

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL OLARAK ROMATOİD ARTRİT MODELİ
OLUŞTURULMUŞ FARELERDE GANODERİK ASİT A
UYGULAMASININ ARTRİT PARAMETRELERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşenur DEMİR

Enstitü Anabilim Dalı: Fizyoloji

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Derya GÜZEL ERDOĞAN

EYLÜL-2023

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 11/05/2022 ve 07/06/2023 tarihlerinde onay alarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

05/09/2023

Ayşenur DEMİR

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım, deneyin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan danışman hocam Doç. Dr. Derya GÜZEL ERDOĞAN'a, bölüm başkanımız Prof. Dr. Cahit BAĞCI'ya, laboratuvarında çalışmama olanak sağlayan aynı zamanda deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Pelin TANYERİ'ne, deneyin yapılması aşamasında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin BAYLAN, Dr. Öğr. Üyesi Özcan BUDAK, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziyojji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Şerif DEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK'e, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ÇAKIROĞLU'na, Asist. Dr. Dilara ORMANCI, Ar. Gör. Sevdâ AYDIN ve Ar. Gör. Fadime KÖSE'ye, teşekkür ederim. SÜDETAM çalışanı İbrahim ULUSOY'a teşekkür ederim.

Her türlü desteğini benden sakınmayan aileme teşekkür ederim.

Bu tez, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2022-7-24-107 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER	vi
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
RESİMLER	xii
ÖZET	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. ROMATOİD ARTRİT (RA)	2
2.1.1. Epidemiyoloji	2
2.1.2. Etiyoloji	3
2.1.2.1. Genetik faktörler	3
2.1.2.2. Çevresel faktörler	3
2.1.2.3. Hormonal değişiklikler	3
2.1.2.4. Beslenme	4
2.1.2.5. Bağırsak mikrobiyotası	4
2.1.3. Patogenez	4
2.1.4. Klinik bulgular	6
2.1.4.1. Eklem bulguları	6
2.1.4.2. Eklem dışı bulgular	7
2.1.4.3. Laboratuvar bulguları	9
2.1.5. Tanı/sınıflama kriterleri	10
2.1.6. Tedavi	12
2.1.6.1. Birinci basamak tedaviler	12
2.1.6.2. İkinci basamak tedaviler: DMARD'ler	13
2.1.6.3. Yeni ilaçlar	13
2.1.6.4. Cerrahi	14
2.1.6.5. Diğer tedaviler: fizik tedavi ve iş uğraşı tedavisi	14
2.2. DENEYSEL ARTRİT MODELLERİ	14

2.2.1. İndüklenmiş artrit modelleri.....	15
2.2.1.1. CIA (kollajenle indüklenmiş artrit).....	15
2.2.1.2. Kartilaj oligomerik protein indüklü artrit (COMP).....	15
2.2.1.3. Adjuvant indüklü artrit (AIA)	16
2.2.1.4. Pristan indüklü artrit (PIA).....	16
2.2.1.5. Streptokokal hücre duvarı (SCW) indüklü artrit	16
2.2.1.6. Proteoglikan indüklü artrit (PGIA)	16
2.2.2. Genetik modifiye edilmiş artrit modelleri.....	17
2.2.2.1. K/BxN transgenik modeli	17
2.2.2.2. TNF transgenik artrit modeli.....	17
2.2.2.3. SKG modeli.....	17
2.3. <i>GANODERMA LUCIDUM</i> MANTARI (<i>G. LUCIDUM</i>) VE GANODERİK ASİT A (GAA).....	18
2.3.1. <i>Ganoderma Lucidum</i> Mantarının genel özellikleri	18
2.3.1.1. <i>G. Lucidum</i> Triterpeneoidleri (GLT)	18
2.3.1.1.1. Ganoderik Asit A (GAA)	19
2.3.1.2. <i>G. Lucidum</i> Polisakkaritleri (GLP)	19
2.3.2. <i>G. Lucidum</i> 'un biyolojik aktiviteleri.....	19
2.3.2.1. Anti inflamatuvar etkileri.....	20
2.3.2.2. Anti tümör etkileri.....	20
2.3.2.3. Anti oksidan etkileri.....	20
2.3.2.4. Anti bakteriyal etkileri	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	22
3.2. DENEY GRUPLARI VE UYGULAMALAR.....	23
3.2.1. Kullanılan Ajanlar ve Hazırlanışı.....	24
3.2.1.1. GAA.....	24
3.2.1.3. Bovine nasal septumdan elde edilmiş kollajen temini ve kollajen emülsiyonu hazırlanması.....	25
3.2.1.4. Tamamlanmış Freund adjuvant (CFA) temini.....	25
3.2.1.5. Tamamlanmamış Freund adjuvant (IFA) temini	25
3.3. FARELERDE ARTRİT MODELİNİN İNDÜKLENMESİ.....	26
3.4. GAA UYGULAMASI	27
3.5. DEĞERLENDİRİLEN PARAMETRELER	27

3.5.1.	Vücut ağırlığının değerlendirilmesi	27
3.5.2.	Artrit skorunun değerlendirilmesi	27
3.5.3.	Diz eklemi sıcaklığının değerlendirilmesi.....	29
3.5.4.	Diz eklemi çevresi değerlendirilmesi.....	29
3.5.5.	Ağrının davranışsal değerlendirilmesi	30
3.5.6.	Yürüyüş değerlendirilmesi	31
3.5.7.	Kuyruk vuruşu testi	31
3.5.8.	Sıcak plaka testi.....	32
3.5.9.	Lokomotor aktivite testi	32
3.5.10.	Alt ekstremitte indeksi değerlendirilmesi.....	33
3.5.11.	Histopatolojik değerlendirme	33
3.5.12.	İstatiksel değerlendirme.....	36
4.	BULGULAR.....	37
4.1.	VÜCUT AĞIRLIĞI	37
4.2.	ARTRİT SKORU	38
4.3.	DİZ EKLEMİ SICAKLIĞI	39
4.4.	DİZ EKLEMİ ÇEVRESİ	42
4.5.	AĞRININ DAVRANIŞSAL DEĞERLERİ.....	44
4.6.	YÜRÜYÜŞ	45
4.7.	KUYRUK VURUŞU TESTİ	46
4.8.	SICAK PLAKA TESTİ.....	47
4.9.	LOKOMOTOR AKTİVİTE TESTİ.....	47
4.10.	ALT EKSTREMİTE İNDEKSİ	48
4.11.	HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	49
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	54
	KAYNAKLAR	66
	EKLER.....	85
	EK 1. SAKARYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA BELGESİ	85
	EK 2. SAKARYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA ONAY BELGESİ (Düzeltilme)	86
	ÖZGEÇMİŞ	87

KISALTMA VE SİMGELER

AA	: Asetik asit
ACPA	: Anti sitr�llenmiş protein antikoru
ACR	: Amerikan Romatoloji Derneği
AIA	: Adjuvant indüklü artrit
Anti-CCP	: Anti siklik sitrüline peptit
AP	: Anteroposterior
BAAF	: B h�creti aktive edici faktör
BALF	: Bronkoalveolar Lavaj
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
CAT	: Katalaz
CCP	: Siklik sitrüline peptit
CD	: Yüzey farklılaşma antijenleri
CFA	: Tamamlanmış Freund adjuvant
CIA	: Kollajenle indüklenmiş artrit
COMP	: Kollajen oligomerik proteini indüklü artrit
CRP	: C-reaktif protein
D	: Deney
DC	: Dendritik hücre
DGAA	: Düşük doz GAA
DİF	: Distal interfalengeal eklem
DMARD	: Hastalığı modifiye edici anti romatizmal ilaçlar
DS	: Diklofenak sodyum
DS	: Diklofenak sodyum
ELİSA	: Enzim bağlantılı immünosorbent deneyi
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı

EULAR	: Avrupa Romatoloji Dernekleri Birliği
GA	: Ganoderik Asit
GA	: Ganoderik asit
GAA	: Ganoderik Asit A
GLP	: <i>Ganoderma Lucidum</i> polisakkaritleri
GLPP	: <i>G. Lucidum</i> polisakkarit peptitleri
GLS	: <i>Ganoderma Lucidum</i> sporları
GLT	: <i>Ganoderma Lucidum</i> triterpenoidleri
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GT	: Ganoderma lucidum triterpenoid
GWAS	: Büyük ölçekli Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları
H&E	: Hemotoksilen eozin
HFHC	: Yüksek yağlı yüksek kolesterol diyeti
HLA	: İnsan lökosit antijeni
IFA	: Tamamlanmamış Freund adjuvant
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünoglobulin
IL	: İnterlökin
i.a	: İnter artiküler
İF	: İnterfalangeal eklem
K	: Kontrol
KMK	: Karpometakarpal eklem
M	: Molar
MCAO	: Orta serebral arter oklüzyonu
MKF	: Metakarpofalangeal eklem
ML	: Mediolateral
MTF	: Metatarsofalangeal eklem
MTX	: Metotreksat
MTX	: Metotreksat

N	: Sham
NaCMC	: Karboksimetilselüloz
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NP	: Nücleus pulposus
NS	: Normal salin
NSAİİ	: Non steroid anti enflamatuvar ilaç
Ox-LDL	: Oksitlenmiş düşük dansiteli lipoprotein
PAD	: Peptidil arjinin deiminaz
pDC	: Plazmositoid dendritik hücre
PGIA	: Proteoglikan indüklü artrit
PIA	: Pristan indüklü artrit
PİF	: Proksimal interfalangeal eklem
PPARγ	: Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama
PSD	: İnme sonrası depresyon
PTPN22	: Protein tirozin fosfataz non-reseptör 22
RA	: Romatoid Artrit
RANKL	: Nükleer faktör- κ B ligandı
RASF	: RA sinoviyal fibroblast
RF	: Romatoid faktör
s.c	: Subkutan
SAÜ-BAP	: Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
SCW	: Streptokokkal hücre duvarı
SF	: Serum fizyolojik
SOD	: Süperoksit dismutaz
SS	: Sjögren Sendromu
ss	: Standart sapma
SÜDETAM	: Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırmaları Merkezi
TGF- β	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
Th	: T-helper

THP-1 : İnsan monosit hücreleri
ULN : Normalin üst sınırı
YGAA : Yüksek doz GAA



ŞEKİLLER

Şekil 1: DGAA ve YGAA grubunun enjeksiyon ve GAA uygulama günleri 24



TABLolar

Tablo 1: 1987 revize edilmiş ACR kriterleri.....	10
Tablo 2: 2010 ACR/EULAR sınıflama kriterleri	11
Tablo 3: Deney grupları ve uygulamalar	23
Tablo 4: Yapılan işlemler	24
Tablo 5: Artrit skoru değerlendirme.....	28
Tablo 6: Ağrının davranışsal değerlendirme skalası	30
Tablo 7: Ayak izleri puanlama skalası	31
Tablo 8: Doku takip basamakları	34
Tablo 9: Hematoksilen Eosin Boyama.....	35
Tablo 10: Artrit değeri	36
Tablo 11: Morfolojik değışiklik skalası	36
Tablo 12: Vücut ağırlığı değeri.....	38
Tablo 13: Artrit skoru (as) değeri	39
Tablo 14: Deney öncesi, 6. gün ve 12. gün diz eklemi sıcaklık değeri.....	41
Tablo 15: 21. gün,27. gün ve 30. gün diz eklemi sıcaklık değeri	41
Tablo 16: Deney öncesi diz eklem çevresi değeri.....	43
Tablo 17: 2. enjeksiyon öncesi diz eklemi çevresi değeri.....	43
Tablo 18: Sakrifikasyon öncesi diz eklemi çevresi değeri.....	43
Tablo 19: Ağrının davranışsal değeri.....	44
Tablo 20: Yürüyüş değeri	45
Tablo 21: Kuyruk vuruşu değeri	46
Tablo 22: Sıcak plaka testi değeri.....	47
Tablo 23: Lokomotor aktivite değeri	48
Tablo 24: Alt ekstremite indeksi	49
Tablo 25: Histopatolojik değerlendirme skorları	50

RESİMLER

Resim 1: <i>Ganoderma lucidum</i>	21
Resim 2: GAA'nın moleküler yapısı.....	21
Resim 3: İntraartiküler yolla kollajen emülsiyonu uygulaması	26
Resim 4: Gavaj uygulaması	27
Resim 5: Artrit skoru puanlaması.....	28
Resim 5.a.: Alt ekstremitte artrit skorları puanlaması.....	28
Resim 5.b.: Üst ekstremitte artrit skorları puanlaması	28
Resim 6: Kullanılan infrared sıcaklık termometresi.....	29
Resim 7: Kumpasla diz eklemi çevresinin ölçümü	30
Resim 8: Ayak izleri puanları.....	31
Resim 9: Kullanılan kuyruk vuruşu cihazı.....	32
Resim 10: Kullanılan sıcak plaka cihazı	32
Resim 11: Kullanılan lokomotor aktivite cihazı.....	33
Resim 12: Kontrol grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü. 51	
Resim 13: Asetik asit grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü	51
Resim 14: Deney grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü... 52	
Resim 15: Düşük doz GAA grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü.....	52
Resim 16: Yüksek doz GAA grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü.....	53

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Romatoid artrit (RA); artiküler kartilaj ve kemik dokusu tahribatı ile karakterize olduğu bilinen otoimmün bir hastalıktır. Günümüzde RA tedavisinde birçok ajan kullanılmaktadır. Geleneksel Çin Tıbbında uzun zamandır kullanılan ve önemli roller oynayan *Ganoderma lucidum* olarak bilinen bu mantarın deneysel RA'daki etkisi az bilinmektedir. Bu çalışmada *Ganoderma Lucidum* mantarının içeriğinde bulunan Ganoderik asit A (GAA)'nın deneysel olarak RA modeli oluşturulan farelerde RA üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: 1. gün Kontrol (K) grubuna serum fizyolojik (SF), AA (asetik asit) grubuna asetik asit; Deney (D), Düşük doz GAA (DGAA) ve Yüksek doz GAA (YGAA) gruplarına kollajen emülsiyonu intra artiküler (i.a) yolla ve tamamlanmış Freund adjuvant (CFA) ise subkutan (s.c) yolla uygulanmıştır. 22. gün işlemler tekrarlanmıştır bununla birlikte D, DGAA ve YGAA gruplarına CFA yerine tamamlanmamış Freund adjuvant s.c yolla uygulanmıştır. 22. günden itibaren 9 gün boyunca K, AA ve D gruplarına SF; DGAA ve YGAA grubuna ise belirlenen dozlarda gavaj yoluyla GAA uygulanmıştır. Artrit parametreleri ve histopatolojik değerlendirme yöntemleri kullanılarak GAA'nın deneysel RA modelinde tedavi edici etkisi değerlendirilmiştir.

BULGULAR: D grubuna göre YGAA grubunda artrit skorunu önemli ölçüde düşürdüğü ($p \leq 0,05$), GAA gruplarının D grubuna göre diz eklemi sıcaklığında düşüşe sebep olduğu ($p \leq 0,05$), diz eklemi çevresinde azalmaya yol açtığı ($p \leq 0,05$), ağrıya bağlı parametreleri azalttığı ($p \leq 0,05$), ayrıca histopatolojik parametreleri iyileştirdiği ($p \leq 0,05$) gösterilmiştir.

SONUÇ: GAA'nın deneysel RA'da artrit skorunu düşürdüğü, ödem ve inflamasyonu azalttığı, analjezik etkiye sebep olduğu, lokomotor aktivitesinde iyileşmeye sebep olduğu, eklem kıkırdağı ve kemik yapısında tahribatı azalttığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Artrit, Ganoderik Asit A, *Ganoderma Lucidum*, Romatoid Artrit

SUMMARY

The Effect Of Ganoderic Acid A Application On Arthritis Parameters In Experimentally Induced Rheumatoid Arthritis Model Mice

INTRODUCTION AND AIM: Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease characterized by the destruction of articular cartilage and bone tissue. Currently, various agents are used in the treatment of RA. The effect of Ganoderic Acid A (GAA), found in the content of *Ganoderma Lucidum* fungus, which has been traditionally used in Traditional Chinese Medicine and plays significant roles, is not well understood in experimental RA. This study aims to investigate the effect of GAA on RA in mice with experimentally induced RA models.

MATERIALS AND METHODS: On the 1st day, the Control (K) group was administered physiological saline (SF), the Acetic Acid (AA) group was administered acetic acid; the Experiment (D) group, Low GAA (DGAA), and High dose GAA (YGAA) groups were administered collagen emulsion intra-articularly (i.a), while completed Freund's adjuvant (CFA) was administered subcutaneously (s.c). On the 22nd day, the procedures were repeated, and on this day, incomplete Freund's adjuvant was administered s.c to the D, DGAA, and YGAA groups instead of CFA. From the 22nd day for 9 days, the K, AA, and D groups received SF; the DGAA and YGAA groups were administered GAA orally at the determined dose. The therapeutic effect of GAA in the experimental RA model was evaluated using arthritis parameters and histopathological assessment methods.

RESULTS: In comparison to the D group, the YGAA group significantly reduced arthritis scores ($p \leq 0,05$), caused a decrease in knee joint temperature compared to the GAA groups ($p \leq 0,05$), led to a decrease in knee joint circumference ($p \leq 0,05$), reduced parameters related to pain ($p \leq 0,05$), and improved histopathological parameters ($p \leq 0,05$).

CONCLUSION: It was observed that GAA slowed down the decrease in body weight, reduced arthritis scores, reduced edema and inflammation, contributed to

analgesic effects, improved locomotor activity, and reduced damage to joint cartilage and bone structure caused by RA.

Keywords: Arthritis, Ganoderic Acid A, Ganoderma Lucidum, Rheumatoid Arthritis



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Romatoid artrit (RA); enflamatuvar, sistemik otoimmün bir hastalıktır. RA sık görülen bir hastalıktır ve erkeklere göre sıklığı kadınlarda daha fazladır. RA'nın etiyolojisi tam bilinmemektedir ancak etiyolojiye katkı sağlayan birçok faktör söz konusudur. RA hastalarında daha çok eller ve ayaklardaki küçük eklemler etkilenir. Eklem dışı tutulum da gösterebilir. RA tedavisinde non steroid anti enflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), kortikosteroidler, opioid analjezikler, DMARD (hastalığı modifiye edici anti romatizmal ilaçlar), fizik tedavi, iş uğraşı tedavisi ve cerrahi uygulamalar kullanılmaktadır.

RA'nın daha iyi anlaşılabilmesi ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi amacıyla birçok deney hayvanı modeli kullanılmıştır. Bu modeller arasında altın standart olan kabul edilen CIA (kollajenle indüklü artrit) modelinde, kollajen ve adjuvantlar kullanılmaktadır. Bu modelde kullanılan kollajen birçok farklı kaynaktan (porcine, chick, insan ve bovine) elde edilir ve enjeksiyon koşulları ve uygulanan ırka bağlı olarak değişiklikler gösterilmiştir. Primerde eklemlerin otoimmün hastalığı olan CIA'da, B ve T hücrelerinin dahil olduğu bağışıklık tepkisinde otolog tip II kollajen hastalığın belirtilerinin belirginleşmesi için B ve T hücresi bağışıklığı gerektirir (1).

Ganoderma Lucidum (*G. Lucidum*) yaşam süresini artırmak için 2000 yıldan fazla süredir kullanılan geleneksel Çin tıbbında yer edinmiş bir mantardır (2). *G. Lucidum*'un bileşenlerinden biri olan Ganoderik asit A (GAA)'nın birçok hastalıkta farmakolojik aktivitesi kanıtlanmıştır. Deneysel olarak oluşturulmuş RA'da, GAA'nın artrit üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ROMATOİD ARTRİT (RA)

RA, kronik hastalıklar kategorisinde en yaygın görülen otoimmün hastalıklardan biridir. Öncelikle eklemlerin dahil olduğu (eklem hassasiyeti, eklem şişmesi ve sinoviyal eklemlerin harabiyeti) bununla birlikte eklem dışı tutulumun olduğu (akciğer tutulumu, romatoid nodüller ve sistemik komorbiditeler) ilerleyici, simetrik, enflamatuvar özellikleri bulunan bir sendrom olarak göz önüne alınması gerektiği ortaya konulmuştur (3, 4).

2.1.1. Epidemiyoloji

Çok sayıda çalışma RA'nın prevalansını ve insidansını değerlendirmiştir. RA'nın cinsiyete (kadınlar erkeklerin 4 katı kadar etkilenir), yaşa (yeni tanı almış RA sıklığı yaşamın altıncı on yılında zirve yapar ve genç bireyler yaş almış bireylerin 2'de 1'inden daha az etkilenir), yaşanılan yere (kentsel alanlarda kırsal alanlara göre daha fazla RA görülür) ve yapılan araştırmada değerlendirilen hastaların profiline bağlı olarak popülasyonun %0,4 ila %1,3'ü arasında değişen bir prevalansı vardır (4-9). Türkiye'de prevalans araştırmasında ortaya konan çalışmanın ilki 1968 yılında İstanbul'da Sağmalcılar bölgesinde yapılmıştır (10, 11). RA tanısı 1958 ACR (Amerikan Romatizma Derneği) kriterlerine göre koyulan bu çalışmada RA prevalansı %0,22 olarak bulunmuştur (12). Son yıllarda Tuncer ve ark. (13)'lerinin çalışmasında ise Türkiye genelinde standartlaştırılmış RA prevalansı %0,56; erkeklerde %0,10 ve kadınlarda %0,89 olarak ortaya konmuştur.

2.1.2. Etiyoloji

RA'nın etiyojisi tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Genetik ve çevresel faktörler, hormonal değişiklikler, beslenme, bağırsak mikrobiyotası vb. faktörlerin etiyojiiye etkisinin olduğu, bu faktörlerin sonuç olarak otoimmün cevabı değiştirmesi ile hastalığın ortaya çıktığı ve progresif şekilde kendini gösterdiği düşünölmektedir (14).

2.1.2.1. Genetik faktörler

RA, muhtemelen en az %30 HLA (insan lökosit anjiteni) sınıf II ailesindeki genlere dayandırılan tahmini %60'lık kalıtım derecesi ile multigen hastalığı olarak da bilinir (15). Meta-analizler ve GWAS (Büyük ölçekli Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları) RA patogeneziine toplu bir şekilde etkisi olan yaygın hastalıkla ilişkili varyantları ortaya çıkarmıştır (16). Birçok genetik bölge RA ile ilişkilendirilmesine rağmen 24 genin RA duyarlılığına katkısı oldukça fazladır (16). Bunlar arasında PTPN22 (protein tirozin fosfataz non-reseptör 22) ve HLA üzerinde durulmaktadır (17).

2.1.2.2. Çevresel faktörler

Sigara kullanımı (18), serbest radikaller (19), enfeksiyöz hastalıklar, peridontit (20), gastrointestinal sistem mikrobiyotasının durumu (21) gibi birçok etken çevresel faktörler arasındadır. RA'nın çevresel risk faktörlerinden en öne çıkanı sigaradır. Kalıtsal olarak RA'ya duyarlı bireylerde sigara içmeye bağlı hava maruziyetine uğramanın, sitrölinlenmiş proteinlere yanıt olarak RA'ya spesifik immün reaksiyonları tetikleyebileceği ortaya konulmuştur (22).

2.1.2.3. Hormonal değişiklikler

RA özellikle gonadal steroidlerden östrojenler ile yakından ilişkilidir. Bunun nedeni kısmen hala belirsiz olsa dahi RA'da, kadın/erkek görölme oranı 4/1'dir (23). Straub tarafından yapılan çalışmada östrojenlerin immün sistem üzerinde hem uyarıcı edici hem de inhibe edici yanıtlara neden olabileceği, östrojene maruz kalmanın androjenlerin anti enflamatuvar olanıyla bu hormonların dengesizliğinin RA riskinde artışla ilişkili olduğu ortaya konmuştur (24). Bununla birlikte anti östrojen maruziyetinin doza ve süresine bağlı olarak anti östrojen ajanların kullanımı ve

menopoz gibi östrojenin düşük seviyeleri ile kendini gösteren her iki durumun da RA'nın gelişme riskinin artmasıyla bağlantılı olduğu göz önüne alınmalıdır (25-27).

