



Tüberküloz artritini engellemede N^G-monometil-L-arginin ve indometazinin birlikte veya tek tek kullanımdaki etkinliği

Comparison of the effects of N^G-monomethyl-L-arginine and indomethacin on tuberculous arthritis: an experimental study in rats

Şevki KABAK,¹ Mehmet HALICI,¹ Birkan YAKAN,² Recep KUTLUBA Y,² Mustafa KULA³

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, ²Histoloji Anabilim Dalı, ³Nükleer Tıp Anabilim Dalı

Amaç: Sıçan tüberküloz artrit modelinde nitrik oksit sentaz inhibitörü N^G-monometil-L-arginin (NMMA) ve indometazinin iyileştirici etkileri değerlendirildi.

Çalışma planı: Seksen erkek Wistar sıçan 16'lık beş gruba ayrıldı. Birinci gruptaki (kontrol grubu) sıçanların sağ dizlerine %0.9 serum fizyolojik intraartiküler olarak uygulandı. Diğer gruplarda *Mycobacterium tuberculosis* suşlarından hazırlanan solüsyondan 0.1 ml sağ dizlere intraartiküler uygulandı ve tüberküloz artrit oluşturuldu. İkinci grupta tedavi uygulanmadı. Üçüncü gruba ağızdan indometazin verildi. Dördüncü gruba intraperitoneal olarak NMMA verildi. Beşinci grupta ise indometazin ve NMMA birlikte uygulandı. Artrit oluşturulmasından sonra 3, 7, 14 ve 21. günlerde her gruptan dörder sıçanda dizlerde artrit oluşumu değerlendirildi. Daha sonra Tc99 nanokolloid içeren solüsyon verilerek fokal aktivite tutulumları sintigrafik görüntülemeyle incelendi. Kantitatif değerlendirme ile eklem/yumuşak doku oranları hesaplandı. Daha sonra eter anestezisi ile öldürülen deneklerin diz çevresi kemiklerinde Gries reaksiyonu ile nitrit/nitrat ölçümü yapıldı. Deneklerin diz eklemleri histopatolojik incelemeye alındı.

Sonuçlar: On dördüncü günde, NMMA verilen grupta artrit oluşumu bir puan azalmışken, 21. günde indometazin ve NMMA'nın birlikte verildiği grupta artrit skoru sıfır idi. Sintigrafik incelemede, 3 ve 7. günlerde artmış aktivite tutulumu gözlenirken, 21. günde NMMA ve indometazinin birlikte verildiği grupta aktivite tutulumunun olmadığı gözlemlendi. Histopatolojik incelemede 21. günde NMMA'nın tek başına veya indometazine birlikte uygulandığı gruplarda kronik iltihabi hücre infiltrasyonunun ortadan kalktığı görüldü. Deney süresince 2. gruptan 4, 3. gruptan 2 sıçan sepsisten dolayı öldüler. Griess reaksiyonu ile, beşinci grupta sıçanların 21. gündeki sonuçları kontrol grubu değerlerine yakın bulundu (p>0.05).

Çıkanılar: Artritin eklem üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için indometazin ve NMMA'nın birlikte uygulanmasının daha etkili olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: Anti-enflamatuar ajanlar, non-steroidal/terapötik kullanım; arginin/terapötik kullanım; artrit, deneysel/ilaç tedavisi; artrit, enfeksiyöz; indometazin/terapötik kullanım; Mikobakterium enfeksiyonları; *Mycobacterium tuberculosis*; nitrat/kan; nitrik oksit sentaz; nitrit/kan; radionüklid görüntüleme; sıçan.

Objectives: We evaluated therapeutic effects of N^G-monomethyl-L-arginine, a nitric-oxide synthase inhibitor, and indomethacin in a rat model of tuberculous arthritis.

Methods: Eighty male Wistar albino rats were randomly divided into five equal groups. In the first group (controls) normal saline solution was injected into the right knee joints of the rats. In the remaining groups, tuberculous arthritis was induced in the right knee joints of the rats via injection of 0.1 ml of a solution prepared from *Mycobacterium tuberculosis* strains. No treatment was given to the second group. The third and fourth groups were assigned to receive oral indomethacin and intraperitoneal NMMA, respectively, while the fifth group received a combination thereof. The occurrence of arthritis was evaluated in four rats in each group on the 3rd, 7th, 14th, and 21st days after induction of arthritis. The rats were then subjected to scintigraphic imaging with Tc99 and focal activity involvement was analysed. The ratio of joint to soft tissue was calculated quantitatively. Following sacrifice with ether anesthesia, nitrate/nitrite levels were measured via Griess reaction in the bone tissue adjoining the knee. The knee joints were histopathologically examined.

