

Ratlarda Deneysel Artrit Modelinde Stronsiyum Kloridin Anti-İnflamatuvar Etkinliğinin Araştırılması

Study of Anti-Inflammatory Efficiency of Strontium Chloride in Experimental Arthritis Model in Rats

Mustafa Alperen Servi¹, Sevil Ceyhan Doğan², Hüseyin Güngör³, Ömer Fahrettin Göze⁴, Şeyma Nur Yıldız⁵, Melih Akyol⁶

1 Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, Bayburt Devlet Hastanesi, Bayburt/Türkiye

2 Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas/Türkiye

3 Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Sivas/Türkiye

4 Patoloji Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas/Türkiye

5 Biyokimya Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas/Türkiye

6 Dermatoloji Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas/Türkiye

ÖZET

AMAÇ: Stronsiyum, osteoporoz tedavisinde uzun yıllardır kullanılan bir ilaçtır. Son dönemlerde stronsiyumun proinflamatuvar sitokinleri inhibe ederek anti-inflamatuvar etkiler yaptığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, stronsiyum kloridin anti-inflamatuvar etkilerini ratlarda Freund's Complete Adjuvant kullanılarak oluşturulan deneysel artrit modelinde klinik, histopatolojik, immünohistokimyasal tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) ve TNF- α , interlökin-1 (IL-1 β), IL-6 serum seviyeleri ile değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmaya 48 adet wistar-albino cinsi dişi rat alınmıştır. Ratlar randomize olarak her grupta 8 rat olacak biçimde toplam 6 gruba ayrıldı. Grup I kontrol grubudur, diğer gruplarda deneysel artrit modeli oluşturulmuştur. Grup II, artrit kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Grup III, Grup IV ve Grup V'e, stronsiyum klorid oral olarak verilmiştir. Grup VI'ya, diklofenak sodyum oral olarak verilmiştir. Deney sürecinde aralıklı olarak grupların ağırlık ölçümleri, sağ pençe çevresi ölçümleri ve klinik artrit skorları takip edilmiştir. Deney sonunda deneklerden alınan kan örneklerinden serum TNF- α , IL-1 β , IL-6 çalışılmıştır. Alınan doku örneklerinden histopatolojik olarak inflamasyon skoru, sinoviyal hiperplazi, kıkırdak erozyonu ve kemik erozyonu değerlendirilmiştir. Alınan doku örneklerinden immünohistokimyasal TNF- α değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Stronsiyum kloridin anti-inflamatuvar etkileri değerlendirmelerde gösterilmiştir. Serum örneklerinden çalışılan TNF- α , IL-1 β , IL-6 seviyelerinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. İmmünohistokimyasal TNF- α değerlendirmesinde, kontrol grubu hariç diğer gruplarda anlamlı farklılık yoktu.

SONUÇ: Çalışmamızda stronsiyum kloridin anti-inflamatuvar etkileri klinik ve histopatolojik değerlendirmeler ile gösterilmiştir. Bu sonuçlar romatoid artrit tedavisinde stronsiyum kloridin kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: romatoid artrit, stronsiyum klorid, adjuvant artrit, TNF- α , IL-1 β , IL-6

ABSTRACT

OBJECTIVE: Strontium is a drug used for many years in the treatment of osteoporosis. Recently, anti-inflammatory effects of strontium have been demonstrated, especially by inhibiting pro-inflammatory cytokines. This study aimed to evaluate the anti-inflammatory effects of strontium chloride with clinical, histopathological, immunohistochemically Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), TNF- α , Interleukin-1 (IL-1), IL-6 serum levels in rats using Freund's Complete Adjuvant.

MATERIALS AND METHODS: Forty-eight female Wistar-albino rats were included in the study. The rats were randomly divided into 6 groups. Group I was a control group and experimental arthritis model was formed to the other groups. Group II was divided as arthritis control group. Strontium chloride was administered orally to Group III, Group IV and Group V. Diclofenac sodium was given orally to Group VI. Weight measurements, right paw circumference measurements and clinical arthritis scores of the groups were monitored periodically. Serums TNF- α , IL-1 β , IL-6 were studied from the blood samples taken from the subjects. Inflammation score, synovial hyperplasia, cartilage erosion and bone erosion were evaluated histopathological from tissue samples. Immunohistochemically TNF- α was also evaluated from tissue samples.

