

ETÇİLLERDE KARŞILAŞILAN EKLEM HASTALIKLARINDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARININ ROLÜ VE SAĞALTIM SEÇENEKLERİ

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN CANINE JOINT DISEASES AND TREATMENT APPROACHES

Şahver Ege Hişmioğulları¹ Adnan Adil Hişmioğulları²

¹Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Farmakoloji Ve Toksikoloji Ana Bilim Dalı,
Balıkesir

²Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi
Biyokimya Ana Bilim Dalı, Balıkesir

Yazışma Adresi:

Şahver Ege Hişmioğulları
BAÜ, Veteriner Fak., Bigadiç yolu, 25.km.,
Çömlekçi mevki BALIKESİR - Türkiye

E posta: sahverege@yahoo.com

Kabul Tarihi: 19 Şubat 2014

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi
ISSN: 2146-9601
e-ISSN: 2147-2238

bsbd@balikesir.edu.tr
www.bau-sbdergisi.com

ÖZET

Eklem hastalıklarında karşılaşılan kırık ve kemik doku yıkımından sorumlu başlıca maddeler; kollajen ve proteoglikanı yıkmayan proteinazlardır. Proteolitik enzimlerin 4 ana sınıfı olan aspartik proteinazlar, sistein proteinazlar, serin proteinazlar ve metalloproteinazlar destek dokunun hem normal hareketinde, hem de patolojik yıkımında iş görürler. Bu proteinazlar, eklem içinde farklı hücreler tarafından hazırlanırlar. Her bir enzim, etkilerini durduran, özel protein benzeri inhibitörler tarafından inhibe edilebilir. Son araştırmalar, matriks metalloproteinazlarının eklem hastalıklarındaki birçok sürece karıştığına işaret etmektedirler. Eklem yangılarında (arthritis) kırık ve kemiğin yıkımından, eklemi normal bir şekilde işlev görmekten alıkoymaktadır. Birçok olayda, eklem yüzeyinin geniş bir bölümü ile birlikte, bu kısmın altındaki kemik de zarar görmüştür. Geleneksel tedaviler, bu hastalığın altında yatan süreçlere çok az etki ederler ve son zamanlarda, proteinaz inhibitörlerinin kullanımı, yeni bir terapötik yaklaşım olarak önerilmektedir. Proteinaz inhibitörleri, model sistemlerde, hastanın kırık yıkımını önleyebilir ve gelecekteki deneysel çalışmalar, bu maddelerin in vivo etkinliklerini ortaya koyabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Matriks metalloproteinazları, Arthritis, Proteinazlar

SUMMARY

Proteinases that degrade collagen and proteoglycan are mainly responsible for disintegration of cartilage and bone in joint diseases. Four major classes of proteolytic enzymes which aspartic proteinases, cysteine proteinases, serine proteinases and metalloproteinases perform in normal functioning of connective tissue as well as its pathological destruction. These proteinases prepared by different cells within the joint. Each enzyme may be inhibited by specific protein-like inhibitors which block its effect. The recent research indicate that matrix metalloproteinases involved in many processes in joint diseases. In joint inflammation (arthritis), the degradation of cartilage and bone prevented the joint from functioning in a normal way. In many cases, the large portion of articular surface with underneath bone damaged as well. Conventional therapies have little effect on the underlying processes of these diseases and recently, the use of protease inhibitors proposed as a novel therapeutic approach. In model systems, proteinase inhibitors could prevent cartilage damage in patients and future experimental studies may reveal in vivo activities of these substances.

Key words: Matrix metalloproteinases, Arthritis, Proteinases

GİRİŞ

Köpeklerde eklem yangılarının sınıflandırılması:

Geleneksel olarak eklem yangıları, dejeneratif artropatiler (travmatik arthritis, osteoarthritis ve hemofilik arthritis) ve yangısal artropatiler (enfektif, immun kökenli ve kristal uyarımlı) şeklinde geniş bir biçimde bölünürler. Bunlar arasında daima patolojik bir yakınlık olmasına rağmen arthritislerin tüm tipleri, yangısal ve dejeneratif değişikliklerin bir karışımını yansıtır (Tablo 1).

Arthritislerin sağaltımı için öncelikle ilgili anatomik, fizyolojik ve patolojik bilgiler bilinmelidir:

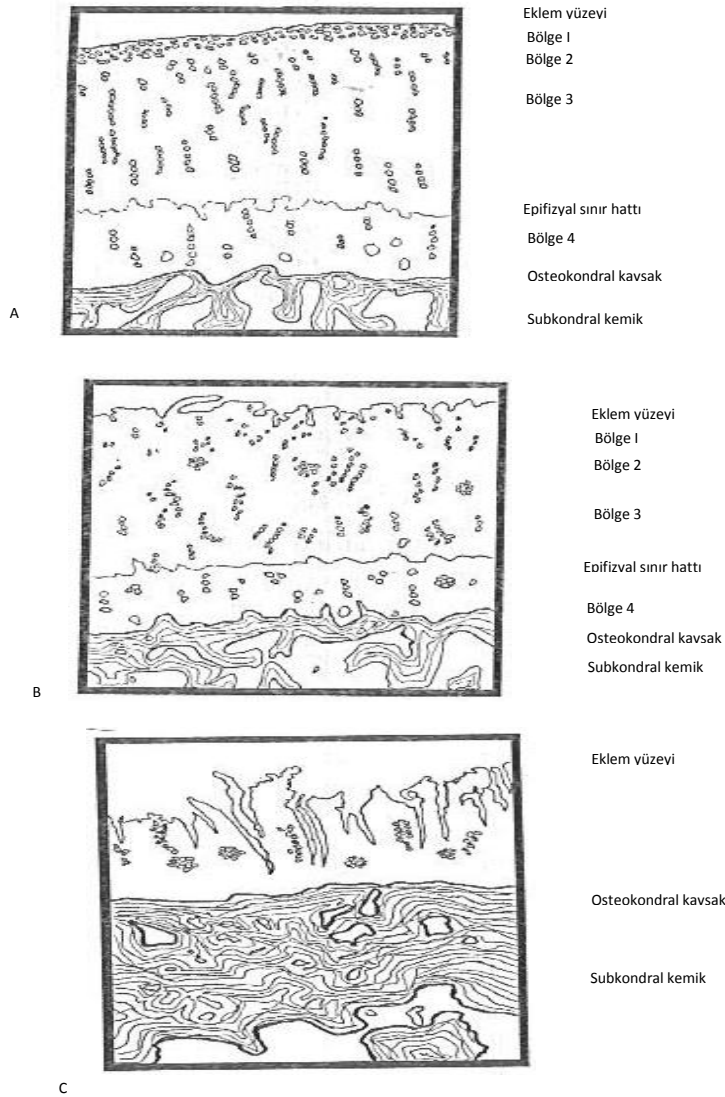
Normal kırık: Hiyalin kırık, uzun kemiklerin sonunda bulunan avasküler, anöral ve alenfatik bir dokudur. Pürüzsüz, esnek ve dayanıklı bir doku olarak, subkondral kemiğe iletilen basınçlı yükü hafifletir.

Kondrositler: Kırık, kondrositler ve ekstrasellüler matriksden oluşmuştur. Kondrositler, göreceli olarak daha az sayıdadır ve doku hacminin %5'inden daha azını oluştururlar. Kondrositler, metabolik olarak etkin hücrelerdir; ekstrasellüler matriksi ve onun yakın mikrosellüler çevresini üretmek ve sağlamak ile sorumludurlar.

Eklemler kıkırdak morfolojisi: Bunun tanımı, klasik olarak bu dokunun bölgesel modeline dayanır. Bölgesel model; kondrosit organizasyonu, kollajen lif uyumu ve proteoglikan dağılımına dayanır (Şekil 1A). Bölge 1, yüzeysel katmandır; belirli sayıda hücreler, az proteoglikan içeriği ve kollajen fibrillerinin eklem yüzeyine teğetsel uyumu ile karakterizedir. Bölge 2, matriks hacminin esas bölümünü içerir; daha hücrelidir ve proteoglikan içeriği, bölge 1'e göre daha yüksektir. Kollajen fibrilleri, vev (oblik) şekilde uyumludur.

Bölge 3, bölge 2 ile birlikte kıkırdak matriksinin ana kısmıdır. Kondrosit yoğunluğu ve proteoglikan içeriği daha da artmıştır ve hücreler dikey kolonlar halindedir. Kollajen fibrilleri, ışınal (radial) olarak sıralanmıştır. Bölge 4, kalsifiye olmuş kıkırdak katmanıdır ve üst limit olan epifizyal sınır hattı ile ayrılır. Bu bölge, radyal olarak yönelmiş kollajen fibrillerini ama az miktarda proteoglikan içerir. Kalsifiye kıkırdak katmanı, subkondral kemiğe bitişiktir ve sert bir hat ile osteokondral kavşaktan ayrılır. Bu karmaşık ara yüzey, kıkırdakın subkondral kemiğe yapışmasını sağlar^{14,22}.