Results: The severity of arthritis in the NMMA group decreased by one point on the 14th day. On Day 21, arthritis score was zero in rats receiving a combination of indomethacin and NMMA. Scintigraphic examination revealed increased uptake activity on the 3rd and 7th days, whereas no uptake activity was seen on the 21st day in the group receiving both indomethacin and NMMA. Histopathologically, chronic inflammatory infiltration disappeared on Day 21 in rats receiving either NMMA alone or in combination with indomethacin. During the experiment, four rats in the second group and two rats in the third group died from sepsis. Nitrate measurements of the fifth group on Day 21 showed approximate values to those of the control group (p>0.05).

Conclusion: The combined use of indomethacin and NMMA seems to be more efficacious in reducing negative effects of tuberculous arthritis on the joint.

Key words: Anti-inflammatory agents, non-steroidal/therapeutic use; arginine/therapeutic use; arthritis, experimental/drug therapy; arthritis, infectious; indomethacin/therapeutic use; mycobacterium infections; *Mycobacterium tuberculosis*; nitrates/blood; nitric-oxide synthase; nitrites/blood; radionuclide imaging; rats.

Günümüzde nitrik oksit (NO) ile ilgili yapılan çalışmalarda, NO'nun enflamatuvar olaylarda rolü olduğu bilinse de, hala yanıtı aranan birçok soru vardır. Enflamasyon olayında NO'nun etkisi, damarlarda vazodilatasyon oluşturmasını yanında, nörofillerin damar duvarına yapışmasını baskılamasıdır.^[1,2] In vitro çalışmalarda, hem eklemdeki mezenşimal hücreler hem de enflamasyon süresince, eklem giren lökositler tarafından NO sentezlendiği belirtilmektedir.^[3]

Hayvanlardaki deneysel artrit modellerinde, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin tedavi amaçlı kullanılmasının eklemlerde koruyucu etki yaptığı bildirilmiştir.^[4,6] Kemirgenler üzerinde birbirinden bağımsız olarak yapılan çalışmalarda, NO sentezinin baskılanması ile deneysel romatoid artrit gelişiminin önlenildiği belirtilmiştir.^[4,5,7] Deneysel artrit modellerinde, sinovial dokularda, kan mononükleer hücrelerinde ve kemiklerde NO ve ürünleri artmaktadır.^[7] Nitrik oksit sentaz inhibitörü N^G-monometil-L-arginin (NMMA) verilmesi ile, eklemdeki enflamatuvar hücre birikimi ve harabiyetinin önemli oranda önlenildiği gösterilmiştir.^[4,6,7]

Çalışmamızda, sıçanlarda oluşturulan deneysel tüberküloz artrit modelinde NMMA ve indometazinin iyileştirici etkileri değerlendirildi.

Gereç ve yöntem

Çalışmaya, Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra başlandı. Ortalama ağırlığı 254 gram (200-320 gr) olan 80 adet erkek Wistar albino cinsi sıçan kullanıldı. Denekler standart laboratuvar diyeti ve su ile beslendi. Sıçanlar beş eşit gruba ayrılarak, her grup ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi. Kontrol grubundaki (grup 1) sıçanların sağ dizlerine %0.09'lük serum fizyolojik solüsyonundan 0.1 ml intraartiküler olarak verildi. Diğer gruplardaki sıçanlarda artrit oluşturmak amacıyla, *Mycobacterium tuberculosis* humanis standart suşundan McFarland: 1 bulanık tüpüne göre hazırlanan basil süspansiyonundan (10⁶) 0.1 ml sağ diz eklemleri içine uygulandı.^[7] Profilaktik NO sentaz inhibitörü olarak N^G-monometil L-arginin, monoasetat (NMMA) (KeLab, Gotthenburg, İsveç), 100 mg/kg/gün intraperitoneal yoldan uygulandı. Profilaktik antiinflamatuvar ajan olarak indometazin (Indocid-R®) su ile sulandırılarak sıçanların ağızlarından kanülle 1 mg/kg/gün dozunda verildi. Çalışma 21. günde sonlandırıldı.