RESULTS: Anti-inflammatory effects of strontium chloride have been demonstrated in evaluations. There was no significant difference in serum TNF- α , IL-1 β , IL-6 levels between all groups. There was no significant difference in immunohistochemical TNF- α evaluation in all groups except the control group.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Sevil Ceyhan Doğan, MD, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sivas/Türkiye

E-Posta/E-Mail: drsevilceyhan@gmail.com || Tel: +90 505 241 7199

Received/Geliş Tarihi: 11.11.2020 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 03.12.2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



CONCLUSION: The anti-inflammatory effects of strontium chloride were demonstrated by clinical and histopathological evaluations. These results suggest that strontium chloride may be used in the treatment of rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, strontium chloride, Freund's complete adjuvant-induced arthritis, TNF- α , IL-18, IL-6

GİRİŞ

Romatoid artrit (RA), ilerleyici sakatlık, sistemik komplikasyonlar, erken ölüm ve sosyoekonomik maliyetlerle ilişkili yaygın bir otoimmün hastalıktır (1). RA patogenezi hala tam olarak anlaşılamayan, karmaşık bir konu olmasına rağmen genetik faktörlerin yanı sıra cinsiyet, hormonal faktörler, enfeksiyonlar, immün disregülasyon, sigara gibi faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir (2). Eklemlerdeki sinoviyal doku; villöz projeksiyonlarının oluşumu, kıkırdak ve kemiği destrükte eden pannus dokusu oluşumu ile birlikte inflamatuvar hücrelerin toplanması ile belirgin şekilde genişler. Kronik sinovit, eklemden bulunan hücre tiplerinin ve eklemden toplanan inflamatuvar hücrelerin etkileşimi ile devam eder ve daha sonra sitokin etkileşimleri olur (3). Tümör nekroz faktör (TNF) başta olmak üzere interlökin (IL-1, IL-6, IL-8) ve granülosit makrofaj-koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) RA patogenezinde inflamatuvar süreçleri düzenleyen başlıca sitokinlerdir (4,5). RA tedavisinde temel amaç remisyondur. Eklemden inflamasyonun baskılanması, eklemden harabiyet oluşmasının önlenmesi veya azaltılması hedeflenmeli, remisyona sağlanmazsa en düşük hastalık aktivitesi ikincil hedef olmalıdır (2). RA tedavisi için mevcut olan terapötik ajanların sayısı son 30 yılda çok artmıştır. Şu anda mevcut ilaçlar Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAID), glukokortikoidler, sentetik hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaçlar (DMARD) ve biyolojik DMARD'dır (6). Stronsiyum (Sr) metali doğada sadece +2 oksidasyona uğramış halde bulunur. Sr bileşikleri seramik ve cam sanayisinde, floresan ışıklarda, boya pigmentlerinde ve medikal alanda Sr klorür ve Sr peroksit formunda kullanılır (7). Sr'nin birçok çalışmada postmenopozal osteoporozlu kadınlarda etkili bir tedavi olduğu gösterilmiştir (8,9). Son zamanlarda Sr'nin anti-inflamatuvar etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda Sr'nin özellikle TNF- α ve IL-1 ekspresyonunu azaltarak anti-inflamatuvar etki gösterdiği gösterilmiştir (10-12). Yine son yıllarda Sr'nin osteoartrit tedavisinde yeni bir hastalık modifiye edici ilaç olabileceği vurgulanmıştır. Osteoartritli hastalarında Sr'nin; fonksiyonel kapasitede iyileşme, ağrı skorlarında azalma ve eklem hasarında gerileme sağladığını bildiren yayınlar mevcuttur (13-15).

GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvanlar

Çalışmaya alınan denekler Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Çalışmamızda her bir grupta 8 adet toplam 48 wistar-albino cinsi, 200-220 gram, 4 aylık dişi ratlar kullanıldı. Ratlar 22 \pm 1 °C oda sıcaklığında, %50 \pm 5 nem oranında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde ve sesten uzaklaştırılmış ortamda tutuldu. Beslenmeleri için standart rat yemi ve musluk suyu kullanıldı.