2.1.2.4. Beslenme

RA'da potansiyel teşkil eden risk faktörü olarak birçok beslenme faktörü incelenmiştir. Bunlar arasında öne çıkan faktörlerden birisi olan çoklu doymamış yağlardan balık yağı ve çeşitli bitki yağlarının, anti arteriyosklerotik ve anti enflamatuvar etkiler gösterdiği ortaya konmuştur. Yapılmış çalışmalarda gözlemlenen bu etkilerin istatistiksel anlamlılığı olmamasına rağmen çeşitli araştırmalarda özellikle yağlı balık türlerinin RA üzerinde koruyucu olabileceğine dair sonuçlar bildirilmiştir (28-30).

2.1.2.5. Bağırsak mikrobiyotası

Son yıllarda yapılan çalışmalarda RA'nın bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisi ortaya konulmuştur. Birden fazla çalışma fekal numunelerdeki bağırsak mikrobiyota bileşiminin RA tanılı kişiler ve sağlıklı kontrol grubu arasında farklılık olduğu yönünde sonuçlar bildirmiştir (31-39). Türler üzerindeki çelişkilere rağmen bazı bağırsak bakterilerinin disbiyozu ve RA arasındaki bağlantıyı açıkladığı anlaşılmıştır. Bu sonuçlar bağırsaktaki bakterilerin RA patogeneze katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür. Yakın zamanda yayınlanmış bir meta analizde RA hastalarında bağırsak disbiyozu oluşumu, anti enflamatuvar etkileri olan bütirat üreten bakterilerin (örneğin, *Faecalibacterium*) tükenmesi ve pro enflamatuvar bakterilerin (örneğin, *Streptococcus*) ise artması ile karakterize edilmiştir (40).

2.1.3. Patogenez

RA, sinovit (sinovyal membran ve sinoviyal sıvıyı içeren eklem kapsülünün inflamasyonu) ve ilgili kemiklerin otoimmün doku yıkımı şeklinde ortaya çıkar (41). Bu eklem inflamasyonu T hücreleri, B hücreleri, çeşitli dendritik hücre (DC) alt tipleri, makrofajlar, fibroblastlar, nötrofiller ve osteoklastlar arasındaki kompleks bir karşılıklı etkileşim yoluyla başlatılır ve sürdürülür. Her yerde aynı süre zarfında bulunan RA'ya spesifik otoantijenler tümüyle temizlenemediğinden dolayı sürekli oluşan immün hücre aktivasyonu hastaların ağrı ve eklem şişmesi olarak tarif ettiği sinoviyal zarın ve eklemin şişmesi ile kendi kendini tetikleyen kronik bir enflamatuvar

tablo ile sonuçlanır (4). DC'ler naif T hücreleri için antijenleri yakalayarak, işleyerek ve sonrasında sunarak immün cevapları düzenlemede kritik bir işleve sahiptir. Hem kemokinlerin hem de sitokinlerin üretimi ve yüzey moleküllerinin ekspresyonu tarafından karakterize edilen DC fenotipi ya toleransın indüklenmesi ve sürdürülmesi ya da bağışıklık sistemi aktivasyonu arasındaki dengeyi belirler. Biriken kanıtlar diğer otoimmün hastalıklarda ve RA'da, DC'lerin hem işlevinin hem de değişen dağılımının otoimmün inflamasyona katkı sağladığını göstermektedir (42). RA tanılı kişilerin plazmasında hem plazmasitoid DC (pDC)'lerin hem de konvansiyonel DC'lerin sıklığının azalmış olduğu rapor edilmiştir, bunun nedeninin muhtemelen DC'lerin inflamasyonlu eklemlere migrasyonun artması olduğu belirtilmiştir (42, 43). Ekleme çekildikten sonra olgun DC'ler antijene özgü Th17 (T-helper17) cevapları geliştiren; Th1-, Th17 ve Th2- ve yanıtları arasında dengesizliğe sebep olan IL-23 ve IL-12 sitokinleri ürettiği gösterilmiştir (44-46). Özellikle CD14⁺ CD1a⁺ CD1c⁺ enflamatuvar DC'ler (inflamasyonlu eklemi lokal olarak invaze eden monositlerden farklılaşan) sinoviyal sıvıda RA'nın patogenezinde önemli katkısının olduğu ileri sürülmektedir. Bunun da IL-23, IL-6, TGF- β ve IL-1 β 'lerin üretimi vasıtasıyla RA eklemlerinde efektif bir şekilde aktifleşmiş Th17 hücrelerinin tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir (44). Dahası aktive olmuş pDC'lerin IL-18, IL-23, IFN- α ve IFN- β salgılanması vasıtasıyla RA hastalarında genel inflamasyona katkıda bulunduğu da bildirilmiştir. Ek olarak pDC'ler otoantikorların üretimini anti apoptotik B hücresi aktive edici faktör (BAFF) ekspresyonu vasıtasıyla teşvik edebilir. Burada RA'da bulunan iki ana otoantikor türü; anti sitrillenmiş protein antikor (ACPA) ve romatoid faktör (RF)'dür. Bu otoantikorların bulunması hastayı "seropozitif" RA'ya sahip şeklinde tanımlar (47). Bununla aynı eksenli olarak ACPA negatif hastalarının sinovyumda seropozitif ACPA bulgusu olan RA muadillerine göre daha düşük sayıda pDC'ye sahip olduğu ortaya konmuştur (45). RA hastalarında ek olarak interferon (IFN) vasıtasıyla uyarılan genlerin transkripsiyonel aktivitesinde artış bulguları gösterirler. Bu sebeple IFN'ler hem RA'nın kronik, yerleşmiş fazında hem de hastalık başlangıcındaki "öz" tolerans kaybında önemli bir rolü olabilir (48, 49). Th1 hücreleri TNF- β , IL-2, ve IFN- γ salgılayarak, diğer immün hücrelere kuvvetli bir şekilde destek sağlar, bunlar da B hücrelerinin ve makrofajların aktivasyonu ile sonuçlanır, dolayısıyla enflamatuvar yanıtlar sinovyumda başlatılır ve sürdürülür (50-52).

Bunların RA inflamasyonundaki destekleyici işlevlerine ilaveten, CD4⁺ CD28^{null} hücrelerinin birlikte eksprese ettiği perforin ve granzimlerin (CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinde daha yaygın olarak bulunan moleküller) RA tanısı almış hastaların bir alt kümesinde periferik kanda arttığı gösterilmiştir (53-55). Dahası sinovyal sıvı ve dokuda perforin eksprese eden CD4⁺ hücrelerinin gözlemlenmesinin bu hücrelerin RA tanılı hastalarda inflamasyonun sürdürülmesine ve doku hasarına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (55-57). Otoreaktif B hücrelerinin atipik aktivasyonundan kaynaklanan antikorlar, sonradan ortaya çıkan kompleman aktivasyonu ve immün kompleks oluşumu vasıtasıyla RA patolojisine önemli ölçüde katkı sağlar (58).

RA'lı hastaların %69' unda RF saptanır ve özgüllüğü %60-85' tir (59, 60). Dikkate değer bir şekilde, RF hem sağlıklı hastalarda hem de diğer hastalık durumlarında (örn. diğer romatizmal hastalıklar, belirli kanser türleri ve enfeksiyonlar vb) da saptanabilir (61). ACPA otoantikorları IgA-, IgG- veya IgM-izotipinden biri olabilirken birçok "öz" proteinin sitriline protein kalıntılarına (örneğin histonlar, fibronektin, tip II kollajen, fibrinojen, vimentin ve α -enolaz gibi) bağlanabilir (62, 63). RF'ye benzer biçimde ACPA'lar, RA hastalarının %60-80'inde saptanır ancak RF'den farklı olarak özgüllükleri %85-99'a kadar çıkar (64). ACPA'lar ve RF için seropozitif olan hastalarda hastalık başlaması riski %40'tır (65).

2.1.4. Klinik bulgular

2.1.4.1. Eklem bulguları

El bileği, metakarpofalangeal eklemler (MKF) ve proksimal interfalangeal (PİF) en çok tutulan eklemler arasında yer alır. Metatarsofalangeal (MTF) eklemleri de yaygın olarak tutulur (3, 66). RA'da diz eklemi tutulumu da yaygın olarak görülmektedir. Diz tutulumunda, efüzyon sıklıkla görülmektedir. Başta fleksiyonda olmak üzere deformitelere yol açan bağ gevşekliği, hareket kısıtlılığı ve kuadriseps atrofisi sıklıkla görülür. Orta ila büyük efüzyona sahip dizin fleksiyonu sonucunda eklem içi basıncı artar ve diz eklemine arka bileşenlerinin dışarı çıkmasına sebep olarak popliteal veya Baker kisti'ne sebebiyet verir (67).

2.1.4.2. Eklem dışı bulgular

Romatoid Nodüller: RA'da kaydedilen en yaygın eklem dışı bulgularından biri romatoid nodüllerdir. Bu nodüller sıkça basınç veya tekrarlayan travma alanlarında ve ekstansör yüzeylerde, özellikle de elin dorsal kısmında ve olekranonda görülür. Bununla birlikte ses telleri ve Aşil tendonu gibi herhangi bir tendon veya ligament türü yapılar üzerinde de gelişebileceği raporlanmıştır. Yatağa bağımlı hastalarda bu nodüllerin görülme yeri diğer yerlere ek olarak oksiput ve iskiyumdur. Prevalansın %10 olduğu üzerinde durulmaktadır, bununla birlikte herhangi bir bireyde 10 yıllık süre zarfında prevelans %30'a kadar çıkabilmektedir. Romatoid nodüller; plevra, akciğer, perikardiyum ve myokardiyumda da görülmesine rağmen bu bölgelerde görülme sıklığı düşüktür (68).

Hematolojik bulgular: RA'lı hastalarda, tanı için veya hastalıklarının prognozu boyunca hematolojik anormallikler görülebilir. Geniş bir şekilde bakılacak olursa RA'daki hematolojik bulgular nötropeni, trombositoz, anemi, eozinofili, trombositopeni ve hematolojik maligniteler olarak sınıflandırılabilir (69). Bunlar arasında anemi, RA'da açık ara en yaygın olarak görülen eklem dışı semptomlarından bir tanesidir. RA'da aneminin nedenleri arasında ilaca bağlı, multifaktöriyel hastalık aktivitesi, gastrointestinal kanama, beslenme, kemik iliği baskılanması ve efektif olmayan eritropoiez yer alır (70). RA'daki görülen eozinofili ise ilaçlara aşırı duyarlılığı veya aktif hastalığı yansıtır (71). Aktif RA'da sık görülen bulgu içinde trombositoz yer alır ve aktif olan inflamasyonlu eklem sayısı ile bağlantılıdır (72).

Nörolojik bulgular: Merkezi sinir sisteminin tutulumu genellikle atlantoaksiyal sublüksasyondan oluşmasından sonra servikal miyelopatiye bağlıdır. RA'lı hastaların %43-86'sında atlantoaksiyal tutulum görülür (73, 74). Atlas ve aksis arasında arasındaki eklemden eroziv bir pannusun oluşması kemik yıkımına, transvers ligamentin ise gevşemesine sonuçta da vertebral instabiliteye neden olabilir. Bu sublüksasyon posterior, anterior veya rotator olabilir. Bunlar arasında %10-55 prevalansa sahip en yaygın alt tip atlantoaksiyal sublüksasyondur (75). Diğer nörolojik bulgu ise RA'da nadir görülen ancak çok ciddi tutulum gösteren beyin veya omuriliğin menenjitidir (76). Son zamanda yapılmış bir çalışmada, RA'da görülen

menenjitin ortaya çıkması hastalık remisyonunda olmasına rağmen yalnızca uzun zamandır seropozitif artrit öyküsü olan hastalarda görüldüğünü ortaya koymuştur (77).

Göz bulguları: En sık karşılaşılan göz bulgusu, RA hastalarının en az %10'unu etkileyen keratokonjonktivit sikka'dır (78).

Sjögren Sendromu (SS): SS, kronik bir otoimmün hastalıktır ayrıca ekzokrin bezlerin lenfositik infiltrasyonu ile karakterizedir. SS'nin özellikleri arasında tükürük ve lakrimal bezlerin işlev bozukluğunun sebep olduğu kseroftalmi ve kserostomi yer alır (79). Çalışmalar RA hastalarında SS kriterlerini karşılayan yüzdenin %4 ila %31 arasında değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur (80-82).

Akciğer bulguları: RA birçok solunum sistemi bulgusuna yol açabilir. RA hastalarının %30-40'ında solunum sistemi bulguları görülür ve bu RA'lı hastalarda ölüm nedenleri içerisinde ikinci sırada yer almasına sebep olur (83). Bu hastaların %20-30'unda akciğer komplikasyonları, eklem semptomlarından daha önce görülen ilk belirtisidir (84). Geri kalanlar içinse tanıdan sonra ilk 5 yıl süresinde RA'da görülen solunum belirtileri ortaya çıkar (85). Bunların nedenleri arasında RA hastalarının kullandığı immünsüpresif ilaçlar sebebiyle solunum yolu enfeksiyonlarına yatkınlığı sonuçta da mortalite artması görülmektedir. Ek olarak akciğer hastalıkları asemptomatik görülebilir, kronik inflamasyonla ilişkili genel yanıtlarda görülen düşüş, tanıyı ve sonuçta da tedaviyi geciktirme ile maskelenebilir (86).

Kardiyovasküler bulgular: RA hastaları arteriyoskleroz ve kalp krizleri gibi kalp hastalıklarına daha eğilimlidir (87). Kalp krizi riski RA'lı kadın hastalarda RA tanılı olmayan kadınlara göre 2 kat fazladır bununla birlikte bu risk en az 10 yıldır tanılı uzun süreli hastalıkta 3 kattır. RA'da en sık görülen kardiyak bulgu perikardittir (88-91).

Renal bulgular: RA'da en sık görülen renal bulgu birkaç yıl öncesine kadar glomerülonefrit (92). RA'nın olası eklem dışı bulguları arasında mezangiyal veya membranöz glomerülonefrit ve minimal değişiklik nefropatisi yer alır. Günümüzde ise renal bulgular daha çok, RA ilaç tedavisinin komplikasyonları arasında yer alırken daha az oranda amiloidoz ile ilişkilidir (93).

2.1.4.3. Laboratuvar bulguları

ACPA ve Anti-CCP (anti siklik sitriline peptit): RA tanısında ACPA karakterizasyonu son yılların tartışmasız başarısına sahip olmuştur. ACPA, proteinlerdeki sitrünü (esansiyel olmayan amino asidi) tanıyan farklı izotiplerin kullanımı (yani IgM, IgG ve IgA) ile bir otoantikor koleksiyonudur. Sitrulin, peptidil arjinin deiminazlar (PAD'ler) ki bunlar hücre içi enzimlerdir, PAD'lar yoluyla katalize edilmiş arjininin posttranslasyonel modifikasyonunun (sitrulinasyon/deaminasyon) bir sonucu olarak meydana gelir. Asıl önemli olan da sitrulinasyonun kendine ait peptitlerin özelliklerinde değişime yol açarak onların immünojenikliğine yol açabilmesidir (94). ACPA'nın vücut sıvılarında bulunması, enzim bağlantılı immünosorbent deneyi (ELİSA) ile ortaya konan doğal insan proteinlerinin birden fazla siklik sitriline peptid (CCP) fragmanları ile immünoreaktivitelerine dayanmaktadır. ELİSA'ların ticari temini sonrasında RA hastalarının %60-80'inin serum içeriğinde %85-99'luk özgüllük ile anti-CCP antikorları saptanabilmiştir (64).

CRP (C-reaktif protein): CRP'nin RA'da kemik yıkımında direkt olarak rol oynayabileceğine ilişkin artan prelinik kanıtlar mevcuttur. Kemik yıkımı, nükleer faktör- κ B ligandının (RANKL) ekspresyonunun reseptör aktivatörünün indüksiyonu tarafından başlatılır bu da osteoklastogenezi stimüle ederek kemik rezorpsiyonuna yol açar. CRP'nin periferik kan monositlerinde RANKL ekspresyonunu indüklediği ve RANKL olmadığında ise osteoklast farklılaşmasını uyardığı ortaya konmuştur (95).

ESR (eritrosit sedimentasyon hızı) : Geleneksel olarak ESR, RA'da en yaygın olarak kullanılmış inflamasyon belirteci olmuştur (96). Bununla beraber, bu enflamatuvar belirtecin bir dizi sınırlaması olduğu yıllar içinde net hale gelmiştir. Testin yapılması nispeten kolay ve ucuz olmasına karşın, ESR seviyeleri enflamatuvar uyarılara ve bunun sonucunda doğrudan olmasa da hastalık aktivitesindeki değişikliklere yavaş yanıt verir (97, 98).

RF: RF'ler, antijenleri olarak IgG moleküllerinin Fc bölümünü tanıyan antikorlardır; RF'ler herhangi bir immüoglobulin izotipine sahip olabilir (IgE, IgM, IgG). Klinik olarak ölçülen RF'lerin çoğunluğu IgM RF'leridir. RF'ler muhtemelen insanlarda immün komplekslerini dolaşım sisteminden defetmeye yardımcı olan bir mekanizma olarak gelişmiştir. Kronik inflamasyonla ilişkili birçok hastalık RF ile de ilişkilidir.

Titre ve insidans yaşla birlikte artar. 70 yaşına gelindiğinde, popülasyonun %14'e kadarında RF pozitif çıkacağı düşünülmektedir (99).

2.1.5. Tanı/sınıflama kriterleri

RA tanı/sınıflamada kriterleri olarak kullanılan 2 kriter öne çıkmaktadır. Bunlar 1987 revize edilmiş ACR kriterleri ve 2010 ACR/EULAR (Amerikan Romatoloji Derneği/Avrupa Romatoloji Dernekleri Birliği) kriterleridir.

Tablo 1: 1987 revize edilmiş ACR kriterleri* (100)

Kriterler	Açıklaması
1. Sabah Tutukluğu	Eklemde ve çevrelerinde maksimal düzelme öncesinde en az 1 saat süren sabah tutukluğu
2.3 Veya Daha Fazla Eklem bölgesinde Artrit	Hekim tarafından gözlemlenen en az 3 eklem bölgesinde sinovyal sıvı artışının veya yumuşak doku şişliğinin simültane şeklinde gözlemlenmesidir. 14 muhtemel alanda (dirsek, el bileği, MKF, sağ veya sol PİF, MTF, ayak bileği ve diz eklemlerinde) olması.
3.El Eklemlerinde Artrit	PİF, MKF ve el bileği eklemlerinin en az birisinde artrit
4.Simetrik Artrit	Vücudun iki yarısında aynı bölgedeki eklemlerin simültane tutulması (bilateral MKF, PİF veya mutlak simetri olmaksızın bilateral MTF eklemlerin artrit)
5.Romatoid Nodüller	Ekstansör yüzeylerde, kemik çıkıntıları üzerinde veya juksta artiküler bölgelerde hekim tarafından gözlenen subkutan nodüller
6.Serum RF	Herhangi bir metod kullanılarak yapılmış normal kontrol bireylerinde $\leq$ %5 normal miktarın dışında RF pozitifliği
7.Radyolojik Değişiklikler	Ön-arka el ve bilek radyografilerinde periartiküler osteopeni ve/veya erezyonlar

MKF: Metakarpofalangeal eklem, MTF: Metatarsofalangeal eklem, PİF: Proksimal interfalangeal eklem, RF: Romatoid faktör

*Sınıflandırma amacıyla, bu 7 kriterden minimum 4'ünü karşılayan bir hastanın RA olduğu söylenmelidir. Kriter 1'den 4 dahil bulguların en az 6 hafta süresiyle devam ediyor olması gerekir.

2010 ACR/EULAR sınıflama kriterlerinde hedef popülasyon (Kimler test edilmeli?) 2 başlık altında incelenir (101). Bunlardan ilki, en az 1 eklemde belirgin klinik

sinovittir. Yeni başvuran hastaların sınıflandırılmasını amaçlar. Ayrıca RA'ya özgü erosiv hastalığı olan daha öncesinde 2010 kriterlerini karşılayan bir öyküye sahip olan hastaların RA'ya sahip olarak sınıflandırılması gerektiğini ifade eder. Uzun süreli hastalıklara sahip hastaların, hastalığı inaktif (tedavi ile veya tedavi olmadan) olan veya olmayanlar dahil mevcut retrospektif verilere baz alınarak daha öncesinde 2010 kriterlerini karşıladığı tespit edilirse yine RA olarak sınıflandırılması gerektiğini belirtir. İkincisi ise başka hastalıkla açıklanamayan sinovittir. Farklı prezentasyonlarda gelen hastalar arasında ayırıcı tanılar (psoriatik artrit, gut ve sistemik lupus eritematozus gibi) farklılık gösterebilir. İlgili ayırıcı tanıların kesin olmadığı durumlarda, uzman bir romatologdan görüş alınmalıdır.

2010 ACR/EULAR sınıflama kriterleri puan tabanlıdır. A-D kategorilerinin puanı toplanır. 10 üzerinden en az 6 puan hastayı kesin olarak RA tanılı yapar. 6 puanın altında kalan hastalar RA tanılı olarak sınıflandırılmamasına rağmen durumları yeniden değerlendirilebilir ve kriterler zaman içerisinde birikerek tamamlanabilir.

Tablo 2: 2010 ACR/EULAR sınıflama kriterleri (102)

A. Eklem tutulumu^a	Puanlar
1 büyük eklem ^b	0
2-10 büyük eklem	1
1-3 küçük eklem (büyük eklem tutulumu var ya da yok) ^c	2
4-10 küçük eklem tutulumu	3
>10 eklem (en az 1 küçük) ^d	5
B. Seroloji (en az 1 test)^e	
RF negatif, ACPA negatif	0
RF veya ACPA düşük titrede pozitif	2
RF veya ACPA yüksek titrede pozitif	3
C. Akut faz reaktanları (en az 1 tanesi)^f	
Normal CRP ve normal ESR	0
Anormal CRP veya ESR	1
D. Semptomların süresi^e	
6 haftadan kısa	0
6 hafta ve üzeri	1

ACPA: Anti sitrillenmiş protein antikoru, CRP: C-reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı, RF: Romatoid faktör,

^aEklemler tutulumu, sinovitin görüntüleme kanıtlarıyla doğrulanabilecek, muayene sırasında herhangi bir hassas eklem veya şişmiş doku anlamına gelir. DİF, birinci KMK (karpometakarpal eklem) ve birinci MTF eklem değerlendirme dışı bırakılır. Eklem tutulumunun kategorileri, tutulan eklem sayısı ve konumuna göre sınıflandırılır; eklem tutulumunun paternine göre mümkün olan en yüksek kategoriye yerleştirilir.

^bAyak bilekleri, dizler, dirsekler, omuzlar ve kalça eklemleri büyük eklemler olarak ifade edilir.

^cKüçük eklemler ise başparmak İF (interfalangeal) eklemleri, MKF eklemleri, el bilekleri, PİF eklemleri ve 2-5 MTF eklemlerini ifade eder.

^dBu kategoride tutulan en az bir eklem küçük bir eklem kategorisinde olmalıdır; diğer eklemler büyük ve ek küçük eklemlerin dahil olduğu diğer yerlerde özellikle belirtilmeyen eklem türlerini (örneğin akromioklaviküler, temporomandibular, sternoklaviküler vb.) içerebilir.

^eNegatif, normalin üst sınırından (ULN) daha az veya ona eşit anlamına gelir; düşük pozitif >ULN anlamına gelir; yüksek pozitif, >3× ULN anlamına gelir.

^fNormal ve anormal değerlendirilmeler yerel laboratuvar standartlarına göre belirlenir.

^gHastanın kendi beyanına göre değerlendirilme süresince tedavi durumuna bakılmaksızın eklemlerinin sinovit semptomlarının belirti süresi (örneğin ağrı, şişme, hassasiyet).

2.1.6. Tedavi

2.1.6.1. Birinci basamak tedaviler

Birinci basamak tedavide öncelik ve amaç ağrının hafifletilmesi ve inflamasyonun azaltılmasıdır.