Çalışmada profilaktik NMMA ve indometazin uygulamasına, intraartiküler bakteri enjeksiyonundan iki saat önce başlandı. İkinci grupta NMMA ve indometazin kullanılmadı. Üçüncü grupta sadece indometazin 1 mg/kg dozunda ağızdan kanülle verildi. Dördüncü grupta NMMA 100 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal yoldan uygulandı. Beşinci grupta profilaktik amaçla 1 mg/kg /gün indometazin ve 100 mg/kg/gün NMMA birlikte uygulandı.

Üçüncü, yedinci, 14 ve 21. günlerde her gruptan rastgele seçilen dörder sıçanın dizlerinde artrit oluşumu klinik olarak değerlendirildi. Daha sonra Tc99 nanokolloid içeren solüsyondan 1 mili küri sıçanların kuyruk venlerinden verilerek focal aktivite tutulumları gamma kamera (Toshiba GCA/02 A/SA, Japonya) ile incelendi. Sintigrafik incelemeyi hem artrit oluşumunu saptamak hem de tedavinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla uyguladık. Sintigrafik değerlendirme hem görsel hem de kantitatif olarak yapıldı. Kantitatif değerlendirmede, artrit eklemler ve "background" olarak komşu yumuşak dokulardan ilgi alanları alındı.^[8] Böylece eklem/yumuşak doku (J/B) oranları hesaplandı. Daha sonra eter anestezisi ile öldürülen deneklerin, diz eklemlerini içine alacak şekilde femur ve tibiadan 1 cm'lik kemik bölümü yumuşak dokulardan temizlenerek ayrıldı. Diz çevresi kemiklerde Gries reaksiyonu^[9] ile nitrit/nitrat ölçümü yapıldı. Deneklerin diz eklemleri ise histopatolojik incelemeye alındı.

Klinik olarak, eklemde kızarıklık ve/veya şişlik olması artrit lehine yorumlandı. Olguların klinik skorlamasında Abdelnour ve ark.nın^[10] artrit makroskobik bulgularına dayanarak geliştirdikleri puanlama sistemi kullanıldı. Buna göre, şişlik veya eritem olmamasına 0 puan, orta derecede şişlik ve/veya eritem olmasına 1 puan, ileri derecede şişlik ve/veya eritem olmasına 2 puan verildi.

Histopatolojik inceleme için, deney ve kontrol gruplarının diz bölgeleri, %10'luk formalinde fikse edildikten sonra %10'luk EDTA ile dekalsifiye edilerek, parafin bloklar içine gömüldü. Kesit alınma işleminden sonra, örnekler hematoksilen-eosin ile boyanıp ışık mikroskopunda 40 büyütme ile incelendi.

Griess reaksiyonu esas alınarak yapılan nitrit/nitrat ölçümünde testin esası, nitrit ile Griess reaktifi arasındaki basit bir kalorimetrik reaksiyona dayanır ve oluşan rengin absorbansı 540 nm'de okunur. Griess reaksiyonu, tüm nitratı bakteriyel enzim olan nit-

Tablo 1. Tüm gruplarda 3, 7, 14 ve 21. günlerde artrit skoru ortalamaları (puan)

Grup no	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün	Ortalama
1. grup (kontrol) (n=16)	0	0	0	0	0
2. grup (n=16)	8	12	12	12	11
3. grup (n=16)	11	10	7	6	5.5
4. grup (n=16)	6	6	4	2	4.5
5. grup (n=16)	6	2	2	0	2.5

rat redüktazın varlığında nitrite çevirir. Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı. Elde edilen değerler arasındaki farkları değerlendirmek için Kruskal–Wallis ve Mann-Whitney U-testleri kullanıldı. Gruplararası farklılık univariate ANOVA (post hoc Scheffe) testi ile değerlendirildi.

Sonuçlar

Üçüncü günde, deney grubundaki sıçanların tümünün dizlerinde klinik olarak artrit saptanırken, kontrol grubunda artrit skoru sıfır idi. On dördüncü ve 21. günlerde, yalnız NMMA verilen grupta artrit oluşumu bir puan azalmış iken, NMMA ve indometazinin birlikte uygulandığı grupta 21. günde artrit skoru 0 idi (Tablo 1). Sintigrafik incelemede, üçüncü ve yedinci günlerde artmış aktivite tutulumu gözlenirken; 14 ve 21. günlerde NMMA verilen grupta aktivite tutulumunun azaldığı, NMMA ile indometazinin birlikte verildiği grupta ise 21. günde aktivite tutulumunun olmadığı gözlemlendi (Şekil 1). Deneklerin eklem/yumuşak doku (J/B) oranı kontrol grubu ola-

rak aldığımız birinci grupta ortalama 1.01 ± 0.03 iken, indometazin+NMMA'nın birlikte verildiği grupta ortalama 1.4 ± 0.2 idi ($p < 0.005$). İstatistiksel olarak tüm gruplar arasında fark olmasına rağmen ($p < 0.001$), birinci ve beşinci gruplar arasındaki ortalama değerler birbirine daha yakındı (Tablo 2).