Deneysel uygulamalar

Deneysel artrit modeli oluşturmak için literatürde tarif edilen metotlara göre, ısıda öldürülmüş ve kurutulmuş Mycobacterium tuberculosis içeren sıvı parafin emülsiyonu Freund's Complete Adjuvan (FCA, Sigma Aldrich), hayvanların sağ arka ayak pençelerine, 22 G iğne ile 0,1 ml intradermal yolla tek doz uygulandı (16,17). Deneysel artrit modeli 17. gün olarak kabul edildi, 17. ve 27. günler arasında uygulanacak tedaviler verildi.

Grup 1: Kontrol

Grup 2: FCA + distile su 1ml/kg, oral

Grup 3: FCA + Sr klorid 5 mg/kg, oral

Grup 4: FCA + Sr klorid 25 mg/kg, oral

Grup 5: FCA + Sr klorid 50 mg/kg, oral

Grup 6: FCA + diklofenak sodyum 5 mg/kg, oral (Diclomec®, Abdi İbrahim™)

Pençe çapı ölçümü: Çalışmada enjeksiyon günü 0. gün olarak kabul edilerek, tüm gruplarda dijital kumpas ile ratların sağ arka ayaklarında metatars hizasından pençe çapı ölçümü 0, 17, 20, 24 ve 28. günlerde yapıldı.

Klinik artrit skorlaması: Bir skala ile (0-4 arasında değerlendirilen) 0, 17, 20, 24 ve 28. günlerde değerlendirildi (18) (Tablo 1).

Tablo 1. Klinik Artrit Skorlaması

0	Artrit yok
1	Eklemden hafif ödem ve kızarıklık
2	Eklemden orta derecede ödem ve kızarıklık
3	Eklemden şiddetli ödem ve kızarıklık
4	Eklemden ankiloz

Kan ve doku örneklerinin alınması: Çalışmanın sonunda uygulamalar bittikten sonra tüm ratların kalplerinden, anestezi altında (ksilazin 3mg/kg + ketamin 90mg/kg) kan örnekleri (3-5 ml) alındıktan hemen sonra ratlara servikal dislokasyon ile ötenazi işlemi yapıldı. Ratlardan alınan serum örneklerinden TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışılmak üzere uygun koşullarda saklandı.

Ratların deney sonunda sağ diz altından ampute edilerek alınan örnekler uygun saklama koşullarında histolojik ve immunohistokimyasal (IHC) incelemeler yapmak üzere saklandı.

Histopatolojik değerlendirme

Ratların sağ ayak örneklerine fiksasyon amacıyla %10'luk formaldehitte 24 saat bekletildikten sonra dekalsifikasyon işlemi uygulandı. MetaTersoFalangeal (MTF) eklemleri içeren dokular takip işlemine alındıktan sonra parafin ile bloklandı. Alınan bloklardan Leica marka mikrotom cihazında 2.5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitlerin bir kısmı hematoksil-eozin (H&E) boyamak için normal lama, bir kısmı ise immünohistokimya boyamak için pozitif yüklü lama alındı. Pozitif yüklü lamlara alınan preparatlara ise TNF- α antikoru ile immünohistokimya boyamaları yapıldı.

Mikroskopik değerlendirmeler patoloji laboratuvarında uzman bir patolog tarafından gruplara ait bilgisi olmadan kör olarak incelendi. Alınan örneklerden kesitlerde en az iki MTF eklemi görülen kesitler değerlendirmeye alındı. Hematoksil-eozin ile boyanan preparatlardaki değerlendirmeler eklem komşu dokulardaki inflamasyon derecesi, sinoviyal hiperplazi, kıkırdak erozyonu ve kemik erozyonu olarak değerlendirildi. Değerlendirmeler X40, X100, X200 ve X400 büyütme sahalarda incelenerek yapıldı. İnflamasyon skoru değerlendirmesi; 0: mononükleer hücre infiltrasyonu yok, 1: hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu, 2: orta derecede mononükleer hücre infiltrasyonu, 3: ağır derecede mononükleer hücre infiltrasyonu olarak skorlandıktan sonra ilgili alanda görülen apse varlığı +1 puan, granülom varlığı +1 puan toplam skora eklenerek toplamda 0-5 arasında skorlandı. Sinoviyal hiperplazi değerlendirmesi; 0: sinoviyal hiperplazi yok, 1: hafif derecede sinoviyal hiperplazi, 2: orta derecede sinoviyal hiperplazi, 3: ağır derecede sinoviyal hiperplazi olarak skorlandı. Kıkırdak erozyonu değerlendirmesi; 0: kıkırdak erozyonu yok, 1: hafif derecede kıkırdak erozyonu, 2: orta derecede kıkırdak