Şekil 1. Normal eklem kıkırdığı ve osteoartrite özgü değişikliklerin kesiti. **A**, normal kıkırdak. **B**, hafif osteoartrit. Eklem yüzeyinin fibrilasyonu, yüzeysel kondrositlerin kaybı ve diğer kondrositlerin kümeleşmesi. **C**, şiddetli osteoartritte derin yarıklar (fissur) oluşumu ve kıkırdak matriksinin kaybı. Kondrositler, seyrek ve kümelidir. Subkondral kemik de kalınlaşmıştır¹⁴.



Eklem kapsülü ve sıvısı: Eklem kapsülü, 3 katmana ayrılabilir: Sinoviyal astar katmanı (sinoviyal intima veya sinoviyal membran olarak da tanımlanır); subsinoviyal (subintimal) katman ve fibröz eklem kapsülü. Bu bölgedeki terminoloji çeşitlidir ve sıklıkla eklem sıvısı; sinoviyal astar ve subsinoviyal katmanlar için kullanılır. Eklem kapsülü de fibröz eklem kapsülü için kullanılır. Bu katman, normalde oldukça incedir; sıklıkla 1-2 hücre katmanı kalınlığındadır. Bu katmanda, 2 çeşit sinoviyosit bulunmuştur: Makrofaj benzeri hücreler olan tip A sinoviyositleri, eklemde artık maddeleri uzaklaştırmada ve antijen sürecinde rolleri vardır. Fibroblast benzeri hücreler olan tip B sinoviyositleri, hiyaluronanın yapımından sorumludurlar. Tip B hücreleri, aynı zamanda yıkılayıcı enzimleri de üretebilirler. Her iki tip sinoviyosit de sitokinler ve diğer aracı maddeleri (mediyator) yapabilir. Astar katmanının işlevi, sinoviyal sıvıyı üretmek ve az sürtünmeli bir eklem yüzeyi sağlamaktır. Eklem kapsülünün ikinci katmanı, subsinoviyal katmandır. Sinoviyal astar katmanı ve fibröz eklem kapsülü arasında bulunur. Bu katmanda, fibroblastlar bulunmuştur ve stroma, yerleşim yerine bağlı olarak gevşek areolar destek doku veya daha fibröz bir doku şeklinde organize olabilir. Subsinoviyal katman vaskülerdir; serbest sinir uçları içerir ve sinoviyal membran ile fibröz eklem kapsülü arasında harekete izin verir. Eklem kapsülünün üçüncü katmanı, sert fibröz yapıdır ve eklemde fiziksel dayanıklılığına yardım eder. Ligamentler, sıklıkla fibröz kapsüle yapışmıştır ve kapsülün yükünü azaltmaya çalışırlar. Fibröz katman, vasküler ve iyi innerve olmuştur^{14,22}.

Eklem sıvısının işlevi: Normal şartlar altında sinoviyum, seçici bir şekilde, eklem boşluğuna proteinler gibi büyük moleküllerin girmesini önler. Plazmadaki gibi aynı oranlarda sinoviyal sıvı da elektrolitler ve küçük moleküller içerir (glukoz, laktat, oksijen gibi). Dolayısı ile sinoviyal sıvı, plazmanın diyalizati olarak düşünülebilir. Sinoviyal astar katmanı boyunca, sıvının normal giriş ve çıkışı vardır. Böylelikle sinoviyal sıvı, havuzunda, küçük moleküllerin yenilenmesine izin verir. Sinoviyal astar hücreleri arasındaki intersitisyel boşluk, küçük moleküllerin trans-sinoviyal değişimini kontrol etmede önemli bir role sahiptir. Prostaglandinler ve sitokinler gibi yangısal aracı maddelerin, sinoviyum veya kondrositlere bir zarar geldiğinde salınması, sinoviyal damarlaşmanın geçirgenliğinde bir artışa neden olur. Bu da sinoviyal sıvının protein içeriğini artırarak sinoviyal sıvı hacmini kontrol etmeye yardım eden normal onkotik dengeye zarar verir. Sinoviyal sıvının artan üretimi, sıklıkla zedelenme veya yangıya yanıt olarak oluşur^{14,22}.

Subkondral kemik: Kıkırdığın kalsifiye olmuş katmanı ile doğrudan ilişkide olan kalın bir kemik düzlemi,

subkondral bölgeyi oluşturur. Subkondral kemik ve eklem kıkırdığı matriksinde oluşan değişikliklerin aynı zamanda meydana geldiği düşünülmektedir. Subkondral kemiğin rolü veya kıkırdak matriksindeki değişim; esas başlangıç olayları olmakla birlikte, her bir eklemdeki nedenin doğasına bağlı ve çeşitlidir.

Kollajen: Kollajen fibrilleri, kıkırdak matriksi için yapısal bir destek yapar. Kollajen fibrilleri, protein monomerlerinden yapılmışlardır. Her bir monomer, üçlü sarmal (heliks) içinde düzenlenmiş üç polipeptid zincirinden (her bir polipeptid zinciri, α zinciri olarak tanımlanır) oluşmuştur. Kollajenin birçok tipi arasındaki farklılık, üçlü sarmal içindeki bu farklı α zincirlerinin çeşitli kombinasyonları ve modifikasyonlarından ileri gelir. Bu farklılıklarla birleşince bazı kollajenler fibriller oluştururken (tip I, II, III, V, XI) diğerleri oluşturmazlar. Kollajen tip II, eklem kıkırdığındaki en önemli kollajen şeklidir. Kollajen tip VI, IX, X ve V / XI de küçük miktarlarda normal kıkırdakta bulunurlar^{19,32}.

Proteoglikanlar: Ekstrasellüler matriks (ECM)'in kollajen olmayan çoğu kısmını oluştururlar ve yetişkin eklem kıkırdığının kuru ağırlığının %22-38'ini yaparlar. Bir proteoglikan monomeri, bir veya daha fazla tipte GAG zincirlerinin bağlandığı çekirdek proteininden yapılmıştır (Şekil 2C). Eklem kıkırdığının en yaygın GAG'ı; kondroitin sülfat, keratan sülfat ve dermatan sülfattır. GAG'lar, tekrarlanan disakkarid alt birimlerinden meydana gelen çeşitli uzunlukta zincirler oluştururlar. Tekrarlanan disakkarid alt birimlerinin örneğini kondroitin sülfat için N-asetil galaktozamin ve glukuronik asit (Şekil 2D) ve keratan sülfat için de N-asetil glukozamin ve galaktoz oluşturur. Çeşitli alt birimlerle karboksil ve sülfat gruplarının birleşmesi sonucu, GAG'lar negatif yüklüdürler. Bu negatif yük, GAG'ların çekirdek proteinine temas ettiğinde ayrı olarak kalmasını ve molekülün geniş bir alanı meşgul etmesini sağlar. GAG'ların polianyonik doğalarının kombinasyonu ve kıkırdak matriksindeki moleküllerin fazlalığı, hücre dışı sıvı ile karşılaştırıldığında, proteoglikanın hidrofilik özelliklerine yardım eden bir ozmotik farklılık ile karşılaşılır. Proteoglikan tarafından ECM'deki suyun uzaklaştırılması, normal eklemde kıkırdak işlevini tamamlayan bir yükselme basıncı ve sertlik yaratır (Şekil 2B). Hiyaluronan bir GAG'dır; sülfatlı olmamasına rağmen kondroitin ve keratan sülfat gibi çekirdek proteinine bağlanmaz. Hiyaluronan ECM'de bulunur ve burada proteoglikan monomerleri ile kovalent olmayan bir şekilde etkileştiği bir zincir oluşturur (Şekil 2C). Agrekan terimi, eklem kıkırdığında bulunan ve hiyaluronan ile kümelenen proteoglikan monomerine verilmiştir (Şekil 2). Agrekan, eklem kıkırdığının (kütle olarak) başlıca proteoglikanıdır^{19,32}.