Kortikosteroidler ve NSAİİ (non steroid anti enflamatuvar ilaç):

Kortikosteroidler, NSAİİ'lere oranla daha güçlü etkileri olan anti enflamatuvar ilaçlardır, bununla beraber daha fazla yan etkisi bulunmaktadır. Bu sebeple, sadece RA'nın şiddetlenmesi veya alevlenmesi boyunca kısa bir süreliğine düşük dozlarda

kullanılırlar. Kortikosteroidlerin intra artiküler enjeksiyonları, yerel inflamasyon bulguları için kullanılabilir (103).

NSAİİ'ler, asetilsalisilat, ibuprofen, naproksen, etodolak içeren ilaçlardır. Hızlı etkili olarak kabul edilmiş ilaçlardandır. Asetilsalisilat, prostaglandinlerin inhibisyonunu sağlamasıyla RA için yüksek dozlarda kullanıldığı takdirde etkili bir anti enflamatuvarıdır. Asetilsalisilat, eklem ağrısının giderilmesi için kullanılan en eski NSAİİ'lerden biridir (104).

Opioid analjezikler: RA sebebiyle ağrısı olan hastalarda opioid analjeziklerin kullanımıyla ilgili mevzuu Whittle ve ark. 2012 yılında ele almışlardır (105). Sonuçlarda tramadol, kodein ve dekstropopoksin gibi zayıf opioidlerin RA'dan kaynaklanan ağrının kısa dönemli tedavisinde etkili bir rol oynayabileceğini, bununla birlikte yan etkilerin sağladığı faydaların önüne geçtiği ortaya çıkmıştır. Bu sebeple diğer analjeziklerin öncelikli olarak kullanılması gerektiğini önermişlerdir (106).

1.1.6.2. İkinci basamak tedaviler: DMARD'ler

İkinci basamak tedavilerinin genel amaçları arasında, eklem deformitesinin ve tahribatının kötüleşmesinin yavaşlatarak veya durdurarak remisyonunu teşvik etmektir. Bu ilaçların etkili olmaları için haftalardan aylara kadar süre gerektiğinden yavaş etkili olarak kabul edilir. DMARD'lerin RA ile ilişkisi olan lenfoma gelişme riskini de azaltabileceği ortaya konmuştur (107).

Metotreksat (MTX), birincil ikinci basamak ilaçtır (aynı zamanda " anchor " ilaç olarak da kabul edilir). MTX, yan etkileri (karaciğer problemleri, siroz ve kemik iliğinin kötüye gitmesi gibi etkilere sebep olabilir) sebebiyle düzenli kan testlerinin yapılmasının gerekli olduğu bir immünsüpresif ilaçtır. Diğer DMARD'larla karşılaştırıldığında daha düşük yan etki insidansını gösteren etkili bir DMARD'dır ve doz ayarlaması esnekliği bulunmaktadır (108).

2.1.6.3. Yeni ilaçlar

Yeni ilaçların içinde biyolojikler yer almaktadır. Biyolojikler; biyolojik DMARD'ler olarak da bilinen ilaçlar, RA'nın sebep olduğu eklem hasarının kötüleşmesini hızla yavaşlatmada etkilidir. Onlar daha çok" tanımlanmış, doğrudan ve hedeflenmiş" bir tedavi modalitesi olarak kabul edilir. Bununla beraber, ciddi yan etkilere (enfeksiyon

riskinin artması gibi) sebep olma sorununu da beraberinde getirir. Diğer yaygın görülen yan etkileri arasında lenfoma ve multipl skleroz gibi hastalıklar bulunur (109-111).

2.6.1.4. Cerrahi

RA'lı hastalarda 1990'larda eklem cerrahisi en yüksek noktaya ulaşmıştır. Bununla beraber, 2010 yılında yapılmış bir çalışmada 40-59 yaş arasındaki RA hastalarında eklem cerrahisi oranlarının düştüğü gösterilmiştir. Buna rağmen, 60 yaşından büyük hastalarda cerrahi oranlarında artış rapor edilmiştir. Başlangıçta cerrahi olmayan yaklaşımların tümünün başarısız olduğu durumlarda inatçı eklem ağrısı veya fonksiyonel gerileme sebebiyle eklem tahribatından sonra başvurulmuş bir yöntemdir. Bu noktada hastalık "son evre" olarak kabul edilir (112, 113).

2.1.6.5. Diğer tedaviler: fizik tedavi ve iş uğraşı tedavisi

RA hastaları aynı zamanda fizik tedavi ve iş uğraşı tedavilerinden de fayda görürler. Eklem çevresindeki kasları güçlendirmek ve eklem hareketliliğini korumak amacıyla düzenli olarak egzersiz yapmaları önerilir. Yoga, yüzme ve tai chi gibi kas gücü için iyi aynı zamanda eklem için daha az travmatik hareket egzersizleri önerilir (114).

2.2. DENEYSEL ARTRİT MODELLERİ

İnsanlarda RA hastalığını birebir taklit edebilen bir hayvan modeli mevcut değildir, bu sebeple benzerliği en yüksek modele yönelik çalışmalar birçok hayvan türünde geliştirilmektedir. Bununla birlikte genellikle fareler ve sıçanlar RA'nın patogenezi ve ilerleyişi incelemek için kullanılır. Rodent modelleri geniş ölçüde kullanılmasının nedenleri arasında genetik arka planın homojenliği, düşük maliyetli olması ve kolaylıkla tutulabilmeleri gibi faktörler yer alır. Çoğunlukla, hayvanlarda artritin oluşturulması hastalık artritojenik niteliklere sahip bir kimyasal ajanın uygulanması yoluyla geliştirilir. Ayrıca hayvan modellerinin genetik çalışmalar için de kullanmanın bir başka yararı da genomu seçici olarak değiştirmeye olanak sağlamasıdır (örneğin

knockout, konjenik veya transgenik türler üretimi) ve genetik haritalama yapma imkânı sunar (115).

Farelerde kullanılan RA modelleri 2'ye ayrılır. Bunlar indüklenmiş RA ve genetik olarak manüpüle edilmiş hayvan modelleridir. İndüklemiş RA modelleri; CIA (kollajenle indüklenmiş artrit), kartilaj oligomerik protein indüklü artrit, adjuvant indüklü artrit, pristan indüklü artrit, streptokokal hücre duvarı indüklü artrit, proteoglikan indüklü artrit modelini içerir. Genetik modifiye edilmiş RA modelleri; K/BxN transgenik modeli, TNF transgenik modeli, SKG modeli, IL-1RA^{-/-} transgenik modelini içerir (116, 117).

2.2.1. İndüklenmiş artrit modelleri

2.2.1.1. CIA (kollajenle indüklenmiş artrit) modeli: CIA modeli, insanda görülen RA ile birçok benzerliği paylaşır (118). Kollajene ve kendine karşı otoantikor üretmesi aynı zamanda tolerasyonunun bozulması özellikleri RA çalışmaları için CIA'yı *in vivo* modelinin altın standartı haline getirmektedir. CIA ilk kez sıçanlarda tanımlanmıştır (119) ve daha sonra hassas suşlara (120) (örn: DBA/1, B10.Q ve B10.RIII DBA/1) (121) heterolog kollajen tip II'nin CFA içinde inokülasyonu ile oluşturulabileceği gösterilmiştir. Duyarlılığın, MHC Sınıf II I-A^q haplotiplerine sahip suşlarla bağlantılı olduğu; bununla birlikte, birçok fare suşunun CIA'ya değişken derecelerde duyarlılığının olduğu nettir. Benzer şekilde patogenezi HLA-DR4 ve HLA-DR1 ile ilişkili olan RA hastalarında, sınırlı sınıf II genotipleri bulunabilir (122). CIA, insan RA'sı gibi kartilaj tahribatı, sinoviyal sıvının inflamasyonu, kemik erozyonuyla ayırt edilebilen poliartrit bir modeldir (118).

2.2.1.2. Kartilaj oligomerik protein indüklü artrit (COMP): Yatkın olan fare ırklarında COMP ile indüklenmiş fare artrit modeli, artrit patogenezini daha iyi anlayabilmek adına alternatif ve uygun bir model olarak kullanılabilir. Artrit başlangıcı ani şekilde olup ön ve arka pençelerin şişlik ve eritem görünümüyle karakterizedir. Artrit, ayak parmağı ekleminde distal şekilde gözlemlenir ve aynı zamanlarda birkaç gün içerisinde el bilekliği/ayak bileği eklemlerinde alevlenme gözlemlenir (123).

2.2.1.3. Adjuvant indüklü artrit (AIA): Yatkın olan fare ırkı, subkutan veya intradermal enjeksiyonlarla antijenle immünize edilir ve daha sonra aynı antijenle maruz bırakılır. Antijen genel olarak metillenmiş sığır serum albümini gibi katyonik bir madde olup, negatif yüklü kartilaja bağlanması sonucu eklemlerde tutulur. Antijen bir veya her iki eklem içerisine enjekte edilir ve akut inflamasyon hızla ilerleyerek eklem tahribatına sebep olur (124).

2.2.1.4. Pristan indüklü artrit (PIA): İntraperitoneal hidrokarbon pristanın hassas suşlara sahip farelere enjeksiyonu, enjeksiyondan 2-10 ay sonra kendini gösteren, %22-100'lük bir insidans oranıyla kronik artrite sebep olduğu bulunmuştur (125). PIA, insan RA'sında var olan eklem inflamasyon ve yıkımına benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Aralarındaki bu benzerlik içerisinde, kemik aşınmaları sinoviyal hiperplazi, kırıldak erozyonları, enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve pannus benzeri oluşumlar yer alır (126).

2.2.1.5. Streptokokal hücre duvarı (SCW) indüklü artrit: SCW fragmanları farelerin bir diz eklemine eklem içerisine bir kez enjekte edilir, sonuç olarak eklem hassaslaştırılır. Yatkın olan fare suşlarında art arda şekilde SCW fragmanlarının intravenöz yolla enjeksiyonu, sıçan modellerinde gözlemlendiği şekilde alevlenme reaksiyonuna sebep olabilir. Ek olarak bu modelin modifiye edilmiş şekilleri de tarif edilmiştir. Modifiye edilmiş şeklinde, fareler ya sürekli şekilde olan inflamasyon ile sonuçlanan çoklu enjeksiyon almıştır ya da bir kez eklem içerisine olarak enjekte edilmiştir. Akut eklem inflamasyonu, SCW fragmanlarının eklem içine enjeksiyonunu takiben başlar, bu bir hafta içinde normale dönüş gözlenir ve tekrarlanan enjeksiyonlar sonucunda kronik artrit gelişimine sebebiyet verir (127).

2.2.1.6. Proteoglikan indüklü artrit (PGIA): İnsan kartilajından izole edilmiş proteoglikan, yatkın fare suşlarında artriti indüklemek amacıyla kullanılır. Balb/c ve C3H fare suşlarında gelişme gösterebilir bununla birlikte farklı tedarikçilerden temin edilen farelerin savunmasızlıkları bakımından aralarında farklılık gösterir (128). PGIA modeli, MHC'ye özgü değildir çünkü aynı sınıf II alellerine sahip olan diğer fareler PGIA'ya duyarlı değildir. Poliartrit gelişimi, RF varlığı ve immün kompleks birikimi özellikleri insan RA'sı ile ortaktır (129).

2.2.2. Genetik modifiye edilmiş artrit modelleri

2.2.2.1. K/BxN transgenik modeli: K/BxN transgenik fare modeli, pannus oluşumu, sinoviyosit proliferasyonu, lökosit invazyonu, sinovit ve kıkırdak ve kemik erozyonunun dahil olduğu, insan RA ve diğer enflamatuvar artrit formlarında ortak birçok özelliğe sahiptir. Ayrıca insan RA'sının immünolojik anormallikleri olan hipergamaglobulinemi, poliklonal B hücresi aktivasyonu ve otoantikör üretimi özelliklerine de sahiptir. Bununla birlikte, K/BxN transgenik fareleri, RA'nın ayırıcı edici özelliği olan RF'ye sahip değildir. Bu farklılık nedeniyle araştırmacıların bu modelin seronegatif spondilartritler ile daha çok bağlantılı olabileceğini önermesine sebep olmuştur (130).

2.2.2.2. TNF transgenik artrit modeli: Simetrik poliartritin histopatolojik özellikleri, TNF transgenik farelerinde de belirgin olarak görülür. Sinoviyal hiperplazi, sinovyal boşlukta lenfositik ve polimorfonükleer hücrelerin infiltrasyonun yanı sıra, hastalığın başlangıcından hastalığın tüm aşamalarına kadar görülebilir. Hastalığın ileri evrelerinde eklem kartilajı yıkımı, pannus oluşumu ve fibröz dokuda büyük yıkım barizdir.

2.2.2.3. SKG modeli: Japonya'daki Sakaguchi Laboratuvarı araştırmacıları tarafından SKG modeli geliştirilmiştir. Balb/c üreme kolonisindeki nokta mutasyonları, Balb/c.SKG farelerinin gelişmesine sebep olmuştur. Bu farelerde, ZAP-70 geninin SH2 alanında spontan mutasyon vardır ve spontan artrit geliştirmişlerdir. Histolojik gözlemler sonucunda, ayak bilekleri, parmakları ve sık şekilde kuyruğun tabanının tutulumunun görüldüğü şiddetli artrit ve sinoviti içerir. Ayrıca dermatit ve pnömonit gelişimi raporlanmıştır (131).

2.3. *GANODERMA LUCIDUM* MANTARI (*G. LUCIDUM*) VE GANODERİK ASİT A (GAA)

2.3.1. *Ganoderma Lucidum* Mantarının genel özellikleri

Ganoderma (Ganodermaceae), Japonca'da "reishi" ve Çince'de "lingzhi" olarak bilinen tüketilebilir aynı zamanda tedavi edici özelliği olan bir mantardır. *G. Lucidum*, başta Çin, Kore ve Japonya olmak üzere 2000 yılı aşkın süredir Asya ülkelerinde sağlığı iyileştirmek, uzun ömürlülüğü desteklemek, enerjiyi arttırmak ve bağışıklığı geliştirmek için kullanılmaktadır (132). Hiperglisemi, kronik bronşit, hepatit, arteriyoskleroz, hipertansiyon, kas distrofisi, hiperkolesterolemi, kanser ve lökopeni gibi hastalıklarda son yıllarda yapılan farmakolojik çalışmalarda *G. Lucidum*' un faydalı klinik etkilerinin doğrulandığı raporlanmıştır (133-138). Modern araştırmalar, *G. Lucidum* 'un triterpenoidler, adenosin, alkaloidler, polisakkaritler, çeşitli mineral elementler amino asitler ve organik germaniyum gibi çeşitli kimyasal içeriklere sahip olduğunu ortaya koymuştur (139-142). Polisakkaritler ve triterpenoidler 2 ana bileşenidir ve bunların farmakolojik aktivitelerin çoğundan sorumlu oldukları düşünülmektedir (143). Bunlar *G. Lucidum* triterpenoidleri (GLT) ve *G. Lucidum* polisakkaritleri (GLP)'dir.

2.3.1.1. *G. Lucidum* Triterpeneoidleri (GLT)

Triterpenoidler yüksek oranda oksijenlenmiş lanostanlardır. Şimdiye kadar, *G. Lucidum* 'un sporlarından, misellerinden ve meyve veren gövdelerinden 140'tan fazla triterpenoid izole edilmiştir (144). GLT, membran reseptör tirozin kinazları ile etkileşime girdiği bildirilmiştir (145). GLT'in birçoğu anti anjiyojenik, anti tümör (146), anti hipertansif, anti HIV-1, anti androjenik, immüno modülatör (147), anti komplement, anti mikrobiyal aktiviteler (148), anti hepatit B ve anti oksidan aktivite dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteler sergiler.

En fazla miktarda bulunan GLT'den birisi olan ganoderik asitler (GA'lar)'in anti oksidatif stres, anti tümör, anti apoptotik ve anti enflamatuvar etkileri vardır (149-152). GA'lar arasında Ganoderik Asit A (GAA), B, C, D, E, F, G, H, J, K, DM, B8, C1, Df,

AM1, GS-1 gibi GA'lar yer alır. Kimyasal formülü $C_{30}H_{44}O_7$ olan GAA, GLT' nin en çok bulunan bileşenidir (153).

GLT, prelinik ve klinik çalışmalarda kullanılmaktadır. Örneğin GAA, HepG2 hepatoblastom hücrelerinde apoptoz indüksiyonunu TNF- α afinite farmakolojik aktivitesiyle, Faz I çalışmasında olduğu bildirilmiştir (154).

2.3.1.1.1. Ganoderik Asit A (GAA)

Triterpenoidlerin en önemli bileşeni olan Ganoderik asit A (GAA), nispeten iyi anti-enflamatuvar, anti tümör, karaciğer fonksiyonlarını düzenleme ve koruma, kan lipidini düşürme, anti epileptik aktivite gösterme (155), fonksiyonel dispepsi üzerinde koruyucu etkisi olan (156), intervertebral disk dejenerasyonu üzerine potansiyel terapötik bir ilaç olarak raporlandığı (157), inme sonrası depresyon benzeri davranışları ve beyin inflamasyonunu azalttığı (158), miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu etkileri (159) gibi diğer farmakolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (160). Ayrıca Das ve ark., GAA'nın p-AKT, p-mTOR ve Wnt-2'nin protein ekspresyonunu değiştirerek grade III meningioma hücrelerinin büyümesini engellediğini bulmuşlardır (161). Chi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, GAA'nın NF- κ B (p65) ekspresyonunu inhibe ederken fare kaynaklı kortikal mikrogial hücrelerden LPS kaynaklı TNF- α , IL-1 β ve IL-6 salınımını azaltabileceğini göstermiştir (162).

2.3.1.2. *G. Lucidum* Polisakkaritleri (GLP)

Suda çözünür polisakkaritlerden olan GLP, homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritlerden oluşur (158, 159). Homopolisakkaritler, siklin üretimini inhibe ederek ve hücrel stres yanıtlarını indükleyerek tümör hücresinin büyümesini baskılayabilir (165). Diğer yandan, heteropolisakkaritler de üstün anti tümör ve immüno modülatör özellikler sergilemektedir; bu da ana bileşenler olarak veya değişik kombinasyonlarda fukoz, glukoz, galaktoz, mannoz, ksiloz ve arabinoz gibi farklı monosakkaritlerin çeşitliliğine bağlanmaktadır (166).

2.3.2. *G. Lucidum*'un biyolojik aktiviteleri

GLP benzersiz hipolipidemik, antioksidan, hipoglisemi özelliklere sahiptir ve mikrobiyal topluluk çeşitliliğini ve bağırsak bariyer fonksiyonunu ve

iyileştirir/düzenler (162). Anti inflamatuvar, anti tümör, anti oksidan ve antibakteriyal etkileri bilinmektedir.

2.3.2.1. Anti inflamatuvar etkileri

GLP'lerin anti enflamatuvar aktiviteleri, karragenan ile indüklenen ödem ve formalin ile indüklenen ödem inflamasyon analizleri ile belirlenmiştir. GLP'nin formalin ile indüklenen kronik inflamasyonu ve karragenan ile indüklenen akut inflamasyonu ve başarılı bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir (168). Bununla paralel olarak, GLP'den elde edilmiş etil asetat ve metanol ekstraktlarının farelerde akut ve kronik inflamatuvar modellerde önemli anti inflamatuvar aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (169). *G. Lucidum* ekstreleri, sitokinlerin önemli ölçüde baskılanması nedeniyle mükemmel anti enflamatuvar aktivite sergilemektedir: IL-23p19, IL-6, immünomodülatör moleküller: S100A8, S100A7, S100A9 ve kemokinler: CCL5, CCL20 ve CXCL8 (170).

2.3.2.2. Anti tümör etkileri

AP-1 ve NF- κ B sinyalizasyonunu modüle edilmesi ile GA-H ve GAA, meme kanseri hücrelerinin invaziv davranışını ve büyümesini baskılar (171). GLT ek olarak hücre döngüsünün durmasına da neden olur. İlk olarak hücre büyümesinin G1 fazında siklin D1'i aşağı regüle ederler ve ardından G2 büyüme fazında PKC aktivitesini inhibe ederler. Ek olarak kanser hücre hatlarında apoptozu indüklerler. Ayrıca, IL-8'i ve MMP'leri modüle ederek tümör metastazını önlerler ve enflamatuvar sitokinlerin atılımını inhibe ederler (172).

2.3.2.3. Anti oksidan etkileri

GLP *in vitro* çalışmalarda bazı antioksidan etkiler göstermiştir. Antioksidan enzimlerin (CAT, GPx ve SOD) aktivitelerini arttırabilmişlerdir. XiaPing ve ark. (173) Serviks kanserli sıçanlarda IL -6 , TNF- α ve IL -1 β seviyelerini düşürmüşlerdir.

2.3.2.4. Anti bakteriyel etkileri

G. Lucidum'dan izole edilen peptitler *Salmonella typhi* ve *Escherichia coli*' ye karşı artan anti bakteriyel aktivite göstermiştir. Bunun muhtemelen iki mekanizmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. İlki bakteriyel hücrelerde oluşan hücre içi protein sızıntısının indüksiyonu, ikincisi ise inhibitör etki ve reaktif oksijen türlerinin

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

40 adet Balb/c erkek fare (15-18 gr) SÜDETAM (Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi)' dan satın alındı ve polipropilen kafeste muhafaza edildiler. Deneylerin 0. gününde 40 farenin tamamının ağırlıkları ölçüldü ve diğer parametreleri ölçülüp kaydedildi. Standart laboratuvar koşullarında (12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık döngüsü, havalandırma sistemine sahip, 22 °C sıcaklık, %50-60 nisbi nem oranı) muhafaza edildi. Enfeksiyondan uzak şekilde ve beslenmeleri musluk suyu ve pellet yem ile ad libidum olarak veteriner hekim kontrolünde karşılandı. 32 gün boyunca takip edildiler ve 31. gün anestezi altında cerrahi sırasında kardiyak puncture ile ekssanguinasyon yöntemi ile sakrifikasyon gerçekleştirildi. Bütün deneysel hayvan çalışmaları Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu yönergeleri dikkate alınarak gerçekleştirildi ve etik onam alınmış olup Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Onay Belgesi Ek.1 ve 2'de sunulmuştur.

Deneysel çalışmalar SÜDETAM' da yapıldı. Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (SAÜ-BAP, 2022-7-24-107) tarafından desteklendi.

3.2. DENEY GRUPLARI VE UYGULAMALAR

0. Gün 40 fare rastgele 5 gruba eşit sayıda ayrıldılar.

Tablo 3: Deney grupları ve uygulamalar

Deney grupları (n=8)	Uygulamalar
Kontrol (K) grubu	1. gün fareler anestezi altında iken serum fizyolojik (SF) sol diz eklemine intrartiküler yolla Hamilton enjektörü ile 10 µl hacminde uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı, SF subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. gün fareler anestezi altında iken SF sol diz eklemine intrartiküler yolla Hamilton enjektörü ile 10 µl hacminde uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı, SF subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. günden başlayarak 30. gün dahil SF (20 mg/kg) gavaj yoluyla verildi.
Asetik asit (AA) grubu	1. gün fareler anestezi altında iken 0.1 M asetik asit sol diz eklemine intrartiküler yolla Hamilton enjektörü ile 10 µl hacminde uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı, SF subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. gün fareler anestezi altında iken 0.1 M asetik asit sol diz eklemine intrartiküler yolla Hamilton enjektörü ile 10 µl hacminde uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı, SF subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. günden başlayarak 30. gün dahil serum fizyolojik (20 mg/kg) gavaj yoluyla verildi.
Deney (D) grubu	1. gün fareler anestezi altında iken 0.1 M asetik asitte çözündürülmüş kollajen emülsiyonu sol diz eklemine intrartiküler yolla Hamilton enjektörü ile 10 µl hacminde uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı. Tamamlanmış Freund adjuvant (CFA) subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. gün fareler anestezi altında iken kollajen emülsiyonu sol diz eklemine Hamilton enjektörü ile intrartiküler yolla 10 µl uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı. Tamamlanmamış Freund adjuvant (IFA) subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. günden başlayarak 30. gün dahil serum fizyolojik (20 mg/kg) gavaj yoluyla verildi.
Düşük doz GAA (DGAA) grubu (20 mg/kg)	1. gün fareler anestezi altında iken kollajen emülsiyonu sol diz eklemine Hamilton enjektörü ile intrartiküler yolla 10 µl uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı; CFA subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. gün fareler anestezi altında iken kollajen emülsiyonu sol dizine Hamilton enjektörü ile intrartiküler yolla 10 µl uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı. IFA subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. günden başlayarak 30. gün dahil GAA (20 mg/kg) gavaj yoluyla verildi.
Yüksek doz GAA (YGAA) grubu (40 mg/kg)	1. gün fareler anestezi altında iken kollajen emülsiyonu sol diz eklemine Hamilton enjektörü ile intrartiküler yolla 10 µl uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı; CFA subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. gün fareler anestezi altında iken kollajen emülsiyonu sol diz eklemi Hamilton enjektörü ile intrartiküler yolla 10 µl uygulandı; sağ dizi kontrol olarak kullanıldı. IFA subkutan yolla sırta 100 µl enjekte edildi. 22. günden başlayarak 30. gün dahil GAA (40 mg/kg) gavaj yoluyla verildi.