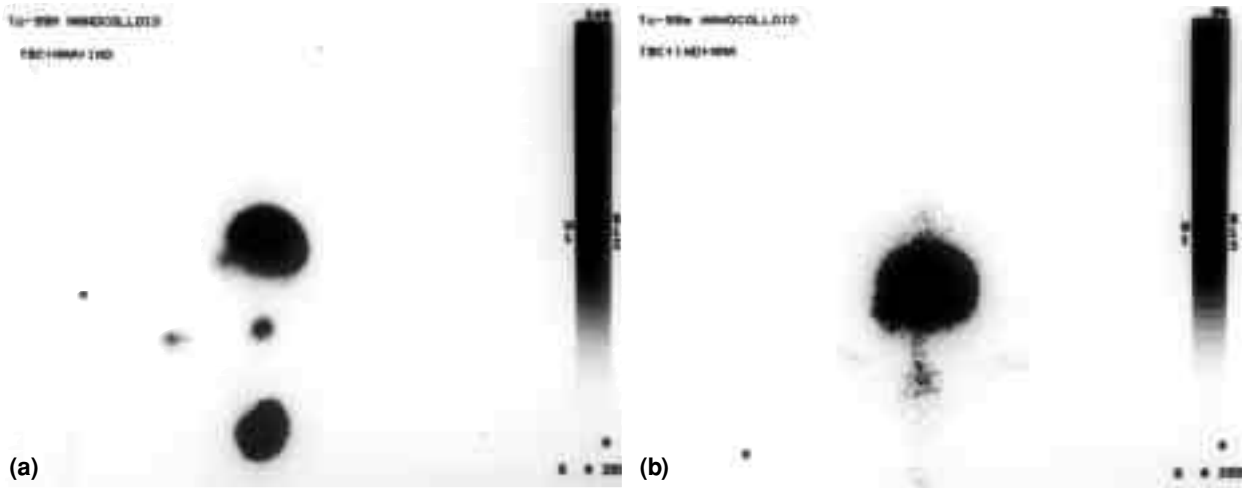
Histopatolojik değerlendirmede, tüm deney gruplarında üçüncü günde yapılan kesitlerde yoğun polimorfonükleer lokosit infiltrasyonu gözlenirken, diğer günlerde lenfosit infiltrasyonu ve bazı kesitlerde Langhans dev hücreleri dikkat çekmekteydi (Şekil 2). Yirmi birinci günde ise NMMA'nın tek başına veya indometazinle birlikte uygulandığı gruplarda kronik iltihabi hücre infiltrasyonu görülmedi; ancak NMMA'nın tek başına verildiği grubun kesitlerinde yer yer bozulmuş kıkırdak hücreleri saptandı. Artrit oluşturulup hiç tedavi verilmeyen grupta, artritik değişikliklerle bağlantılı olarak ileri derecede enflamatuvar hücre infiltrasyonu, sinovial membranda kalınlaşma, pannus dokusunun eklem içine doğru yönelmesi ve kıkırdak harabi-

Tablo 2. Gruplararası sintigrafik farkın değerlendirilmesinde univariat ANOVA (post hoc Scheffe) testi sonuçları

Grup no	Uygulanan işlem	Ortalama	p değeri
1. grup (kontrol)	–	1.01 ± 0.03	
2. grup	Tüberküloz artrit oluşumu	3.6 ± 0.5	< 0.001
3. grup	Tüberküloz artrit oluşumu + indometazin	2.6 ± 0.3	< 0.001
4. grup	Tüberküloz artrit oluşumu + N ^G -monometil arginin	1.9 ± 0.3	< 0.001
5. grup	Tüberküloz artrit oluşumu + indometazin + N ^G -monometil arginin	1.4 ± 0.2	< 0.001

Tablo 3. Tüm gruplarda 3, 7, 14 ve 21. günlerde kemik dokusundaki nitrat/nitrit değerleri ($\mu\text{mol/L}$)