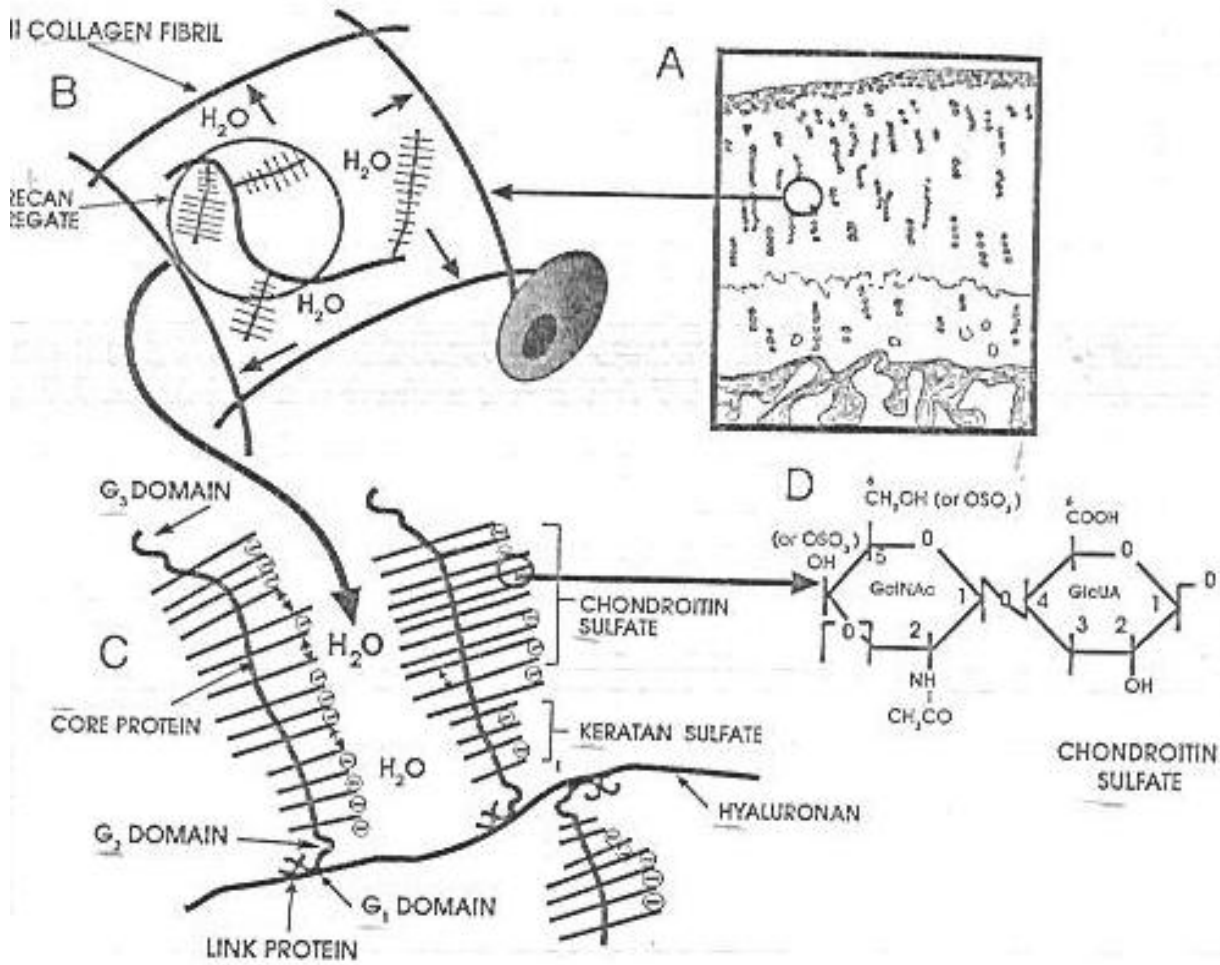
Kollajen ve proteoglikan etkileşmesi: Kıkırdağın bir bütün olarak işlev yapması için ECM'deki kollajen fibrillerinin uyumları önemlidir. Yüzeysel bölgenin teğetsel olarak uyumlu ve daha düşük protein içerikli fibrilleri; yüksek basınca dayanabilme, deformasyona dirençli olma ve eklem yüzeyine de yükü dağıtmaya yarar. Kollajen fibrillerinin ve proteoglikanın kombinasyonu, eklem kıkırdağının çeşitli kuvvetlere dayanabilmesi için gerekli olan lif takviyeli bir bileşim oluşturur (Şekil 2B).

Ekstrasellüler matriks (ECM): Esas olarak kollajen, proteoglikanlar ve sudan oluşur. Kollajen fibril uyumunun kombinasyonu, proteoglikanlar ve su beraberce bir matriks oluştururlar. Bu matriks de etkili bir şekilde, subkondral kemiğin üzerine gelen kuvveti dağıtır ve eklem hareketine izin veren, pürüzsüz, neredeyse hareketsiz bir yüzey oluşturur. Bu bileşenlerin normal dağılımına bir zarar geldiğinde, eklem kıkırdağının işlevi de değişerek tipik bir şekilde osteoartritisde görülen değişikliklere yol açar.

Şekil 2. Normal kıkırdağın bileşenleri: **A**, normal kıkırdağın diyagramı. **B**, kollajen fibrilleri, proteoglikanlar ve suyun, normal kıkırdaktaki etkileşimleri (kıkırdağa esneklik sağlamak üzere). **C**, agrekan bileşenleri. **D**, glikozaminoglikan (GAG) kondroitin sülfatın tekrarlayan disakkarit alt birimleri¹⁹.

GalNAc = N-asetil galaktozamin

GlcUA = Glukuronik asit



Proteinazlar ve matriks yıkımı

ECM alt yapılarını yıkımlayan proteolitik enzimler; ovulasyon, embriyo implantasyonu, morfogenez ve doku involüsyonu gibi birçok biyolojik süreçlerde kritik bir rol oynarlar. ECM'in yıkımlanması, hücre fenotip ve davranışa etki eder. Normal fizyolojik şartlarda, ECM alt yapılarının yıkımlanması kesin bir şekilde kontrol edilir ama bu süreçler aksadığında birçok patolojik durumlar ortaya çıkar. Eklem kıkırdağının yıkımlanması, eklem yangısının önemli özelliklerinden biridir. Bu durum da eklem işlevinin zarar görmesine ve zayıflamasına yol açar. Bu durum da büyük ölçüde, etkinlikleri artık daha fazla proteinaz inhibitörleri tarafından kontrol edilemeyen, proteinazların artan üretimine bağlıdır³¹.

ECM makro molekülleri, esas olarak, internal peptit bağlarını eriten endopeptidazlar tarafından yıkımlanır²⁹. Bu süreçlerde, ekzopeptidazların rollerine ilişkin az sayıda kanıt bulunmaktadır. Proteinazlar, katalitik mekanizmalarına giren işlevsel gruplar taban alınarak, 4 sınıfa bölünürler; (i) aspartik proteinazlar, (ii) sistein proteinazlar, (iii) serin proteinazlar ve (iv) metalloproteinazlar.

Matriks Metalloproteinazları (MMPs)

Matriks metalloproteinazları, çeşitli hücre tiplerinden salgılanan bir grup çinko endopeptidazlarıdır. Tümör hücre yayılımı ve metastazis süresince ve çeşitli destek doku hastalıklarında (arthritis, glomerulonefritis, periodontitis ve doku ülserasyonu gibi) merkezi bir rol oynadıkları kabul edilir. Bunun yanında normal doku yenilenmesi ve rezorbsiyonunda da rolleri vardır. Destek doku matriksinin fizyolojik ve patolojik katabolizmasının MMPs'ları ile ilgisi şu nedenlere bağlanabilir; (i) tüm MMPs'ları, hücrelerden salınır ve çoğu nötr pH civarında optimal etkinliğe sahiptirler; (ii) normal hücrelerde, MMPs'larının küçük oranlarda etkinlikleri saptanmıştır ama çoğu MMPs'ların sentezi, yangı mediyatörleri aracılığı ile yükseltilebilir (interlökin-1 veya tümör nekrozis faktör- α , bir çok geliştirme faktörü). Bu yükseltilmiş sentez; retinoik asit, glukokortikoidler, transforming geliştirme faktörü β , progesteron, interferon γ tarafından negatif olarak düzenlenebilir. Ayrıca, MMPs'larının etkinlikleri, ekstrasellüler olarak da kontrol edilir (zimogenlerin etkinleştirilmesi, substratlara bağlanması ve endojen inhibitörlerle inhibisyonu)^{30,34}.

Tablo 2. Matriks metalloproteinazlarının (MMPs) Özellikleri³

1. Katalitik etkinlikleri için gerekli olan Zn^{+2} iyonunu içerirler.
2. Propeptit içinde 'sistein düğme (switch)' desenini (RRCG[V / N] PPV) ve 3 histidin Zn ⁺² 'ye bağlandığı katalitik çinko bağlanma desenini (HEXGHXXGXXH) içerirler.
3. Yapısal dayanıklılık ve etkinlik için Ca^{+2} 'a ihtiyaç duyarlar.
4. Latent zimogenler olarak salınırlar.
5. Cıvalı bileşikler (Örneğin; 4-aminofenilmerkürük asetat [APMA], $HgCl_2$) ve proteinazlar tarafından etkinleştirilirler.
6. Metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMPs) tarafından inhibe edilirler.

a)Yapı ve substrat seçkinlikleri: Memelilerde, MMP ailesine ait, birçok ortak yapısal ve biyokimyasal özellikleri paylaşan 9 üye tanımlanmıştır. Bütün MMPs'ları, preproenzim olarak sentezlenirler ve hücrelerden proenzim olarak salgılanırlar. İntersitisyel kollajenin (MMP-1) homologudurlar ve üç karakteristik alandan oluşurlar: 77-87 amino asitli propeptit; 162-173 amino asitli katalitik alan ve 202-213 amino asitli, hemopeksin ve vitronektin ile dizin (sekans) benzerliği gösteren C-uç alanı.