AA: Asetik asit, CFA: tamamlanmış Freund adjuvant, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, GAA: Ganoderik Asit A, IFA: tamamlanmamış Freund adjuvant, K: Kontrol, SF: serum fizyolojik, YGAA: Yüksek doz GAA

Tablo 4: Yapılan işlemler

İlk enjeksiyon günü (1. gün)	2. enjeksiyon günü (22. Gün)	22. günden 30. gün dahil	31. gün
K grubu: SF (i.a) + SF (s.c)	K grubu: SF (i.a) + SF (s.c)	K grubu: SF gavaj	Sakrifikasyon
AA grubu: AA (i.a) + SF (s.c)	AA grubu: AA (i.a) + SF (s.c)	AA grubu: SF gavaj	
D grubu: Kollajen (i.a) + CFA (s.c)	D grubu: Kollajen (i.a) + IFA (s.c)	D grubu: SF gavaj	
DGAA grubu: Kollajen (i.a) + CFA (s.c)	DGAA grubu: Kollajen (i.a) + IFA (s.c)	DGAA: 20 mg/kg GAA gavaj	
YGAA grubu: Kollajen (i.a) + CFA (s.c)	YGAA grubu: Kollajen (i.a) + IFA (s.c)	YGAA: 40 mg/kg GAA gavaj	

AA: Asetik asit, CFA: tamamlanmış Freund adjuvant, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, GAA: Ganoderik Asit A, IFA: tamamlanmamış Freund adjuvant, i.a: intra artiküler, K: Kontrol, SF: serum fizyolojik, s.c: subkutan, YGAA: Yüksek doz GAA

**Şekil 1:** DGAA ve YGAA grubunun enjeksiyon ve GAA uygulama günleri

3.2.1. Kullanılan Ajanlar ve Hazırlanışı

3.2.1.1. GAA

GAA dozları Cao ve ark. (173) tarafından belirtildiği üzere ayarlandı. GAA ticari olarak (E-0420, 100 mg, saflık: $\geq$ %98, Tauto Biotech Shanghai, China) temin edildi. GAA çözücüsü olan Methanol ticari olarak (TK.120320,01001, Tekkim) temin edildi. Belirlenen dozlarda çözdürüldü.

3.2.1.2. Asetik asit hazırlanması

0.1 M asetik asit asit hazırlanması için 1 ml asetik asit (100056, Merck) ticari olarak temin edildi ve 9 ml distile suda çözündürüldü toplamda 10 ml asetik asit karışımı elde edildi.

3.2.1.3. Bovine nasal septumdan elde edilmiş kollajen temini ve kollajen emülsiyonu hazırlanması

Bovine nasal septumdan elde edilmiş ‘Bornstein and Traub Type II kollajen’ ticari olarak (C7806, 5 mg, Sigma Aldrich Co. St. Louis, USA) temin edildi. 0.1 M asetik asit içinde çözündürüldü 2 mg/ml konstasyona sahip kollajen emülsiyonu hazırlandı. 1 ml asetik asit (100056, Merck) ticari olarak temin edildi ve 9 ml distile suda çözündürüldü toplamda 10 ml asetik asit karışımı elde edildi.

Her bir fareye 10 µl kollajen emülsiyonu enjekte edildi. 3 gruba toplamda ise 240 µl kollajen emülsiyonu enjekte edildi. 2 mg/ml konsantrasyonda 240 µl kollajen emülsiyonu hazırlanması için 0,48 mg kollajen 0.24 ml 0.1M asetik asit asitte çözündürüldü. Aynı işlem deneyin 22. günü tekrarlandı ve elde edilen bovine nasal septum kollajen emülsiyonu intraartiküler uygulandı.

3.2.1.4. Tamamlanmış Freund adjuvant (CFA) temini

CFA (F5881, 10 ml, Sigma Aldrich Co. St. Louis, USA) ticari olarak temin edildi. 1 ml CFA; 1 mg ısıyla öldürülmüş ve kurutulmuş *Myocobacterium tuberculosis* (H37Ra ATCC 25177 suşu) içerir.

3.2.1.5. Tamamlanmamış Freund adjuvant (IFA) temini

CFA’nın ana dezavantajı granulomalara, enjeksiyon sahasında inflamasyona ve lezyonlara sebep olabilme ihtimalidir. CFA’nın içerisindeki *Myocobacterium tuberculosis* makrofajlara ve enjeksiyon sahasındaki diğer hücrelere saldırır ki bu da bağışıklık cevabını artırır. Bu sebeplerle genellikle CFA başlangıç enjeksiyonu olarak kullanılır. Yan etkilerini azaltmak amacı IFA 2. immünizasyon için uygulandı (179, 180). IFA (F5506, 10 ml, Sigma Aldrich Co. St. Louis, USA) ticari olarak temin edildi. 1ml IFA; 0.85 ml parafin yağı ve 0.15 ml mannit monooleat içerir.

3.3. FARELERDE ARTRİT MODELİNİN İNDÜKLENMESİ

Fareler enjeksiyonlardan önce ketamin+ksilazin (9/1 oranında) ile intraperitoneal yolla anestezi edildiler. Anestezi altındaki farelerin nefeslerinin düzenli ve yavaş olduğundan emin olmak amacıyla sürekli gözlem altında tutuldu. Farelerin arka pençesi sıkıldığında geri çekme refleksinin kaybı derin anestezi varlığını gösterdi.

Enjeksiyon öncesinde anestezi altında sol ekstremite tıraş edildi ve alkol ile bölge sterile edildi. Her enjeksiyondan önce ve sonra Hamilton enjektörü (10 µl, 701N, ga26s, pst2, Hamilton) ucu alkol ile silindi.

D, DGAA ve YGAA gruplarına anestezi altında “1” inci günde, 10 µl’lik Hamilton enjektör kullanılarak 0.1 M asetik asit içinde 2 mg/ml son konsantrasyona sahip kollajen emülsiyonu farelerin sol diz eklemi içerisine 10 µl olacak şekilde i.a enjekte edildi. Kollajen emülsiyonu enjeksiyonundan hemen sonra 100 µl CFA farelerin sırt bölgesine subkutan olarak enjekte edildi. Fareler kafeslerine geri konuldu ve anesteziden çıkmaları beklendi. İmmünizasyonun artırılması için 22. gün aynı gruptaki farelere bu sefer CFA yerine IFA (176) ve kollajen emülsiyonu aynı yollarla ve anestezi altında aynı dozda yine uygulandı.



Resim 3: İntraartiküler yolla kollajen emülsiyonu uygulaması

3.4. GAA UYGULAMASI

DGAA grubuna 20 mg/kg dozunda, YGAA grubuna ise 40 mg/kg dozunda GAA gavaj yoluyla 9 gün boyunca verildi.



Resim 4: Gavaj uygulaması

3.5. DEĞERLENDİRİLEN PARAMETRELER

3.5.1. Vücut ağırlığının değerlendirilmesi

Vücut ağırlıkları (Hassas terazi, PCB, KERN) deney boyunca iki günde bir olarak ölçüldü ve kaydedildi (177).

3.5.2. Artrit skorunun değerlendirilmesi

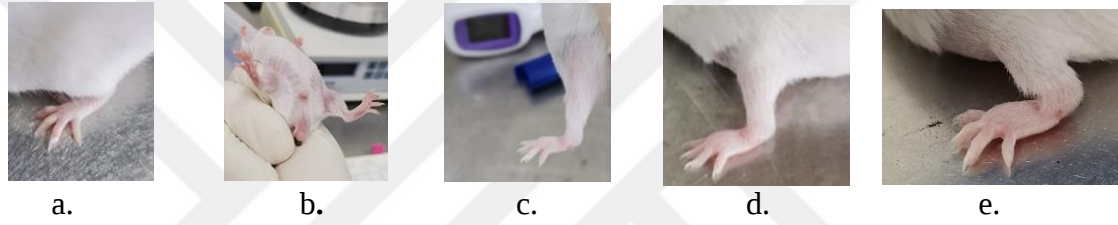
Deney öncesi, 3.,6.,8.,11.,13.,16.18.,21.,23.,26.,28.,30. günlerde artrit skoruna bakıldı. Artritin şiddeti aşağıdaki kriterlere göre her ekstremitte 0-4 arasında derecelendirildi (183). Tablo 5'te artrit skoru derecelendirilmesi gösterildi. Resim 5., 5.a ve 5.b'de alt ekstremitte ve üst ekstremitte artrit skorları puanlaması gösterildi.

Tablo 5: Artrit skoru değerlendirmesi

Artrit Skoru	Skorun derecelendirmesi
0	Ödem veya şişlik yok
1	Hafif ödem ve sınırlı eritem
2	Ayak bileğinden tarsal kemiğe kadar hafif derecede ödem ve eritem
3	Ayak bileğinden tarsal kemiğe kadar orta derecede ödem ve eritem
4	Ayak bileğinden tüm bacağa ödem ve eritem

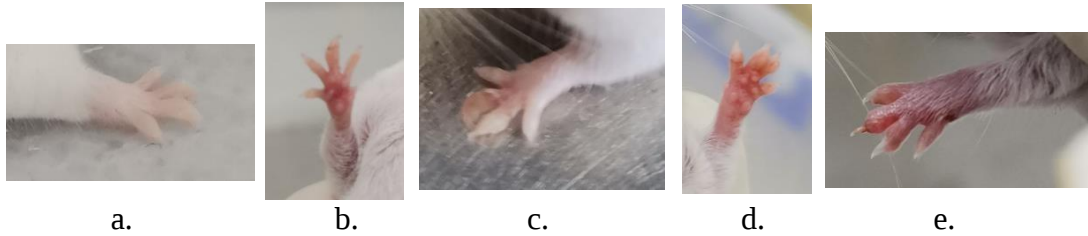
Her fare için artrit skoru, dört ekstremiteye verilen puanların toplamı alındı (her fare için maksimum 16 puan).

Resim 5: Artrit skoru puanlaması



Resim 5.a.: Alt ekstremitte artrit skorları puanlaması

a=0, b=1, c=2, d=3, e=4



Resim 5.b.: Üst ekstremitte artrit skorları puanlaması

a=0, b=1, c=2, d=3, e=4

3.5.3. Diz eklemi sıcaklığının değerlendirilmesi

İnfrared sıcaklık termometresi (Infrared Thermometer IR988 Ateş Ölçer, İNFRARED) kullanılarak diz eklemlerinin cilt sıcaklığı patelladan üzerinden ölçüldü (179). Ölçümler 3 günde bir yapıldı. Sonuçlar kaydedildi.



Resim 6: Kullanılan infrared sıcaklık termometresi

3.5.4. Diz eklemi çevresi değerlendirilmesi

Her iki diz eklemi çevresi kumpas (0-150mm 6 inç Sertleştirilmiş Paslanmaz Çelik İnce çene Dijital kumpas/İnce Ölçüm Pençe sürmeli Kumpas, JKTOOL) ile ölçülerek değerlendirildi. Ölçümler deney öncesi, 2. enjeksiyondan önce ve sakrifikasyon öncesinde yapıldı. Diz çapı eklem seviyesinden kumpas ile anteroposterior ve mediolateral çap (mm) ölçüldü. Resim 7’de kumpasla diz eklemi çevresi ölçümü anteroposterior ve mediolateral olarak gösterildi.



a.



b.

Resim 7: Kumpasla diz eklemi çevresinin ölçümü

Anteroposterior (a), mediolateral (b)

3.5.5. Ağrının davranışsal değerlendirilmesi

Deney süresi boyunca spontan ağrıyla değerlendirmek için diz eklemi postürleri iki günde bir ölçüldü. Bunun için ağrının davranışsal değerlendirme skalası kullanıldı ve kaydedildi (185).

Tablo 6: Ağrının davranışsal değerlendirme skalası

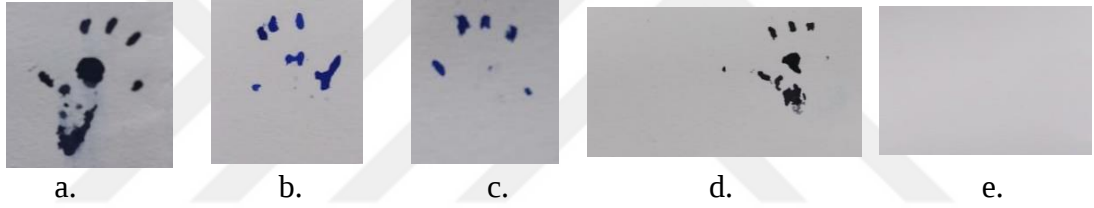
Puanlar	Açıklaması
0	Normal
1	Ayakta bükülme hareketi
2	Pençede eversiyon
3	Parsiyal ağırlık aktarımı (weight bearing)
4	Ağırlık aktaramama (non-weight bearing) ve guarding (koruma)
5	Arka diz eklemleri ile temas etmekten kaçınma

3.5.6. Yürüyüş değerlendirilmesi

Farelerin arka pençeleri mürekkebe batırıldı ve farelerin beyaz kağıt üzerinde 60 cm yürütmesine izin verildi. Deney öncesi, 2. hafta ve sakrifikasyon öncesinde ölçülüp kaydedildi. Ayak izleri şu şekilde puanlandı (181):

Tablo 7: Ayak izleri puanlama skalası

Puanlar	Açıklaması
0	Normal ayak izi
1	Kısmi ayak izi (topuk yok)
2	Yalnızca parmaklar
3	Tek ayak izinin olmaması
4	Toplam ayak izi yokluğu

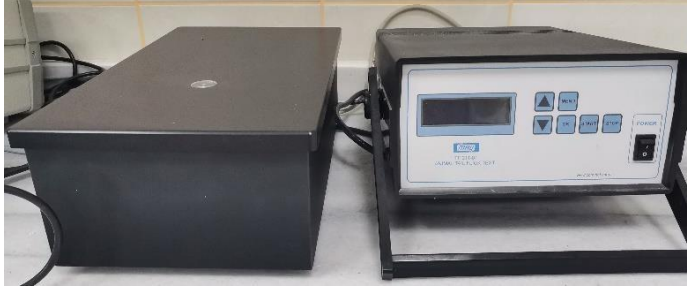


Resim 8: Ayak izleri puanları

a=0, b=1, c=2, d=3, e=4

3.5.7. Kuyruk vuruşu testi

Deney öncesi, 2. hafta ve sakrifikasyon öncesinde boyunlarından kısıtılan farelerin kuyrukları serbest şekilde ısı kaynağının merkezi, kuyruğun proksimalinin 0.5 cm uzaklığına yerleştirildi ve cihaz (Animal Tail Flick, TF 211-01, V6.0, power %60, cut off:10 s, Commat Ltd.) çalıştırıldı kuyruğunu oynattığı an veri olarak alındı (182). Kullanılan kuyruk vuruşu testi cihazı Resim 9'da gösterildi.



Resim 9: Kullanılan kuyruk vuruşu cihazı

3.5.8. Sıcak plaka testi

Deney öncesi, 2. hafta ve sakrifikasyon öncesinde 55 ± 0.5 C° sıcaklığına sahip sıcak plaka cihazına (Analgesic Hot Plate, AHP 0603 Commat Ltd.) koyulan fareler ön pençelerini yaladıkları ve/veya zıpladıkları zaman kaydedildi (188).



Resim 10: Kullanılan sıcak plaka cihazı

3.5.9. Lokomotor aktivite testi

Deney öncesinde ve sakrifikasyondan önce lokomotor aktivite cihazı (Locomotor Activity Cabinet System, AVMS-XT Commat Ltd.) ve EthoVision XT 8.5 programı kullanılarak gerekli düzenlemeler yapıldı. Kullanılan lokomotor aktivite cihazı resim 11’de gösterildi. Her bir fare teker teker 40x40 cm alanındaki zeminde 5 dakika yürütüldü ve farelerin bu süre içinde katettikleri mesafe (cm) kaydedildi.



Resim 11: Kullanılan lokomotor aktivite cihazı

3.5.10. Alt ekstremitte indeksi değerlendirilmesi

Alt ekstremitte indeksi değerlendirilmesinde Chen ve ark. (184) uyguladığı yöntem modifiye edildi. Sakrifikasyon esnasında kaslarından sıyrılmış şeklinde hassas tartıda (XB 220A, Precisa) tartılan alt ekstremiteler vücut ağırlığına bölündü ve alt ekstremitte indeksi (mg/g) elde edildi.

3.5.11. Histopatolojik değerlendirme

Sakrifikasyondan sonra farelerin sol ekstremiteleri çıkartıldı, kasları sıyrıldı ve diz eklemleri yaralanmadı. Alınan tüm doku örnekleri ışık mikroskopik incelemeler için % 10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna (Formaldehit 100 cc; Çeşme suyu 900 cc; NaH₂PO₄ H₂O 4 g; Na₂HPO₄ 46.5 g) konuldu ve 48 saat tespit için bekletildi. Tamponlanmış nötral formaldehit ile tespit edilen doku örnekleri 48 saat sonunda trimleme işlemini takiben çeşme suyunda yıkandıktan sonra MTP yarı kapalı sistem otomatik doku takip cihazında aşağıdaki doku takip basamaklarından geçirildi. Doku takip basamakları Tablo 8'de gösterildi.

Tablo 8: Doku takip basamakları

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Distile su	1 saat
2	%50 etanol	1 saat
3	%70 etanol	1 saat
4	%80 etanol	1 saat
5	%96 etanol	45 dakika
6	%96 etanol	30 dakika
7	%100 etanol	30 dakika
8	Ksilen	1 saat
9	Ksilen	1 saat
10	Ksilen	1 saat
11	Parafin I	1 saat
12	Parafin II	1 saat

Doku takip işlemleri tamamlandıktan sonra parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 4 µm kalınlığında kesitler Hematoksilen Eosin (H&E) boyama için mikrotom ile alınan kesitler rodajlı lamlara alınarak boyama işlemine kadar kurumak üzere oda sıcaklığında bekletildi. H&E boyama basamakları tablo 9’da gösterildi.

Tablo 9: Hematoksilen Eosin Boyama

Deparafinizasyon	30 dakika (Etüvde)
Ksilol-1	2 dakika
Ksilol-2	2 dakika
%100 alkol -1	1 dakika
% 100 alkol-2	1 dakika
%96 alkol-1	1 dakika
%96 alkol-2	1 dakika
Akan su	3 dakika
Hematoksilen	3 dakika
Akan su	3 dakika
Asit alkol	2x2 saniye
Akan su	3 dakika
%80 alkol	1.5 dakika
Eosin	20 saniye
%96 alkol	2 dakika
%96 alkol	2 dakika
%100 alkol	2 dakika
%100 alkol	2 dakika
Ksilol	2 dakika
Ksilol	2 dakika

H&E boyama basamakları tamamlandıktan sonra, lamalar entellan ile kapatılarak mikroskopta incelenecek duruma hazır hale getirildi. Dokular artrit değeri ve morfolojik değişiklikler skalasına göre puanlandı. Tablo 10 ve 11 de gösterildi.

Tablo 10: Artrit değeri (185)

0	ödem veya şişlik yok
1	hafif ödem ve sınırlı eritem
2	kemiğe hafif ödem ve eritem
3	orta derecede ödem ve eritem
4	ileri derece ödem ve ayak bileğinden tüm bacağına eritem

Tablo 11: Morfolojik değişiklik skalası (184, 186)

0	Normal kırık, eklem boşluğu ve sinovyal dokular ve deri altı doku iltihabı yok
1	Normal kırık ve eklem boşluğu, hafif sinovyal doku kalınlaşması ve iltihabı ve hafif deri altı doku iltihabı
2	Normal kırık ve eklem boşluğu, hafif sinovyal doku kalınlaşması ve iltihabı ve hafif deri altı doku iltihabı
3	Normal kırık ve eklem boşluğu, orta derecede sinovyal doku kalınlaşması ve iltihabı ve orta derecede deri altı doku iltihabı
4	Normal eklem boşluk, hasar kırık, dar eklem aralığı, ciddi sinovyal doku kalınlaşması ve iltihaplanması ve ciddi deri altı doku iltihabı

3.5.12. İstatiksel değerlendirme

Çalışmanın verileri bilgisayarda SPSS 22.00 paket programı kullanılarak yapıldı veriler ortalama ve standart sapma olarak belirtildi. Anlamlılık için $p \leq 0,05$ alındı. Shapiro-wilk testi normalliği test etmek için kullanıldı normal dağılım gösterenler One-way anova testi ile değerlendirildi. Post-hoc 2li karşılaştırmalar için tukey testi kullanıldı normal dağılıma uymayanlar için Kruskal Wallis testi kullanıldı anlamlılık tespit edildiğinde Manwhitney u testi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. VÜCUT AĞIRLIĞI

Grupların deney öncesi, 6, 12, 18, 24. gün ve sakrifikasyon öncesi vücut ağırlıkları tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında 18,24,26,28. gün ve sakrifikasyon öncesinde K grubundaki farelerin vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olarak bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 18. gün 0,031, 24. gün 0,041, 26. gün 0,040, 28. gün 0,027 ve sakrifikasyon öncesinde 0,008 olarak bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında K grubundaki farelerin 18,24,28. gün ve sakrifikasyon öncesinde vücut ağırlığı istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olarak bulundu ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 18. gün 0,025, 24. gün 0,030, 28. gün 0,047 ve sakrifikasyon öncesinde 0,023 olarak bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında 6,18, 24. gün ve sakrifikasyondan önce K grubunun vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu sonucuna ulaşıldı ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 6. gün 0,048, 18. gün 0,034, 24. gün 0,025 ve sakrifikasyondan önce 0,032 olarak bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). DGAA ve YGAA karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$).

Tablo 12: Vücut ağırlığı değerleri

Gruplar (n=8)	Deney öncesi ağırlık (ort.gr±ss)	6.gün ağırlık (ort.gr±ss)	12.gün ağırlık (ort.gr±ss)	18.gün ağırlık (ort.gr±ss)	24.gün ağırlık (ort.gr±ss)	Sakrifikasyon öncesi ağırlık (gr±ss)
K grubu	17,10±1,27	20±1,45	21,5±1,57	23,3±1,75	23,56±1,96	25,16±1,85
AA grubu	16,07±1,06	18,38±1,76	20,43±1,32	21,67±0,89	22,53±1,59	23,76±1,73
D grubu	17,12±1,47	18,57±1,92	20,25± 1,78	21,21± 1,74	21,40±1,88	22,18± 1,99
DGAA grubu	16,87±1,39	18,75±1,54	20,05± 1,56	21,31±1,39	21,52±1,35	23,07± 1,37
YGAA grubu	16,56±0,64	18,31±1,66	20,11± 1,60	21,25± 1,74	21,28±1,64	22,95± 1,87

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.2. ARTRİT SKORU

Grupların deney öncesi, 6. gün, 13. gün, 21. gün, 28. gün ve 30. gün artrit skorları tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında ölçüm yapılan tüm günlerde K grubunun artrit skorunun D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). K ve AA grubu karşılaştırıldığında AA grubunun artrit skorunun 3,6,13,21,23,26,28 ve 30. günlerde istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 3. gün 0,031, 6. gün 0,034, 13. gün 0,019, 21. gün 0, 23. gün 0, 26. gün 0,027, 28. gün 0, 30. gün 0,007 olarak bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında ölçüm yapılan tüm günlerde DGAA grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında 11. gün hariç ölçüm yapılan tüm günlerde YGAA grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 3. gün 0, 6. gün 0,032, 8. gün 0,034, 13. gün 0,001, 16. gün 0,005, 18. gün 0, 21. gün 0, 23. gün 0, 26. gün 0,009, 28. gün 0, 30. gün 0,002 olarak bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında 13,16,18 ve 30. günlerde D grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 13. günde 0,006, 16. günde 0,004, 18. günde 0,013, 30. günde 0,004 olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında 18,23 ve 26. günlerde

DGAA grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 18. gün 0,045, 23. gün 0,002, 26. gün 0,036 olarak bulundu. AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubunun artrit skorunun 13,18,23. günlerde istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 13. gün 0,045, 18. gün 0,002, 23. gün 0,04 olarak bulundu. D grubu ve DGAA grubu karşılaştırıldığında artrit skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). 30. gün D grubu YGAA grubu karşılaştırıldığı zaman artrit skorları arasında istatistiksel olarak D grubunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p = 0,02$). DGAA grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında artrit skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).