Grup no	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün	Ortalama
1. grup (kontrol)	18.5	18.5	18.4	19	18.5 ± 0.7
2. grup	80.6	79	80.9	68.1	77.5 ± 6.9
3. grup	44.2	40.4	38.9	36.2	40.2 ± 3.6
4. grup	31.3	29.7	22.9	21.4	26.3 ± 4.6
5. grup	23.6	20	20.3	19	20.8 ± 2.2



Şekil 1. (a) N-monometil arginin ve indometazinin birlikte verildiği grupta, yedinci günde yapılan Tc99 nanokoloid sintigrafik incelemede sağ dizde aktivite tutulumunu saptandı; (b) 21. günde bu aktivite tutulumunun tamamen ortadan kalktığı gözlemlendi.

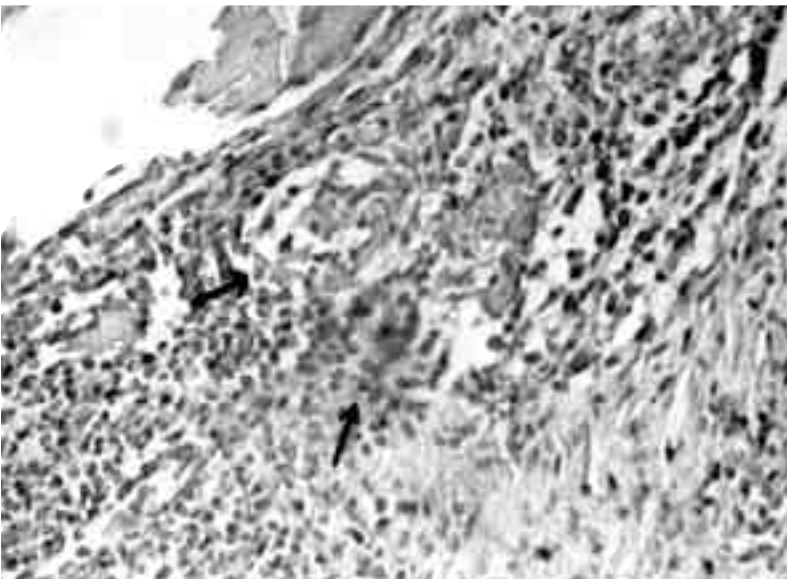
yeti olduğu gözlemlendi. Bu gruptaki sıçanların 14. ve 21. günlerdeki değerlendirmelerinde, dört denekte nekropürülan periartrit ve osteomyelit vardı. İkinci gruptan dört, üçüncü gruptan iki sıçan ilk on gün içinde sepsisten öldüler.

Kemiklerde nitrit ölçümünde en yüksek nitrat değerleri ikinci grupta gözlemlendi. Buradaki sonuçlar diğer gruplardan anlamlı biçimde farklı idi ($p < 0.02$). Özellikle dördüncü ve beşinci gruplardaki nitrat sonuçları 21. güne doğru azalırken, beşinci grup deneklerde 21. günde nitrat sonuçları kontrol grubunun değerlerine yakındı ($p > 0.05$) (Tablo 3).

Tartışma

Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan deneysel artrit modelinde profilaktik NMMA ve indometazinin tek başına veya birlikte kullanıldıklarında, artrit üzerindeki etkilerini klinik, sintigrafik ve kemik nitrat seviyelerinin ölçüm sonuçları ile araştırdık.

Serbest bir radikal olan NO birçok hücrede, bir aminoasit olan L-argininin nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile terminal guanidin grubunun NO'ya çevrilmesi ile üretilir.^[11] Halen NO enflamasyonda önemli rolü olduğu belirtilse de, olayın oluşumu tam



Şekil 2. İndometazinin tek başına verildiği grupta 14. günde yoğun lenfosit infiltrasyonu ve Langhans dev hücresi görülüyor (H-E x 40).