erozyonu, 3: ağır derecede kıkırdak erozyonu olarak skorlandı. Kemik erozyonu değerlendirmesi; 0: kemik erozyonu yok, 1: hafif derecede kemik erozyonu, 2: orta derecede kemik erozyonu, 3: ağır derecede kemik erozyonu olarak skorlandı.

IHC değerlendirmelerde eklem ve eklem komşu dokulardaki TNF- α boyanma paternlerine göre fokal ve diffüz olarak iki kategoride incelendi. Alınan örneklerden kesitlerde en az iki MTF eklemi görülen kesitler değerlendirmeye alındı. Değerlendirmeler X40, X100, X200 ve X400 büyütme sahalarda incelenerek yapıldı. Fokal boyanma; 0: boyanma yok, 1: 0-10 hücre, 2: 10-20 hücre, 3: 20'den fazla hücre olarak skorlandı. Diffüz boyanma; 0: boyanma yok, 1: hafif derecede diffüz boyanma, 2: orta derecede diffüz boyanma, 3: ağır derecede diffüz boyanma olarak skorlandı. İki boyanma paternindeki skorlar toplanarak toplam skor hesaplandı.

TNF- α , IL-1 β ve IL-6 ölçümleri: Serumdaki proinflamatuvar sitokin seviyeleri (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) ELISA kiti kullanılarak üretici talimatlarına göre değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Çalışmaya alınan rat sayısı Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları yönetmeliğine göre grup başına 8 ile sınırlandırılmıştır. Bu sebeple çalışmanın analizleri parametrik olmayan testler ile değerlendirilmiştir. Aynı gün içerisindeki grupların çoklu karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis H testi, ikili karşılaştırmalarında ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Aynı grubun farklı günlerdeki ölçümlerinin çoklu karşılaştırmalarında Friedman F testi, ikili karşılaştırmalarında Wilcoxon işaret testi kullanılmıştır. Tüm testler %95 güven seviyesinde incelenmiştir.

BULGULAR

Çalışmanın 26. gününde yapılan kontrollerde VI. Gruptan bir rat ex olmuştur. VI. grubun değerlendirmeleri ve istatistiksel analizleri 7 rat üzerinden yapılmıştır.

Klinik Artrit Skorlaması:

Çalışmanın 17. gününde yapılan ilk değerlendirmede kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda klinik artrit skorlamasında anlamlı artış bulundu ($p < 0.05$). Bu da başarılı bir şekilde artrit modeli oluşturduğumuzun göstergesidir. Tedaviye başladığımız 17. gün ile tedavi sonu 28. gün arasında tedavi verilen tüm gruplarda klinik artrit skorlarında anlamlı azalma görülmüştür ($p < 0.05$). Bu

gruplar kendi aralarında kıyaslandığında tedavinin hiçbir gününde anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 2).