Yapısal benzerlik ve substrat seçkinlikleri temel alınarak MMPs'ları, 4 alt gruba ayrılabilirler: İki kollajenaz (MMP-1 ve MMP-8); iki jelatinaz (MMP-2 ve MMP-9); iki stromelizin (MMP-3 ve MMP-10); matrilizin (MMP-7), stromelizin 3 (MMP-11) ve metalloelastaz (MMP-12)'i da içeren diğerleri (Tablo 3.).

Kollajenazlar; intersitisyel kollajenler I, II ve III'ün sarmal bölgesini sindiren tek memeli proteinazlarıdır. Kollajen IV ve V'i yıkımlamazlar. Ayrıca diğer matriks bileşenlerini de önemli miktarda yıkımlarlar. Bununla beraber, MMP-1'in en iyi substratı, α_2 -makro globulinin tuzağı (bait) bölgesidir. Bu makro globulin, çoğu endopeptidazlarla substratı taklit ederek etkileşen bir plazma proteinaz inhibitörüdür. C-uç alanı, her iki kollajenaz için de genel proteolitik etkinlik için değil ama kollajenolitik etkinliklerini gösterebilmeleri için gereklidir. MMP-8, sadece nötrofillerde bulunmuştur; ama MMP-1, makrofajların da içinde olduğu, çeşitli hücre tipleri tarafından sentezlenebilir.

İki jelatinaz, jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9); ayrıca sırası ile '72-kD jelatinaz / tip IV kollajenaz' ve '92-kD jelatinaz / tip IV kollajenaz' olarak da bilinirler. Jelatini ve önemli miktarda doğal kollajen IV ve V'i de kolaylıkla sindirebilir ve MMP-2; bir çok hücre tiplerinde ve tümör

hücrelerinde bulunmuştur. MMP-9; orijinal olarak nötrofillerde bulunmuştur ama makrofajlar, bir çok transforme olmuş hücreler ve bazı stimüle edilmiş destek doku hücreleri tarafından da sentezlenir.

Üç üye, stromelizinler olarak terimlendirilmiştir ama stromelizin 3 (MMP-11)'in enzimatik etkinliği daha gösterilememiştir. Daha da fazlası, stromelizin 1 ve 3 arasında %40 oranında benzerlik vardır. Bu oran, MMP-3 ve MMP-10 arasında %79'dur. Bu nedenle, stromelizin 3, Tablo 3'de 'diğerleri' arasındadır. Stromelizin 1 (MMP-3); proteoglikan, fibronektin, kollajen IV, IX ve X, laminin ve daha az miktarda da elastin üzerinde etkinliğe sahiptir. Ayrıca proMMP-1 ve proMMP-9'un etkinleştirilmesinde rol alan anahtar bir enzimdir. Stromelizin 2 (MMP-10);

MMP-3 gibi benzer spektrum etkinliğine sahiptir; ama bu etkinlik, MMP-3'dekinden daha zayıftır. MMP-3, uyarılmış destek doku hücrelerinden salınırken, MMP-10'u üreten hücre tiplerine ilişkin az şey bilinmektedir. Matrilizin (MMP-7); 'Pump' (putativ matriks metalloprotenazi) olarak da bilinir; post-partum involüsyona uğrayan rat uterusunda, mononükleer fagositler ve bazı tümör hücrelerinde bulunmuştur. MMP-7; proteoglikan, fibronektin, jelatin, kollajen IV, elastin ve entaktine karşı güçlü bir proteolitik etkinliğe sahiptir. Metalloelastaz (MMP-12); fare makrofaj cDNA'sından, son zamanlarda klonlanmıştır ve rekombinant enzim, E.coli'de gösterilmiştir ama elastinden başka substratları yıkımlama yeteneği karakterize edilmemiştir^{28,29,30}.

Tablo 3. Matriks metalloproteinazları (MMPs)³⁰

Enzimler	MMP No.	M _r (Rölatif moleküler ağırlık)		Matriks substratları
		Prekürsör	Etkin	
Kollajenazlar				
İntersitisel kollajenaz	MMP-1	52.000 56.000*	41.000 45.000*	Kollajenler I,II,III,VII,X,jelatinler,proteoglikan,entaktin
Nötrofil kollajenaz	MMP-8	75.000*	65.000*	Kollajenler I,II,II
Jelatinazlar				
Jelatinaz A	MMP-2	72.000	67.000	Jelatinler,kollajen IV,V,VII,XI,fibronektin,laminin,pro-teoglikanlar,elastin
Jelatinaz B	MMP-9	92.000*	82.000*	Jelatinler,kollajen-ler IV,V,proteoglikan,elastin,en-taktin
Stromelizinler				
Stromelizin 1	MMP-3	57.000 59.000*	45.000 28.000*	Proteoglikanlar,jelatinler,fibronektin,laminin,kollajen III,IV,IX,X,kollajen telopeptitleri
Stromelizin 2	MMP-10	57.000	45.000 28.000	Proteoglikan,kollajen IV,fibronektin,laminin
Diğerleri				
Matrilizin	MMP-7	28.000	19.000	Proteoglikan,fibronektin,jelatinler,kollajen IV,elastin,entaktin
Stromelizin 3	MMP-11	(55.000)		Bilinmiyor
Metalloelastaz (fare)	MMP-12	53.000	45.000 22.000	Elastin

* Glikozile olmuş

d) Jelatinazlar: MMP-2 ve MMP-9; jelatinazlar olarak tanımlanan bir alt gruba aittirler. Her iki enzim de jelatinleri kolaylıkla sindirirler. Ayrıca kollajen IV'ü, kollajen V'den daha zayıf olarak yıkmalar. Elastin, agrekan ve kıkırdak link proteini de, jelatinazlar tarafından çözülür. Jelatinazların katalitik etkinliği, peptit substratlarının uzunluğuna bağlıdır.

Hem MMP-2, hem de MMP-9; P₁ bölgesinde, küçük amino asitleri (örneğin, glisin ve alanin) ve P₁' bölgesinde de alifatik veya hidrofobik kalıntıları tolere ederler. MMP-2, çeşitli mezenseyal hücrelerin kültüründe sentezlenebilir. MMP-9 ise; nötrofil, makrofaj ve kanser hücrelerinde bulunur. Ayrıca fibroblast, kondrosit ve T-lenfositler tarafından uyarılabilir şartlar altında da üretilebilir¹⁴.

e) Plazma membranı tarafından proMMP-2'nin etkinleştirilmesi: Çoğu endopeptidazlar tarafından etkinleştirilmeye karşı proMMP-2 dirençlidir. Konkanavalin A, TPA (12-O-tetradekanoil forbol-13 asetat), TGF- β ile temasa getirilen normal veya neoplastik hücrelerin yüzeyinde veya kollajende kültürü yapılmış hücrelerde bir endojen etkinleştirici bulunmuştur. Son zamanlarda keşfedilen MT-MMP (membran tip MMP)'nin, proMMP-2'yi etkinleştirdiği gösterilmiştir. Strongin ve ark.³⁴ tarafından gösterilmiştir ki; MT-MMP, TIMP-2 reseptörünün hücre yüzeyi gibi hareket eder. Bu kompleks, birbiri ardınca proMMP-2'yi, proMMP-2'nin COOH-uç alanı ve TIMP-2 ile etkileşimleri aracılığı ile etkinleştirmeyi gerçekleştirir^{16,17}.

2) Endojen proteinaz inhibitörleri: Proteinaz etkinlikleri, kesinlikle endojen inhibitörler tarafından kontrol edilir. *In vivo* düzeyleri, sıklıkla, hedef proteinaz düzeylerinden yüksek olan fazla sayıda proteinaz inhibitörleri, doku, plazma ve vücut sıvılarında bulunmuştur. Örneğin; tüm plazma proteinlerinin yaklaşık %10'u plazma inhibitörüdürler. α_2 M hariç, inhibitörler sınıfa özeldir.

*** α_2 -makroglobulin:** Makrofajlar ve fibroblastlar tarafından karaciğerde sentezlenen bir plazma glikoproteinidir (725- kD). Dört benzer alt birimden oluşmuştur ve bunlar da disülfid bağları ile çiftler halinde bağlantılıdır; bu çiftler de kovalent olmayan bağlarla bir araya gelir. Bu inhibitör, seçkinliklerine bakmaksızın yaklaşık tüm endopeptidazlar için etkindir. α_2 M'in bağlanması ve alt birimin orta kısmına yakın bir yerde lokalize olmuş 'tuzak' bölgesi denilen lokusdaki enzimin proteolitik atağı ile proteinaz başlatılır. Bu durum, sonuçta enzimi kafesleyen α_2 M molekülünde yapısal (konformasyonel) bir değişime neden olur. Etkin olmayan proteinazlar, α_2 M'ni bağlamazlar. Kompleks içindeki enzimin etkin bölümü bloke edilmemiştir; ama büyük protein substratları ile olan reaksiyonlarla sınırlandırılmıştır. α_2 M-proteinaz kompleksleri;

makrofajlar, fibroblastlar ve diğer hücre tipleri tarafından hızla temizlenir. Ayrıca α_2 M; bazı geliştirme faktörleri ve sitokinler, trombosit-kökenli geliştirme faktörü (PDGF), temel fibroblast geliştirme faktörü (bFGF), transforming geliştirme faktörü- β (TGF- β), insülin ve interlökin-1 β (IL-1 β)'yi da bağlar^{4,14}.

