenen ve ekte sunulan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Beyhan KARAMANLIOĞLU  
Rektör Yardımcısı ve  
Komisyon Başkanı

EK: 1 adet protokol sözleşmesi