olarak açıklanabilmiş değildir. Enflamatuvar olaylarda NO etkisini, damar duvarında vazodilatasyon, enflamatuvar hücrelerde kemotaksis, enflamatuvar mediatörlerin salgılanması, ağrı, doku ve eklemlerde kıkırdak harabiyeti şeklinde gösterir.^[12] Çalışmamızda artrit oluşturulmuş eklemlerde NO sentaz oluşumunu engelleyecek profilaktik NMMA verilmesiyle NO ve ürünlerinin sentezinin azalacağını ve artrit tablosunun iyileşebileceğini düşündük. Nitrik oksit, kardiyovasküler hemostaz, sinir iletimi, immünite üzerinde etkileri yanı sıra kemikler üzerinde de önemli bir etkiye sahiptir. Nitrik oksit yapımının kemikte interlökin-1, tümör nekroze edici faktör, interferon gamma gibi faktörler tarafından uyarıldığı belirtilmiştir.^[13] Oluşturduğumuz deneysel artrit modelinde, diğer çalışmalardan farklı olarak deney ve kontrol gruplarında kemiklerdeki nitrit/nitrat değerlerini Griess reaksiyonu ile ölçerek saptadık. Çalışmamızda artrit oluşturulmuş sıçanlarda, profilaktik indometazini tek başına verdiğimizde kemikteki nitrat seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı biçimde azalmıştı ($p<0.02$). Ancak sonuçlar, NMMA'nın tek başına veya indometazinle birlikte verildiği gruplara göre daha yüksek değerlerde idi ($p<0.02$). Özellikle indometazin ve NMMA'nın birlikte verildiği grupta, 21. günde kemikteki nitrat değerleri, enflamasyon oluşturulmamış kontrol grubunun değerlerine yakındı ($p>0.05$). Bu sonuç bizde indometazin ile NMMA'nın birlikte verilmesinin artrit iyileşmesi üzerinde daha etkili olabileceği kanısını uyandırmıştır. Artrit oluşturup herhangi bir tedavi uygulamadığımız olgulardaki nitrat değerleri yüksek seyrederken (77.5 ± 6.9), indometazin ve NMMA'nın birlikte uygulandığı deneklerde bu değer en düşük oranda idi (20.8 ± 2.2); özellikle 21. günde kontrol grubu ile arasındaki anlamlı fark kaybolmuştu ($p>0.05$) (Tablo 2). Bu bulgular, artrit oluşumu ile kemiklerdeki nitrit oranlarının arttığını, indometazin ve NMMA birlikte uygulandığında nitrat değerlerinin azaldığını ve kontrol grubu değerlerine yaklaşarak artrit tablonun iyileştiğini göstermektedir.

Geroulanos ve ark.,^[14] farelerde yaptıkları çalışmada, intraperitoneal BCG inokülasyonu sonrasında idrarda nitrat atılımını değerlendirmişler; artışın 3-5. günlerde oldukça belirginleşmeye başladığını ve 8-10. günlerde en yüksek değere ulaştığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise artrit oluşturacak enfeksiyöz ajanı doğrudan eklem içine verdik. Özellikle artrit oluşturup profilaktik tedavi verme-

diğimiz grupta, eklem artriti yukarıda belirttiğimiz çalışmadaki gibi 3-5. günlerde belirginleşmeye başladı ve 8-10. günlerde en belirgin düzeye ulaştı. Ancak profilaktik tedavi uyguladığımız gruplarda 3-7. günlerde artrit görülse de 21. güne doğru gidildikçe klinik olarak artrit azalmakta veya kaybolmakta olduğunu saptadık.

Nitrik oksit sentezinin baskılanmasının deneysel romatoid artrit gelişimini önlediği gösterilmiştir.^[11] Diarthrodial eklemlerde, NO eklem içinde sentezlenmektedir. Potansiyel olarak NO kaynağı, sinovial kapillerlere uzanan endotel hücreleri ve eklemlerdeki mezenşimal hücrelerdir. Beyindeki endotel hücreler yoluyla oluşturulan uyarılar sinovial kapillerdeki endotel hücrelerinde NO oluşturabilmektedirler. Ayrıca, enflamasyon gelişmiş eklemlerde nötrofiller, lenfositler, mast hücreleri ve makrofajlar önemli ölçüde NO sentezine neden olmaktadır. Eklemlerdeki kondrositler ve sinovial fibroblastlar da NO sentezlenmektedirler.^[15] Nitrik oksit, artrit eklemin patofizyolojisinde rol oynadığından, bunun aktivitesini azaltacak veya oluşumunu önleyecek birçok etken madde üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Salisilatlar, glukokortikoidler bunlardan bazılarıdır.^[6,16] Yapılan bir çalışmada, indometazinin sinovial fibroblastlar tarafından oluşturulan NO ürünlerini baskıladığı, ancak kondrositler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir.^[6] Nonsteroid antiinflamatuvar bir ajan olan indometazin, enflamasyon üzerindeki etkisini hem prostaglandin sentez inhibitörü hem de siklooksijenaz 1 ve 2 inhibitörü olarak göstermektedir.^[17] İndometazinin enflamasyonu azaltıcı ve ortadan kaldırıcı etkilerinin olduğu gösterilmiştir.^[17,18] Bilindiği gibi, NO ve prostaglandinler artrit oluşumunda etkili iki enflamatuvar mediatördür. Nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz, sinovial doku ve eklem kartilajında bulunarak, artrit sonrası NO ve siklooksijenazların oluşumunu artırmaktadır.^[3,19] Bu nedenle, tek başına indometazin verilerek prostaglandin sentezi baskılanmaya ve enflamasyon azaltılmaya çalışılsa da, NOS inhibisyonu olmadığından dolayı ortamda NO artacak ve enflamasyon devam edecektir. Ayrıca, indometazinin NOS üzerine baskılayıcı etkisi olmamasından dolayı, kıkırdak üzerinde koruyucu etkisi de yoktur.^[3,19] Artrit oluşumunun esas önemli nedeni olan NO ve bunun sentezlenmesinde etkin olan NOS enzimi inhibitörü NMMA'nın indometazinle birlikte kullanılması halinde artrit önlenmesinde daha etkili olunacağı kanısındayız.