3-) MMPs'larının doku inhibitörleri (TIMPs): TIMPs (Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases); MMPs'larını 1:1 oranında stoikiyometrik kompleks oluşturarak inhibe ederler. Üç TIMPs tanımlanmıştır ve birbirleriyle yaklaşık %40 oranında, 12 saklı sisteini de içeren dizin kimliğini paylaşırlar. TIMP-1, 184 amino asit kalıntısı içeren bir glikoproteindir (29-30 kD). N-uç alanı, MMPs'ları için inhibitör etkinlik içerir. TIMP-2, 194 amino asitli, glikozile olmamış bir proteindir (22 kD). TIMP-2'nin N-uç alanının çözelti yapısı, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi tarafından tanımlanmıştır. TIMP-3, insanlarda, 188 amino asitli bir proteindir (21 kD). Diğer iki TIMPs'larından kararlı bir şekilde ECM bileşenlerine bağlanması ile farklılık gösterir. Projelatinazlar ve TIMPs'ları arasındaki özel kompleksler (proMMP-2 / TIMP-2 ve proMMP-9 / TIMP-1), kültürü yapılmış hücrelerin ortamlarında bulunmuştur. Bu kompleksler, projelatinazın C-uç alanı arasındaki etkileşim sonucu oluşur. Dolayısı ile bu kompleksler, MMP inhibitörleri gibi etki gösterebilir. Kompleks oluşumu, emniyet sübabı gibi görev yapabilir. Çünkü bu projelatinazlar, özel ve ayrı TIMPs'larına bağlandıklarında, proMMP-9 etkinleştirilmesi baskılanır. MMP inhibe edici etkinliklerine ek olarak, TIMP-1 ve TIMP-2, hücre geliştirici ve eritroid-güçlendirici etkinliğe de sahiptirler^{4,14}.

4-) Proteinazlar ve proteinaz inhibitörleri arasındaki denge: Proteinazlar ve onların özel inhibitörleri arasındaki herhangi bir dengesizlik, ECM bileşenlerinin hızlı bir şekilde yıkılması ve birikmesi ile sonuçlanabilir. Plazma ve yerel dokulardan, endojen proteinaz inhibitörleri; fizyolojik koşullar altında, matris hareketinin kesin bir oranını sağlamak üzere, proteolitik etkinlikleri kontrol ederler. ProMMP etkinleştirilmesinin zincirleme şeklindeki mekanizmaları; ayrıca MMP etkinliklerinin, sadece enzimin tümü ile etkinleştirilmesinden sonra değil ama etkinleştirme basamakları boyunca da düzenlendiğini gösterir. Bu da, ECM proteolizisinin düzenlenmesinde iyi bir uyum olduğunun kanıtıdır. Proteinaz inhibitörlerinin düzeyleri, sadece çeşitli uyarılara cevap olarak gelişen, sentezlerindeki değişikliklerle değil; ayrıca etkisizleştirilmeleri veya düşüşleri ile de etkilenir. Yangı alanlarında artan proteolitik etkinlik, muhtemelen önemli inhibitörlere zarar vermektedir.

Projelatinaz-TIMP kompleksleri, diğer MMPs'larını inhibe edebilirler. Bu etki oluştuğunda projelatinazlar, etkinleştirme için uygun olurlar. Bu da, bir doku tipinden diğerine, baskın MMP etkinliğinin doğasını değiştirir. Belki de böyle bir zamanlama, matriksin fizyolojik olarak yeniden şekillenebilmesi için belirleyicidir^{4,14,30}.

5-) ProMMPs'larının zincirleme etkinleşmesinin olası biyolojik ilişkileri: ECM bileşenlerinin sentezi ve yıkımı arasındaki kesin denge, gelişim sırasındaki doku remodelingi ve organizasyonu süresince oluşmalıdır. ECM'lerinin katabolizması; göreceli olarak, özellikle de yaralanmaya cevap şeklinde, bir dizi zincir reaksiyonlar şeklinde süratle etkinleştirilen serin proteinazları dizisinin kan pıhtılaşmasındaki rolleri ile karşılaştırıldığı zaman, yavaş biyolojik olaylar olarak görülebilir. Eklem yangılı hastaların yangılanmış eklem lezyonlarında bile, kıkırdığın yıkılmanması uzun vadeli bir süreçtir. Bu durum, ECM'lerin yavaş katabolik süreçlerinde olduğu gibi, proMMPs'larının zincirleme etkinleşmesi ile kısmen açıklanabilir. Bu sistemde, etkinleşmeyi baskılamak üzere, kısmi olarak etkinleştirilmiş intermediyatörlerle etkileşime giren endojen inhibitörlere (TIMPs ve α_2 -makroglobulin) büyük bir şans verilir. Gerçekten de, MMP intermediyatörlerinin TIMP'lerle bağlanması; MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9 ile gösterilmiştir^{4,14,30}.

IV) Destek doku yıkımının inhibe edilmesinde yeni terapötik yaklaşımlar:

A) Tetrasiklinler: Tetrasiklin antibiyotikleri, Streptomyces türü küf mantarlarından elde edilen, geniş spektrumlu bakteriyostatik maddelerdir. Bu grupta bulunanların başlıcaları; tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin ve minosiklidir. Tetrasiklinler, veteriner hekimlikte, Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların (klamidy, mikoplazma, riketsiya, spiroketler ve bazı protozoa [Haemobartenella]) sağaltımında geniş bir şekilde kullanım alanı bulmuşlardır. Tetrasiklinler, esas itibarıyla bakteriyostatik olup yüksek derişimlerde bakterisid tipten etki de oluşturabilmektedir. Bakterideki protein sentezini inhibe ederek stoplazmik zar geçirgenliğini değiştirirler^{19,21,25}.

Tetrasiklinlerin, periodontitisle kombine kemik kaybını azaltma yeteneği de dahil olmak üzere, antimikrobiyel etkinliklerinin ötesinde bir etkinliğe de sahip olduklarına inanılmaktadır. Böylelikle hem romatoid artrit ve hem de osteoartritisde, potansiyel olarak, hastalık modifiye edici etki sağlarlar^{1,18,32}.

a) Farmakokinetik: Doksisisiklin ve minosiklin, diğer tetrasiklinlerden daha fazla yağda çözünebilir. Duodenumdan iyi absorbe olur ve çeşitli vücut dokularında iyi bir dağılıma sahiptir. Doksisisiklinin %95'ten fazlası, duodenumdan emilir. Oral olarak verilen doksisisiklin polifosfatın atılım yarı ömrü, yaklaşık 12

saattir. Diğer oral tetrasiklinlere benzemeyen bir şekilde doksisisiklin, ince bağırsaklardan dışkıyla etkin olmayan şekilde atılır. Yüksek derecede emilimi ve etkin olmayan şekilde atılımı yüzünden doksisisiklin, diğer tetrasiklinlerle karşılaştırıldığında, bağırsak bakterileri üzerinde de daha az olumsuz bir etkiye sahiptir^{1,19,21}.