Kumpas ile pençe çevresi ölçümleri:

Kumpas ile yapılan değerlendirmelerde 17. günde FCA enjeksiyonu yapılan tüm gruplarda 0. Güne göre pençe çevresi ölçümlerinde anlamlı artış olmuştur ($p<0.05$). Sr klorid ve diklofenak tedavisi alan gruplarda pençe çevresi ölçümlerinde anlamlı azalma görülmüştür ($p<0.05$). Diklofenak tedavisi alan gruptaki iyileşme Sr klorid alan gruplara kıyasla daha fazlaydı ($p<0.05$). Sr klorid tedavisi verilen gruplar arasındaki pençe çevresi ölçümündeki azalmada sadece Grup III ile Grup V arasında anlamlı farklılık görüldü ($p<0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Grupların klinik, laboratuvar ölçümleri (Ortalama \pm Standart sapma)

	G I	G II	G III	G IV	G V	G VI
17.gün Artrit skoru	0 \pm 0	2,75 \pm 0,46*	2,75 \pm 0,46*	2,75 \pm 0,46*	2,63 \pm 0,52*	2,86 \pm 0,38*
28.gün Artrit skoru	0 \pm 0	2,87 \pm 0,35	1,5 \pm 0,53*	1,63 \pm 0,52*	1,38 \pm 0,52*	1,14 \pm 0,38*
17.gün Pençe ölçümü	7,43 \pm 0,16	10,05 \pm 0,41*	9,79 \pm 0,28*	9,51 \pm 0,26*	9,84 \pm 0,34*	9,84 \pm 0,38*
28.gün Pençe ölçümü	7,52 \pm 0,19	9,64 \pm 0,58	8,6 \pm 0,32*	8,5 \pm 0,37*	8,23 \pm 0,13*	7,89 \pm 0,36*
TNF- α	225 \pm 184	329 \pm 184	190 \pm 280	275 \pm 336	212 \pm 393	185 \pm 158
IL-1 β	348 \pm 126	397 \pm 115	423 \pm 126	390 \pm 167	421 \pm 157	541 \pm 199
IL-6	244 \pm 51	344 \pm 147	280 \pm 120	276 \pm 104	327 \pm 131	400 \pm 90

*: $p<0.05$ G: Grup

TNF- α , IL-1 β ve IL-6 ölçümleri:

Serum TNF- α , IL-1 β ve IL-6 ölçümleri ELISA kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle pg/mL olarak ölçüldü. Grupların ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 3. Grupların histopatolojik inceleme sonuçları

Gruplar	I	II	III	IV	V	VI
İnflamasyon Skoru	0 \pm 0	4,5 \pm 0,53	3,13 \pm 1,13*	3,63 \pm 0,52*	3,87 \pm 0,35*	3,57 \pm 0,53*
Sinoviyal Hiperplazi	0,13 \pm 0,35	2,5 \pm 0,53	2,25 \pm 0,89	1,25 \pm 0,46**	1 \pm 0**	1 \pm 0**
Kıkırdak Erozyonu	0 \pm 0	2,75 \pm 0,46	1,5 \pm 0,53*	1 \pm 0*†	0,75 \pm 0,46*†	0,43 \pm 0,53*†
Kemik Erozyonu	0 \pm 0	2,75 \pm 0,46	1,38 \pm 0,52*	1 \pm 0*	0,5 \pm 0,53*‡	0,29 \pm 0,49*‡
IHC TNF- α	1,25 \pm 0,46	3,50 \pm 0,53 ϕ	2,88 \pm 0,35 ϕ	3 \pm 0 ϕ	3,13 \pm 0,35 ϕ	2,86 \pm 0,38 ϕ

*: Grup II ile tedavi alan grupların karşılaştırılması $p<0.05$. **: Grup II ile Grup IV, V ve VI'nin karşılaştırılması $p<0.05$. †: Grup III ile Grup IV, Grup V ve Grup VI arasındaki karşılaştırma $p<0.05$. ‡: Grup IV ile Grup V ve Grup VI'nin karşılaştırılması $p<0.05$. ϕ : Grup I ile diğer grupların karşılaştırılması $p<0.05$

IHC TNF- α değerlendirmesi:

Histopatolojik Değerlendirmeler:

Hematoksilen-eozin boyama preparatlarında inflamasyon skoru, sinoviyal hiperplazi, kıkırdak erozyonu ve kemik erozyonu olarak skorlanarak değerlendirildi. IHC boyama preparatlarında fokal ve diffüz boyanma olarak değerlendirilip toplam skoru hesaplandı.

İnflamasyon Skoru:

İnflamasyon skoru tedavi alan tüm gruplarda azalmıştı ($p<0.05$). İyileşme görülen bu gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 3).