Tablo 13: Artrit skoru (as) değerleri

Gruplar (n=8)	Deney öncesi artrit skoru (ort.as±ss)	6.gün (ort.as±ss)	13.gün (ort.as±ss)	21.gün (ort.as±ss)	28.gün (ort.as±ss)	30.gün (ort.as±ss)
K grubu	0	0	0	0	0,50±0,53	0,63±0,74
AA grubu	0	1,13±1,35	1,00±1,06	2,38±0,51	2,00±0,53	1,88±0,83
D grubu	0	1,25±1,03	2,88±1,24	2,88±1,12	2,63±0,74	3,50±1,06
DGAA grubu	0	1,25±0,88	2,00±1,19	2,88±2,74	2,50±0,92	2,75±1,48
YGAA grubu	0	1,25±1,48	2,50±1,60	2,75±1,66	2,50±0,92	2,13±0,83

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.3. DİZ EKLEMİ SICAKLIĞI

Grupların deney öncesi, 6. gün, 12. gün, 21. gün, 27. gün ve 30. günde sağ ve sol diz eklemi sıcaklıkları tabloda gösterildi. K ve D grubu diz eklemi sıcaklıkları karşılaştırıldığında 30. gün sağ ve sol dizde D grubunun sıcaklığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulundu. Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında sağ diz için 0,027, sol diz için 0,007 olarak bulundu. K ve AA grubu

karşılaştırıldığında 30. günde sol diz eklemi sıcaklığı AA grubunda anlamlı daha yüksektir ($p=0,044$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında 6. gün sol, 12. gün sağ, 21. gün sağ, 24. gün sol, 30. gün sağ ve sol diz eklemi sıcaklıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 6. gün sol, 24. gün sağ ve 30. gün sağ ve sol diz eklemi sıcaklığı DGAA grubunda, 12. günde ise K grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. Anlamlılık bakımından p değerine bakıldığında 6. gün sol 0,002, 12. gün sağ 0,005, 21. gün sağ 0,049, 24. gün sol 0,023 ve 30. gün sağ 0,027, 30. gün 0 olarak bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında 6. gün sol ($p=0,006$), 9. gün sağ ($p=0,007$), 12. gün sağ ($p=0,012$), 15. gün sağ ($p=0,026$), 30. gün sağ ($p=0,020$) ve 30. gün sol ($p=0,018$) diz eklemi sıcaklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. YGAA grubunun 6. gün sol, 30. gün sağ ve 30. gün sol diz eklemi sıcaklığının K grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu aynı zamanda 9. gün sağ, 12. gün sağ ve 15. gün sağ diz eklemi sıcaklığının K grubunda anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve YGAA grubunun diz eklemi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). D ve DGAA grubu sol diz sıcaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 6. gün karşılaştırıldığında ($p=0,009$) 24. gün karşılaştırıldığında ($p=0,037$), 30. gün karşılaştırıldığında ($p=0,003$) D grubunun diz eklemi sıcaklığının daha yüksek olduğu bulundu. D ve DGAA grubu sağ diz sıcaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 12. gün karşılaştırıldığında ($p=0,0018$), 18. gün karşılaştırıldığında ($p=0,022$), 21. gün karşılaştırıldığında ($p=0,027$), 24. gün karşılaştırıldığında ($p=0,002$) D grubunun diz eklemi sıcaklığının daha yüksek olduğu bulundu. D ve YGAA grubu sol diz sıcaklıkları karşılaştırıldığında 6. gün ($p=0,003$) D grubunda daha yüksek bulundu. D grubu ve YGAA grubu sağ diz sıcaklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 3. gün karşılaştırıldığında ($p=0,022$), 9. gün karşılaştırıldığında ($p=0,036$), 12. gün karşılaştırıldığında ($p=0,025$), 15. gün karşılaştırıldığında ($p=0,044$), 21. gün karşılaştırıldığında ($p=0,02$), 24. gün karşılaştırıldığında ($p=0,001$), 30. gün karşılaştırıldığında ($p=0,004$) D grubunun diz eklemi sıcaklığının anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D grubu ve YGAA grubu sağ diz sıcaklıkları

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 12. gün karşılaştırıldığında ($p=0,037$), 24. gün karşılaştırıldığında ($p=0$) D grubunun diz eklemi sıcaklığının anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubunun diz eklemi sıcaklığı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 14: Deney öncesi, 6. gün ve 12. gün diz eklemi sıcaklık değerleri

Sıcaklık (C°)	Deney öncesi sıcaklık (C°±ss)		6.gün sıcaklık (C°±ss)		12.gün sıcaklık (C°±ss)	
	Sağ diz	Sol diz	Sağ diz	Sol diz	Sağ diz	Sol diz
K grubu	36,5	36,5	36,33±0,11	36,33±0,15	36,43±0,27	36,43±0,27
AA grubu	36,5	36,5	36,10±0,54	36,86±0,88	36±0,65	36,46±0,66
D grubu	36,5	36,5	36,32±0,15	36,48±0,15	36,25±0,16	36,36±0,11
DGAA grubu	36,5	36,5	35,83±0,72	37,16±0,60	35,68±0,57	36,66±0,62
YGAA grubu	36,5	36,5	35,83±0,68	37,03±0,58	35,66±0,70	37,02±0,73

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

Tablo 15: 21. gün, 27. gün ve 30. gün diz eklemi sıcaklık değerleri

Sıcaklık (C°)	21.gün sıcaklık (C°±ss)		27.gün sıcaklık (C°±ss)		30. gün sıcaklık (C°±ss)	
	Sağ diz	Sol diz	Sağ diz	Sol diz	Sağ diz	Sol diz
K grubu	36,20±0,28	36,42±0,18	36,35±0,29	36,41±0,35	36,16±0,22	36,06±0,17
AA grubu	36,27±0,16	36,35±0,19	36,46±0,20	36,32±0,25	36,33±0,11	36,26±0,18
D grubu	36,26±0,09	36,40±0,09	36,28±0,11	36,40±0,11	36,43±0,22	36,43±0,28
DGAA grubu	36,47±0,22	36,48±0,09	36,42±0,19	36,46±0,15	36,40±0,15	36,41±0,11
YGAA grubu	36,30±0,15	36,37±0,07	36,26±0,20	36,33±0,18	36,40±0,11	36,32±0,21

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.4. DİZ EKLEMİ ÇEVRESİ

Grupların deney öncesi, 2. enjeksiyon öncesi ve sakrifikasyon öncesi verileri tabloda gösterildi. Mediolateral ML, anteroposterior AP olarak ifade edildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında 2. enjeksiyon öncesi sağ ML ($p=0,001$), 2. enjeksiyon öncesi sağ AP ($p=0,001$), 2. enjeksiyon öncesi sol ML ($p=0$), 2. enjeksiyon öncesi sol AP ($p=0$), sakrifikasyon öncesi sağ ML ($p=0,011$), sakrifikasyon öncesi sağ AP ($p=0,014$), sakrifikasyon öncesi sol ML ($p=0$) ve sakrifikasyon öncesi sol AP ($p=0,003$) değerlerinde D grubunun diz eklemi çevresi bakımından K grubundan daha yüksek eklem çevresine sahip olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında deney öncesi sol ML ($p=0,02$), 2. enjeksiyon öncesi sol ML ($p=0,011$), 2. enjeksiyon öncesi sol AP ($p=0,034$), sakrifikasyon öncesi sağ ML ($p=0,01$), sakrifikasyon öncesi sağ AP ($p=0,01$), sakrifikasyon öncesi sol ML ($p=0,001$) ve sakrifikasyon öncesi sol AP ($p=0,001$) değerlerinde deney öncesi sol ML hariç AA grubunun K grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek diz eklemi çevresine sahip olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında 2. enjeksiyon öncesi sağ ML ($p=0,001$), 2. enjeksiyon öncesi sağ AP ($p=0$), 2. enjeksiyon öncesi sol ML ($p=0$), 2. enjeksiyon öncesi sol AP ($p=0$), sakrifikasyon öncesi sağ ML ($p=0,009$), sakrifikasyon öncesi sağ AP ($p=0$), sakrifikasyon öncesi sol ML ($p=0,008$) ve sakrifikasyon öncesi sol AP ($p=0$) değerlerinde DGAA grubunun diz eklemi çevresinin K grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında 2. enjeksiyon öncesi sağ ML ($p=0,006$), 2. enjeksiyon öncesi sağ AP ($p=0,001$), 2. enjeksiyon öncesi sol ML ($p=0$), 2. enjeksiyon öncesi sol AP ($p=0$), sakrifikasyon öncesi sağ ML ($p=0,005$), sakrifikasyon öncesi sağ AP ($p=0$) ve sakrifikasyon öncesi sol AP ($p=0,003$) değerlerinde YGAA grubunun diz eklemi çevresinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Sakrifikasyon öncesi D grubu ve DGAA grubu arasında sağ ML ve sol ML eklem çevresinin istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,01$), DGAA grubunun sağ ML ve sol ML eklem çevresinin daha düşük olduğu bulundu. Sakrifikasyon öncesi

D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında sol ML ve AP eklem çevresinin YGAA grubunda daha düşük olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). DGAA grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$).

Tablo 16: Deney öncesi diz eklem çevresi değerleri

Gruplar	Deney öncesi			
	Sağ diz eklem çevresi(mm±ss)		Sol diz eklem çevresi(mm±ss)	
	ML	AP	ML	AP
K grubu	3,22±0,24	3,51±0,28	3,56±0,36	3,36±0,32
AA grubu	3,38±0,29	3,63±0,40	3,21±0,08	3,36±0,31
D grubu	3,40±0,33	3,92 ±0,63	3,51±0,32	3,39±0,27
DGAA grubu	3,56±0,42	3,79±0,85	3,24±0,46	3,63±0,72
YGAA grubu	3,23±0,51	3,49±0,85	3,32±0,56	3,37±0,63

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

Tablo 17: 2. enjeksiyon öncesi diz eklemi çevresi değerleri

Gruplar	İkinci enjeksiyon öncesi			
	Sağ diz eklem çevresi(mm±ss)		Sol diz eklem çevresi(mm±ss)	
	ML	AP	ML	AP
K grubu	3,29±0,24	3,69±0,24	3,44±0,25	3,51±0,27
AA grubu	3,71±0,52	4,13±0,54	4,12±0,60	4,34±0,95
D grubu	3,91±0,33	4,62±0,54	4,28±0,33	4,70±0,42
DGAA grubu	4,10±0,51	4,57±0,40	4,15±0,34	4,92±0,36
YGAA grubu	3,72±0,28	4,47±0,47	4,13±0,20	4,72±0,36

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

Tablo 18: Sakrifikasyon öncesi diz eklemi çevresi değerleri

Diz eklem çevresi(mm)	Sakrifikasyon öncesi			
	Sağ diz eklem çevresi(mm±ss)		Sol diz eklem çevresi(mm±ss)	
	ML	AP	ML	AP
K grubu	3,39±0,27	3,53±0,26	3,63±0,24	3,75±0,35
AA grubu	3,89±0,39	4,45±0,54	4,42±0,45	4,99±0,80
D grubu	3,97±0,49	4,27±0,69	4,56±0,42	4,69±0,65
DGAA grubu	3,88±0,37	4,48±0,33	4,03±0,27	4,50±0,26
YGAA grubu	4,05±0,49	4,73±0,33	3,87±0,57	4,47±0,44

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.5. AĞRININ DAVRANIŞSAL DEĞERLERİ

Grupların deney öncesi, 6, 12, 18, 24. gün ve sakrifikasyon öncesi ağrının davranışsal değerleri tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında 6, 26, 28. gün ve sakrifikasyon öncesinde D grubunun ağrının davranışsal değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p \leq 0,05$). Anlamlılık açısından p değerine bakıldığında 6. gün 0,022, 26. gün 0,008, 28. gün 0,003 ve sakrifikasyon öncesinde 0,004 olarak bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında 4. ($p=0,019$) ve 6. günde ($p=0,021$) AA grubunun ağrının davranışsal değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). AA ve D grubu karşılaştırıldığında 28. gün ($p=0,003$) ve sakrifikasyon öncesinde ($p=0,004$) D grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). Sakrifikasyon öncesinde D grubu ve DGAA grubu karşılaştırıldığında, D grubunun anlamlı daha yüksek olduğu ($p=0,049$); D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında ise, D grubunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p=0,027$). 28.gün D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında D grubunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu ($p=0,049$). DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$).

Tablo 19: Ağrının davranışsal değerleri

Gruplar (n=8)	Deney öncesi	6.gün	12.gün	18.gün	24.gün	Sakrifikasyon öncesi
K grubu	0	0	0	0	0	0
AA grubu	0	1,63±1,76	0,38±1,06	0	0	0
D grubu	0	1,38±1,50	0,63±1,18	0,63±1,18	0,88±1,24	1,88±1,55
DGAA grubu	0	0,25±0,70	0,13±0,35	0,50±0,92	1,13±1,55	0,50±0,92
YGAA grubu	0	1,13±1,55	0,25±0,70	0,38±1,06	1,25±1,75	0,38±0,74

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.6. YÜRÜYÜŞ

Grupların deney öncesi, 2. hafta ve sakrifikasyon öncesi yürüyüş verileri tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında 2. hafta ($p=0,019$) ve sakrifikasyon öncesinde ($p=0,001$) D grubunun yürüyüş skorlarının istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında 2.hafta ($p=0,002$) ve sakrifikasyon öncesinde ($p=0,002$) AA grubunun yürüyüş skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,019$) DGAA grubunun yürüyüş skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulunmuştur. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında 2. hafta ($p=0,026$) YGAA grubunun yürüyüş skorunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında yürüyüş skorları arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,049$) AA grubunun yürüyüş skorunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. Sakrifikasyon öncesi D grubu ve DGAA karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,033$), D grubunun yürüyüş skorunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. Sakrifikasyon öncesi D grubu ve YGAA karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,018$), YGAA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 20: Yürüyüş değerleri

Gruplar (n=8)	Deney öncesi	2.hafta	Sakrifikasyon öncesi
K grubu	0±0	0±0	0±0
AA grubu	0±0	0,88±0,64	1,13±0,83
D grubu	0±0	1,00±1,06	1,50±1,06
DGAA grubu	0±0	0,50±0,75	0,50±0,53
YGAA grubu	0±0	0,88±0,99	0,38±0,51

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.7. KUYRUK VURUŞU TESTİ

Grupların deney öncesi, 2. hafta ve sakrifikasyon öncesi kuyruk vuruşu testi verileri tabloda gösterildi. Isı kaynağına kuruğu yerleştirme ve kuyruğun çekilme süresi arasında geçen süre reaksiyon zamanı olarak alındı. K ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,043$) D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,018$) D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,049$) AA grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0$) D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,002$) D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 21: Kuyruk vuruşu değerleri

Gruplar (n=8)	Deney öncesi (s±ss)	2.hafta (s±ss)	Sakrifikasyon öncesi (s±ss)
K grubu	3,50±1,30	3,75±1,66	3,62±1,40
AA grubu	3,50±1,06	3,25±1,03	3,50±0,92
D grubu	3,87±0,83	3,25±0,70	2,37±0,74
DGAA grubu	3,62±1,18	3,87±0,99	4,5±0,92
YGAA grubu	3±1,06	3±1,06	4±0,92

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.8. SICAK PLAKA TESTİ

Grupların deney öncesi, 2. hafta ve sakrifikasyon öncesi sıcak plaka testi verileri tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). D grubu ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Sakrifikasyon öncesi D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,009$). YGAA grubunun verisinin D grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 22: Sıcak plaka testi değerleri

Gruplar (n=8)	Deney öncesi (s)	2.hafta (s)	Sakrifikasyon öncesi (s)
K grubu	11,53±3,23	13,14±3,68	11,76±4,54
AA grubu	12,21±3,34	13,95±3,39	10,66±3,81
D grubu	11,13±1,23	10,01±4,52	9,45±2,48
DGAA grubu	13,23±2,68	11,70±4,23	10,40±3,71
YGAA grubu	12,28±3,01	12,86±2,94	12,75±1,85

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.9. LOKOMOTOR AKTİVİTE TESTİ

Grupların deney öncesi ve sakrifikasyon öncesi lokomotor aktivite testinde kattıkları mesafe tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,005$) K grubunun katettiği mesafenin istatistiksel olarak D grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak

anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). AA ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde ($p=0,006$) AA grubunun katettiği mesafenin istatistiksel olarak D grubuna göre anlamli daha yüksek olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$).

Tablo 23: Lokomotor aktivite değerleri

Gruplar (n=8)	Deney ncesi (cm $\pm$ ss)	Sakrifikasyon ncesi (cm $\pm$ ss)
K grubu	1455 $\pm$ 250	2148 $\pm$ 323
AA grubu	1542 $\pm$ 293	2113 $\pm$ 291
D grubu	1537 $\pm$ 291	1609 $\pm$ 328
DGAA grubu	1537 $\pm$ 291	1849 $\pm$ 356
YGAA grubu	1498 $\pm$ 302	1878 $\pm$ 371

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.10. ALT EKSTREMİTE İNDEKSİ

Grupların alt ekstremite indeksleri tabloda gösterilmiştir. K ve D grubu karşılaştırıldığında ($p=0,016$) D grubunun indeksinin anlamli daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark bulunamadi ($p>0,05$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında ($p=0,008$) DGAA grubunun indeksinin anlamli daha yüksek olduğu bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında ($p=0,018$) YGAA grubunun indeksinin anlamli daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamli fark

bulunamadı ($p>0,05$). AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 24: Alt ekstremitte indeksi

Gruplar	Alt ekstremitte indeksi (mg/g)
K grubu	0,012 $\pm$ 0,001
AA grubu	0,020 $\pm$ 0,011
D grubu	0,024 $\pm$ 0,012
DGAA grubu	0,026 $\pm$ 0,012
YGAA grubu	0,024 $\pm$ 0,012

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

4.11. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Grupların histopatolojik değerlendirme skorları tabloda gösterildi. K ve D grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından ($p=0$) D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından istatistiksel olarak fark bulunamadı ($p>0,05$). K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru ($p=0,002$) hem de morfolojik değerlendirme skoru ($p=0,001$) bakımından DGAA grubunun verisinin anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından istatistiksel olarak fark bulunamadı ($p>0,05$). AA ve D grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru ($p=0,022$) hem de morfolojik değerlendirme skoru ($p=0,032$) bakımından D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında morfolojik değerlendirme skoru ($p=0,031$) açısından AA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve YGAA grubu

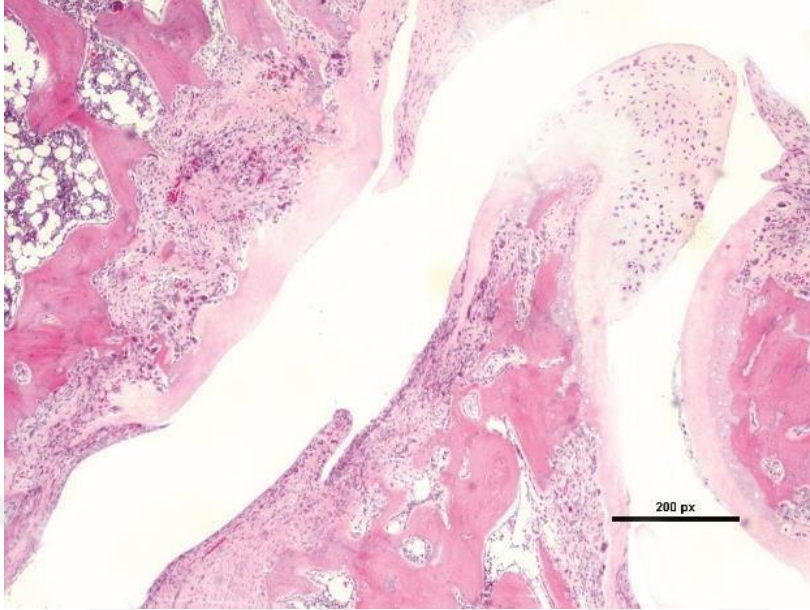
karşılaştırıldığında hem artrit skoru ($p=0,001$) hem de morfolojik değerlendirme skoru ($p=0$) bakımından AA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru ($p=0,008$) hem de morfolojik değerlendirme skoru ($p=0,001$) bakımından D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından ($p=0$) D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru ($p=0,014$) hem de morfolojik değerlendirme skoru ($p=0,031$) bakımından YGAA grubunun verisinin DGAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu bulundu.