b) Etki mekanizması: Osteoartrit eklemdeki biyokimyasal etkinliğinin, araziidonik asit zincirinin ürünleriyle sınırlı kalmadığı açıktır. Yıkılayıcı enzimler, esas olarak da metalloproteinazlar, kıkırdak matriksi yıkımında önemli role sahiptirler. Kıkırdak yıkılmanma ürünlerinin osteoartritisde (OA), sinoviyal cevabı şiddetlendirdiği ve bunun da; eikosanoidler, sitokinler ve diğer yangısal araçların salınımı sonucu yangısal yanıtla birleştiği düşünülmektedir. İnterlökin-1 ve tümör nekrozis faktör de dahil olmak üzere, sitokinler; metalloproteinazların daha da artan oranlarda salınımını uyarırlar. Dolayısı ile yıkılmanma ve yangı çevrimini şiddetlendirerek devam ettirirler. Muhtemelen birkaç istisna dışında, steroid olmayan yangı giderici ilaçlar (NSAIDs, Non-Steroidal Anti-Inflammatuvar İlaçlar), metalloproteinaz etkinliğini doğrudan etkilemezler^{20,26,27}. MMPs'ları, normalde, doğal olarak oluşan TIMPs'ları tarafından kontrol edilirler. OA'de, MMP etkinliği ve TIMPs üretimi arasında bir dengesizlik oluşur ve bu da eklemde artan bir katabolizmaya neden olur. Metalloproteinaz etkinliğinin inhibe edilmesinin, OA süresince, kıkırdak yıkılmanmasını azalttığı düşünülmektedir. Tetrasiklinler, özellikle de doksisisiklin ve minosiklin, metalloproteinazların etkinliğini inhibe etme özelliğine sahiptirler (kollajenaz ve jelatinaz, *in vitro*)^{5,8,12}. Tetrasiklinlerin, metalloproteinaz etkinliğini inhibe etme mekanizması, kesin olmamakla beraber; metalloproteinaz etkinliği için gerekli olan divalent katyonların şelasyonu yolu ile olduğuna ilişkin bilgiler vardır¹¹. Etkinin diğer muhtemel mekanizmaları; fosfolipaz A₂'nin inhibisyonu, süperoksit radikallerinin tüketilmesi, sitokin üretimine karışma, immun yanıtı değiştirme ve nitrik oksit üretiminin modülasyonu şeklindedir. Vallee ve Auld³⁶ da inhibisyonun, tetrasiklinlerin divalent iyonlara bağlanma yeteneği (Ca⁺² gibi) ve katalitik çinko ile karşılıklı etkileşimi ile ilişkili olduğunu önermektedirler. Her iki mekanizma da kollajenaz ve jelatinaz etkinlikleri için önemlidir. Gabler ve Creamer⁷ da, tetrasiklinlerin; migrasyon, degranülasyon ve oksijen radikallerinin sentezi gibi hücrel süreçlerle karşılıklı etkileşime girebildiğini belirtmişlerdir (Tablo 4).

Tablo 4. Tetrasiklinlerin Etkileri¹⁵

1. Geniş spektrumlu antibiyotikler
2. Metalloproteinazların inhibisyonu
3. Kemik rezorbsiyonunun inhibisyonu
4. Fosfolipaz A ₂ 'nin inhibisyonu
5. Prostaglandin sentezinin inhibisyonu
6. Kemotaksisin modifikasyonu
7. Süperoksit radikallerinin tüketilmesi

Memeli MMP'si, doza bağlı olarak hem *in vivo*, hem de *in vitro*, tetrasiklinler özellikle de minosiklin ve doksisisiklin tarafından, antimikrobiyel etkinliklerinden bağımsız olarak inhibe edilebilir^{9,11}. Tetrasiklinler, aşırı miktarda destek doku yıkımını ve kemik rezorbsiyonunu geciktirirler¹³. Bir romatoloji uzmanı için, tetrasiklinlerin; sinoviyum, kondrositler ve osteoblastlardaki MMP'yi inhibe ettiğini bilmek öncelikle önemlidir. Doksisisiklinin inhibitör etkinliği, kalsiyum ve çinkonun eklenmesi ile kısmen tersine çevrilebilir³⁹. İnhibe edici bu süreç, derişime bağımlıdır. Minosiklin ve doksisisiklinin her ikisi de, pankreatik ve pankreatik olmayan fosfolipaz A₂'yi inhibe ederler.

Destek doku metabolizmasında, tetrasiklinlerin etkisinin anlaşılmasına en önemli yardım, periodontal hastalıklar üzerine yapılan çalışmalardan ileri gelir. Tetrasiklinler, özellikle de minosiklin; diyabetik ratların gingivasında ve ergin periodontitisli hastaların fissur (crevice) sınırlarında kollajenaz etkinliğini inhibe eder^{9,10,11}. Tetrasiklinler, fibroblast proliferasyonunu ve diş yüzeyine periodontal dokunun rejenerasyonunu yükselterek geliştirirler.

Antibiyotik ve anti-enzimatik özelliklerine ek olarak tetrasiklinlerin, polimorfonükleer lökositlerin (PMNs) bazı immunolojik işlevlerine de etki ettiği belirlenmiştir^{23,35}. Tetrasiklinler, non-bakteriyel yangılı reaksiyonları, muhtemelen antioksidan etkinlikleri ile ilişkili olarak inhibe ederler^{36,38}.

c) İstenilen etkinin kanıtı ve güvenlik: Doksisisiklinin, yaklaşık 1.75 mg / kg'lık profilaktik sağaltımı (günde iki defa, 8 hafta süre ile), ön çapraz ligamenti transekte edilen hastalarda, mediyal femoral kondilusların alanında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kıkırdak ülserasyonunda düşüşe neden olmuştur. Doksisisiklinin kıkırdak ülserasyonunu karşı korumasına rağmen; sinoviyal kalınlaşma, femurun mediyal trochlear kenarının ülserasyonu veya osteofit üretiminde, sağıtılan ve sağıtılmayan köpekler arasında fark görülemedi. Sağıtılan köpeklerin, doksisisikline iyi dayanabildiği görülmüştür. Herhangi bir kusma ya da ishal olayına rastlanmamıştır. Kıkırdak ekstraktlarındaki kollajenaz ve jelatinaz etkinliği, sağıtılan köpeklerle karşılaştırıldığında önemli derecede düşmüştür. Aynı köpeklerden elde

edilen normal kıkırdakta ise, doksisisiklin veriliminin, proteoglikan sentezi üzerinde az veya çok küçük bir etkisi olduğu görülmüştür²⁵.

B) Kimyasal olarak değiştirilmiş tetrasiklinler: Birçok tetrasiklin analogu, yan zincir uzaklaştırılması veya bazı durumlarda, ana tetrasiklin molekülüne bazı moleküllerin eklenmeleri suretiyle sentezlenebilir. Son zamanlarda, beş farklı tetrasiklin türevi, memeli kollajenaz etkinliğini ve kemik rezorbsiyonunu inhibe etme yetenekleri yönünden incelenmiştir. Yapıları Şekil 5'te gösterilmiştir.

Tetrasiklinler, asetat gruplarının glutamik asit ile birleştirilmesiyle şekillenen 4 halkalı hidroksinaftin çekirdeği ve buna bağlı karboksamid (rolitetrasiklin hariç) içerirler²¹. Tetrasiklin molekülündeki 'A' halkasının karbon-4 pozisyonundan dimetilamino grubunun uzaklaştırılması esasına dayanan değişiklikle elde edilen türevde (CMT-1, Şekil 5) ilacın antimikrobiyel etkinliğini kaybolmakla beraber, çeşitli kaynaklardan gelen (PMNs, gingiva, osteoblastlar, sinoviyal doku, akciğer kanser hücreleri) kollajenaz etkinliğini bloke etme veya organ kültüründe kemik rezorbsiyonunu inhibe etme yeteneğini azaltmamıştır. Daha önce de tanımlandığı üzere, ticari tetrasiklinler (minosiklin ve doksisisiklin) ve CMT-1; polimorf nötrofil kollajenaz etkinliğini inhibe ederler (Tablo 5). Ayrıca; CMT-2, CMT-3 ve CMT-4'ün, kollajenazın 20 mM'lık final derişimine eklenmesi de, yine kollajenazın etkinliğini engellemiştir (Tablo 5).

Şekil 5'de gösterildiği üzere, CMT-2 veya tetrasiklinonitril; tetrasiklin molekülünün karbon-2'sindeki karboksamid kalıntısının dehidrasyonu sonucu üretilmiştir. CMT-3 (6-deoksi 6-demetil 4-de-dimetilaminotetrasiklin); CMT-1'deki karbon-6'dan, hidroksil ve metil gruplarının ve CMT-4'de (7-kloro 4-de-dimetil-aminotetrasiklin); klortetrasiklinin karbon-4'ünden dimetilamino grubunun uzaklaştırılması ile elde edilmişlerdir. Deneysel çalışma sonuçlarına göre; karbon-2'deki karboksamid kalıntısı ve karbon-6'daki metil ve hidroksil grupları (Şekil 5.), karbon-4'deki dimetilamino grubu gibi, tetrasiklin molekülünün antikollajenaz etkinliği için gerekli değildirler. Karbon-11'deki karbonil oksijen ve karbon-12'deki hidroksil grubu uzaklaştırıldığında, tetrasiklin pirazol türevine veya CMT-5'e çevrilir ve molekülün kollajenaz inhibitörü etkinliği kaybolur (Tablo 5). Bu da gösteriyor ki; yan zincirler, ilacın esas metal iyonu bağlayan bölümüdür; antikollajenaz etkinlik bölümünün tamamlayıcısıdır.

Tablo 5. Farklı tetrasiklinlerin ve kimyasal olarak değiştirilmiş tetrasiklin türevlerinin (CMTs), insan kökenli polimorf nötrofil (PMNs) kollajenaz etkinliği üzerine *in vitro* etkileri²¹.