Geroulanos ve ark.^[14] sepsiste gözlenen kardiyovasküler bozulmaların nitrik oksit sentezine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda sepsise bağlı olarak ölen deneklerin nitrik asit sentezi sonrası oluşan kardiyovasküler değişikliklere bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Nitrik oksidin enflamasyon ve immünitede önemli rolü vardır.^[20,21] Ialenti ve ark.,^[4] adjuvan artrit oluşturulduktan sonra peritoneal makrofajlar tarafından nitrit oluşumunun artırıldığını ve NO sentaz inhibitörü olan NMMA verilmesiyle NO ürünlerinin azaldığını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise, sıçanlara streptokok hücre duvarı fragmanları verilmesi sonrasında enflamasyon gelişmiş eklem sinovial dokularında NO ürünlerinin ve polimorfonükleer lokositlerin arttığı, NMMA verilmesi sonrasında ise NO ürünlerinin, enflamasyonun ve doku harabiyetinin önemli oranda azaldığı belirtilmiştir.^[5] Çalışmamızda, deneysel artrit oluşturduğumuz sıçanlarda artrit oluşumunu, tedavinin artrit oluşumu üzerindeki etkilerini klinik, sintigrafik olarak ve kemikteki nitrat değerlerini ölçerek izledik. Sintigrafik değerlendirmede, Tc99 nanokolloid kullandık. Bu ajan septik artrit ve enflamatuvar eklem hastalıklarında özgül olmamasına rağmen duyarlıdır.^[8,22] Ercan ve ark.^[8] tavşanlarda yaptıkları çalışmada deneysel artriti iyi biçimde gözlemleyerek Tc99 sitratın Ga-67 sitrattan daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda üçüncü ve yedinci günlerde deney gruplarında enflamasyona bağlı olarak eklemde aktivite tutulumunun arttığını, 14. ve 21. günlerde özellikle dördüncü ve beşinci gruplarda bu aktivitenin azaldığını ve kaybolduğunu saptadık. Özellikle beşinci grupta J/B oranının 21. günde diğer gruplardan daha düşük olması (ortalama 1.4±0.2), indometazinle NMMA'nın birlikte kullanımının artrit oluşumu üzerinde diğer gruplara göre daha etkin olduğunu göstermektedir.

Histolojik değerlendirmede tüm gruplarda üçüncü günde enflamatuvar hücreler yoğun biçimde gözlenirken, 14 ve 21. günlerde artrit oluşturulup tedavi verilmeyen grupta nekropürülan periartrit, osteomyelit ve kartilaj harabiyeti gözlemlendi. NMMA'nın indometazinle birlikte verildiği grupta üçüncü günde saptadığımız enflamatuvar görüntünün 14 ve 21. günlerde tüm deneklerde tamamen kaybolduğunu saptadık. İndometazin uygulanan grup ile kontrol gruplarının histolojik incelemesinde, kıkırdak de-

nerasyonunun NMMA kullanılan dördüncü ve beşinci gruplara göre daha yoğun olduğunu saptadık. Bu durumun, indometazinin kıkırdak harabiyetini önleyici etkinliğinin olmamasından kaynaklandığını düşünüyoruz.^[3,23]

Sonuç olarak, artrit eklem üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için profilaktik dozda indometazin ve nitrik oksit sentaz inhibitörü NMMA'nın birlikte uygulanmasının, ayrı ayrı uygulanmasına göre daha iyi sonuçlar vereceği kanısındayız.