Sinoviyal Hiperplazi:

Sinoviyal hiperplazi, artrit oluşturulup tedavi almayan Grup II'ye kıyasla Grup III hariç tüm gruplarda anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.05$). Fakat bu gruplar arasında fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 3).

Kıkırdak Erozyonu:

Kıkırdak erozyonu Grup II'ye kıyasla tedavi verilen tüm gruplarda anlamlı olarak daha az görüldü ($p<0.05$). Kıkırdak erozyonunda en fazla azalma diklofenak tedavisi alan gruptaydı. Fakat 50 mg/kg Sr klorid alan grupla arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Sr klorid dozu arttıkça kıkırdak erozyonunda azalmanın daha fazla olduğu görüldü. Sr klorid tedavi alan gruplar arasında sadece Grup IV ve V arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 3).

Kemik Erozyonu:

Kemik erozyonu tedavi alan tüm gruplarda anlamlı olarak daha az görüldü ($p<0.05$). Diklofenak grubundaki azalma diğer gruplara göre daha fazlaydı. Özellikle Sr klorid 50 mg/kg verilen grupta diklofenak grubuna benzer derecede iyileşme görüldü. Diğer Sr klorid tedavisi alan gruplar arasında iyileşmede farklılık görülmedi ($p>0.05$) (Tablo 3).

Kontrol grubu olan I. Grup ile diğer tüm gruplar arasındaki değerlendirilmede kontrol grubundaki skoru diğer tüm

gruplardan anlamlı derecede az olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Artrit grubu olan Grup II ile tedavi alan gruplar kıyaslandığında skor ortalamaları daha düşük olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 3).

TARTIŞMA

RA, eklemlerde inflamasyon ve bozulma ile karakterize olan aynı zamanda fonksiyonel kayba yol açan, yaşam kalitesini azaltan, morbidite ve mortaliteyi arttıran kronik bir otoimmün hastalıktır (19). TNF başta olmak üzere IL-1, IL-6, IL-8 ve GM-CSF RA patogeneğinde inflamatuvar süreçleri düzenleyen başlıca sitokinlerdir. RA patogeneğinde proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin aktivitelemler arasındaki dengesizliğin otoimmünite, kronik inflamasyon ve dolayısıyla eklem hasarını indüklediği bilinmektedir (4,5). RA tedavisinin temel amacı, inflamasyonu durdurmak, semptomları hafifletmek, eklem ve organ hasarını önlemek, fiziksel işlevi geliştirmek ve uzun vadeli komplikasyonları azaltmaktır. Mevcut tedavi modelleri, hastalığın erken evrelerinde yoğun bir şekilde tedavi edilmesini sağlar ve erken agresif tedaviye başlamak, remisyonu hedeflemek gibi, amaçlara ulaşmak için özel tedavi stratejileri izlenmesi önerilir (19).

Biz çalışmamızda RA tedavisinde kullanılabilecek yeni bir ajan olarak Sr'nin anti-inflamatuvar etkinliğini araştırdık. Sr'nin anti-inflamatuvar etkileri son zamanlarda tıp alanında ilgi çekici konulardan biri olmuştur. Aynı zamanda Sr'nin osteoartrit tedavisinde hastalık modifiye edici bir ilaç olarak kullanılmasıyla ilgili son yıllarda yapılmış birçok çalışma mevcuttur (13-15). Literatürde Sr'nin anti-inflamatuvar etkinliğinin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmalarda FCA kullanılarak deneysel artrit modeli ile yapılmış bir çalışma bulunmamıştır. Bizim çalışmamız bu açıdan değerlendirildiğinde yapılmış ilk çalışmadır. Farklı inflamatuvar süreçlerin oluşturulduğu birçok çalışmada Sr'nin anti-inflamatuvar etkinliği özellikle sitokin seviyeleri üzerinden araştırılmıştır.