Eklenen inhibitör veya tetrasiklin	Derişimleri	Kollajenaz etkinliğinin inhibisyonu
Kontrol	-	0
EDTA	25 mM	100
1,10-fenantrolin	1 mM	100
TIMP	0.5 mM	100
Eriyokrom siyahı T	40 mM	98
E-64	100 mM	7
Minosiklin	20 mM	73
Doksisiklin	20 mM	78
CMT-1	20 mM	74
CMT-2	20 mM	100
CMT-3	20 mM	77
CMT-4	20 mM	71
CMT-5	20 mM	16

C) Steroid olmayan anti-inflammatuvar ilaçların (NSAID) ve kortikosteroidlerin köpeklerdeki eklem yangılarında kullanımı: Veteriner hekimlikte kullanılması için etkinliği kanıtlanmış olan NSAIDs'ler; fenilbutazon, meklofenamik asit ve karprofen'dir. Aspirin, osteoartritisin (OA) ve diğer yangısal koşulların sağaltımında genişçe kullanılmıştır. OA'ın sağaltımı için kullanılan diğer NSAIDs'ler arasında asetaminofen, piroksikam, naproksen, ibuprofen, ketoprofen, meloksikam ve etodolak bulunur^{20,26,27}.

1-) Fenilbutazon: Köpeklerde kullanımı onaylanmasına rağmen, bu türde fenilbutazonun kullanımına ilişkin, çok az bir klinik bilgi mevcuttur. Fenilbutazon, öncelikle insan hekimliğinde kullanılmaya başlanmıştır. Çok etkili bir NSAID olduğu bilinmekle beraber köpeklerde kan diskrazilerine sebep olduğundan kullanımına son verildi. Köpeklerde, insanlara göre daha az zehirlidir. Bu durum, daha çok fenilbutazonun kısa yarı ömrüne bağlanmaktadır. Greyhoundlar'da ve karışık ırklarda, biyolojik yarı ömrü yaklaşık 6-7 saattir (insanlarda 72 saat). Köpeklerde, insanlardan daha az zehirli olmasına rağmen; köpek ve kedilerde kan diskrazisi, gastrointestinal bozukluk, hepatitis ve nefropati ile birlikte seyredebilir. Köpekler için önerilen doz, belirgin bir şekilde değişkendir. Üretici firma tarafından önerilen doz; günde 3 defa 33 mg / kg'dır. Fenilbutazonun günde iki kez, oral yol ile, 8-16 mg /kg'lık dozunun OA'nın semptomlarını hafiflettiği bildirilmiştir.

2-) Meklofenamik asit: Tavsiye edilen doz, günde 2-3 defa, oral yol ile 1.1 mg / kg'dır (7-10 gün süre ile). Bunu takiben günde 0.5 mg / kg'lık idame doz şeklinde

sürdürülebilir. İnsanlarda, göreceli olarak yüksek bir gastrointestinal zehirlenme sıklığı ile birleşmiştir.

3-) Karprofen: Karbazol sınıfı, propiyonik asit türevi, steroid olmayan bir yangı giderici, ağrı kesici ve ateş düşürücü etkilere sahiptir. Etki mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, prostaglandin sentezinin inhibisyonunda rol oynar. Karprofen, siklooksijenazın dönüşümlü inhibitörü ve fosfolipaz A₂'nin oldukça güçlü bir inhibitörüdür. Ayrıca karprofenin, humoral ve hücrel cevaplar üzerine modölatör etkileri olduğu gösterilmiş ama trombosit veya kanama zamanı üzerinde çok az etkili veya etkisizdir. Köpeklerde oral verilimden sonra, karprofenin %90'ı emilir. Karprofenin %99'dan fazlası, plazma proteinlerine bağlanır ve bunun bir sonucu olarak, küçük bir dağılım hacmine sahiptir. Köpeklerde, öncelikle karaciğerdeki biyotransformasyon ile elimine edilir ve bunu takiben de, metabolitleri başlıca dışkı (%70-80) ve idrar (%10-20) ile atılır. Bazı metabolitleri enterohepatik dolaşıma da karışır. Tavsiye edilen oral doz, her 12 saatte bir 2.2 mg / kg'dır.

Karprofenin kıkırdak üzerine olan etkileri araştırılmaktadır. Şimdiye kadar, herhangi bir kontrendikasyonuna rastlanmamıştır⁶. Benton ve ark.⁴; karprofenin etkisini, sülfate edilmiş GAG metabolizması, protein sentezi ve prostaglandin salınımı üzerinde, kültürü yapılmış osteoartritli köpek kondrositlerinde incelemişlerdir. Sonuç olarak, karprofenin yüksek konsantrasyonlarının (20 µg / ml'nin üzeri), kondrosit işlevini baskıladığı görülmüştür. Karprofen derişiminin 1-10 µg / ml arasında olmasının ise, kıkırdak matriks bütünlüğünün korunmasında ve kıkırdak proteoglikan yıkımına herhangi bir dolaysız etkisi olmadan, seçici bir şekilde, yeni kıkırdak GAG sentezini uyararak potansiyel yararlı bir etki sağladığı görülmüştür.^{24,37}

4-) Aspirin (asetil salisilik asit): Küçük hayvanlarda kullanımı önerilmemekle beraber; her zaman bulunabilmesi, ucuz olması ve etkili olması sebebiyle OA'ın sağaltımında en fazla kullanılan ilaçtır. İnsanlarda somatik ağrı ile birleşmiş analjezi sağlama ve yangıyı azaltmada etkilidir ve benzer faydalar, hayvanlar için de elde edilmiştir. Aspirinin tavsiye edilen dozu, günde 2-3 kez, 10-25 mg / kg'dır (oral yol ile). Bu durum, sağlanan serum salisilat düzeylerine dayanır.

5-) Etodolak: Güçlü analjezik etkinliğe sahip, piranokarboksilik asit grubundan bir NSAID'dir. Makrofajlarda PGE₂ ama kondrosit ve sinoviyositlerdeki PGE₂ sentezini daha etkili bir şekilde inhibe eder. Serum doruk konsantrasyonu, oral verilimi takiben 30-60 dakika arasında oluşur ve eliminasyon yarı-ömrü 10-14 saattir. Her 24 saatte bir, 10-15 mg / kg'lık dozları; kronik OA'den kalça displazisine kadar, lezyonların iyileştirilmelerinde etkilidir. Köpeklerdeki toksisite çalışmaları, etodolak'ın

gastrik ülserasyon için düşük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

6-) İbuprofen (arilpropiyonik asit): Göreceli olarak sindirim sistemine yönelik düşük zehirliliğine karşın etkili bir yangı ve ağrı giderici bir maddedir. Fakat köpeklerdeki kullanımı, pek fazla güvenli değildir. İnsanlarda terapötik düzeyi sağlayan plazma konsantrasyonları, köpeklerde kusmaya neden olur. Günlük olarak, 5 mg / kg'lık dozun bölünerek verilmesi önerilir; ama her gün 8 mg / kg dozda verildiğinde 30.günde gastrointestinal ülserasyona neden olduğu bildirilmiştir. Dar güvenlik aralığı ile ibuprofenin köpeklerdeki kullanımını değerlendirmek zordur.

7-) Ketoprofen: Avrupa ve Kanada'da, köpek ve kediler için kullanımına izin edilmiş olan, diğer bir arilpropiyonik asit türevidir. Eliminasyon yarı ömrü, 2-3 saattir. Dejeneratif eklem hastalığını sağıtmak için önerilen dozu, her 24 saatte bir, oral yol ile 1 mg / kg'dır. Bazen kusma olayı görülebilir.

8-) Naproksen: İnsan ve köpeklerde, NSAID metabolizması arasındaki farklılığın klasik örneğidir. Eliminasyon yarı ömrü; köpeklerde yaklaşık 72 saat, insanlarda ise 14 saattir. Bu uzunluk, köpeklerdeki enterohepatik dolanım girmesinden ileri gelir. Kullanımı gerekli görüldüğünde, köpeklerde tavsiye edilen doz; günlük olarak 1.2-2.8 mg / kg'dır. Köpeklerde kullanılırken, dar güvenlik eşiği ve yüksek dozlarında sindirim sistemi bozukluklarına sebep olduğundan dikkatli olunması gerekir.

9-) Piroksikam: NSAIDs'ların okzikam ailesine aittir. Ayrıca köpeklerde, transisyonal hücre neoplazisini sağıtmak üzere, antineoplastik madde olarak kullanılır. Klinik cevap ve uzun eliminasyon yarı ömrü temel alınarak, günde bir veya gün aşırı olarak 0.3 mg / kg dozunda kullanılması önerilmiştir.

10-) Meloksikam: Prostaglandin sentezinin güçlü inhibitörü ve ateş düşürücü, ağrı kesici özelliklere sahip, okzikam türevi bir NSAID'dır. Düşük gastrointestinal ve renal toksititeye paralel, potent yangı giderici etkinliklere sahiptir.