Kaynaklar

1. Ialenti A, Ianaro A, Moncada S, Di Rosa M. Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 1992;211:177-82.
2. Hutcheson IR, Whittle BJ, Boughton-Smith NK. Role of nitric oxide in maintaining vascular integrity in endotoxin-induced acute intestinal damage in the rat. *Br J Pharmacol* 1990;101:815-20.
3. Attur MG, Patel R, DiCesare PE, Steiner GC, Abramson SB, Amin AR. Regulation of nitric oxide production by salicylates and tenidap in human OA-affected cartilage, rat chondrosarcomas and bovine chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 1998;6:269-77.
4. Ialenti A, Moncada S, Di Rosa M. Modulation of adjuvant arthritis by endogenous nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1993;110:701-6.
5. McCartney-Francis N, Allen JB, Mizel DE, Albina JE, Xie QW, Nathan CF, et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Exp Med* 1993;178:749-54.
6. Stefanovic-Racic M, Stadler J, Evans CH. Nitric oxide and arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:1036-44.
7. Stefanovic-Racic M, Meyers K, Meschter C, Coffey JW, Hoffman RA, Evans CH. N-monomethyl arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, suppresses the development of adjuvant arthritis in rats. *Arthritis Rheum* 1994;37:1062-9.
8. Ercan MT, Aras T, Ünsal IS, Arıkan Ü, Ünlenen E, Hasçelik Z. Technetium-99m citrate for imaging inflammation: an experimental study. *J Isl Acad Sci* 1992;5:180-8.
9. Giovannoni G, Land JM, Keir G, Thompson EJ, Heales SJ. Adaptation of the nitrate reductase and Griess reaction methods for the measurement of serum nitrate plus nitrite levels. *Ann Clin Biochem* 1997;34(Pt 2):193-8.
10. Abdelnour A, Arvidson S, Bremell T, Ryden C, Tarkowski A. The accessory gene regulator (agr) controls *Staphylococcus aureus* virulence in a murine arthritis model. *Infect Immun* 1993;61:3879-85.
11. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994;298(Pt 2):249-58.
12. Evans CH, Stefanovic-Racic M, Lancaster J. Nitric oxide and its role in orthopaedic disease. *Clin Orthop* 1995;(312):275-94.
13. Evans DM, Ralston SH. Nitric oxide and bone. *J Bone Miner Res* 1996;11:300-5.
14. Geroulanos S, Schilling J, Cakmakci M, Jung HH, Largiader F. Inhibition of NO synthesis in septic shock. *Lancet* 1992;339:435.
15. Stadler J, Stefanovic-Racic M, Billiar TR, Curran RD, McIntyre LA, Georgescu HI, et al. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. *J Immunol* 1991;147:3915-20.

16. Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 1992;326:90-4.
17. Landen CN, Zhang P, Young RC. Mechanisms of indomethacin and nimesulide on inhibition of calcium rises in human uterine myocytes. *Obstet Gynecol* 2001;97(4 Suppl 1):S6.
18. Osterman T, Kippo K, Lauren L, Pasanen I, Hannuniemi R, Sellman R. A comparison of clodronate and indomethacin in the treatment of adjuvant arthritis. *Inflamm Res* 1997;46:79-85.
19. Amin AR, Attur M, Abramson SB. Nitric oxide synthase and cyclooxygenases: distribution, regulation, and intervention in arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1999;11:202-9.
20. Liew FY. Regulation of lymphocyte functions by nitric oxide. *Curr Opin Immunol* 1995;7:396-9.
21. Sakiniene E, Bremell T, Tarkowski A. Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) aggravates *Staphylococcus aureus* septicaemia and septic arthritis. *Clin Exp Immunol* 1997;110:370-7.
22. Coleman RE, Samuelson CO Jr, Baim S, Christian PE, Ward JR. Imaging with Tc-99m MDP and Ga-67 citrate in patients with rheumatoid arthritis and suspected septic arthritis: concise communication. *J Nucl Med* 1982;23:479-82.
23. Cohen N, Robinson D, Ben-Ezzer J, Hemo Y, Hasharoni A, Wolmann Y, et al. Reduced NO accumulation in arthrotic cartilage by exposure to methylene blue. *Acta Orthop Scand* 2000;71:630-6.