Sr'nin bizim çalışmamızda olduğu gibi birçok çalışmada anti-inflamatuvar etkileri sitokinler üzerinden araştırılmıştır. Çalışmamızda sitokin değerleri ölçümleri tüm gruplarda anlamlı bulunamadı. Bunun sebebinin ise eklem sıvısına kıyasla bu sitokinlerin serum seviyelerinin başka birçok faktöre bağlı olarak da değişebilmesi veya çalışma prensibinde kaynaklanan hatalardan olduğu düşünülmektedir. Çalışmamıza benzer şekilde zymosan

kaynaklı artrit oluşturulup 300 mg/kg Sr ranelat verilen bir çalışmada 6. saatte eklemde ölçülen TNF- α ve IL-1 β seviyelerini azalttığı görülmüş. Sr'nin sinoviyal hücrelerde nükleer faktör kappa B (NF-kB) aktivasyonunu inhibe ederek etki edebileceğini öne sürmüşlerdir (10). Bu yolak üzerinden IL-1 β 'nin azaldığına dair yapılmış bir başka çalışmada da osteoartrit modelinde Sr'nin anti-inflamatuvar etkinliğini sinoviyumda ölçülen IL-1 β azalması ile olduğu belirtilmiştir (12).

Sr'nin anti-inflamatuvar etkinliğini göstermek için farklı dokularda yapılmış çalışmalar da mevcuttur. Uyarılmış monosit hücrelerine Sr ilavesi sonrası ölçülen TNF- α ve IL-6 seviyesini azalttığı ancak IL-1 β ve IL-18 seviyelerinde anlamlı değişiklik olmadığı görülmüştür (20). Yine ülseratif kolit modelinde Sr tedavisinin serum TNF- α seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir (21).

RA'da kırık ve kemik dokusunda hasar ve erozyon görülmektedir. Bizim çalışmamızda özellikle Sr klorid'in 50 mg/kg dozunda kemik ve kırık dokuda belirgin iyileşmeler görülmüştür. Liu ve ark. 2014 yılında ve Zhu ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmalarda titanyum ile oluşturulmuş osteoliz modelinde Sr'nin anti inflamatuvar etkilerini göstermişlerdir (11,22). Zhu ve ark. histolojik olarak yapılan değerlendirmede Sr'nin kırık kaybını azalttığı ve IHC olarak ölçülen TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve RANKL gen ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada Sr'nin RANKL üzerinden inflamatuvar kaynaklı kemik yıkımı üzerine etkili olduğu ifade edilmiştir (11). Rodrigues ve ark. 2018 yılında yaptığı bir çalışmada; ratlarda osteoartrit modelinde Sr ranelatın, sinoviyal sıvıdan alınan örneklerde IL-6, IFN gama ve TNF- α seviyelerindeki azalma ile eklem hasarını azalttığı görülmüştür (14). Yine Sr'nin kırık matris kalitesini iyileştirdiği Mierzwa ve ark. yaptığı çalışmada ifade edilmiştir (23).

Çalışmamızda eksiklikler olduğunu kabul ediyoruz. Bunlar; sitokin seviyelerinin sinoviyal sıvıdan alınan örneklerde ölçülememesi ve radyolojik değerlendirmelerin olmamasıdır.

Etik: Bu çalışmanın etik kurulu alınmıştır.

Ethics committee approval had been taken.

Yazar katkı durumu; Çalışmanın konsepti; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, dizaynı; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, Literatür taraması; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, verilerin toplanması ve işlenmesi; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, istatistik; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, yazım aşaması;

MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA

Author contribution status; The concept of the study; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, design; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, literature review; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, collecting and processing data; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, statistics; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA, writing phase; MAS, SCD, HG, ÖFG, ŞNY, MA