11-) Asetaminofen: Veteriner hekimlikte asetaminofen, ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak yeterli kullanım alanı bulamamıştır. Bu durum, asetaminofeni metabolize edemeyen kedilerde, verilmesini takiben oluşan toksitite ile ilişkilidir. Köpeklerde tavsiye edilen doz, her 8 saatte bir 15 mg / kg'dır.

12-) NSAID / narkotik analjezik kombinasyonları: Asetaminofen ve kodein; en sık olarak kullanılan kombinasyon seçeneğidir (300 mg asetaminofen ve 60 mg kodein). Kodein oranı temel alınarak, tavsiye edilen köpek dozu, 1-2 mg / kg'dır.

13-) Kortikosteroidler: Fosfolipaz A₂'nin etkinliğini inhibe ederek, membran fosfolipidlerinden arasıdonik asit üretimini düşürürler. Bu da, eikosanoid üretimini veya hem siklooksijenaz ve hem de lipoksijenaz kaynaklarından gelen ürünlerin üretimini düşürdüğünden, kortikosteroidler, güçlü yangı önleyici etkinliğe sahiptirler. OA'de kullanımları tartışmalıdır. Yüksek dozlarda veya sık kullanıldıklarında; kollajen ve proteoglikan sentezini, matriks proteoglikan içeriğini ve eklemdeki katabolik etkinliği de düşürürler. Azalan katabolizma, yine düşürülen matriks metalloproteinaz etkinliği yolu ile veya sitokinlerin inhibisyonu ve onların da metalloproteinaz sentezini uyarması suretiyle de oluşur. Kortikosteroidler, sinoviyal yangıyı azaltmada etkilidirler. OA'in, köpek ön çapraz ligament transeksiyonu modelinde; prednizon, 0.25 mg / kg'lık günlük dozda (oral yol ile) dejeneratif değişiklikleri önlerken ve normal ekleme de zarar vermemiştir. Sistemik yan etkilerinden dolayı, uzun süreli oral uygulamalardan kaçınılmalıdır. Kondrositlere verilebilecek zarardan kaçınmak için intra-artiküler enjeksiyonları seyrek olarak kullanılır²⁰.

KAYNAKLAR

1. Arsenis C, Moak SA, Greenwald RA. Tetracyclines inhibit the synthesis and / or activity of cartilage proteinases *in vivo* and *in vitro*. *Matrix-Suppl.*, 1992; 1: 314.
2. Benton HP. Effect of carprofen on sulfated glycosaminoglycan metabolism, protein synthesis and prostaglandin release by cultured osteoarthritic canine condrocytes. *AJVR*, 1997; 58 (3): 286-292.
3. Birkedal-Hansen H, Moore WGI, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA. Matrix metalloproteinases: A review. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 1993; 4 (2): 197-250.
4. Cawstone TE. Proteinases and inhibitors. *British Med. Bull.*, 1995; 51 (2): 385-401.
5. Fife RS, Sledge GWJr. Effects of doxycycline on *in vitro* growth, migration and gelatinase activity of breast carcinoma cells. *J.Lab.Clin.Med.*, 1995; 125 (3): 407-411.
6. Fox SM. Use of carprofen for the treatment of pain and inflammation in dogs. *JAVMA*, 1997; 210 (10): 1493-1498.
7. Gabler WL, Creamer HR. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J.Periodon.Res.*, 1991, 26: 52-58.
8. Gilbertson-Beadling S, Powers EA, Stamp-Cole M. et al. The tetracycline analogs minocycline and doxycycline inhibit angiogenesis *in vitro* by a non-metalloproteinase-dependent mechanism. *Cancer Chemother.Pharmacol.*, 1995; 36: 418-424.
9. Golub LM, Lee HM, Lehrer G, Ramamurthy NS, McNamara TF. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes: Preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J.Periodont.Res.*, 1983; 18: 516-524.
10. Golub LM, Wolff M, Lee HM. et al. Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. *J.Periodont.Res.*, 1985, 20: 12-23.
11. Golub LM, Ramamurthy NS, McNamara TF. et al. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown: New therapeutic implications for an old family drugs. *Crit.Rev.Oral Med.Pathol.*, 1991, 2: 297-322.
12. Golub LM, Sorsa T, Lee HM. et al. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J.Clin.Periodont.*, 1995; 22: 100-109.
13. Gomes BC, Golub LM, Ramamurthy NS. Tetracyclines inhibit parathyroid hormone induced bone resorption in organ culture. *Experientia*, 1985; 40: 1273-1275.
14. Gordon JL, Drummond AH, Galloway, WA. Metalloproteinase inhibitors as therapeutics. *Clin.Exp.Rheum.*, 1993; 11, (Suppl.): S91-S94.
15. Greenwald RA, Goub LN. Tetracyclines in arthritis. *J.Rheum.*, 1993; 20 (11): 1990.
16. Hewitt RE, Corcoran ML, Stetler-Stevenson WG. The activation, expression and function of gelatinase A (MMP-2). *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 1996; 8 (39): 23-36.
17. Hirose T, Reife RA, Smith GN, Stevens RM, Mainardi CL, Hasty KA. Characterization of type IV collagenase (gelatinase) in synovial fluid patients with inflammatory arthritis. *J.Rheum.*, 1992; 19: 593-599.
18. Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, et al. Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival crevicular fluid in different periodontal diseases. *J.Periodont.*, 1993; 64 (2): 82-88.
19. Johnston SA. Osteoarthritis: Joint anatomy, physiology and pathobiology. *Vet.Clin.North America: Small An. Practice*, 1997; 27 (4): 699-723.
20. Johnston SA, Budsberg SC. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. *Vet.Clin.North America: Small An. Practice*, 1997; 27 (4): 841-861.
21. Kaya, S. (1997) Tetrasiklinler. 349-356. *Alındı: Kaya, S. ve ark. (Es): Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Cilt: 2, Medisan Yayınevi, Ankara.*
22. Lauhio A, Sorsa T, Lindy O, et al. The anticollagenolytic potential of lymecyclin in the long-term treatment of reactive arthritis. *Arthritis and Rheum.*, 1992; 35 (2): 195-198.
23. Martin RR, Warr GA, Couch RB, et al. Effects of tetracycline on leukotaxis. *J.Infect.Dis.*, 1974; 129: 110-116.
24. McKellar QA, Dekatour P, Lees P. Stereospecific pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen in the dog. *J.Vet.Pharma.Therap.*, 1994; 17: 447-454.
25. McNamara PS, Johnston SA. Slow acting, disease-modifying osteoarthritis agents. *Vet.Clin.North America: Small An. Practice*, 1997; 27 (4): 863-881.
26. Mathews KA. Nonsteroidal anti-inflammatory analgesics in pain management in dogs and cats. *Can.Vet.J.*, 1996; 37: 539-545.
27. Mathews KA. Therapeutics in practice: Nonsteroidal anti-inflammatory analgesics to manage acute pain in dogs and cats. *The Compendium*, 1996; small animal 1117-small animal 1123.
28. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinases. *BioEssays*, 1992; 14 (7): 455-463.
29. Nagase H, Barrett AJ, Woessner JF. Nomenclature and glossary of the matrix metalloproteinases. *Matrix,Suppl.*, 1992; 1: 421-424.
30. Nagase H. Matrix metalloproteinases (A mini review). *Extracellular Matrix in the Kidney. Contrib. Nephrol.*, 1994; 107: 85-93.
31. Nagase H, Okada Y. (1997) Proteinases and matrix degradation. *In: Textbook of Rheumatology*, fifth ed. Kelley, W.N., Harris, E.D., Ruddy, S. and Sledge, C.B. W.B. Saunders Company. 323-341.
32. Nip LH, Uitto VJ, Golub LM. Inhibition of epithelial cell matrix metalloproteinases by tetracyclines. *J. Periodont. Res.*, 1993; 28: 379-385.
33. Sağlam M, Aştı RN, Özer A. (1997) Bağ ve kırık doku. 135-186. *Alındı: Genel Histoloji. Düzeltilmiş beşinci baskı. Yorum matbaacılık sanayii, Ankara.*
34. Stocker W, Bode W. Structural features of superfamily of zinc-endopeptidases: The metzincins. *Current Opinion in Structural Biology*, 1995; 5: 383-390.
35. Thong YH, Ferrate A. Effect of tetracycline treatment on immunological response in mice. *Clin. Exp. Immunol.*, 1980; 39: 728-732.
36. Vallee B, Auld D. Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochem.*, 1990; 29: 5647-5659.
37. Vasseur PB, Johnson AL, Budsberg SC, et al. Randomized, controlled trial of the efficacy of carprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in the treatment of osteoarthritis in dogs. *JAVMA*, 1995; 206 (6): 807-811.
38. Van Wart HE, Birkedal-Hansen H. The cyctein switch: A principle of regulation of metalloproteinase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 5578-5582.
39. Yu LPJr, Smith GN, Hasty KA, et al. Doxycycline inhibits type IV collagenolytic activity of extracts from human osteoarthritic cartilage and of gelatinase. *J. Rheum.*, 1991; 18: 1450-1452.