Tablo 25: Histopatolojik değerlendirme skorları

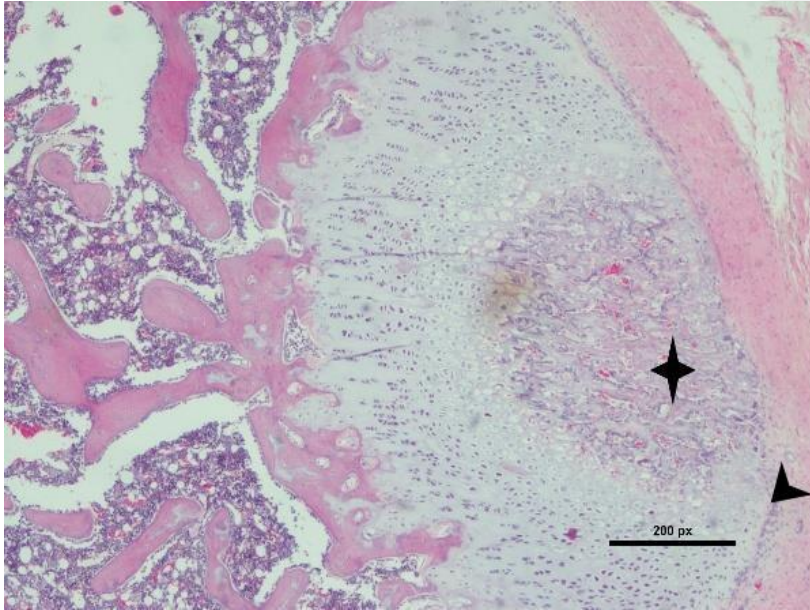
Gruplar	Artrit Skor	Morfolojik değerlendirme skoru
K grubu	0,37±0,51	0,12±0,35
AA grubu	1,87±0,64	2±0,53
D grubu	2,62±0,51	2,62±0,51
DGAA grubu	1,62±0,74	1,25±0,70
YGAA grubu	0,75±0,46	0,50±0,53

K: Kontrol, AA: Asetik asit, D: Deney, DGAA: Düşük doz GAA, YGAA: Yüksek doz GAA

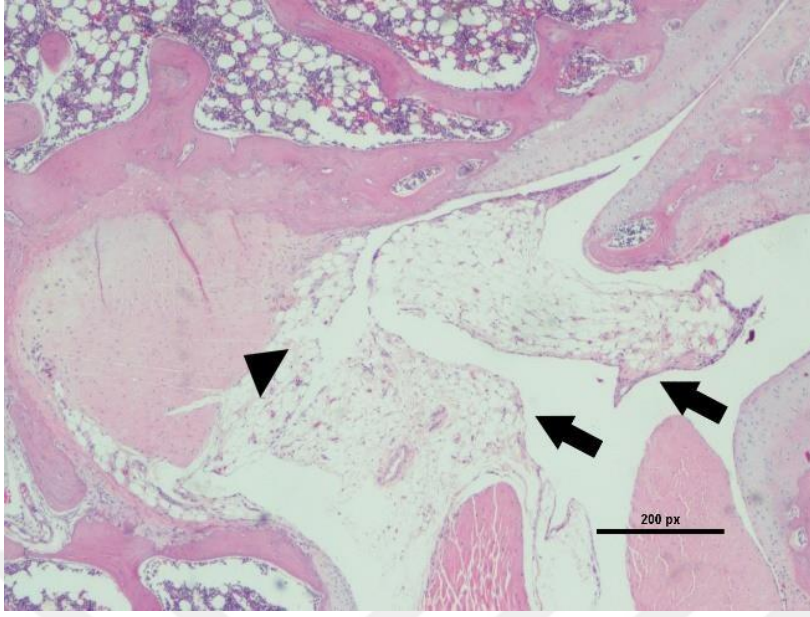
Grupların Histopatolojik Kesitleri



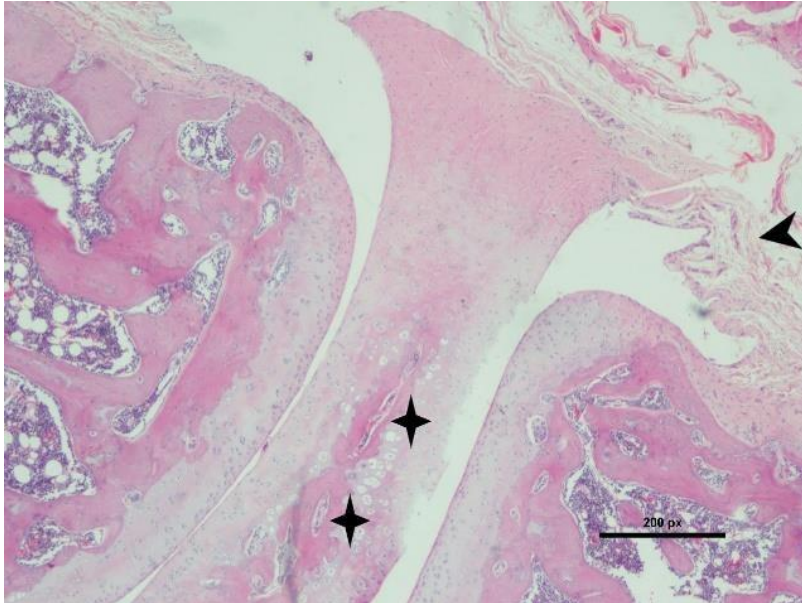
Resim 12: Kontrol grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü
Ölçü çubuğu: 200x



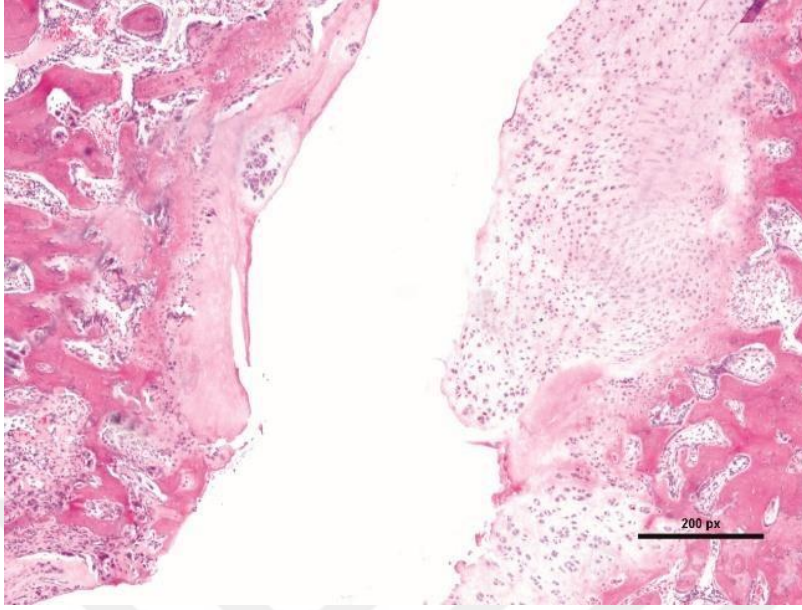
Resim 13: Asetik asit grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü
Siyah yıldız: bozulmuş kıkırdak doku alanı, siyah ok başı eklem boşluğunda büyüyen dokuları göstermektedir. Ölçü çubuğu: 200x



Resim 14: Deney grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü Siyah üçgen: incelmış kıkırdak alanları ve enflamasyon alanlarını; Siyah ok sinoviyal doku ve enflamasyon hücrelerini göstermektedir. Ölçü çubuğu: 200x



Resim 15: Düşük doz GAA grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü Siyah yıldız: bozulmuş kıkırdak doku alanı, siyah ok başı: eklem boşluğunda büyüyen dokuları göstermektedir. Ölçü çubuğu: 200x



Resim 16: Yüksek doz GAA grubunun H&E ile boyanan diz eklemi mikroskopik görüntüsü. Ölçü çubuğu: 200x

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda *G. Lucidum*'un içeriğinde bulunan GAA'nın deneysel olarak RA modeli oluşturulmuş Balb/c farelerde artrit üzerine fonksiyonel ve histopatolojik yöntemlerle etkisinin araştırılması amaçlandı. Bu sebeple fareler 5 gruba ayrıldı. Kullanılan yöntemler arasında vücut ağırlığı, artrit skoru, diz eklemi sıcaklığı, diz eklemi çevresi, ağrının davranışsal değerlendirilmesi, yürüyüş, kuyruk vuruşu testi, sıcak plaka testi, lokomotor aktivite testi, alt ekstremitte indeksi ve histopatolojik değerlendirme yöntemleri yer aldı. Elde edilen sonuçlarda deney grubunda artrit skorunun diğer gruplara göre daha yüksek olduğu, GAA gruplarında artrit skorunun düşük olduğu, ödem ve inflamasyon belirteçlerinin azaldığı gözlemlendi. GAA'nın analjezik etkiye sahip olduğu, lokomotor aktivitede iyileşmeye sebep olduğu, eklem kıkırdığı ve kemik yapısında oluşturulan tahribatı azalttığı gözlemlendi.

RA'da önemli roller oynayan inflamatuvar sitokinlerin kemik yıkımına, kas kaybına ve güçsüzlüğe bunların da kilo kaybına sebep olabileceği ortaya konulmuştur (192). Çalışmamızda vücut ağırlığına bakıldığında D grubunun K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük vücut ağırlığına sahip olduğu bulunmuştur. D grubu ve tedavi grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında K grubunun vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu, YGAA grubuna göre K grubunun vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Literatüre baktığımızda bovine tip II kollajen ve CFA verilerek sıçanlarda artrit modeli oluşturulan çalışmada (173) 4 hafta boyunca GAA uygulanmıştır. Vücut ağırlığı açısından D grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük vücut ağırlığı olduğu bu yönden çalışmamızla uyumluluk gösterdiği bununla birlikte GAA gruplarında D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek vücut ağırlıkları

bildirilmiştir ancak bizim çalışmamızda anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunun sebebinin kullanılan hayvan cinsinin ve GAA uygulamasının süresinin farklı oluşuna bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bir başka çalışmada 35 gün *G. Lucidum* polisakkaritleri peptit (GLPP) uygulamasının CIA modeli kullanılarak RA modeli oluşturulmuş sıçanlarda (188) CIA modeli grubunda K grubuna göre kilo artışının inflamasyon, immobilizasyon, ağrı ve ateş sebebi ile önemli miktarda daha az olduğu bu açıdan bizim çalışmamızla benzerlik gösterdiği, buna ek olarak GLPP'nin kilodaki düşüşü tersine çevirdiği gösterilmiştir. CIA modelinin kiloda düşüşe sebep olması bakımından çalışmamızla benzerlik gösterdiği ancak GLPP'nin bu düşüşü azaltmasının etken madde farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Artrit skoru artriti derecelendirmek için kullanılan bir skordur. Artritten etkilenen vücut bölgeleri arttıkça skorda puan artar bu da artritin derecesinin daha yüksek olduğu anlamına gelir (185). Artrit skoruna bakıldığında ölçüm yapılan tüm günlerde D grubunun K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek artrit skoruna sahip olduğu, K grubu ve DGAA grubu karşılaştırıldığında ölçüm yapılan tüm günlerde DGAA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek artrit skoruna sahip olduğu, K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubunun istatistiksel olarak daha yüksek artrit skoruna sahip olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında K grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha düşük artrit skoruna sahip olduğu bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında D grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. Asetik asit ve türevleri rodentlerde ağrı modeli ve osteoartrit modellerinde kullanılmaktadır (189, 190). Asetik asitin artrit skorunda K grubuna göre daha fazla yükselmeye yol açtığı bununla birlikte CIA modelinin asetik asite göre skorda daha fazla yükselmeye sahip olduğu gösterildi. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında DGAA grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubunun artrit skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında artrit skorları arasında anlamlı fark bulunamadı. D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında 30. gün D grubunun anlamlı daha yüksek artrit skoruna sahip olduğu bulundu. 2020 yılında yayınlanan çalışmada (173) 1 g/L dozunda kollajen ve CFA kullanılarak sıçanlarda RA modeli oluşturulmuştur ve 4 hafta boyunca tedavi gruplarına sırasıyla 20 mg/kg ve 40 mg/kg dozunda GAA

uygulanmıştır. Artrit skoruna bakıldığında D grubunun artrit skorunun GAA uygulamasından önce ve tedavi tamamlandıktan sonra K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı, bu açıdan çalışmamızla uyumluluk gösterdiği görülmektedir. GAA gruplarında GAA uygulamasından önce D grubuna göre istatistiksel olarak fark olmadığı ancak GAA uygulamasından sonra GAA gruplarında artrit skorunda önemli düşmelerin görüldüğü bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda DGAA grubunda artrit skorunda D grubuna göre anlamlı bir fark görülmedi. Ancak YGAA ile D grubu arasında anlamlı fark bulundu. Bu çalışmada ise her iki GAA grubunda artrit skorunda GAA uygulamasından sonra anlamlılık görülmesinin nedeninin GAA'nın daha uzun süre uygulamasından kaynaklığını düşünmekteyiz. Yeni yayınlanan (2023) Meng ve ark. (188) çalışmasında *G. Lucidum* polisakkaritleri peptidi (GLPP) sıçanlarında CIA modeli üzerindeki anti RA aktivitesi ve olası mekanizmaları araştırmıştır. Tip II kollajen ve CFA karışımı kuyruk tabanına enjekte edilmiştir. GLPP 35 gün boyunca günde 1 kez intra gastrik yolla verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında GLPP gruplarında artrit skorunun CIA grubuna göre anlamlı daha düşük olduğu bu yönden bakıldığında çalışmamıza benzerlik gösterdiği görülmüştür. Heo ve ark. (191) yakın zamanda yayınladıkları çalışmada 7 hafta boyunca haftada 2 kez *G. Lucidum* sporları (GLS) yağı verilen CIA modeli oluşturulan fareler üzerindeki anti RA etkilerini aydınlatmayı amaçlamışlardır. Modeli oluşturmak için tip II kollajen ve CFA kuyruğa enjekte edilmiştir. GLS yağı grubunun artrit skorunun CIA grubuna göre önemli ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir. Bu bakımından çalışmamızla benzerlik gösterdiği ortaya konmuştur.

İnflamasyonu değerlendirmek için diz eklemi sıcaklığı ve diz eklemi çevresi ölçülmüştür. Diz eklemi sıcaklığına bakıldığında K ve D grubu diz eklemi sıcaklıkları karşılaştırıldığında D grubunun sıcaklığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında diz eklemi sıcaklıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. YGAA grubunun sağ ve sol diz ekleminin sıcaklığının K grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu diz eklemi sıcaklıkları karşılaştırıldığında AA grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D, DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. D ve DGAA grubu sol

diz sıcaklıkları arasında D grubunun diz eklemi sıcaklığının daha yüksek olduğu bulundu. D ve DGAA grubu sağ diz sıcaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. D grubunun diz eklemi sıcaklığının daha yüksek olduğu bulundu. D ve YGAA grubu sol diz sıcaklıkları karşılaştırıldığında D grubunda daha yüksek bulundu. D grubu ve YGAA grubu sağ diz sıcaklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. karşılaştırıldığında D grubunun diz eklemi sıcaklığının anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D grubu ve YGAA grubu sağ diz sıcaklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. D grubunun diz eklemi sıcaklığının anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubunun diz eklemi sıcaklığı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. CIA modelinin diz eklemi sıcaklığında artışa neden olduğu, GAA gruplarında bu etkinin önemli derece düşürüldüğü sonucuna ulaşıldı. Bununla birlikte CIA modeli oluşturup diz eklemi sıcaklığını analiz eden çalışma literatürde mevcut değildir. Bu yönü ile çalışmamız literatürdeki ilk çalışmadır. 2022 yılında yayınlanan Mao ve ark. (192) çalışmasında sıçanlarda adjuvanla indüklü artrit modeli oluşturmak için sıvı parafinde süspanse edilmiş ısıyla öldürülmüş *Mycobacterium tuberculosis* H37 Ra intradermal yolla 10 mg/ml dozunda verilmiştir. Sıçanların sol arka pençesinin eklem yüzeyinin sıcaklığı, ilk enflamatuar belirtilerin gözlemlendiği günden itibaren günde bir kez infrared termal kamera kullanılarak kaydedilmiştir. Model oluşturulan grupta eklem yüzey sıcaklığı kontrol grubuna göre anlamlı daha yüksek bulunmuştur. Bu yönden bizim çalışmamızla uyumlu olduğu görülmektedir.

İnflamasyon belirteçlerinden bir diğeri olan diz eklemi çevresinin artışı oluşu ödemin artışı göstermektedir. Çalışmamızda kumpas ile yapılan ölçümlerde K ve D grubu karşılaştırıldığında D grubunun diz eklemi çevresi bakımından K grubundan daha yüksek eklem çevresine sahip olduğu bulundu. CFA'nın ödemi arttırdığını gösteren 2016 yılında ortaya konan çalışmada (179) CFA ile monoartrit oluşturulan sıçanlarda CFA grubunun eklem çevresinin K grubuna göre arttığı raporlanmıştır. Bir diğer çalışmada 2018 yılında yayınlanmış olan Abdelmawgoud ve ark. (193) sıçanlarda yapılan tek doz 0.1 ml CFA enjeksiyonu sonrasında ödemin değerlendirilmesi için kumpasla pençe kalınlığını ölçmüşlerdir. CFA grubunda kontrol grubuna göre anlamlı daha yüksek pençe ödemi bulunmuştur. Bununla birlikte Phadke ve ark. yaptığı çalışmada birçok araştırmacının tip II kollajenin adjuvanla indüklü artrit

kronikleşmesinde rol oynadığını ileri sürdüğünü raporlamışlardır (194). Bu CIA'nın adjuvanla indüklü artrite göre bir avantajı olarak ortaya çıkmaktadır. Bizim çalışmamızda K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında DGAA grubunun diz eklemi çevresinin anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubunun diz eklemi çevresinin K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında AA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek diz eklemi çevresine sahip olduğu bulundu. AA ve D, DGAA, YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. D grubu ve DGAA grubu arasında eklem çevresinin istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. DGAA grubunun eklem çevresinin daha düşük olduğu bulundu. Sakrifikasyon öncesi D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubundan daha düşük olduğu bulundu. DGAA grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Çalışmamızda GAA'nın diz eklemi çevresini ciddi ölçüde azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Literatürde de gösterildiği üzere diz eklemi çevresindeki azalma inflamasyonun daha düşük olduğunu göstermektedir (179). Ödem çalışmalarda kumpasa ek olarak birçok farklı yöntemle ölçülmüştür. Bu çalışmalardan biri olan Cao ve ark. yaptığı çalışmada (173) kollajen ve CFA verilerek RA modeli oluşturulmuş sıçanlarda 4 hafta verilen GAA uygulamasında su volüm metodu kullanılarak ödem ölçülmüştür. CIA grubunda K grubuna kıyasla 1 ve 2. haftada ayak parmaklarının şişliği önemli ölçüde artmıştır. 3. haftada 40 mg/kg GAA grubunda CIA grubuna kıyasla ayak parmakların şişliği azalmıştır. 4. haftada 20 mg/kg GAA grubunda CIA grubuna kıyasla ayak parmaklarının şişliği azalmıştır. 6. Haftada hem 20 mg/kg hem de 40 mg/kg GAA gruplarında ayak parmağı şişliğinde belirgin azalma kaydedilmiştir. Bu bakımdan bizim çalışmamızı desteklediği görülmüştür. GAA'nın anti enflamatuvar etkilerinin ortaya konulduğu Lu ve ark. (195) tarafından yapılan çalışmada astım modeli oluşturulan farelerde GAA'nın etkilerini ve mekanizmalarını keşfetmeyi amaçlanmıştır. Tedavi grupları sırasıyla deksametazon grubu (2 mg/kg), 20 mg/kg GAA grubu ve 40 mg/kg GAA grubudur. Serum eozinofil, lenfosit ve nötrofil düzeyleri astım modeli grubuna kıyasla GAA gruplarında ciddi düşme göstermiştir. Bu çalışmada, GAA'nın astımlı farelerin BALF (Bronkoalveolar Lavaj) örneklerindeki enflamatuvar hücre artışını engellediğini; serum ve BALF'teki IL-4, IL-5 ve IL-13

seviyelerini azalttığını ve hava yolu aşırı duyarlılığını azalttığını bulmuşlardır. GAA'nın belirgin anti astım ve anti enflematuvar etkilerine sahip olduğunu göstermektedir. İnflamasyonu azaltması bakımından çalışmamızla uyumlu olduğu görülmüştür. G. Lucidum polisakkarit peptidinin (GLPP) CIA modelindeki etkisini ortaya koyan çalışmada (188) CIA grubunda 2. immünizasyondan sonra pençe kalınlığının önemli ölçüde arttığı, 43. günde en yüksek düzeye ulaştığı ve 38. günden itibaren GLPP peptidi uygulamasının pençe kalınlığında önemli düşüslere sebep olduğu bildirilmiştir. Bu açıdan bizim çalışmamızla uyumlu olduğu görülmektedir. Lam ve ark. (177) yaptığı çalışmada G. Lucidum ve San Mio San takviyesinin CFA ile indüklü RA artrit modelinde analjezik ve anti RA etkileri incelenmiştir. Tek dize uygulanan 125 µl CFA ile monoartrit oluşturulmuştur. Bu takviye CFA ile indüklenmeden önce 7 gün boyunca ve indüklemekten sonra 7 gün boyunca oral veya intraperitoneal yolla 50 mg/kg/gün dozunda verilmiştir. *G. Lucidum* içeren bu takviyenin CFA ile oluşturulmuş RA modelinde ödemi, kartilaj erozyonu ve hiperemiye azaltması bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Hem intraperitoneal hem de oral yolla uygulanması inflamasyonlu dizde ödem, hiperemi gibi artrit parametrelerini azalttığı raporlanmıştır. Bizim de tercih ettiğimiz gavaj uygulaması, intraperitoneal uygulamalara göre canlıya zarar vermeyen invaziv olmayan bir uygulamadır. Bu bakımdan çalışmamızı daha avantajlı duruma getirmektedir.

RA'ya bağlı gelişen ağrı sonucunda, farenin ekstremitesi üzerine ağırlık aktarımını azaltmaktadır. Ağrının davranışsal değerlendirilmesinde puan arttıkça ağrıya bağlı gelişen ağırlık aktarımının azaldığını göstermektedir. K ve D grubu karşılaştırıldığında D grubunun ağrının davranışsal değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve tedavi grupları arasında K ve AA grubu karşılaştırıldığında AA grubunun ağrının davranışsal değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D grubu karşılaştırıldığında D grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. D grubu ve DGAA grubu karşılaştırıldığında, D grubunun anlamlı daha yüksek olduğu; D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında ise, D grubunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. GLPP'nin CIA modelindeki etkisini ortaya koyan çalışmada (188)

ortalama pençe basıncı ve ortalama pençe alanı hesaplanarak ağırlık aktarımı kapasitesini hesaplamışlardır. Biz ise ağırlık aktarımı kapasitesini ağırlığın davranışsal değerlendirilmesi ve yürüyüş değerlendirilmesi ile ölçtük. GLPP gruplarında pençe basıncı ve pençe alanı CIA grubuna oranla önemli ölçüde ilk durumuna geri döndüğünü raporlamışlardır. Bu açıdan çalışmamızla uyumlu olduğu görülmektedir.

Yürüyüş skorunun artması ağırlık aktarımı kapasitesinin azaldığını gösterir. Çalışmamızda K ve D grubu karşılaştırıldığında D grubunun yürüyüş skorlarının istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında DGAA grubunun yürüyüş skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulunmuştur. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubunun yürüyüş skorunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve AA grubu karşılaştırıldığında AA grubunun yürüyüş skorunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve D, DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı. AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında AA grubunun yürüyüş skorunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D grubu ve DGAA karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu, D grubunun yürüyüş skorunun anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D grubu ve YGAA karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu, YGAA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. CIA modeli kullanıp RA modeli oluşturan ve Withania somnifera veya yaygın bilinen adıyla Ashwagandha'nın tedavi etkinliğini araştıran bir çalışmada (181) CIA grubunda K grubuna oranla 20. ve 45. günde önemli ölçüde yürüyüş skorunun arttığı bildirilmiştir. Bu açıdan çalışmamızla deney modelinde yürüyüş değerlendirme parametreleri açısından uyumluluk göstermektedir. Literatürde CIA modeli kullanılarak oluşturulmuş RA modelinde GAA'nın ağırlık aktarımı kapasitesi üzerinde ağırlığın davranışsal değerlendirmesi ve yürüyüş skorunun değerlendirildiği bir yayına rastlanılamamıştır bu açıdan çalışmamız özgün değer taşımaktadır.

Kuyruk vuruşu testinde ısıya karşı verdiği kuyruk oynatma davranışı reaksiyon zamanı olarak belirlendi. Isı kaynağına kuyruğu yerleştirme ve kuyruğun çekilme süresi arasında geçen süre reaksiyon zamanı olarak adlandırılır. Reaksiyon zamanının artması ağırlık kesici etkinin artması olarak yorumlandı (182). Çalışmamıza bakıldığında

K ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. K ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. AA ve D grubu karşılaştırıldığında AA grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde AA grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde D grubunun reaksiyon süresinin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Wang ve ark. 2022 yılında yayınladıkları çalışmada (196) CIA modeli kullanılarak sıçanlarda RA modeli oluşturmuşlardır. Tip II kollajen eşit volümde CFA ile karıştırılarak son konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde kuyruk kökü dahil birden fazla noktaya intra dermal yolla 0.25 ml kollajen emülsiyonu verilmiştir. İmmünizasyonun artırılması için ilk immünizasyondan 14 gün sonra 0.15 ml kollajen emülsiyonu verilmiştir. D grubundaki reaksiyon zamanının daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Bu CIA modelinin ağrıya sebep olduğunu göstermektedir. Bu bakımdan bizim çalışmamızla uyumlu olduğu görülmektedir. Koyama ve ark. (197) yaptığı çalışmada GAA'nın anti nosiseptif aktivitesi asetilsalisilik grubundan daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bununla bizim çalışmamızı destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Sıcak plaka testinde aksiyon zamanı, fare sıcak plakaya bırakıldıktan sonra fareler ön pençelerini yaladıkları ve/veya zıpladıkları süre arasında geçen zaman kaydedildi. Aksiyon zamanındaki artış analjezik etkinin daha çok olduğunu göstermektedir. K ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. AA ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. D grubu ve DGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. D grubu ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. YGAA grubunun aksiyon zamanının D grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Yüksek doz GAA uygulamasının sıcak plaka testinde anajezik etkiyi daha iyi

gösterdiği gözlenmiştir. 2023 yılında yayınlanmış çalışmada (191) GLS yağının CIA modeli üzerinde etkilerini aydınlatmayı amaçlamışlardır. Tip II kollajen ve 4 mg/ml CFA kuyruğa enjekte edilmiştir. İndüklemekten 49 gün sonra GLS yağının sıcak plaka testi ile ciddi ağrı kesici etkisi gösterilmiştir. Tedavi grubunda kontrol grubuna oranla sıcak plaka testinde durasyonun uzadığı yani reaksiyon zamanının arttığı bunun da analjezik etkiyi ortaya koyduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte CIA modeli oluşturulmuş farelerde kuyruk vuruşu testi ve sıcak plaka testi kullanılarak GAA'nın analjezik etkisini gösteren çalışmamız özgün değer taşımaktadır.