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

doi: *** ** ** ** ** ** **

KAYNAKLAR

1. Weissmann G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2006;64(1-2):12-15.
2. Ergin S. Romatoid Artrit. In: Beyazova, M; Gokce Kutsal Y (ed). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. 2. ed. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2011: 2199-2220.
3. Gravallese, EM; Monach P. Pathogenesis and pathology of rheumatoid arthritis. In: Hochberg MC, editor. Rheumatology (Hochberg). seventh ed. Elsevier Ltd; 2019:811-31.
4. Chen G. Immunotherapy of rheumatoid arthritis targeting inflammatory cytokines and autoreactive T cells. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2010;58(1):27-36.
5. Burska A, Boissinot M, Ponchel F. Cytokines as Biomarkers in Rheumatoid Arthritis. Mediators Inflamm. 2014;2014:1-24.
6. Burmester GR, Pope JE. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. Lancet. 2017;389(10086):2338-48.
7. Boehncke, A; Koennecker, G; Mangelsdorf, I; Wibbertmann A. Concise international chemical assessment document 6. IPCS Concise Int Chem Assess Doc. 1999;(6):1-37.
8. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(5):2816-22.
9. Rizzoli R, Chapurlat RD, Laroche JM, Krieg MA, Thomas T, Frieling I, et al. Effects of strontium ranelate and alendronate on bone microstructure in women with osteoporosis results of a 2-year study. Osteoporos Int. 2012;23(1):305-15.
10. de Melo Nunes R, Martins MR, da Silva Junior FS, de Melo Leite ACR, Girão VCC, de Queiroz Cunha F, et al. Strontium ranelate analgesia in arthritis models is associated to decreased cytokine release and opioid-dependent mechanisms. Inflamm Res. 2015;64(10):781-7.
11. Zhu S, Hu X, Tao Y, Ping Z, Wang L, Shi J, et al. Strontium inhibits titanium particle-induced osteoclast activation and chronic inflammation via suppression of NF-κB pathway. Sci Rep. 2016;6:1-11.
12. Pelletier JP, Kapoor M, Fahmi H, Lajeunesse D, Blesius A, Maïllet J, et al. Strontium ranelate reduces the progression of experimental dog osteoarthritis by inhibiting the expression of

key proteases in cartilage and of IL-1β in the synovium. Ann Rheum Dis. 2013;72(2):250-7.

13. Lafeber FPJG, van Laar JM. Strontium ranelate: ready for clinical use as disease-modifying osteoarthritis drug? Ann Rheum Dis. 2013;72(2):157-61.

14. Rodrigues TA, Freire AO, Bonfim BF, Cartágenes MSS, Garcia JBS. Strontium ranelate as a possible disease-modifying osteoarthritis drug: a systematic review. Brazilian J Med Biol Res. 2018;51(8):1-9.

15. Reginster JY, Beaudart C, Neuprez A, Bruyère O. Strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: New insights and emerging clinical evidence. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2013;5(5):268-76.

16. Kumar VL, Guruprasad B, Wahane VD. Atorvastatin exhibits anti-inflammatory and anti-oxidant properties in adjuvant-induced monoarthritis. Inflammopharmacology. 2010;18(6):303-8.

17. Talwar S, Nandakumar K, Nayak PG, Bansal P, Mudgal J, Mor V, et al. Anti-inflammatory activity of Terminalia paniculata bark extract against acute and chronic inflammation in rats. J Ethnopharmacol. 2011;134(2):323-8.

18. Trentham BYDE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen: An experimental model of arthritis. 1978;146:10-1.

19. Ferro F, Elefante E, Luciano N, Talarico R, Todoerti M, Elefante E, et al. Review One year in review 2017: novelties in the treatment of rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2017;35:721-34.

20. Buache E, Velard F, Bauden E, Guillaume C, Jallot E, Nedelec JM, et al. Effect of strontium-substituted biphasic calcium phosphate on inflammatory mediators production by human monocytes. Acta Biomater. 2012;8(8):3113-9.

21. Topal F, Yonem O, Tuzcu N, Tuzcu M, Ataseven H, Akyol M. Strontium chloride: Can it be a new treatment option for ulcerative colitis? Biomed Res Int. 2014;2014.

22. Liu X, Zhu S, Cui J, Shao H, Zhang W, Yang H, et al. Strontium ranelate inhibits titanium-particle-induced osteolysis by restraining inflammatory osteoclastogenesis in vivo. Acta Biomater. 2014;10(11):4912-8.

23. Mierzwa AGH, Campos JF, Jesus MF, Nader HB, Lazaretti-Castro M, Reginato RD. Different doses of strontium ranelate and mechanical vibration modulate distinct responses in the articular cartilage of ovariectomized rats. Osteoarthr Cartil. 2017;25(7):1179-88.