Lokomotor aktivite testinde farelerin katettikleri mesafenin artışı RA kaynaklı oluşan immobilizasyonu ölçmek için kullanılır. K ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde K grubunun katettiği mesafenin istatistiksel olarak D grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve tedavi grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. K ve AA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. AA ve D grubu karşılaştırıldığında sakrifikasyon öncesinde AA grubunun katettiği mesafenin istatistiksel olarak D grubuna göre anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve tedavi grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. D ve tedavi grupları grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Sonuçlara bakılacak olursa D grubundaki farelerin immobilizasyonunun daha yüksek olduğuna, AA'nın kollajene göre daha az immobilizasyona sebep olduğu gösterilmiştir. Ancak GAA uygulamasının immobilizasyon üzerine anlamlı etkisinin olmadığı gösterilmiştir. GAA'nın CIA modelinde lokomotor aktivite testi ile mobilitesini ölçen çalışmaya rastlanmamıştır. Bu anlamda çalışmamız özgün değer taşımaktadır.

Alt ekstremité indeksi ödemi ölçmek için kullanılmıştır. K ve D grubu karşılaştırıldığında D grubunun indeksinin anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında DGAA grubunun indeksinin anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında YGAA grubunun indeksinin anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. D ve DGAA, YGAA grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. DGAA ve YGAA

grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. GAA'nın alt ekstremitte indeksi üzerine etkisini değerlendiren çalışmamız özgün değer taşımaktadır.

Histopatolojik değerlendirmede, H&E boyaması kullanılarak diz eklemindeki sinoviyal doku ve enflamasyon hücreleri, eklem boşluğunda büyüyen dokuları, bozulmuş kıkırdak doku alanı, incelmış kıkırdak alanları ve enflasyon alanlarını göstermek amaçlandı. Artrit skoru ve morfolojik değerlendirme alt başlıklarında puanlanarak incelendi. Puanlamalara bakılacak olursa K ve D grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve DGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından DGAA grubunun verisinin anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. K ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından istatistiksel olarak fark bulunamadı. K ve AA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından istatistiksel olarak fark bulunamadı. AA ve D grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve DGAA grubu karşılaştırıldığında morfolojik değerlendirme skoru açısından AA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. AA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından AA grubunun istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D ve DGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. D ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından D grubunun verisinin istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulundu. DGAA ve YGAA grubu karşılaştırıldığında hem artrit skoru hem de morfolojik değerlendirme skoru bakımından YGAA grubunun verisinin DGAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük olduğu bulundu. Işık mikroskobu görüntüleri incelendiğinde K grubunda normal eklem kıkırdak yapısı görüldü. Kemik iliği ve yeni kemik yapımı alanlarında normal yapı görüldü. D grubunda sinoviyal dokularda kalınlaşma açık bir şekilde görüldü. Yer yer ödem

alanları görüldü. AA grubunda kıkırdak dokuda bozulmuş alanlar görüldü. Kemik dokunun yoğunlaştığı kıkırdak dokunun incelendiği alanlar görüldü. Yer yer inflamasyon hücreleri görüldü. DGAA grubunda sinoviyal dokular normal kalınlıkta görüldü. Düşük doz tedavide kıkırdak doku alanlarında küçük bozunmuş alanlar görüldü. Yer yer kalınlaşmış kemik alanları görüldü. YGAA grubunda normal eklem kıkırdağı ve kemik yapısı görüldü. K grubuna yakın doku özelliği gözlemlendi. Kollajenin AA'dan daha fazla eklem tahribatına yol açtığı, GAA uygulamasının kollajenin oluşturduğu eklem tahribatını azalttığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte yüksek doz GAA uygulamasının düşük doza göre RA'nın sebep olduğu histopatolojik değişiklikleri daha yüksek oranda önlediği gösterildi. Cao ve ark. CIA model kullanarak GAA'nın eklemlerde farklı derecelerde sinovial dokunun proliferasyonunu önlediği ve monositleri ve lenfositleri farklı düzeylerde azalttığını göstermişlerdir (173).

RA hastaları üzerinde Li ve ark. (198) tarafından yapılan G. Lucidum ve San Miao San takviyesinin RA hastalarında güvenilirlik ve etkinliğini ölçen çift kör randomize plasebo kontrollü bir çalışma yapmışlardır. Takviyenin ağrı kesici etkisi olduğu ve ağrı skoru ile hastanın global skorunun iyileştiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte CD4⁺/CD8⁺/doğal öldürücü hücre/B lenfosit oranı gruplar arası değişmemiştir. Bu çalışmada, G lucidum ve San Miao San, aktif RA'lı hastalarda analjezik etkilere sahip, güvenli ve iyi tolere edildiği ifade edilmiştir. Bununla birlikte, önemli bir anti oksidan, anti enflamatuvar veya immünomodülatör etkisinin olduğu gösterilememiştir. Bunun sebebinin G. Lucidum'un en etkin dozunun tam olarak bilinmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürde GAA'nın RA üzerindeki etkileri moleküler olarak incelenmiş olsa da fonksiyonel olarak etkileri tam anlamıyla ortaya konmamıştır. Bizim çalışmamız bu boşluğu doldurmaktadır. Literatürde GAA'nın artrit üzerine etkilerini araştıran iki adet (199) çalışma vardır. Bunlardan birinde Cao ve ark. (173, 200) tarafından kollajen ve CFA kullanılarak RA modeli oluşturulan sıçanlarda 4 haftalık GAA tedavisinin serum ve sinoviyumdaki TNF- α , IL-6 ve IL-1 β seviyelerini önemli ölçüde azalttığı raporlanmıştır. Diğerinde ise medial menisküs destabilizasyonu ile osteoartrit oluşturulan *in vivo* modelde metalloproteinaz 13'ün sekresyonunun inhibisyonunu inhibe edecek şekilde RANKL/osteoprotegrin oranını düzenleyerek osteoartriti iyileştirebileceği ve GAA'nın medial menisküs destabilizasyonu patolojisini

hafifletebileceđi ortaya konmuřtur (204). Bu iki çalıřmadaki yolların dahil olduđu ve bu seviyelerin dűřűű ile iyileřmenin olabileceđi kanaatindeyiz. Molekűler alıřma, çalıřmamızın kısıtlılıđıdır. Molekűler yolların daha iyi anlařılması için ek çalıřmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Kannan K, Ortmann RA, Kimpel DJP. Animal models of rheumatoid arthritis and their relevance to human disease. 2005;12(3):167-81.
2. Chang Y-H, Yang J-S, Yang J-L, Wu C-L, Chang S-J, Lu K-W, et al. Ganoderma lucidum extracts inhibited leukemia WEHI-3 cells in BALB/c mice and promoted an immune response in vivo. 2009;73(12):2589-94.
3. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham III CO, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. 2010;62(9):2569-81.
4. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. Lancet (London, England). 2016;388(10055):2023-38.
5. Littlejohn EA, Monrad SU. Early Diagnosis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. Primary care. 2018;45(2):237-55.
6. Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, Therneau TM, Gabriel SE. Is the incidence of rheumatoid arthritis rising?: results from Olmsted County, Minnesota, 1955-2007. Arthritis and rheumatism. 2010;62(6):1576-82.
7. Sacks JJ, Luo YH, Helmick CG. Prevalence of specific types of arthritis and other rheumatic conditions in the ambulatory health care system in the United States, 2001-2005. Arthritis care & research. 2010;62(4):460-4.
8. Sangha O. Epidemiology of rheumatic diseases. Rheumatology (Oxford, England). 2000;39 Suppl 2:3-12.
9. Finckh A, Gilbert B, Hodgkinson B, Bae SC, Thomas R, Deane KD, et al. Global epidemiology of rheumatoid arthritis. Nature reviews Rheumatology. 2022;18(10):591-602.
10. Yenil O, Lâv I, Bilecen L. [Epidemiological study on the infectious rheumatic syndrome in Turkey. II. Occurrence of rheumatoid arthritis in the Sagmalcilar district of Istanbul. Influencing of various factors and tuberculosis]. Zeitschrift fur Rheumaforschung. 1968;27(5):215-23.
11. Akkoc N, Akar S. Epidemiology of rheumatoid arthritis in Turkey. Clinical rheumatology. 2006;25(4):560-1.

12. Ropes MW, Bennett GA, Cobb S, Jacox R, Jessar RA. 1958 Revision of diagnostic criteria for rheumatoid arthritis. *Bulletin on the rheumatic diseases*. 1958;9(4):175-6.
13. Tuncer T, Gilgil E, Kaçar C, Kurtaiş Y, Kutlay Ş, Bütün B, et al. Prevalence of Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis in Turkey: A Nationwide Study. *Archives of rheumatology*. 2018;33(2):128-36.
14. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, et al. Rheumatoid arthritis. *Nature reviews Disease primers*. 2018;4:18001.
15. Deighton C, Walker D, Griffiths I, Roberts DJCg. The contribution of H LA to rheumatoid arthritis. 1989;36(3):178-82.
16. Dedmon LE. The genetics of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2020;59(10):2661-70.
17. Bowes J, Barton A. Recent advances in the genetics of RA susceptibility. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2008;47(4):399-402.
18. Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2004;50(10):3085-92.
19. Phillips DC, Dias HK, Kitas GD, Griffiths HR. Aberrant reactive oxygen and nitrogen species generation in rheumatoid arthritis (RA): causes and consequences for immune function, cell survival, and therapeutic intervention. *Antioxidants & redox signaling*. 2010;12(6):743-85.
20. Rutger Persson G. Rheumatoid arthritis and periodontitis - inflammatory and infectious connections. Review of the literature. *Journal of oral microbiology*. 2012;4.
21. Rogier R, Koenders MI, Abdollahi-Roodsaz S. Toll-like receptor mediated modulation of T cell response by commensal intestinal microbiota as a trigger for autoimmune arthritis. *Journal of immunology research*. 2015;2015:527696.
22. Jiang X, Alfredsson L. Modifiable environmental exposure and risk of rheumatoid arthritis-current evidence from genetic studies. *Arthritis research & therapy*. 2020;22(1):154.
23. Neogi T, Aletaha D, Silman AJ, Naden RL, Felson DT, Aggarwal R, et al. The 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism

classification criteria for rheumatoid arthritis: phase 2 methodological report. 2010;62(9):2582-91.

24. Straub RHJEr. The complex role of estrogens in inflammation. 2007;28(5):521-74.

25. Bengtsson C, Malspeis S, Orellana C, Sparks JA, Costenbader KH, Karlson EWJAc, et al. Menopausal factors are associated with seronegative RA in large prospective cohorts: results from the Nurses' Health Studies. 2017;69(11):1676.

26. Chen JY, Ballou SPJTJor. The effect of antiestrogen agents on risk of autoimmune disorders in patients with breast cancer. 2015;42(1):55-9.

27. Alpízar-Rodríguez D, Finckh A, editors. Environmental factors and hormones in the development of rheumatoid arthritis. Seminars in immunopathology; 2017: Springer.

28. Di Giuseppe D, Crippa A, Orsini N, Wolk AJAr, therapy. Fish consumption and risk of rheumatoid arthritis: a dose-response meta-analysis. 2014;16:1-7.

29. Nguyen Y, Salliot C, Mariette X, Boutron-Ruault M-C, Seror RJN. Fish consumption and risk of rheumatoid arthritis: Findings from the E3N cohort study. 2022;14(4):861.

30. Pedersen M, Stripp C, Klarlund M, Olsen SF, Tjønneland AM, Frisch MJTJor. Diet and risk of rheumatoid arthritis in a prospective cohort. 2005;32(7):1249-52.

31. Scher JU, Szczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. 2013;2:e01202.

32. Zhang X, Zhang D, Jia H, Feng Q, Wang D, Liang D, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. 2015;21(8):895-905.

33. Chen J, Wright K, Davis JM, Jeraldo P, Marietta EV, Murray J, et al. An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. 2016;8(1):1-14.

34. Maeda Y, Kurakawa T, Umemoto E, Motooka D, Ito Y, Gotoh K, et al. Dysbiosis contributes to arthritis development via activation of autoreactive T cells in the intestine. 2016;68(11):2646-61.

35. Pan H, Li R, Li T, Wang J, Liu LJE. Whether probiotic supplementation benefits rheumatoid arthritis patients: a systematic review and meta-analysis. 2017;3(1):115-21.
36. Yue M, Tao Y, Fang Y, Lian X, Zhang Q, Xia Y, et al. The gut microbiota modulator berberine ameliorates collagen-induced arthritis in rats by facilitating the generation of butyrate and adjusting the intestinal hypoxia and nitrate supply. 2019;33(11):12311.
37. Kishikawa T, Maeda Y, Nii T, Motooka D, Matsumoto Y, Matsushita M, et al. Metagenome-wide association study of gut microbiome revealed novel aetiology of rheumatoid arthritis in the Japanese population. 2020;79(1):103-11.
38. He J, Chu Y, Li J, Meng Q, Liu Y, Jin J, et al. Intestinal butyrate-metabolizing species contribute to autoantibody production and bone erosion in rheumatoid arthritis. 2022;8(6):eabm1511.
39. Wang Q, Zhang S-X, Chang M-J, Qiao J, Wang C-H, Li X-F, et al. Characteristics of the gut microbiome and its relationship with peripheral CD4⁺ T cell subpopulations and cytokines in rheumatoid arthritis. 2022;13:64.
40. Wang Y, Wei J, Zhang W, Doherty M, Zhang Y, Xie H, et al. Gut dysbiosis in rheumatic diseases: A systematic review and meta-analysis of 92 observational studies. 2022;80:104055.
41. Aletaha D, Smolen JSJJ. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review. 2018;320(13):1360-72.
42. Coutant F, Miossec PJNRR. Altered dendritic cell functions in autoimmune diseases: distinct and overlapping profiles. 2016;12(12):703-15.
43. Jongbloed SL, Lebre MC, Fraser AR, Gracie JA, Sturrock RD, Tak PP, et al. Enumeration and phenotypical analysis of distinct dendritic cell subsets in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. 2005;8(1):1-13.
44. Segura E, Touzot M, Bohineust A, Cappuccio A, Chiocchia G, Hosmalin A, et al. Human inflammatory dendritic cells induce Th17 cell differentiation. 2013;38(2):336-48.
45. Lebre MC, Jongbloed SL, Tas SW, Smeets TJ, McInnes IB, Tak PPJTAjop. Rheumatoid arthritis synovium contains two subsets of CD83⁺ DC-LAMP⁺ dendritic cells with distinct cytokine profiles. 2008;172(4):940-50.

46. Tournadre A, Lenief V, Eljaafari A, Miossec PJA, Rheumatism. Immature muscle precursors are a source of interferon- β in myositis: role of Toll- like receptor 3 activation and contribution to HLA class I up- regulation. 2012;64(2):533-41.
47. Silman A, Neogi T, Aletaha D. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. 2010.
48. Castañeda-Delgado JE, Bastián-Hernandez Y, Macias-Segura N, Santiago-Algarra D, Castillo-Ortiz JD, Alemán-Navarro AL, et al. Type I interferon gene response is increased in early and established rheumatoid arthritis and correlates with autoantibody production. 2017;8:285.
49. Cooles FA, Anderson AE, Lendrem DW, Norris J, Pratt AG, Hilkens CM, et al. The interferon gene signature is increased in patients with early treatment-naive rheumatoid arthritis and predicts a poorer response to initial therapy. 2018;141(1):445-8. e4.
50. Chemin K, Gerstner C, Malmström VJFii. Effector functions of CD4⁺ T cells at the site of local autoimmune inflammation—lessons from rheumatoid arthritis. 2019;10:353.
51. Hume DAJFii. The many alternative faces of macrophage activation. 2015;6:370.
52. Romagnani SJAoa, asthma, immunology. T-cell subsets (Th1 versus Th2). 2000;85(1):9-21.
53. Schmidt D, Goronzy JJ, Weyand CMJTJoci. CD4⁺ CD7-CD28-T cells are expanded in rheumatoid arthritis and are characterized by autoreactivity. 1996;97(9):2027-37.
54. Fasth A, Cao D, Van Vollenhoven R, Trollmo C, Malmström VJSjoi. CD28nullCD4⁺ T cells—characterization of an effector memory T- cell population in patients with rheumatoid arthritis. 2004;60(1- 2):199-208.
55. Namekawa T, Wagner UG, Goronzy JJ, Weyand CMJA, Rheumatism. Functional subsets of CD4 T cells in rheumatoid synovitis. 1998;41(12):2108-16.
56. Griffiths GM, Alpert S, Lambert E, McGuire J, Weissman ILJPotNAoS. Perforin and granzyme A expression identifying cytolytic lymphocytes in rheumatoid arthritis. 1992;89(2):549-53.

57. Chemin K, Ramsköld D, Diaz- Gallo LM, Herrath J, Houtman M, Tandre K, et al. EOMES- positive CD4+ T cells are increased in PTPN22 (1858T) risk allele carriers. 2018;48(4):655-69.
58. Holers VM, Banda NKJFii. Complement in the initiation and evolution of rheumatoid arthritis. 2018;9:1057.
59. Scher JUJBotNHfJD. B-cell therapies for rheumatoid arthritis. 2012;70(3):200-.
60. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. 2007;146(11):797-808.
61. Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti RJDm. Rheumatoid factors: clinical applications. 2013;35(6):727-34.
62. Steiner GJCria, immunology. Auto-antibodies and autoreactive T-cells in rheumatoid arthritis: pathogenetic players and diagnostic tools. 2007;32:23-35.
63. Wegner N, Lundberg K, Kinloch A, Fisher B, Malmström V, Feldmann M, et al. Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. 2010;233(1):34-54.
64. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbader KHJA, rheumatism. Anti-citrullinated peptide antibody (ACPA) assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. 2009;61(11):1472.
65. Gerlag DM, Safy M, Maijer KI, Tang MW, Tas SW, Starmans-Kool MJF, et al. Effects of B-cell directed therapy on the preclinical stage of rheumatoid arthritis: the PRAIRI study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2019;78(2):179-85.
66. Rindfleisch JA, Muller D. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *American family physician*. 2005;72(6):1037-47.
67. Khurana R, Berney SM. Clinical aspects of rheumatoid arthritis. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology*. 2005;12(3):153-65.
68. Young A, Koduri GJBp, rheumatology rC. Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis. 2007;21(5):907-27.
69. Bowman SJSjor. Hematological manifestations of rheumatoid arthritis. 2002;31(5):251-9.

70. Agrawal S, Misra R, Aggarwal AJRi. Anemia in rheumatoid arthritis: high prevalence of iron-deficiency anemia in Indian patients. 2006;26:1091-5.
71. Wilson A, Yu H-T, Goodnough LT, Nissenson ARJTAjom. Prevalence and outcomes of anemia in rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature. 2004;116(7):50-7.
72. Ustun C, Kallab A, Loebl D, Jillela A, Majewski B, Mazzella F, et al. Rheumatoid arthritis and immune thrombocytopenia: a report of two cases. 2002;21(6).
73. Ulutatar F, Unal-Ulutatar C, Duruoz MTJRI. Cervical proprioceptive impairment in patients with rheumatoid arthritis. 2019;39(12):2043-51.
74. Mańczak M, Gasik RJRR. Cervical spine instability in the course of rheumatoid arthritis—imaging methods. 2017;55(4):201-7.
75. Zhang T, Pope JJAr, therapy. Cervical spine involvement in rheumatoid arthritis over time: results from a meta-analysis. 2015;17:1-9.
76. Marcucci E, Bartoloni E, Alunno A, Leone M, Cafaro G, Luccioli F, et al. Extra-articular rheumatoid arthritis. 2018;70(4):212-24.
77. Alexander SK, Di Cicco M, Pohl U, Cifelli AJCR. Rheumatoid disease: an unusual cause of relapsing meningoencephalitis. 2018;2018:bcr-2017-222587.
78. Cronstein BNJBotNhfjd. Interleukin-6. 2007;65(1):11-5.
79. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Font J, editors. The overlap of Sjögren's syndrome with other systemic autoimmune diseases. *Seminars in arthritis and rheumatism*; 2007: Elsevier.
80. Al-Ghamdi A, Attar SMJAoSM. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: a hospital-based study. 2009;29(3):189-93.
81. Mota LMHd, Santos Neto LLd, Burlingame R, Ménard HA, Laurindo IMMJRbdr. Laboratory characteristics of a cohort of patients with early rheumatoid arthritis. 2010;50:375-80.
82. Antero DC, Parra AG, Miyazaki FH, Gehlen M, Skare TLJRdAMB. Secondary Sjögren's syndrome and disease activity of rheumatoid arthritis. 2011;57:319-22.
83. Pinheiro FA, Souza DC, Sato EIJTJor. A study of multiple causes of death in rheumatoid arthritis. 2015;42(12):2221-8.

84. Alunno A, Gerli R, Giacomelli R, Carubbi FJBri. Clinical, epidemiological, and histopathological features of respiratory involvement in rheumatoid arthritis. 2017;2017.
85. Marigliano B, Soriano A, Margiotta D, Vadacca M, Afeltra AJAr. Lung involvement in connective tissue diseases: a comprehensive review and a focus on rheumatoid arthritis. 2013;12(11):1076-84.
86. Young A, Koduri G, Batley M, Kulinskaya E, Gough A, Norton S, et al. Mortality in rheumatoid arthritis. Increased in the early course of disease, in ischaemic heart disease and in pulmonary fibrosis. 2007;46(2):350-7.
87. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. 2003;107(9):1303-7.
88. Turesson C, McClelland R, Christianson T, Matteson EJAotrd. Severe extra-articular disease manifestations are associated with an increased risk of first ever cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. 2007;66(1):70-5.
89. Turesson C, Jarenros A, Jacobsson LJAotrd. Increased incidence of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from a community based study. 2004;63(8):952-5.
90. McEntegart A, Capell H, Czeran D, Rumley A, Woodward M, Lowe GJR. Cardiovascular risk factors, including thrombotic variables, in a population with rheumatoid arthritis. 2001;40(6):640-4.
91. Roman MJ, Moeller E, Davis A, Paget SA, Crow MK, Lockshin MD, et al. Preclinical carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. 2006;144(4):249-56.
92. Ponticelli C, Doria A, Moroni GJJON. Renal disorders in rheumatologic diseases: the spectrum is changing (part 2. Arthridides). 2021;34(4):1081-90.
93. Kronbichler A, Mayer GJBm. Renal involvement in autoimmune connective tissue diseases. 2013;11(1):1-14.
94. Wang S, Wang YJBeBA-GRM. Peptidylarginine deiminases in citrullination, gene regulation, health and pathogenesis. 2013;1829(10):1126-35.
95. Kim K-W, Kim B-M, Moon H-W, Lee S-H, Kim H-RJAr, therapy. Role of C-reactive protein in osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. 2015;17:1-12.

96. Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR. *Kelley's Textbook of Rheumatology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2012.
97. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. 2010;69(4):631-7.
98. Combe B, Landewé R, Lukas C, Bolosiu HD, Breedveld F, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). 2007;66(1):34-45.
99. Mikkelsen WM, Dodge HJ, Duff IF, Kato HJJocd. Estimates of the prevalence of rheumatic diseases in the population of Tecumseh, Michigan, 1959–60. 1967;20(6):351-69.
100. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1988;31(3):315-24.
101. Kay J, Upchurch KS. ACR/EULAR 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2012;51 Suppl 6:vi5-9.
102. Kay J, Upchurch KS. ACR/EULAR 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology*. 2012;51(suppl_6):vi5-vi9.
103. Combe B, Landewe R, Daïen CI, Hua C, Aletaha D, Álvaro-Gracia JM, et al. 2016 update of the EULAR recommendations for the management of early arthritis. 2017;76(6):948-59.
104. Ong C, Lirk P, Tan C, Seymour RJCm, research. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. 2007;5(1):19-34.
105. Whittle SL, Colebatch AN, Buchbinder R, Edwards CJ, Adams K, Englbrecht M, et al. Multinational evidence-based recommendations for pain management by pharmacotherapy in inflammatory arthritis: integrating systematic literature research and expert opinion of a broad panel of rheumatologists in the 3e Initiative. 2012;51(8):1416-25.
106. Richards BL, Whittle SL, van der HEIJDE DM, Buchbinder RJTJoRS. The efficacy and safety of antidepressants in inflammatory arthritis: a Cochrane systematic review. 2012;90:21-7.

107. Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. 2010;69(6):964-75.
108. Tian H, Cronstein BNJBHJD. Understanding the mechanisms of action of methotrexate. 2007;65(3):168-73.
109. Rein P, Mueller RBJR, therapy. Treatment with biologicals in rheumatoid arthritis: an overview. 2017;4(2):247-61.
110. den Broeder AA, van Herwaarden N, van den Bemt BJJCoiR. Therapeutic drug monitoring of biologicals in rheumatoid arthritis: a disconnect between beliefs and facts. 2018;30(3):266-75.
111. Tovey MG, Lallemand CJTaids. Immunogenicity and other problems associated with the use of biopharmaceuticals. 2011;2(3):113-28.
112. Louie GH, Ward MMJAotrd. Changes in the rates of joint surgery among patients with rheumatoid arthritis in California, 1983–2007. 2010;69(5):868-71.
113. Chung KC, Pushman AGJTJohs. Current concepts in the management of the rheumatoid hand. 2011;36(4):736-47.
114. Cooney JK, Law R-J, Matschke V, Lemmey AB, Moore JP, Ahmad Y, et al. Benefits of exercise in rheumatoid arthritis. 2011;2011.
115. Di Paola R, Cuzzocrea S. Predictivity and sensitivity of animal models of arthritis. Autoimmunity reviews. 2008;8(1):73-5.
116. Choudhary N, Bhatt LK, Prabhavalkar KS. Experimental animal models for rheumatoid arthritis. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2018;40(3):193-200.
117. Hu Y, Cheng W, Cai W, Yue Y, Li J, Zhang P. Advances in research on animal models of rheumatoid arthritis. Clinical rheumatology. 2013;32(2):161-5.
118. Asquith DL, Miller AM, McInnes IB, Liew FY. Animal models of rheumatoid arthritis. European journal of immunology. 2009;39(8):2040-4.
119. Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. The Journal of experimental medicine. 1977;146(3):857-68.

120. Courtenay JS, Dallman MJ, Dayan AD, Martin A, Mosedale B. Immunisation against heterologous type II collagen induces arthritis in mice. *Nature*. 1980;283(5748):666-8.
121. Kannan K, Ortmann RA, Kimpel D. Animal models of rheumatoid arthritis and their relevance to human disease. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology*. 2005;12(3):167-81.
122. Brand DD, Kang AH, Rosloniec EF. Immunopathogenesis of collagen arthritis. *Springer Semin Immunopathol*. 2003;25(1):3-18.
123. Carlsen S, Nandakumar KS, Bäcklund J, Holmberg J, Hultqvist M, Vestberg M, et al. Cartilage oligomeric matrix protein induction of chronic arthritis in mice. *Arthritis and rheumatism*. 2008;58(7):2000-11.
124. Bendele A. Animal models of rheumatoid arthritis. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2001;1(4):377-85.
125. Monach PA, Benoist C, Mathis D. The role of antibodies in mouse models of rheumatoid arthritis, and relevance to human disease. *Advances in immunology*. 2004;82:217-48.
126. Patten C, Bush K, Rioja I, Morgan R, Wooley P, Trill J, et al. Characterization of pristane-induced arthritis, a murine model of chronic disease: response to antirheumatic agents, expression of joint cytokines, and immunopathology. *Arthritis and rheumatism*. 2004;50(10):3334-45.
127. Joosten LA, Abdollahi-Roodsaz S, Heuvelmans-Jacobs M, Helsen MM, van den Bersselaar LA, Oppers-Walgreen B, et al. T cell dependence of chronic destructive murine arthritis induced by repeated local activation of Toll-like receptor-driven pathways: crucial role of both interleukin-1beta and interleukin-17. *Arthritis and rheumatism*. 2008;58(1):98-108.
128. Glant TT, Finnegan A, Mikecz K. Proteoglycan-induced arthritis: immune regulation, cellular mechanisms, and genetics. *Critical reviews in immunology*. 2003;23(3):199-250.
129. Bevaart L, Vervoordeldonk MJ, Tak PP. Evaluation of therapeutic targets in animal models of arthritis: how does it relate to rheumatoid arthritis? *Arthritis and rheumatism*. 2010;62(8):2192-205.

130. Ditzel HJ. The K/BxN mouse: a model of human inflammatory arthritis. *Trends in molecular medicine*. 2004;10(1):40-5.
131. Sakaguchi N, Takahashi T, Hata H, Nomura T, Tagami T, Yamazaki S, et al. Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature*. 2003;426(6965):454-60.
132. Wang X, Liu R, Sun J, Guan S, Yang M, Bi K, et al. HPLC method for the determination and pharmacokinetic studies of four triterpenoids in rat plasma after oral administration of *Ganoderma lucidum* extract. 2007;21(4):389-96.
133. Miyazaki T, Nishijima M. Studies on fungal polysaccharides. XXVII. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 1981;29(12):3611-6.
134. Franz G. Polysaccharides in pharmacy: current applications and future concepts. *Planta medica*. 1989;55(6):493-7.
135. Wang SY, Hsu ML, Hsu HC, Tzeng CH, Lee SS, Shiao MS, et al. The anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. *International journal of cancer*. 1997;70(6):699-705.
136. Kim DH, Shim SB, Kim NJ, Jang IS. Beta-glucuronidase-inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum*. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 1999;22(2):162-4.
137. Lin Z. Recent Advances in Chinese Herbal Drugs—Action and Uses. Beijing Scientific Publishing House, Beijing; 1991.
138. Lin ZJBMUP, Beijing. Modern research of *Ganoderma lucidum*. 2001:302-4.
139. Chiu S, Wang Z, Leung T, Moore DJF, toxicology c. Nutritional value of *Ganoderma* extract and assessment of its genotoxicity and anti-genotoxicity using comet assays of mouse lymphocytes. 2000;38(2-3):173-8.
140. Ts WJJNP. Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes. 2001;64:1121-2.
141. Cheung H, Ng C, Hood DJJoCA. Identification and quantification of base and nucleoside markers in extracts of *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma japonicum* and *Ganoderma* capsules by micellar electrokinetic chromatography. 2001;911(1):119-26.
142. Mau J-L, Lin H-C, Chen C-CJFRI. Non-volatile components of several medicinal mushrooms. 2001;34(6):521-6.

143. Cheng P-G, Phan C-W, Sabaratnam V, Abdullah N, Abdulla MA, Kuppusamy URJE-BC, et al. Polysaccharides-rich extract of *Ganoderma lucidum* (MA Curtis: Fr.) P. Karst accelerates wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. 2013;2013.
144. Guo X-Y, Liu D, Ye M, Han J, Deng S, Ma X-C, et al. Structural characterization of minor metabolites and pharmacokinetics of ganoderic acid C2 in rat plasma by HPLC coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. 2013;75:64-73.
145. Wu G-S, Guo J-J, Bao J-L, Li X-W, Chen X-P, Lu J-J, et al. Anti-cancer properties of triterpenoids isolated from *Ganoderma lucidum*—a review. 2013;22(8):981-92.
146. Kimura Y, Taniguchi M, Baba KJAr. Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance. 2002;22(6A):3309-18.
147. Boh BJRpoa-cdd. *Ganoderma lucidum*: a potential for biotechnological production of anti-cancer and immunomodulatory drugs. 2013;8(3):255-87.
148. Wu J-G, Kan Y-J, Wu Y-B, Yi J, Chen T-Q, Wu J-ZJPb. Hepatoprotective effect of ganoderma triterpenoids against oxidative damage induced by tert-butyl hydroperoxide in human hepatic HepG2 cells. 2016;54(5):919-29.
149. Sheng F, Zhang L, Wang S, Yang L, Li PJN. Deacetyl ganoderic acid F inhibits LPS-induced neural inflammation via NF- κ B pathway both in vitro and in vivo. 2019;12(1):85.
150. Cheng Y, Xie PJJb, Toxicology M. Ganoderic acid A holds promising cytotoxicity on human glioblastoma mediated by incurring apoptosis and autophagy and inactivating PI3K/AKT signaling pathway. 2019;33(11):e22392.
151. Ren LJSjobs. Protective effect of ganoderic acid against the streptozotocin induced diabetes, inflammation, hyperlipidemia and microbiota imbalance in diabetic rats. 2019;26(8):1961-72.
152. Gill BS, Navgeet, Mehra R, Kumar V, Kumar SJInd. Ganoderic acid, lanostanoid triterpene: a key player in apoptosis. 2018;36:136-43.
153. Zhao J, Zhang XQ, Li SP, Yang FQ, Wang YT, Ye WCJjoss. Quality evaluation of *Ganoderma* through simultaneous determination of nine triterpenes and

sterols using pressurized liquid extraction and high performance liquid chromatography. 2006;29(17):2609-15.

154. Chen L, Du J, Dai Q, Zhang H, Pang W, Hu JJEJoMC. Prediction of anti-tumor chemical probes of a traditional Chinese medicine formula by HPLC fingerprinting combined with molecular docking. 2014;83:294-306.

155. Li WZ, Wu WY, Huang H, Wu YY, Yin YY. Protective effect of bilobalide on learning and memory impairment in rats with vascular dementia. Molecular medicine reports. 2013;8(3):935-41.

156. Das A, Alshareef M, Henderson F, Martinez Santos J, Vandergrift W, Lindhorst S, et al. Ganoderic acid A/DM-induced NDRG2 over-expression suppresses high-grade meningioma growth. 2020;22:1138-45.

157. Chi B, Wang S, Bi S, Qin W, Wu D, Luo Z, et al. Effects of ganoderic acid A on lipopolysaccharide- induced proinflammatory cytokine release from primary mouse microglia cultures. 2018;15(1):847-53.

158. Ren L, Zhang J, Zhang TJFC. Immunomodulatory activities of polysaccharides from Ganoderma on immune effector cells. 2021;340:127933.

159. Jiang Y, Chang Y, Liu Y, Zhang M, Luo H, Hao C, et al. Overview of Ganoderma sinense polysaccharide-an adjunctive drug used during concurrent Chemo/Radiation therapy for cancer treatment in China. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. 2017;96:865-70.

160. Klimaszewska M, Górka S, Dawidowski M, Podsadni P, Szczepańska A, Orzechowska E, et al. Selective cytotoxic activity of Se-Methyl-Seleno-L-Cysteine- and Se-Polysaccharide-containing extracts from shiitake medicinal mushroom, *Lentinus edodes* (Agaricomycetes). 2017;19(8).

161. Ruthes AC, Smiderle FR, Iacomini MJCP. Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects. 2016;136:358-75.

162. Kou F, Ge Y, Wang W, Mei Y, Cao L, Wei X, et al. A review of Ganoderma lucidum polysaccharides: Health benefit, structure-activity relationship, modification, and nanoparticle encapsulation. International journal of biological macromolecules. 2023;243:125199.

163. Joseph S, Sabulal B, George V, Smina TP, Janardhanan KKJSp. Antioxidative and antiinflammatory activities of the chloroform extract of *Ganoderma lucidum* found in South India. 2009;77(1):111-22.
164. Sheena N, Ajith T, Janardhanan KJCs. Prevention of nephrotoxicity induced by the anticancer drug cisplatin, using *Ganoderma lucidum*, a medicinal mushroom occurring in South India. 2003;85(4):478-82.
165. Dudhgaonkar S, Thyagarajan A, Sliva DJIi. Suppression of the inflammatory response by triterpenes isolated from the mushroom *Ganoderma lucidum*. 2009;9(11):1272-80.
166. Jiang J, Grieb B, Thyagarajan A, Sliva DJIjomm. Ganoderic acids suppress growth and invasive behavior of breast cancer cells by modulating AP-1 and NF- κ B signaling. 2008;21(5):577-84.
167. Shahid A, Huang M, Liu M, Shamim MA, Parsa C, Orlando R, et al. The medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* attenuates UV-induced skin carcinogenesis and immunosuppression. 2022;17(3):e0265615.
168. XiaoPing C, Yan C, ShuiBing L, YouGuo C, JianYun L, LanPing LJCP. Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. 2009;77(2):389-93.
169. Mishra J, Rajput R, Singh K, Puri S, Goyal M, Bansal A, et al. Antibacterial natural peptide fractions from Indian *Ganoderma lucidum*. 2018;24:543-54.
170. Heleno SA, Ferreira IC, Esteves AP, Ćirić A, Glamočlija J, Martins A, et al. Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. 2013;58:95-100.
171. Su HG, Peng XR, Shi QQ, Huang YJ, Zhou L, Qiu MH. Lanostane triterpenoids with anti-inflammatory activities from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 2020;173:112256.
172. Liang C, Tian D, Liu Y, Li H, Zhu J, Li M, et al. Review of the molecular mechanisms of *Ganoderma lucidum* triterpenoids: Ganoderic acids A, C2, D, F, DM, X and Y. *European journal of medicinal chemistry*. 2019;174:130-41.

173. Cao T, Tang C, Xue L, Cui M, Wang D. Protective effect of Ganoderic acid A on adjuvant-induced arthritis. *Immunology letters*. 2020;226:1-6.
174. Deeb BJ, DiGiacomo RF, Kunz LL, Stewart JLJJoim. Comparison of Freund's and Ribi adjuvants for inducing antibodies to the synthetic antigen (TG)-AL in rabbits. 1992;152(1):105-13.
175. Bennett B, Check IJ, Olsen MR, Hunter RLJJoim. A comparison of commercially available adjuvants for use in research. 1992;153(1-2):31-40.
176. Gupta P, Kumar A, Pal S, Kumar S, Lahiri A, Kumaravelu J, et al. Standardized *Xylocarpus moluccensis* fruit fraction mitigates collagen-induced arthritis in mice by regulating immune response. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 2020;72(4):619-32.
177. Lam FF, Ko IW, Ng ES, Tam LS, Leung PC, Li EK. Analgesic and anti-arthritic effects of Lingzhi and San Miao San supplementation in a rat model of arthritis induced by Freund's complete adjuvant. *Journal of ethnopharmacology*. 2008;120(1):44-50.
178. Brahn E, Banquerigo ML, Firestein GS, Boyle DL, Salzman AL, Szabó CJJoR. Collagen induced arthritis: reversal by mercaptoethylguanidine, a novel antiinflammatory agent with a combined mechanism of action. 1998;25(9):1785-93.
179. Hammell DC, Zhang LP, Ma F, Abshire SM, McIlwrath SL, Stinchcomb AL, et al. Transdermal cannabidiol reduces inflammation and pain-related behaviours in a rat model of arthritis. *European journal of pain (London, England)*. 2016;20(6):936-48.
180. Sluka K, Willis W, Westlund KJN. Joint inflammation and hyperalgesia are reduced by spinal bicuculline. 1993;5(2):109-12.
181. Gupta A, Singh S. Evaluation of anti-inflammatory effect of *Withania somnifera* root on collagen-induced arthritis in rats. *Pharmaceutical biology*. 2014;52(3):308-20.
182. Jaiswal SR, Sontakke SD. Experimental evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of simvastatin and atorvastatin. *Indian journal of pharmacology*. 2012;44(4):475-9.

183. Sharma BR, Park CM, Choi JW, Rhyu DY. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of the methanolic extract of *Opuntia humifusa* stem. *Avicenna journal of phytomedicine*. 2017;7(4):366-75.
184. Chen Y, Wang QW, Zuo J, Chen JW, Li X. Anti-arthritic activity of ethanol extract of *Claoxylon indicum* on Freund's complete adjuvant-induced arthritis in mice. *BMC complementary and alternative medicine*. 2017;17(1):11.
185. Brahn E, Banquerigo ML, Firestein GS, Boyle DL, Salzman AL, Szabó C. Collagen induced arthritis: reversal by mercaptoethylguanidine, a novel antiinflammatory agent with a combined mechanism of action. *The Journal of rheumatology*. 1998;25(9):1785-93.
186. Mythilypriya R, Shanthi P, Sachdanandam P. Therapeutic effect of Kalpaamruthaa, a herbal preparation on adjuvant induced arthritis in wistar rats. *Inflammopharmacology*. 2008;16(1):21-35.
187. Rajbhandary R, Khezri A, Panush RSJTJoR. Rheumatoid cachexia: what is it and why is it important? : *The Journal of Rheumatology*; 2011. p. 406-8.
188. Meng M, Wang L, Yao Y, Lin D, Wang C, Yao J, et al. Ganoderma lucidum polysaccharide peptide (GLPP) attenuates rheumatic arthritis in rats through inactivating NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2023;119:155010.
189. Lee D, Ju M-K, Kim HJN. Commiphora extract mixture ameliorates monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. 2020;12(5):1477.
190. Lee YM, Son E, Kim SH, Kim DS. Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Schisandra chinensis* Leaf Extracts and Monosodium Iodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats and Acetic Acid-Induced Writhing in Mice. *Nutrients*. 2022;14(7).
191. Heo Y, Kim M, Suminda GGD, Min Y, Zhao Y, Ghosh M, et al. Inhibitory effects of Ganoderma lucidum spore oil on rheumatoid arthritis in a collagen-induced arthritis mouse model. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2023;157:114067.
192. Mao X, Liu Y, Li W, Wang K, Li C, Wang Q, et al. A promising drug combination of mangiferin and glycyrrhizic acid ameliorates disease severity of rheumatoid arthritis by reversing the disturbance of thermogenesis and energy

metabolism. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2022;104:154216.

193. Abdelmawgoud H, Saleh A. Anti-inflammatory and antioxidant effects of mesenchymal and hematopoietic stem cells in a rheumatoid arthritis rat model. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*. 2018;27(7):873-80.

194. Phadke K, Fouts R, Parrish JE. Collagen-induced and adjuvant-induced arthritis in rats. Post-immunization treatment with collagen to suppress or abrogate the arthritic response. *Arthritis and rheumatism*. 1984;27(7):797-806.

195. Lu X, Xu C, Yang R, Zhang G. Ganoderic Acid A Alleviates OVA-Induced Asthma in Mice. *Inflammation*. 2021;44(5):1908-15.

196. Wang J, Wen W, Gong D, Chen Q, Li P, Liu P, et al. SZAP exerts analgesic effects on rheumatism in CIA rats by suppressing pain hyperalgesia and inhibiting TRPV1 and P2X3. *Journal of ethnopharmacology*. 2022;284:114780.

197. Koyama K, Imaizumi T, Akiba M, Kinoshita K, Takahashi K, Suzuki A, et al. Antinociceptive components of *Ganoderma lucidum*. *Planta medica*. 1997;63(3):224-7.

198. Li EK, Tam LS, Wong CK, Li WC, Lam CW, Wachtel-Galor S, et al. Safety and efficacy of *Ganoderma lucidum* (lingzhi) and San Miao San supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot trial. *Arthritis and rheumatism*. 2007;57(7):1143-50.

199. Ho YW, Yeung JS, Chiu PK, Tang WM, Lin ZB, Man RY, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide reduced the production of proinflammatory cytokines in activated rheumatoid synovial fibroblast. *Molecular and cellular biochemistry*. 2007;301(1-2):173-9.

200. Wu W, Song K, Chen G, Liu N, Cao T. Ganoderic acid A improves osteoarthritis by regulating RANKL/OPG ratio. *Chemical biology & drug design*. 2022;100(3):313-9.

201. Pang W, Lu S, Zheng R, Li X, Yang S, Feng Y, et al. Investigation into Antiepileptic Effect of Ganoderic Acid A and Its Mechanism in Seizure Rats Induced by Pentylentetrazole. *BioMed research international*. 2022;2022:5940372.

202. Yang W, Liu R, Zhou L, Chen X, Hu Y. Effects of Ganoderic Acid A on Gastrointestinal Motility and Brain-Gut Peptide in Rats with Functional Dyspepsia. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2022;2022:2298665.
203. Wang D, Cai X, Xu F, Kang H, Li Y, Feng R. Ganoderic Acid A alleviates the degeneration of intervertebral disc via suppressing the activation of TLR4/NLRP3 signaling pathway. Bioengineered. 2022;13(5):11684-93.
204. Zhu J, Ding J, Li S, Jin J. Ganoderic acid A ameliorates non-alcoholic steatohepatitis (NASH) induced by high-fat high-cholesterol diet in mice. Experimental and therapeutic medicine. 2022;23(4):308.
205. Wang T, Lu H. Ganoderic acid A inhibits ox-LDL-induced THP-1-derived macrophage inflammation and lipid deposition via Notch1/PPAR γ /CD36 signaling. Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University. 2021;30(10):1031-41.
206. Zhang L, Zhang L, Sui R. Ganoderic Acid A-Mediated Modulation of Microglial Polarization is Involved in Depressive-Like Behaviors and Neuroinflammation in a Rat Model of Post-Stroke Depression. Neuropsychiatric disease and treatment. 2021;17:2671-81.
207. Qi LF, Liu S, Liu YC, Li P, Xu X. Ganoderic Acid A Promotes Amyloid- β Clearance (In Vitro) and Ameliorates Cognitive Deficiency in Alzheimer's Disease (Mouse Model) through Autophagy Induced by Activating Axl. International journal of molecular sciences. 2021;22(11).
208. Wan B, Li Y, Sun S, Yang Y, Lv Y, Wang L, et al. Ganoderic acid A attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury in mice. Bioscience reports. 2019;39(5).
209. Zhang Y, Shi K, Lin T, Xia F, Cai Y, Ye Y, et al. Ganoderic acid A alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats by regulating JAK2/STAT3/NF- κ B pathway. International immunopharmacology. 2020;84:106543.

EKLER





ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı- Soyadı: Ayşenur DEMİR

Doğum yeri ve tarihi:

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu:

İletişim adresi:

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji yüksek lisans 2020-

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Güneysu Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon
Fizyoterapi ve Rehabilitasyon 2016-2020

IV- Mesleki deneyim

V- Üye olduğu bilimsel kuruluşlar

VI-Bilimsel İlgi Alanları

INSAC Academic Studies on Health Sciences, Section name: SARS-CoV-2 ve Anjiotensin Dönüştürücü Enzim 2 (ACE2) Yolağının Tedavideki Rolü, GÜZEL ERDOĞAN DERYA, DEMİR AYŞENUR, Publication place: Gece Kitaplığı, Editor: Doç. Dr. Mehmet Dalkılıç, Publication number:1, Total pages:265, ISBN: 978-625-xxxxx, Section pages:17-28

HOMESTATIC CHANGES AND PHYSIOPATHOLOGY OF COMPLICATIONS IN SARS-COV-2, DERYA GÜZEL ERDOĞAN, AYŞENUR DEMİR (08.08.2021-09.08.2021), Publication place:4 th INTERNATIONAL EUROPEAN CONFERENCE ON INTERDISCIPLINARY SCIENTIFIC RESEARCH, International full text paper, 2021

VII-Diğer bilgiler

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi & Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Tıp Fakültesi Lisansüstü Öğrencilerine Yönelik Laboratuar Hayvanlarında İleri Düzey Deneyisel Araştırmalar Kursu eğitimi (31.05.2021-3.06.2021)

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası eğitimi (07.06.2021- 25.06.2021)

İnönü Üniversitesi & TÜBİTAK, Sağlık Bilimleri Alanında TÜBİTAK için Proje Hazırlama Uygulamalı Eğitimi: Malatya 2021 (9.07.2021-11.07.2021)